

CENTRO UNIVERSITÁRIO FEEVALE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GESTÃO TECNOLÓGICA
MESTRADO EM QUALIDADE AMBIENTAL

FABIANA APARECIDA DE SOUZA VIEIRA

INTERAÇÃO ENTRE GENE E AMBIENTE E SUA INFLUÊNCIA SOBRE
OS NÍVEIS DE TRIGLICERÍDEOS:
ANÁLISE DO POLIMORFISMO -1131T/C NO GENE *APOAVEM*
CONJUNTO COM FATORES AMBIENTAIS E ANTROPOMÉTRICOS

Novo Hamburgo, agosto de 2007

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CENTRO UNIVERSITÁRIO FEEVALE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GESTÃO TECNOLÓGICA
MESTRADO EM QUALIDADE AMBIENTAL

FABIANA APARECIDA DE SOUZA VIEIRA

INTERAÇÃO ENTRE GENE E AMBIENTE E SUA INFLUÊNCIA SOBRE
OS NÍVEIS DE TRIGLICERÍDEOS:
ANÁLISE DO POLIMORFISMO -1131T/C NO GENE *APOAVEM*
CONJUNTO COM FATORES AMBIENTAIS E ANTROPOMÉTRICOS

Dissertação apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Gestão Tecnológica
como requisito para a obtenção do título
de mestre em Gestão Tecnológica:
Qualidade Ambiental

Orientadora: Prof.Dra. Fabiana Michelsen de Andrade

Novo Hamburgo, agosto de 2007.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Centro Universitário Feevale – RS/Brasil
Bibliotecária Responsável:

Vieira, Fabiana Aparecida de Souza

Interação entre gene e ambiente e sua influência sobre os níveis de Triglicéridos: Análise do Polimorfismo -1131T/C no gene *APOAV* em conjunto com fatores ambientais e antropométricos.

CENTRO UNIVERSITÁRIO FEEVALE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM GESTÃO TECNOLÓGICA
MESTRADO EM QUALIDADE AMBIENTAL

FABIANA APARECIDA DE SOUZA VIEIRA

INTERAÇÃO ENTRE GENE E AMBIENTE E SUA INFLUÊNCIA SOBRE
OS NÍVEIS DE TRIGLICERÍDEOS:
ANÁLISE DO POLIMORFISMO -1131T/C NO GENE *APOA*EM
CONJUNTO COM FATORES AMBIENTAIS E ANTROPOMÉTRICOS

Dissertação de mestrado aprovada pela banca examinadora em 27 de julho de 2007,
conferindo ao autor o título de mestre em Gestão Tecnológica: Qualidade Ambiental.

Componentes da Banca Examinadora:

Prof. Dra. Fabiana Michelsen de Andrade
(Orientadora) – Centro Universitário FEEVALE

Prof. Dra. Marilu Fiegenbaum
IPA Metodista

Prof. Dr. Sharbel Weidner Maluf
Centro Universitário FEEVALE

LISTA DE ABREVIATURAS

Apo AV – apolipoproteína humana

APOAV – gene da apo AV

CT – Colesterol total

HDL-C – lipoproteína de alta densidade

IMC – Índice de Massa corporal

LDL-C – lipoproteína de baixa densidade

PCR – Reação em cadeia da polimerase

SNP'S – single nucleotide polymorphisms

TG – triglicerídeos

VLDL-TG – lipoproteína de muita baixa densidade

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura genômica do gene *APOA5* e a localização dos polimorfismos (fonte: PENNACCHIO *et cols*, 2002).

Figura 2. Níveis de triglicerídeos de acordo com o genótipo para *APOA5* em homens e mulheres.

Figura 3. Níveis de triglicerídeos de acordo com a Circunferência da Cintura em homens e mulheres.

Figura 4. Níveis de triglicerídeos de acordo com o IMC e o genótipo para *APOA5* em ambos os sexos.

Figura 5 Níveis de triglicerídeos de acordo com a atividade física e o genótipo para *APOA5* em ambos os sexos.

Figura 6. Níveis de triglicerídeos de acordo com o consumo de álcool e o genótipo para *APOA5* em ambos os sexos.

Figura 7. Níveis de triglicerídeos de acordo com o tabagismo e o genótipo para *APOA5* em ambos os sexos.

Figura 8. Níveis de triglicerídeos de acordo com o *status* hormonal e o genótipo para *APOA5* em mulheres.

Figura 9. Níveis de triglicerídeos conforme o genótipo *APOA* e o consumo de doces.

Figura 10. Níveis de triglicerídeos conforme o genótipo *APOA* e o consumo de embutidos.

Figura 11. Níveis de triglicerídeos conforme o genótipo *APOA* e o consumo de frutas e verduras.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Freqüência do alelo -1131C e sua influência sobre níveis de triglicédeos em diferentes populações mundiais.

Tabela 2. Exemplos de investigações de interação gene-ambiente realizadas até o momento.

Tabela 3. Características gerais da amostra.

Tabela 4. Níveis de triglicédeos de acordo com as variáveis ambientais e antropométricas .

RESUMO

A hipertrigliceridemia é um importante fator de risco independente para as Doenças Arteriais Coronarianas, tendo como determinantes uma ampla gama de fatores, tanto genéticos quanto exógenos. A apolipoproteína AV, codificada pelo gene APOAV, atua controlando a síntese e secreção de triglicerídeos (TG) pelo fígado, sendo que um dos polimorfismos deste gene mais estudados e que parece estar relacionado ao aumento dos TG é o -1131T/C. Foram investigados um total de 333 indivíduos descendentes de europeus de uma amostra da população da Grande Porto Alegre. Esta amostra apresentou uma frequência de 39,4% do alelo raro, genotipado através da técnica de PCR-RFLP. As análises estatísticas foram realizadas através de teste t e Análise Fatorial pelo programa SPSS 10.0, sendo que os valores de TG foram transformados para ln para atingir a distribuição normal. Quando avaliado isoladamente ou em conjunto com outros fatores, o polimorfismo -1131C/T não foi associado com os níveis de triglicerídeos. Hábitos como tabagismo, consumo de álcool e sedentarismo não influenciaram na determinação dos níveis de TG, independentemente do genótipo da APOAV, assim como o uso de anticoncepcionais, o climatério e parâmetros antropométricos alterados (IMC e circunferência da cintura). O consumo freqüente de alimentos como doces, frutas e verduras não demonstrou uma relação significativa com os níveis de TG, independente do genótipo da APOAV. Uma interação significativa foi detectada ($p=0,04$) entre o consumo de embutidos e o genótipo para APOAV: homocigotos para o alelo -1131T possuem níveis de TG significativamente aumentados, mas somente na presença de uma dieta com baixo consumo de embutidos. Na presença de uma dieta com alto consumo de embutidos, são os portadores do alelo -1131C que possuem este parâmetro aumentado. Este trabalho traz conclusões preliminares, e um aumento do tamanho amostral é necessário para confirmar os presentes dados.

Palavras-chave: ApoAV, Interação gene-ambiente, Triglicerídeos.

ABSTRACT

Hypertriglyceridaemia is an important and independent risk factor to coronary artery disease, having broad types of factors as determinants, both genetic and exogenous. The apolipoprotein AV, coded by *APOAV* gene, acts controlling the triglycerides (TG) synthesis and secretion by liver, and -1131T/C is one of the most studied polymorphisms in this gene, probably being related with increasing of TG levels. It was studied 333 European descendent subjects, from Grande Porto Alegre population. In this sample, the frequency of the rare allele was 39,4%, genotyped through PCR-RFLP technique. Statistical analyses were t test and factorial analysis, through SPSS 10.0 package, with TG transformed in natural logarithm (ln), for achieving normal distribution. Both when evaluated as an isolated variable, or together with other factors, -1131T/C polymorphism was not associated with TG levels. Habits as smoking, alcohol consumption and physical activity did not influence the determination of TG levels, independently of *APOAV* genotype, as well as contraceptive use, climacteric, and altered anthropometric parameters (BMI and waist circumference). The frequent consumption of foods as desserts, fruits and vegetables did not show any significant relation with TG levels, independently of *APOAV* genotype. A significant ($p=0,04$) interaction between the consumption of cold cuts and *APOAV* genotype was found: homozygotes to -1131T allele had TG levels significantly increased, but only in those people that had a diet with low consumption of this kind of food. When subjects having a diet with high consumption of cold cuts are analyzed, the carriers of -1131C allele showed an increase in this parameter. This work brings preliminary conclusions, and an increase of the sample size is necessary to confirm our data.

Key-words: ApoAV, Gene-environment interaction, Triglyceride.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
1.1 Fatores genéticos que influenciam os níveis de triglicerídeos	2
1.2 A apolipoproteína AV (apo AV)	3
1.3 O gene da apolipoproteína AV (<i>APOAV</i>)	5
1.4 O ambiente e sua influência sobre os níveis de triglicerídeos	7
1.5 Interação Gene x Ambiente	9
1.5.1 Interação entre genes e hábitos de vida e fatores antropométricos sobre o perfil lipídico	11
1.5.2 Influência da dieta e a interação com o perfil genético – a nutrigenética	13
2 JUSTIFICATIVA	15
3 OBJETIVOS	17
3.1 Objetivo geral	17
3.2 Objetivos específicos.....	17
4 MATERIAIS E MÉTODOS	18
4.1 Amostra	18
4.2 Métodos Laboratoriais.....	18
4.3 Métodos Estatísticos.....	19
5 RESULTADOS	21
5.1 Características Gerais da Amostra	21
5.2 Influência do gene <i>APOAV</i> sobre os níveis de triglicerídeos e sua interação com fatores ambientais e antropométricos	24

5.3 Influência da interação entre hábitos alimentares e o polimorfismo -1131T/C do gene <i>APOAV</i> sobre os níveis de triglicédeos.....	28
6 DISCUSSÃO	31
7 CONCLUSÕES.....	35
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	37
ANEXOS	44

1 INTRODUÇÃO

As doenças cardiovasculares destacam-se, nos dias atuais, como a mais freqüente causa de óbito (Murray e Lopez, 1997). A patogenia mais encontrada das doenças cardiovasculares é indiscutivelmente, a aterosclerose coronária, que pode acometer inclusive paciente jovem (Puska, 1986). Esta patologia contribui esmagadoramente para a taxa de mortalidade – cerca de metade ou mais de todas as mortes – e morbidades no mundo ocidental, que ultrapassa a de qualquer outra doença. Sendo de distribuição mundial, atingiu proporções epidêmicas nas sociedades economicamente desenvolvidas (Cotran e cols, 2000).

A aterosclerose é um processo dinâmico evolutivo, iniciado a partir de dano endotelial. A partir da lesão vascular, ocorre a expressão de moléculas que mediarão a entrada de monócitos em direção ao espaço intimal, que por sua vez englobarão lipoproteínas modificadas (predominantemente LDL oxidadas) originando as células espumosas. Diferentes mediadores inflamatórios são liberados no espaço intimal, perpetuando e ampliando o processo, levando finalmente à formação da placa arterosclerótica (Santos e cols, 2001).

Durante os últimos 30 anos tem se presenciado um declínio razoável da mortalidade por causas cardiovasculares, em países desenvolvidos, enquanto que elevações relativamente rápidas e substanciais têm ocorrido em países em desenvolvimento, dentre os quais o Brasil é um dos representantes. De acordo com as projeções da OMS (Organização Mundial de Saúde), essa tendência de elevação na doença cardiovascular tende a persistir, agravando ainda mais o quadro de morbidade e mortalidade, elevados nos países em desenvolvimento (Martins e cols, 1997).

O aparecimento da doença está relacionado a diversos fatores, alguns constitucionais e, portanto, imutáveis, e outros adquiridos e potencialmente passíveis de controle. Os fatores de risco que predisõem à aterosclerose e conseqüente cardiopatia isquêmica foram identificados através de diversos estudos prospectivos em grupos bem definidos da população. Os fatores constitucionais incluem idade, sexo e composição genética. (Cotran e cols, 2000).

Dentre os fatores de risco potencialmente passíveis de controle mais importantes para aterosclerose estão a hipercolesterolemia, o hábito de fumar, a hipertensão arterial (HA), a hipertrigliceridemia, o excesso de peso e a história familiar de cardiopatia isquêmica. (Zoffi e

cols, 1997). Níveis aumentados de triglicerídeos plasmáticos são um dos fatores metabólicos associados com doença cardíaca aterosclerótica. Esta característica varia amplamente entre indivíduos, e múltiplos fatores estão relacionados com esta variação.

Assim, uma interessante e amplamente utilizada maneira de prevenção da aterosclerose é a manutenção dos níveis lipídicos, dentre eles os níveis de triglicerídeos, dentro de padrões normais. Mas como esta, assim como a aterosclerose, também é uma característica multifatorial, é necessária a identificação dos fatores que a determinam. Alguns destes fatores já associados com níveis deste lipídeo são a ingestão de grandes quantidades de gorduras saturadas e carboidratos, o tabagismo, a obesidade e a falta de exercício físico, que são freqüentemente associados com elevadas concentrações plasmáticas de triglicerídeos (Cotran e cols, 2000).

1.1 Fatores genéticos que influenciam os níveis de triglicerídeos

Desde 1982, mais de 20 genes que codificam proteínas envolvidas no transporte de lipídeos foram identificados, localizados cromossomicamente, e tiveram suas seqüências de DNA caracterizadas (Galton e Ferns 1999). Muitos destes locos são altamente polimórficos, o que a princípio poderia ser o “motivo genético” para diferenças no perfil lipídico entre indivíduos. Assim, se torna muito importante a determinação de alelos de suscetibilidade para níveis lipídicos alterados na população. Dentre outras características metabólicas, altos níveis de triglicerídeos são importantes preditores para o risco de desenvolver doenças cardiovasculares, e alguns genes de suscetibilidade para esta característica já foram identificados, inclusive em populações do Brasil. Da mesma maneira, o conhecimento das influências ambientais sobre os níveis de triglicerídeos está bem avançado, uma vez que hábitos de vida de risco (por exemplo, sedentarismo e tabagismo) e aqueles que influenciam positivamente esta característica (atividade física, baixa ingestão de carboidratos e gorduras saturadas) já foram estabelecidos. Ao longo da história da Genética Humana, investigações utilizando mapeamento genético identificaram locos ou regiões cromossômicas ligadas a algumas patologias. Outro tipo de abordagem utilizada vem sendo a identificação de genes candidatos através do entendimento da rota metabólica. Quando a fisiologia é entendida, a população pode ser investigada para variações desses genes, procurando-se associações entre a variação genética e fatores de risco bioquímicos, fisiológicos e anatômicos para a doença. Assim, alterações nos genes que codificam para as proteínas que participam no metabolismo

de triglicerídeos poderiam influenciar os níveis séricos deste lipídeo. Um grande número de mutações em vários genes cujos produtos atuam nesta rota metabólica já foi descrito, especialmente para os genes da LPL (lipoproteína lipase) e apo C-III (apolipoproteína C-III) (Groenendijk e cols., 2001, Razzaghi e cols., 2000). No entanto, estas mutações são responsáveis por fenótipos extremos e raros descritos em famílias isoladas e, portanto não respondem pela variação dos níveis de triglicerídeos na população em geral. Neste caso, marcadores genéticos mais interessantes são os polimorfismos já descritos nestes e em outros genes, que poderiam ser responsáveis por grande parte da variabilidade dos níveis de triglicerídeos, e preditores mais poderosos de doenças coronarianas para o conjunto da população. Em 2001, Penacchio e cols. identificaram uma proteína que parece desempenhar um importante papel no metabolismo de triglicerídeos, a apolipoproteína AV (apo AV). Os níveis de apo AV no plasma são inversamente correlacionados aos níveis de triglicerídeos, e existem evidências de que o seu papel esteja relacionado ao controle da secreção de lipídeos pelo fígado (Hokanson e Austin, 1996).

1.2 A apolipoproteína AV (apo AV)

A apo AV foi descoberta como um novo membro da família das apolipoproteínas, simultaneamente por análise de seqüência comparativa entre humanos e ratos (Pennacchio e cols, 2001), e por uma abordagem de expressão gênica aumentada na fase inicial da regeneração hepática (Vleiet e cols. 2001). A apo AV humana madura possui 343 aminoácidos e 39 KDa (Patrick e cols, 2005), e parece ser expressa exclusivamente no fígado, sendo que sua forma madura circulante está associada principalmente com a HDL e, em menor extensão, com partículas VLDL (James e cols, 2003). Inicialmente, a apo AV é secretada junto com a VLDL, e à medida que a conversão lipolítica da VLDL acontece e os lipídios em excesso da superfície são transferidos para a HDL, a apo AV é transferida para HDL de maneira similar (Schaap e cols, 2004).

Esta é uma proteína bastante hidrofóbica e com vários domínios em alfa-hélice (Weinberg, e cols, 2003), possuindo vários resíduos de prolina, e sendo caracterizada por diferenças na hidrofobia e na estrutura secundária ao longo da cadeia. Os aminoácidos 1-60 são hidrofílicos e moderadamente anfipáticos, o que é similar as apolipoproteínas AI, AIV e E. Os aminoácidos 61-170 são bastante hidrofóbicos e pouco anfipáticos. Os resíduos 171-243 são altamente hidrofóbicos e muito anfipáticos, sendo então previstos como tendo uma

alta afinidade por lipoproteínas. O domínio C-terminal dos aminoácidos 243-246 parece não ter estrutura secundária e é relativamente hidrofílico (Willems e cols, 2004). Em combinação com a análise cinética, concluiu-se que a apo AV é uma molécula relativamente dura/forte e não elástica que se encontra preferencialmente ligada a um lipídio (Beckstead , 2003).

As propriedades de ligação a lipídios da apo AV e sua preferência por HDL que esta apo poderia funcionar como receptor de colesterol extracelular (similar à apoE e apoAI). No entanto nenhuma atividade de efluxo de colesterol foi aumentada pela apo AV. Weinberg e cols. (2003) propuseram que a *APO AV* poderia funcionar intracelularmente como freio na secreção/formação de VLDL. Como a *APO AV* é super expressa na fase inicial da regeneração hepática (Vleiet e cols, 2001), este fato parece ter um sentido biológico, já que resultaria na conservação de lipídios para a renovação de membranas celulares e conservar energia que é necessária para a regeneração do fígado.

Alternativamente, o efeito hipotrigliceridêmico da *APO AV* poderia ser explicado pela ativação da hidrólise de VLDL mediada pela LPL. (Willems e cols 2004) obtiveram evidências de que a *APO AV* pode ativar a atividade triciglicerol hidrolase da LPL *in vitro*. “A expressão de *APO AV* adenovírus-mediada aumenta a destruição de ácidos graxos derivados de TG de emulsões semelhantes à VLDL em tecido adiposo branco em ratos, o que é totalmente compatível com um papel ativador de LPL da apo AV *in vitro*” Schaap FG, 2003”. No entanto nenhuma atividade pode ser demonstrada em experimentos *in vitro* empregando *APO AV* recombinante (Beckstead e cols, 2003).

Schaap e cols. (2004) demonstraram que o aumento da expressão da apo AV em camundongos reduziu os níveis de TG e TC no plasma. A apo AV inibiu, de forma dose-dependente, a taxa de produção de VLDL-TG hepática. Mais ainda, nesse estudo foi possível observar claramente que a apo AV acelera a taxa de hidrólise de TG LPL-mediada tanto *in vitro* quanto *in vivo*. Dessa maneira foi proposto que a apo AV tem um efeito duplo sobre o metabolismo da VLDL, reduzindo a lipidação da apoB e aumentando a eficiência da destruição de TG a partir das lipoproteínas circulantes. Esse efeito hipotrigliceridêmico da apo AV está associado com uma redução nos níveis de TC plasmático. Assim, estas observações sugerem que a apo AV é um interessante alvo no tratamento da hipertrigliceridemia.

1.3 O gene da apolipoproteína AV (*APO AV*)

O gene da apo AV (*APO AV*) foi localizado, e o sequenciamento de toda sua extensão revelou um grande número de variações de nucleotídeos simples (*single nucleotide polymorphisms*, ou SNPs) ao longo do gene, e várias destas variações tiveram o alelo mais raro com frequência superior a 1% dos alelos em diferentes populações (Penacchio e cols., 2001). Dos genes candidatos investigados com relação a sua associação com níveis lipídicos, este é o mais recentemente identificado, e portanto, poucos trabalhos sobre o seu papel nesta rota metabólica foram realizados até o momento. Estes trabalhos sugerem que a variação encontrada neste loco influencia fortemente os níveis de triglicerídeos. Uma vez que esta característica é influenciada por um grande conjunto de fatores, tanto genéticos quanto ambientais, e vários destes fatores podem variar entre diferentes populações, se torna necessária a investigação do papel deste gene sobre os níveis de triglicerídeos em nossa população.

Estudos em populações diversas demonstraram que o gene *APO AV* possui vários polimorfismos, que tem papel na determinação dos níveis de triglicerídeos. A figura 1 mostra a estrutura do gene *APO AV*, com os polimorfismos descritos até o momento.

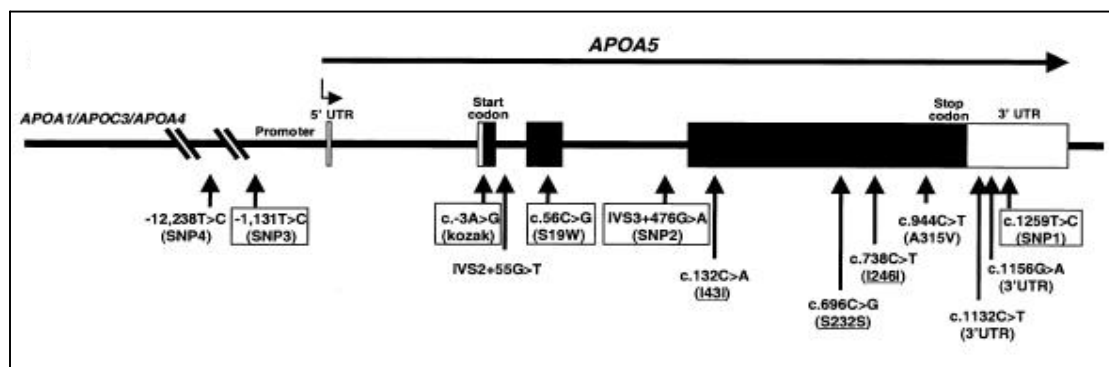


Figura 1 - Estrutura genômica do gene *APO AV* e a localização dos polimorfismos mais estudados. (Fonte: Pennacchio e cols., 2002).

Entre os SNPs mais estudados encontram-se o C56G (S19W) e o -1131T/C (SNP3). O polimorfismo S19W é responsável pela troca de uma serina por um triptofano na posição 19 da proteína, enquanto que no SNP3 não há troca de aminoácidos, já que está localizado na região promotora do gene (Pennachio e cols, 2002). Estes polimorfismos podem alterar a síntese ou a estrutura secundária da proteína, modificando sua função no controle da secreção de lipídeos (Ward e cols, 2003). De acordo com alguns estudos, os alelos raros de ambos SNP's conferem aos seus portadores risco maior de possuir concentrações de triglicerídeos aumentadas.

A tabela 1 mostra um resumo dos estudos de associação realizados em diferentes populações do mundo, com o SNP -1131T/C. Embora várias investigações já tenham sido realizadas, somente um estudo foi feito no Brasil, com uma amostra da população de São Paulo (Chen e cols, 2006). Estes autores não investigaram a possível associação deste polimorfismo com parâmetros do perfil lipídico, mas tentaram associar a presença do alelo raro com diferentes características de morbidade, em uma amostra de idosos. Assim, a frequência do alelo -1131C foi de 15,8%, e a presença deste não foi significativamente associada com nenhuma característica investigada (doença coronariana, diabetes, hipertensão, obesidade, depressão, demência e câncer).

Tabela 1 – Frequência do alelo -1131C e sua influência sobre níveis de triglicerídeos em diferentes populações mundiais.

População	Frequência do alelo -1131C (%)	Associação do alelo -1131C com triglicerídeos	Referência	
Asiáticos				
Coreanos	28	↑	Jang e cols, 2004	
Japoneses	34	↑	Nabika e cols, 2002	
Singapura	Chineses	29,4	↑	Lai e cols, 2003
	Malaios	29,6	↑	Lai e cols, 2003
	Indianos	23,3	↑	Lai e cols, 2003
Chineses	ND	↑	Aouizerat e cols, 2003 .	
Chineses	33	↑	Baum e cols.,	

				2003
Europeus				
EUA	13,3	↑		Wung e cols., 2003
EUA	ND	↑		Aouizerat e cols., 2003
EUA ¹	ND	↑		Qi e cols, 2006
Itália	12,7	↑		Martinelli e cols, 2006
Republica Tcheca	8,4	↑		Horinek e cols, 2003
Outros grupos étnicos				
EUA (Afro descendentes)	12	NS		Pennacchio e cols, 2002
EUA (Hispânicos)	16	↑		Pennacchio e cols, 2002

ND: dado não disponível; NS: influência não significante; ¹ mulheres diabéticas

1.4 O ambiente e sua influência sobre os níveis de triglicerídeos

O conceito de ambiente pode ser inicialmente entendido como retrato momentâneo de dada região, cujo conteúdo reúne todo o conjunto de componentes materiais, paisagens e seres vivos (Porto e cols, 1998). Este retrato é então analisado como resultante de processos históricos anteriores, envolvendo ações/intervenções humanas desenvolvidas durante certo período, tendo por foco os aspectos potencial ou efetivamente prejudiciais às condições de vida e saúde das gerações atuais ou futuras. Pode-se sintetizar este conjunto de ações pelo conceito de desenvolvimento ou modelo de desenvolvimento, caracterizando um processo histórico no qual se superpõem dinâmicas de diferentes naturezas que abrangem o meio ambiente físico-biológico, a produção, a tecnologia, a organização social, e economia, a cultura, entre outros Garcia, 1994.

A relação entre o ambiente e o padrão de saúde de uma população define um campo de conhecimento referido como “Saúde e Ambiente”. Segundo a Organização Mundial de Saúde 2002, esta relação incorpora todos os elementos e fatores que potencialmente afetam a saúde, incluindo desde a exposição a fatores específicos como substâncias químicas, elementos biológicos ou situações que interferem no estado psíquico do indivíduo, até aqueles relacionados com aspectos negativos do desenvolvimento social e econômico dos países (Organización Panamericana de la Salud, 2000).

Pode-se dizer que a idéia do ambiente como elemento importante para o campo da saúde é antiga, porém sua caracterização em termos científicos tem sido suficientemente vaga e imprecisa para admitir variadas formas e concepções na elaboração de sua (do ambiente) possível relação com a saúde propriamente dita (Auroca e cols.,1976; Quadra e cols., 1979). Invariavelmente, este ambiente tem sido visto como meio externo, muitas vezes considerado como simplesmente o cenário onde se desenrolam os acontecimentos ou os processos especiais de uma determinada doença ou grupo delas. O ambiente natural ou social é, pois, o elemento interativo, por excelência, das relações produção/ambiente/saúde (Tambellini e Magalhães, 1996).

De acordo com Tambellini e Magalhães (1996) a questão ambiente/saúde deve ser vista a partir de uma medicina social que vai englobar esta interação de várias formas. Deste modo, o conceito fundamental pode passar a ser categorizado e analisado do ponto de vista científico, e o processo saúde-doença com seus determinantes e condicionantes históricos, genéticos e estruturais (biopsíquicos, sociais e ecológicos) que neste processo se manifestam. Assim, ao interagirem tais condicionantes (externos ao sujeito ou internalizados) com o seu próprio alvo (indivíduo/coletividade) e no interior de um processo complexo, ocorre sua particularização na dependência dos elementos em jogo e suas características específicas (capacidade de produzir dano/lesar, capacidade de se defender/responder).

Segundo Beltran (2002) as relações entre ambiente e saúde são amplamente reconhecidas: “o ar que respiramos, a água que bebemos, o alimento que comemos determinam nossa qualidade de vida”. Em última análise, a saúde do homem depende da capacidade da sociedade de gerir a interação entre as atividades humanas e o ambiente físico, químico e biológico. Rigotto e cols. (2003) afirmam que todo o perfil de adoecimento e morte de uma população poderia ser interpretado no contexto da relação sociedade-natureza. Estes autores defendem que a doença é sinal da alteração do equilíbrio homem-ambiente. Assim, seria possível questionar de que maneira as inter-relações entre o modo de vida urbano-industrial – que envolve sedentarismo, alimentação do tipo *fast food*, estresse, cigarro e bebida alcoólica, migração e mudanças culturais - podem influenciar a saúde do homem. Portanto, estes autores demonstram que o conceito de “ambiente” é bastante amplo e complexo e pode ser exemplificado não só por poluição atmosférica, mas também por fatores

como tabagismo, o consumo de álcool, de drogas ou fármacos, exposição tóxica, instrução e status socioeconômico.

Além destes, a influência da dieta é o fator ambiental a que todos nós estamos permanentemente expostos. Conseqüentemente, os hábitos dietéticos são os fatores ambientais mais importantes, que podem modular o efeito do perfil genético durante toda a extensão da vida do indivíduo (Ordovas e Corella 2004).

Especificamente com relação aos níveis de triglicerídeos, os fatores ambientais relacionados a esta característica já foram identificados, e são denominados de “fatores de risco clássicos”. Assim, além dos fatores genéticos ainda não completamente identificados, também estão relacionadas ao aumento dos níveis de triglicerídeos as seguintes características ambientais e antropométricas: sobrepeso ou obesidade, acúmulo de gordura na região abdominal, estresse, ingestão de álcool, tabagismo, sedentarismo, além de uma dieta com alto teor de gordura saturada, e carboidratos (Schiavo e cols, 2003; Ruidavets e cols, 2002; Després e cols., 2000; Lewis-Barned e cols., 1999; Stefanick, 1999).

1.5 Interação gene ambiente

Os estudos sobre as interações gene-ambiente têm como objetivo descrever como as características genéticas e fatores ambientais influenciam conjuntamente o risco de desenvolver uma doença. Estas interações gene-ambiente podem ser descritas utilizando-se vários modelos, os quais levam em conta as várias maneiras pelas quais os efeitos genéticos podem ser modificados pela exposição. Segundo Hunter e cols. (2005), estimarmos somente as contribuições em separado dos genes e do ambiente para uma doença, e ignorar as suas interações, estaremos estimando de forma incorreta a influência destes fatores sobre estas doenças.

Apesar de muitas informações sobre os fatores de risco genéticos e ambientais, existem relativamente poucos exemplos de interação gene-ambiente robustas e replicadas na literatura epidemiológica “Hunter e cols 2005”.

Em relação a doenças cardiovasculares, evidências sugerem que aqueles fatores de risco já estabelecidos, como uma dieta inadequada, sedentarismo e hábito de fumar, explicam

50 a 75% da incidência na população (Wright e cols, 2002). Entretanto, para qualquer doença ou característica multifatorial, os genes agem em complexa interação com o ambiente, sendo necessários, mas não suficientes para causá-las. Em muitos casos, os efeitos de alelos deletérios parecem ser expressos somente na presença de algum fator ambiental desencadeador, ou mesmo impedidos de se manifestar devido à presença de um fator ambiental protetor. Um bom exemplo são os níveis de lipídeos e lipoproteínas: um indivíduo pode ter perfil genético relacionado com a deterioração de seu perfil lipídico, mas se mantiver hábitos de vida saudáveis, a chance de ter seus níveis alterados diminui (discutido por de Andrade e cols, 2003).

Wright e cols (2002), em um trabalho de revisão sobre a interação gene-ambiente, listam e discutem as diferentes maneiras de interação que podem ser detectadas em uma investigação. Uma interação aditiva ocorre quando há uma simples soma dos efeitos genéticos e ambientais; já a interação sinérgica ou multiplicativa não é uma simples soma de fatores, neste caso há um fator ambiental, por exemplo, que potencializa o efeito do fator genético; e em uma interação antagonista existe um fator ambiental que impede o fator genético de se manifestar.

É importante ressaltar que o estudo das interações gene-ambiente é uma área de extrema importância para a saúde pública, possibilitando a identificação dos grupos de alto risco para diversas doenças, além da prática de intervenções preventivas, com a eliminação dos fatores exógenos que, ao interagirem com os genéticos, fatalmente causariam a doença (Wright e cols, 2002).

1.5.1 Interação entre genes, hábitos de vida e fatores antropométricos sobre o perfil lipídico

Na última década, algumas investigações têm tentado estabelecer de que maneira cada fator de risco clássico interage com o perfil genético do indivíduo, influenciando uma determinada característica final do metabolismo. A Tabela 2 mostra alguns exemplos de estudos que já foram realizados relacionando esta interação de genes relacionados ao perfil lipídico, com fatores ambientais e antropométricos nas alterações dos níveis de lipídeos de forma geral. Embora alguns estudos já tenham realizado esta abordagem, nenhum trabalho investigou de que maneira esta interação ocorre especificamente com o gene da apo AV.

Tabela 2 – Exemplos de investigações de interação gene-ambiente realizadas até o momento.

Gene	Polimorfismo (Alelo)	Lipídeos ou lipoproteína alterada	Interação com ambiente	Referência
<i>APOE</i>	E2	ApoB Colesterol Total ↑ TG	* IMC e relação cintura/quadril * IMC (só em mulheres) * Dieta rica em gordura saturada e pobre em poliinsaturada	BOER e cols, 1997
<i>APOE</i>	E4	↑ HDL-C	* Consumo de álcool somente em homens	CORELLA e cols, 2001

<i>APOE</i>	E4		↑ HDL-C	* Consumo de álcool (efeito maior na ausência do alelo)	DJOUSSÉ e cols, 2004
<i>APOE</i>	E2		↓ ApoB	* Exercício físico	THOMPSON e cols, 2004
<i>APOCIII</i>	482C>T		TG	* Tabagismo	TALMU e cols, 2002
			↑ TG	* Tabagismo (fumantes e suscetíveis geneticamente tiveram efeito adverso e multiplicativo nos níveis de TG)	GREENFIELD e cols, 2004
<i>CETP</i>	<i>Taq I</i> (T+)		↓ HDL-C	* Sobrepeso;	
	<i>Taq I</i> (T-)		↑ HDL-C	* Não fumantes e sem excesso de peso;	Revisado por de ANDRADE e cols, 2002.
<i>APOCI</i>			TG e HDL-C	* Tabagismo	
<i>APOCIII</i>					
<i>HL</i>	-250 ^a /G (-250A)		↑ HDL-C	* Consumo de vinho	De ANDRADE e cols, 2004.
<i>SR-BI</i>	Exon 1		↑ HDL-C e ↓	* Sexo (Masc)	
	Exon 8 (alelo raro)		LDL-C;	* Sexo (Fem)	
	Intron 5 (alelo raro)		↓ LDL-C;	* Mulheres ↑IMC	ACTON, 1999
			-↓TG	* Sexo (Masc)	

1.5.2 Influência da dieta e a interação com o perfil genético – a nutrigenética

Dentre os fatores ambientais que mais influenciam os níveis de triglicerídeos está a composição da dieta. Sabe-se que uma dieta rica em gorduras saturadas e carboidratos está fortemente correlacionada com o aumento dos níveis plasmáticos deste lipídeo (Shil e cols, 2003). Embora a influência da dieta já esteja estabelecida a bastante tempo, poucos estudos têm tentado determinar se este fator possui o mesmo impacto sobre o perfil lipídico em todos os indivíduos, ou se este impacto é diferenciado de acordo com a constituição genética.

Assim, a “nutrigenética” é considerada uma linha de pesquisa promissora, que visa prevenir o aparecimento de patologias, atuando especialmente na prevenção primária. Seu objetivo é determinar qual o perfil genético de um paciente que estará relacionado a uma resposta maior ou menor à intervenção dietética, ou a um determinado hábito alimentar, para no futuro, poder indicar modificações nutricionais personalizadas (Ordovas, 2004). Os fatores da dieta influenciam profundamente os níveis e o metabolismo das lipoproteínas e lipídeos que, por sua vez, alteram a suscetibilidade dos indivíduos em relação à aterosclerose. Gorduras, colesterol, fibras, proteínas, consumo de álcool e balanço energético da dieta são fatores que tem grande influência (Shil e cols, 2003).

Alguns autores já relacionaram variações em diferentes genes com diferentes respostas à dieta, enfocando especialmente modificações na porcentagem de gordura saturada e conseqüentes modificações no perfil lipídico de acordo com o perfil genético. Assim, portadores do alelo *E*4* do gene da apo E demonstram uma resposta muito mais acentuada de aumento dos níveis de LDL-C de acordo com o aumento da porcentagem de gordura saturada na dieta, quando comparados com portadores dos outros alelos do gene *APOE* (Loktionov e cols., 2000). O gene da apo B também foi investigado neste sentido, e foi demonstrado que portadores do alelo X+ que possuem uma dieta rica em gorduras saturadas tem níveis de LDL-C mais fortemente aumentados, em relação aos homozigotos para o alelo X-, em contato com o mesmo tipo de dieta (López-Miranda, 2000). Esta mesma investigação demonstrou uma forte correlação inversa entre aumento de ingestão de gorduras insaturadas e níveis de triglicérides, somente em homozigotos para o alelo X-. O gene do receptor de HDL-C (SRB1) foi também investigado neste sentido, demonstrando uma forte interação entre a presença do alelo 2Ser e aumento de níveis de LDL-C, na presença de uma dieta rica em gorduras saturadas (Pérez-Martinez e cols., 2003). Embora estes trabalhos demonstrem a presença entre fatores genéticos e ambientais, como a dieta, na determinação dos níveis lipídicos, nenhuma investigação neste sentido foi realizada com o gene *APO AV* até o presente momento.

2 JUSTIFICATIVA

A predisposição genética a altos níveis de triglicerídeos plasmáticos tem sido intensamente avaliada nos últimos 15 anos, sendo que dezenas de polimorfismos poderiam influenciar este parâmetro. Um destes genes codifica a apo AV, e o polimorfismo -1131T/C parece estar associado a estes níveis, que em geral se apresentam mais elevados em portadores do alelo -1131C do que em homozigotos -1131T/T, uma associação observada tanto em homens como em mulheres.

Uma vez que esta característica é influenciada por um grande conjunto de fatores, tanto genéticos quanto ambientais, e vários destes fatores podem variar entre diferentes populações, se torna necessária a investigação do papel deste gene sobre os níveis de triglicerídeos em nossa população. A única investigação realizada no Brasil até o momento, não foi focada na influência deste SNP sobre o perfil lipídico, e assim, se conhece somente a frequência do alelo raro, em uma população de idosos da cidade de São Paulo.

Além disto, embora os efeitos de determinados polimorfismos sejam intensamente estudados em várias populações, um número bem menor de estudos tem investigado as interações destes polimorfismos com fatores ambientais. Não existe nenhum dado publicado a este respeito especificamente com relação ao gene *APO AV*, em nenhuma população mundial. É importante lembrar que com a união destes dados e daqueles de outras investigações em nossa população, haverá a possibilidade de, no futuro, identificar o perfil genético de suscetibilidade, e detectar precocemente aqueles indivíduos com alto risco de desenvolver hipertrigliceridemia, na presença de um determinado fator ambiental que pode ser modificado.

Desta maneira, os marcadores de qualidade ambiental investigados no presente trabalho serão: uso de álcool, tabagismo, atividade física, utilização de hormônios e dieta, e a influência destes em conjunto com o genótipo para APOAV será avaliada.

3 OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GERAL

Investigar o polimorfismo -1131T/C no gene *APO A* e sua influência sobre os níveis de triglicerídeos plasmáticos.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Correlacionar os genótipos do SNP -1131T/C no gene *APO A* com os níveis de triglicerídeos plasmático.
- Determinar se a associação entre o SNP -1131T/C e níveis de triglicerídeos ocorre independentemente de fatores ambientais, ou se é dependente de algum destes fatores.
- Investigar se a associação entre o SNP -1131T/C e níveis de triglicerídeos ocorre independentemente de fatores antropométricos, ou se é dependente de algum destes fatores.
- Verificar a correlação entre o SNP -1131T/C e a composição da dieta sobre a variação nos níveis de triglicerídeos.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Amostra

O grupo de indivíduos investigados no presente estudo consiste somente de descendentes de Europeus. A amostra é composta de 333 homens e mulheres adultos da população em geral, selecionados no laboratório de análises clínicas da Faculdade de Farmácia da UFRGS. O projeto original utilizado para a coleta desta amostra foi aprovado pelo Comitê de Ética do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (ANEXO 1), e todos os indivíduos que compõe esta amostra assinaram um termo de consentimento livre esclarecido (TCLE) (ANEXO 2). A seleção dos indivíduos para fazer parte destas amostras obedeceu a alguns critérios de exclusão, tais como: idade inferior a 18 anos, gravidez, Diabetes mellitus, e utilização de hipolipemiantes. Na ocasião da coleta das amostras de sangue, uma entrevista foi realizada com cada paciente, na qual foram obtidos dados de hábitos de vida relevantes para o estudo, como tabagismo, prática de atividade física, consumo de álcool, climatério e utilização de hormônios para as mulheres (ANEXO 3), além de hábitos alimentares (ANEXO 4). Para a execução do presente projeto, qualquer indivíduo que, na época da coleta, estivesse ingerindo algum medicamento que influenciasse os níveis de triglicérides foram retirados da amostra. Assim, critérios de exclusão específicos para este projeto foram a utilização de corticóides, beta-bloqueadores e medicamentos para tireóide.

4.2 Métodos laboratoriais

No momento da coleta da amostra, uma alíquota de 10 ml de sangue periférico foi coletada, com o paciente estando em jejum de 12h. Desta amostra, 5 ml foi utilizada para a dosagem dos níveis lipídicos, e 5 ml para a extração de DNA, utilizando a técnica de Lahiri e Nurnberger (1991).

Um polimorfismo de nucleotídeos simples (SNP) presente na região promotora do gene foi investigado, denominado -1131T/C. Para realizar a genotipagem, o fragmento de interesse no gene *APO AV* foi amplificado pela técnica de PCR, utilizando-se primers descritos na literatura (Talmud e cols., 2002). O produto de PCR foi subsequentemente clivado *overnight* com 7 U da enzima de restrição *Mse I*, e os fragmentos de restrição foram visualizados através de eletroforese em géis de agarose, corados com brometo de etídeo. A presença do sítio de restrição detectou o alelo -1131T e a ausência do mesmo, o alelo -1131C. Em cada reação de clivagem uma amostra genotipada anteriormente como homozigota para o alelo -1131T (homozigota para a presença do sítio de restrição) foi também analisada, com o objetivo de testar se a reação havia sido bem sucedida, e evitar erros na genotipagem.

4.3 Métodos estatísticos

As análises estatísticas foram realizadas através do programa SPSS versão 10.0. O teste T foi utilizado para comparar as médias e o teste Qui-Quadrado para comparar proporções entre dois grupos distintos.

A análise fatorial foi utilizada com o objetivo de identificar fatores que possuam associações com a variável respostas, no caso, níveis de triglicerídeos. Com esta análise também é possível saber o quanto cada fator está associado à variável resposta, e o quanto o conjunto de fatores explica da variabilidade geral dos dados originais. No momento em que uma variável de interação é testada (por exemplo, *APO AV*x tabagismo), a análise possibilita a detecção de efeitos aditivos, sinérgicos ou antagonistas entre os fatores testados. Para a realização desta análise, os valores de triglicerídeos foram transformados para logaritmo natural para que pudesse atingir uma distribuição normal. Os co-fatores utilizados para o ajuste da variável resposta (níveis de triglicerídeos) foram idade, tabagismo, sedentarismo, consumo de álcool, Índice de Massa Corporal ($IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$), circunferência da cintura, além de climatério e uso de hormônios para mulheres. Com o ajuste da variável resposta por estes fatores, a influência não testada foi eliminada, possibilitando a avaliação exclusivamente das variáveis de interesse.

Os dados das fichas de hábitos alimentares foram avaliados por alunas do curso de Nutrição, sob orientação da Prof^a. Ms. Andréa Bulhões, entre agosto de 2005 e julho de 2006. Os alimentos que poderiam ter alguma influência sobre os níveis de triglicerídeos foram agrupados em três grupos:

- grupo 1: frequência de ingestão de doces
- grupo 2: frequência de ingestão de embutidos (presunto gordo, mortadela, morcilha, salame e salsicha)

- grupo 3: frequência ingestão de frutas e verduras

Para cada grupo alimentar, os pacientes foram codificados de acordo com a frequência alimentar: 0 para raramente, 1 para uma vez por semana, 2 para várias vezes por semana e 3 para mais que uma vez ao dia. Para a análise estatística, cada grupo alimentar foi recodificado de acordo com o tamanho das amostras, da seguinte maneira:

- ingestão de doces: uma vez por semana ou menos (53% da amostra) x mais de uma vez por semana (47% da amostra).

- ingestão de embutidos: uma vez por semana ou menos (37% da amostra) x mais de uma vez por semana (63% da amostra).

- ingestão de frutas e verduras: uma vez ao dia ou menos (66% da amostra) x mais de uma vez ao dia (33% da amostra).

Este projeto está inserido no projeto de pesquisa “Investigação do papel do gene *APO AV* sobre os níveis de triglicerídeos e risco de doença aterosclerótica coronariana”, do grupo de pesquisa Qualidade Ambiental e Saúde Humana.

5 RESULTADOS

5.1 Características gerais da amostra

A tabela 3 faz uma descrição geral da amostra estudada, mostrando que os homens apresentam a medida da circunferência da cintura e os níveis de triglicerídeos significativamente mais elevados do que mulheres. Além disso, o sedentarismo foi mais freqüente em mulheres, enquanto que o consumo de álcool foi maior em homens. As freqüências genótípicas para o polimorfismo -1131T/C encontram-se em equilíbrio Hardy-Weinberg ($p=0,199$), sendo que a freqüência encontrada para o alelo raro foi de 39,4%, sem diferença significativa entre os sexos.

Tabela 3 – Características gerais da amostra.

Características	Total (n= 333)	Gênero		P
		Masculino (n=128)	Feminino (n=205)	
Idade (anos)	44,2 ± 15,30	43,7 ± 13,9	43,8 ± 16,25	0.49
Circunferência da cintura (cm)	92,7 ± 12,03	95,6 ± 11,8	90,2 ± 12,03	<0.001
IMC (Kg/m ²)	26,8 ± 4,7	27,0 ± 4,5	27,0 ± 5,0	0.45
Triglicerídeos (mg/dl)	134,4 ± 73,4	143,5 ± 80,5	126,4 ± 68,4	0.006
Sedentarismo	61,6%	52,1%	69,4%	<0.001
Tabagismo	28,1%	34,4%	24,9%	0.14
Uso de álcool ^a	23,4%	38,7%	12,6%	<0.001
Uso de Homônios	-	-	23,6%	-
Climatério	-	-	41,5%	-
<i>APO A</i> (-1131C)	39,4%	39,0%	40,0%	0.87

^amais de um copo/semana de qualquer bebida

Os dados mostrados na tabela 4 descrevem a influência de cada variável isoladamente sobre os níveis de triglicerídeos. Foi possível observar que os níveis de triglicerídeos não foram influenciados isoladamente por hábitos como sedentarismo, tabagismo, utilização de hormônios (anticoncepcionais), consumo de álcool, doces, embutidos, frutas e verduras. Já características como o climatério, circunferência da cintura e IMC, foram associados significativamente com variações nestes níveis. Mulheres após o climatério, indivíduos com circunferência da cintura acima do ponto de corte e IMC maior de 25 possuem níveis de triglicerídeos aumentados, quando testados isoladamente.

O polimorfismo -1131T/C do gene *APO AV* não apresentou nenhuma influência sobre os níveis de triglicerídeos na amostra total.

Tabela 4 – Níveis de triglicerídeos de acordo com as variáveis investigadas

Váriaveis		Triglicerídeos (mg/dl)	p
<i>APO AV-1131T/C</i>	TT	142,5 ± 79,0	0,511
	C+	133,0 ± 72,5	
Sedentarismo ^a	NÃO	129,9 ± 76,9	0,622
	SIM	130,0 ± 71,0	
Álcool	NÃO	128,4 ± 70,7	0,236
	SIM	135,4 ± 80,6	
Tabagismo	NÃO	127,7 ± 73,5	0,571
	SIM	130,21 ± 74,6	
IMC>25	NÃO	109,4 ± 59,9	<0.001
	SIM	146,4 ± 78,3	
Circunferência da Cintura (Homens) ^b	NÃO	132,3 ± 75,6	<0.001
	SIM	179,3 ± 88,2	
Circunferência da Cintura (Mulheres) ^c	NÃO	100,7 ± 54,5	<0.001
	SIM	145,0 ± 70,5	
Climáterio	NÃO	102,9 ± 53,2	<0,001
	SIM	151,4 ± 74,9	
Uso de Hormônios	NÃO	124,4 ± 66,6	0,185
	SIM	113,2 ± 64,46	
Consumo de embutidos ^d	NÃO	120,9± 1,6	0,153
	SIM	113,1 ± 1,7	
Consumo de doces ^e	NÃO	117,4 ±1,6	0,544
	SIM	114,2 ± 1,6	
Consumo de frutas e verduras ^f	NÃO	117,9 ± 1,6	0,275
	SIM	111,9 ± 1,6	

^anão=nenhuma atividade física fora do período de trabalho; sim= ao menos uma vez por semana de atividade física, fora do período de trabalho; ^bsim= circunferência da cintura acima do ponto de corte de 102cm, e não = circunferência da cintura abaixo do ponto de corte de 102cm (Ponto de corte de acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia); ^csim= circunferência da cintura acima do ponto de corte de 88 cm, e não = circunferência da cintura abaixo do ponto de corte de 88 cm (Ponto de corte de acordo com a Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia); ^dsim= consomem embutidos mais de uma vez por semana;não=consomem embutidos uma vez por semana ou menos; ^esim= consomem doces mais de uma vez por semana; não = consomem doces uma vez por semana ou menos; ^fnão= consomem frutas e verduras uma vez ao dia ou menos;sim = consomem frutas e verduras mais de uma vez ao dia.

5.2 Influência do gene *APO AV* sobre os níveis de triglicerídeos e sua interação com fatores ambientais e antropométricos

Nossos dados demonstraram que, em homens, o polimorfismo não influenciou a determinação dos níveis de triglicerídeos. Mulheres portadoras do alelo raro (-1131>C) tiveram os níveis de triglicerídeos levemente mais baixos se comparados aos de homozigotas para o alelo mais comum (-1131T/T), como apresentado na figura 2. Apesar desta aparente direção, não houve significância estatística para influência do sexo, do gene, ou da variável de interação. Uma vez que este dado foi obtido a partir da análise fatorial, e que os co-fatores utilizados na análise foram idade, sedentarismo, tabagismo, consumo de álcool, doces, embutidos, frutas e verduras, circunferência da cintura, IMC, em mulheres também climatério e uso de hormônios, é importante entender que estes valores médios para cada genótipo são valores ajustados por estas variáveis e, portanto, independentes das mesmas.

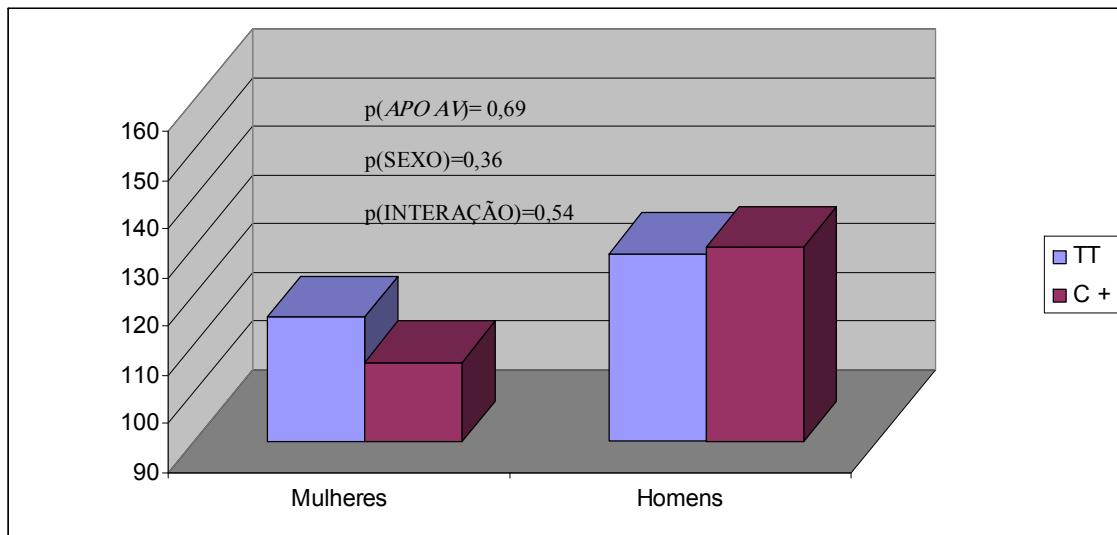


Figura 2. Níveis de triglicerídeos de acordo com o genótipo para *APO AV* em homens e mulheres. (Desvios padrão: **Homens** TT =1,65; C+ =1,66; **Mulheres** TT =1,67; C+ = 1,69).

Utilizando a mesma abordagem estatística, as interações entre o polimorfismo investigado e fatores antropométricos e ambientais foram avaliadas, e estão demonstradas nas próximas figuras. Uma vez que o sexo não influenciou o parâmetro investigado, todas as análises foram realizadas para a amostra total, sem distinção de gênero.

A figura 3 demonstra que indivíduos com sobrepeso ou obesidade ($IMC > 25$) possuem níveis de triglicerídeos aumentados, embora sem atingir significância estatística, e esta relação é independente do genótipo para *APO AV*.

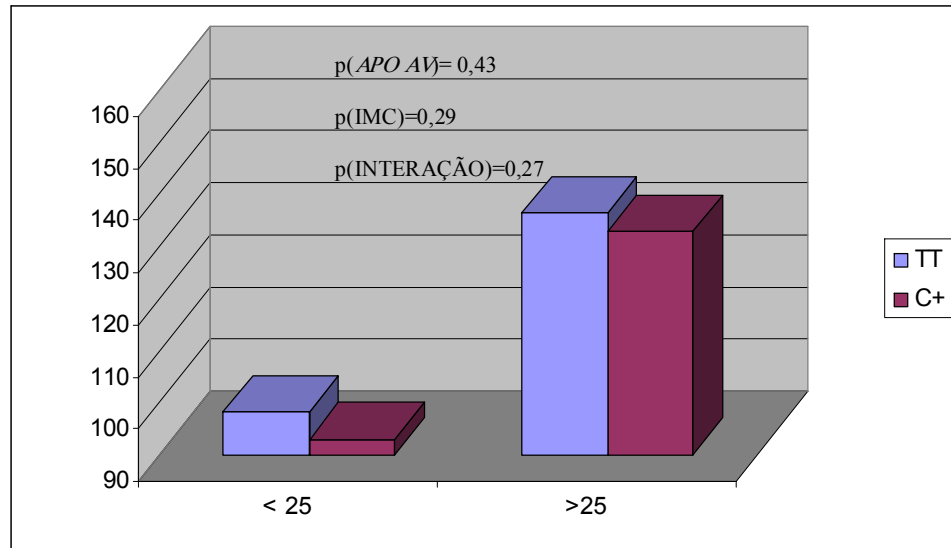


Figura 3. Níveis de triglicerídeos de acordo com o IMC e o genótipo para *APO AV* (Desvios padrão: $IMC < 25$: TT = 1,68; C+ = 1,67; $IMC \geq 25$: TT = 1,56; C+ = 1,57).

Os dados da figura 4 demonstra que a circunferência da cintura está diretamente relacionada ao aumento dos níveis de triglicerídeos, pois indivíduos com uma circunferência acima do ponto de corte determinado pela Sociedade Brasileira de Endocrinologia e Metabologia apresentaram níveis mais altos de triglicerídeos quando comparados com aqueles que estão abaixo do ponto de corte. Esta relação entre a cintura e os níveis de triglicerídeos é independente do genótipo para *APO AV*.

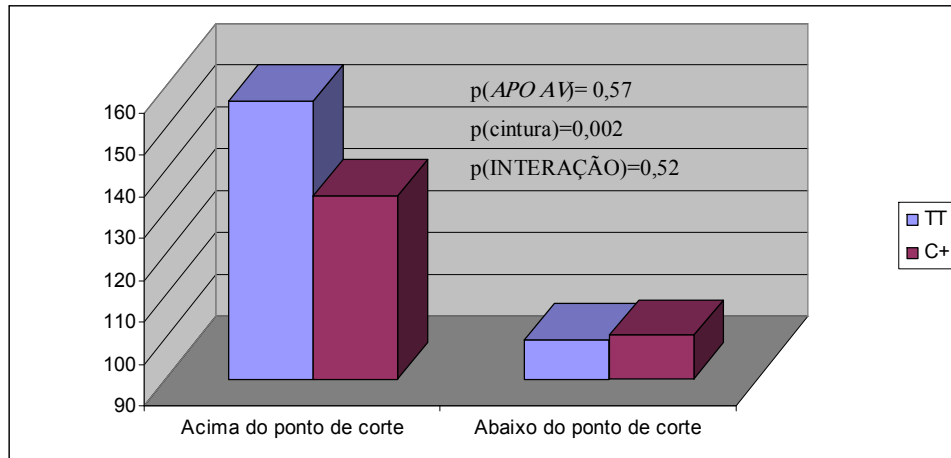


Figura 4. Níveis de triglicerídeos de acordo com a circunferência da cintura. (Desvios padrão: **acima do ponto de corte:** TT =1,62; C+ =1,66; **abaixo do ponto de corte:** TT =1,53; C+ = 1,66).

As figuras 5, 6 e 7 demonstram as análises de interação entre o genótipo e a prática de atividade física, o consumo de álcool e o tabagismo, respectivamente. Estes fatores ambientais não influenciaram na determinação dos níveis de triglicerídeos independentemente do genótipo da *APO AV*(figuras 5, 6 e 7, respectivamente).

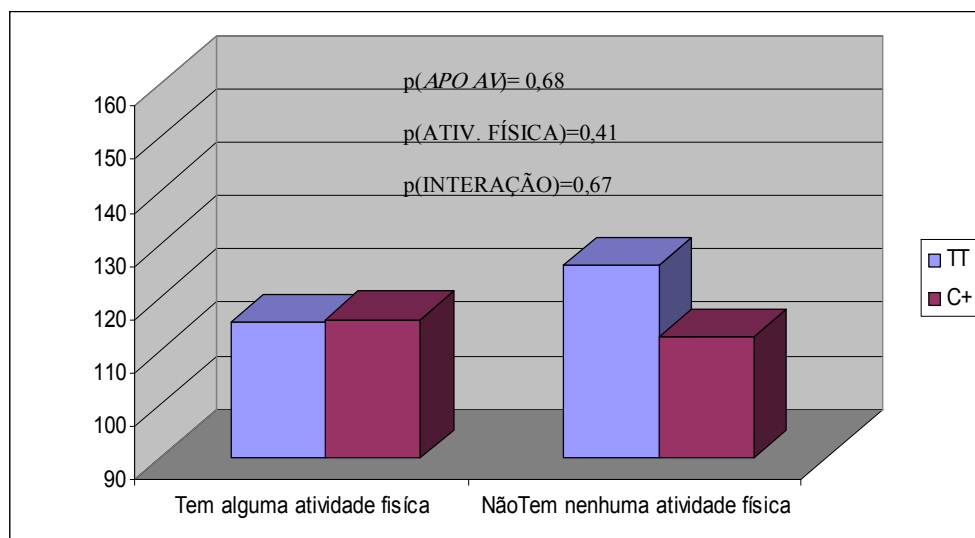


Figura 5. Níveis de triglicerídeos de acordo com a atividade física e o genótipo para *APO AV*. (Desvios padrão: **Sedentários:** TT=1,64; C+ 1,68; **Não sedentários:** TT=1,74; C+=1,63).

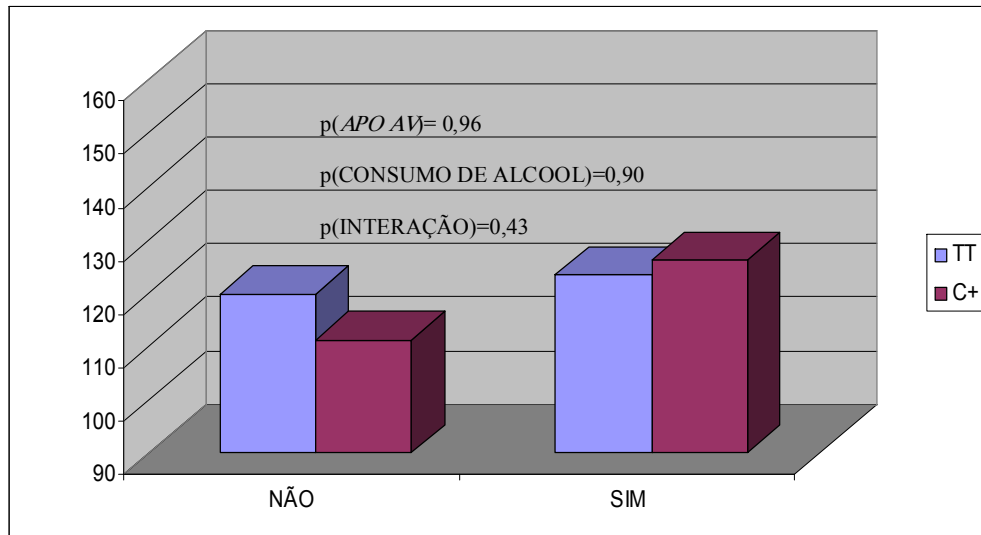


Figura 6. Níveis de triglicerídeos de acordo com o consumo de álcool e o genótipo para *APOA1* em ambos os sexos (Desvios padrão: **Consumem álcool: não:** TT=1,66; C+=1,65; **sim:** TT=1,71; C+=1,72).

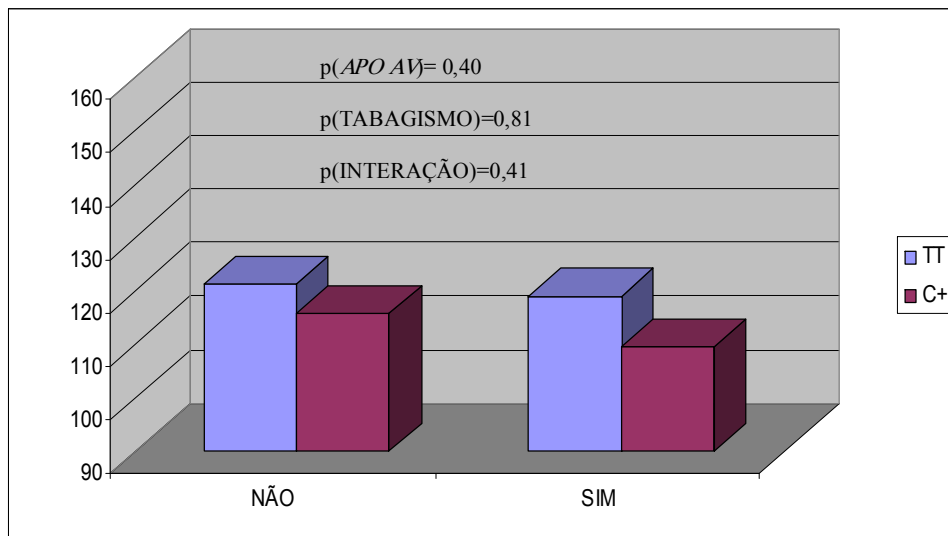


Figura 7. Níveis de triglicerídeos de acordo com o tabagismo e o genótipo para *APOA1* em ambos os sexos (Desvios padrão: **Tabagismo não:** TT=1,68; C+=1,68; **sim:** TT=1,67; C+=1,66).

Na figura 8 estão apresentados os dados de interação entre o polimorfismo investigado e o *status* hormonal em mulheres. A análise demonstra que mulheres no período reprodutivo parecem estar protegidas contra o aumento dos níveis de triglicerídeos, enquanto que aquelas que já passaram pelo climatério apresentaram estes níveis mais elevados, embora

esta diferença não seja significativa. Mulheres no período reprodutivo que utilizam hormônios (anticoncepcionais) parecem estar protegidas do aumento de triglicerídeos, embora esta tendência não seja significativa. Não foi observada uma interação significativa entre genótipo e climatério, ou entre genótipo e uso de hormônios, o que significa que estas tendências são as mesmas, independentemente do fator genético.

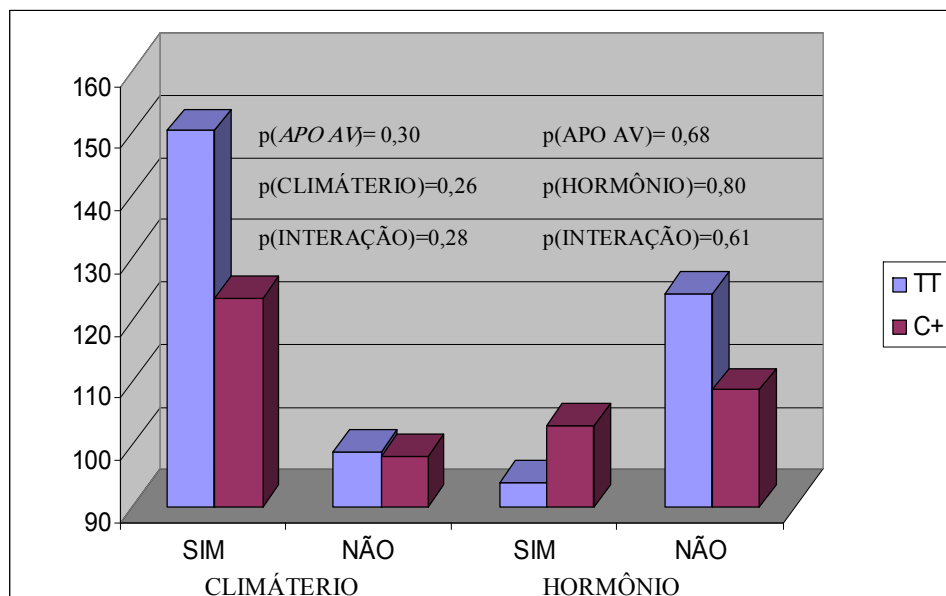


Figura 8. Níveis de triglicerídeos de acordo com o *status* hormonal e o genótipo para *APO AV* em mulheres (Desvios padrão: **Mulheres que não estão no climatério:** TT =1,60; C+ = 1,61; **estão no climatério:** TT =1,53; C+ =1,66; **não ingerindo hormônio:** TT=1,60; C+ =1,65; **ingerindo hormônio:** TT =1,72; C+= 1,64).

5.3 Influência da interação entre hábitos alimentares e o polimorfismo -1131t/c do gene *APO AV* sobre os níveis de triglicerídeos

Uma vez que dieta é um dos fatores ambientais que parece influenciar mais fortemente os níveis de triglicerídeos, alguns hábitos alimentares foram avaliados, e os dados sobre a interação entre estes fatores e o polimorfismo do gene *APO AV* estão demonstrados nas figuras 9, 10 e 11.

O consumo de doces (figura 9) e de frutas e verduras (figura 10) não influenciou significativamente os níveis de triglicerídeos, independentemente do genótipo para *APO AV*. Já o consumo de embutidos teve uma influência sobre este parâmetro (figura 11), mas somente quando foi avaliada a interação entre este hábito alimentar e o polimorfismo

($p=0,04$). Esta interação significativa demonstra que homocigotos para o alelo -1131T possuem níveis de triglicerídeos significativamente aumentados, mas somente na presença de uma dieta com baixo consumo de embutidos.

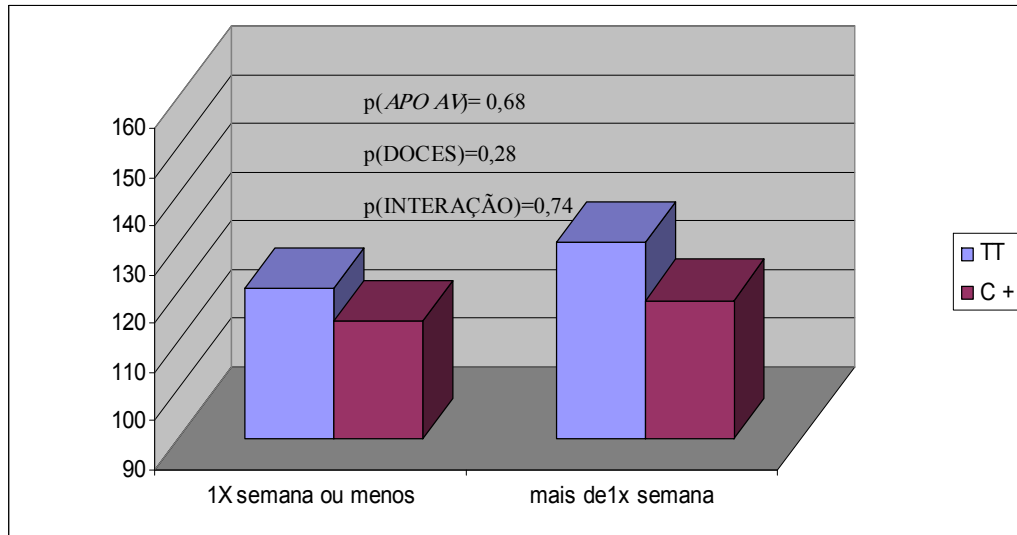


Figura 9. Níveis de triglicerídeos conforme o genótipo *APO A* e o consumo de doces. (Desvio padrão; **Consumem doces 1x semana ou menos:** TT=1,55; C+=1,72; **consumem doces mais de 1x semana:** TT=1,57 ; C+=1,64).

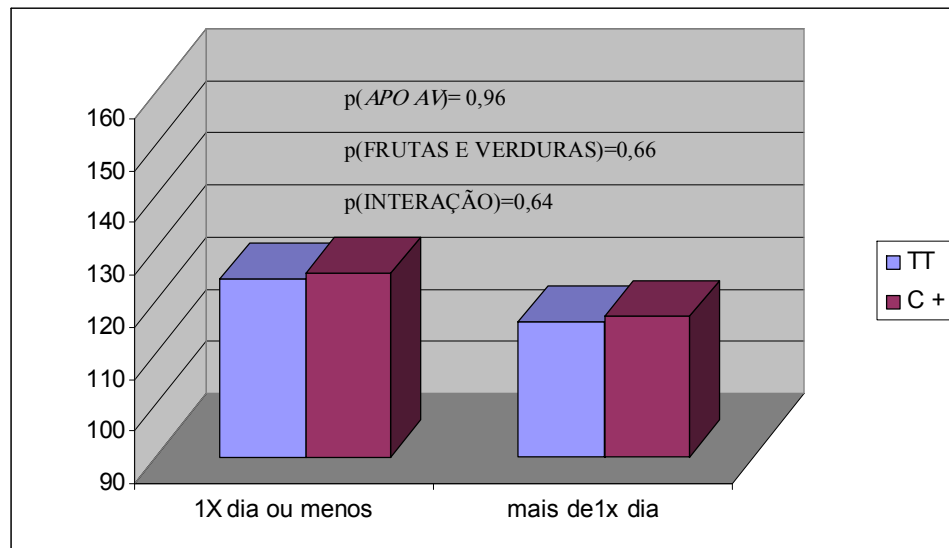


Figura 10. Níveis de triglicerídeos conforme o genótipo *APO A* e o consumo de frutas e verduras. (Desvio padrão; **Consumo de frutas e verduras 1x dia ou menos:** TT=1,55; C+=1,70; **consumo de frutas e verduras mais de 1x dia:** TT= 1,59; C+= 1,66).

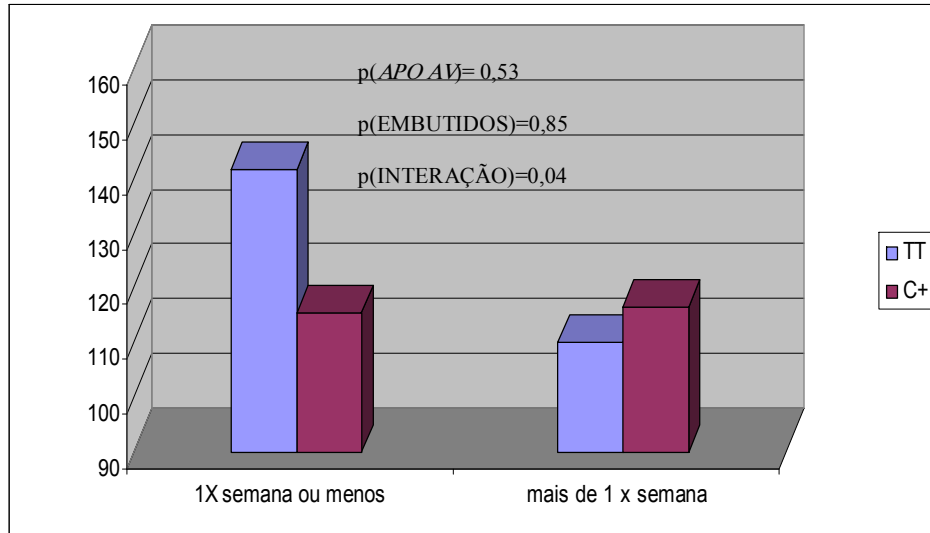


Figura 11. Níveis de triglicerídeos conforme o genótipo *APOA* e o consumo de embutidos. (Desvio padrão; **Consumo de embutidos 1x semana ou menos:** TT = 1,59; C+ = 1,72; **consumo de embutidos mais de 1x semana:** TT = 1,48; C+ = 1,67).

6 DISCUSSÃO

A frequência do alelo -1131C encontrada na população estudada foi de 39,4%, enquanto que estudos realizados em populações Européias e dos Estados Unidos da América mostraram frequências mais baixas deste alelo, variando de 8,4 a 13,3%, conforme demonstrado na tabela 1, e em São Paulo uma frequência de 15,8%. Outras populações, especialmente asiáticas, apresentaram frequências superiores deste alelo, chegando a 34% em japoneses (tabela 1), mas estes valores não parecem ter relação com aquele encontrado na população de Porto Alegre, uma vez que a constituição étnica da população do Rio Grande do Sul não conta com a participação expressiva de asiáticos. A única investigação disponível com uma população Afro-descendente detectou uma frequência de 12% para este alelo (Pennachio e cols, 2002). Uma possibilidade para a alta frequência do alelo -1131C em nossa amostra seria a de miscigenação de nossa população, a princípio derivada de Europeus, com outros grupos étnicos, principalmente Africanos e indígenas Sul-Americanos, mas o pequeno número de publicações em populações européias (especialmente alemães, portugueses e italianos) e africanas dificulta a comparação de nossos dados com estes grupos étnicos, que seriam os principais formadores de nossa população. Assim, com os dados disponíveis na literatura não é possível inferir que a frequência alélica encontrada no presente trabalho seja devida à miscigenação de nossa população. Outra possibilidade para a alta frequência alélica encontrada, é a existência de clivagem parcial pela enzima de restrição, no momento da genotipagem das amostras de DNA, o que causaria um excesso de heterozigotos. Embora as frequências genotípicas estejam em equilíbrio de Hardy-Weinberg, esta possibilidade não pode ser excluída, e o DNA dos heterozigotos encontrados já está sendo avaliado novamente, com uma enzima de restrição de outra marca.

A análise de associação não detectou nenhuma influência do polimorfismo sobre os níveis de triglicérides, independente da abordagem estatística utilizada. Um teste t simples,

que não leva em conta nenhuma co-variável, demonstrou que não existe diferença significativa entre genótipos ($p=0,511$), conforme demonstrado na tabela 4. Quando esta diferença foi testada em testes multivariados, que ajusta a variável resposta por fatores de confusão, ainda assim a influência do gene não se tornou aparente (figuras 2 a 11). Assim, a influência do SNP -1131T sobre os níveis de triglicerídeos não foi observada em nosso estudo, embora a grande maioria das investigações publicadas até o momento tenha detectado uma influência significativa deste polimorfismo sobre os níveis de triglicerídeos (tabela 1). Uma possível explicação para esta diferença é o tamanho amostral, uma vez que nossa investigação contou com 333 indivíduos, e os dados da literatura são de amostras de ao menos 500 indivíduos. Com relação a este possível problema, para a confecção do artigo científico, esta amostra já está sendo aumentada.

Com relação à influência de fatores antropométricos sobre os níveis de triglicerídeos, é interessante perceber que existiu uma discrepância de resultados dependendo da abordagem estatística realizada. A tabela 4 demonstra os resultados de testes t, nos quais o sobrepeso e obesidade (medidos pelo IMC), e a deposição de gordura abdominal (medida pela circunferência da cintura) foram fortemente associados com os níveis de triglicerídeos, de acordo com o que já se encontra estabelecidos na literatura (Després, e cols. 2000; Santos e cols, 2001). Já quando estas variáveis foram testadas em análises multivariadas, a influência destes fatores não pode ser percebida (figura 3), ou sua influência foi menor (figura 4), e o motivo desta aparente disparidade é o fato da análise multivariada apresentar o resultado ajustado por co-fatores. Na figura 3, a influência do IMC foi aparente, mas não atingiu significância estatística, provavelmente porque se trata de uma influência conjunta entre IMC e circunferência da cintura. Assim, quando avaliada em teste t, esta influência é significativa, pois está demonstrando a influência vinculada à circunferência da cintura, e, portanto mais forte. No momento em que uma abordagem estatística possibilita o ajuste pelo fator de confusão (no caso, a circunferência da cintura), a influência do fator avaliado se torna mais fraca, e pode não atingir a significância estatística. Uma situação similar acontece na figura 4, onde a circunferência da cintura é avaliada, e o IMC entra como variável de ajuste, mas neste caso, a variável testada ainda permanece significativa, demonstrando que estes dois parâmetros são muito correlacionados, mas a circunferência da cintura possui uma influência maior sobre os níveis de triglicerídeos, quando comparada à deposição de gordura periférica, avaliada pelo IMC.

Com relação às outras variáveis não-genéticas testadas, embora a literatura tenha documentado a influência de fatores ambientais sobre os níveis de triglicerídeos (Schiavo e cols, 2003; Ruidavets e cols, 2002; Després e cols, 2000; Lewis-barned e cols, 1999; Stefanick, 1999), não foi possível comprovar a influência destas variáveis testadas (uso de álcool, tabagismo, sedentarismo e utilização de hormônios) sobre os níveis de triglicerídeos, conforme dados mostrados nas figuras de 5 a 8. Aparentemente, esta possível falha em detectar estas influências se deveu ao limitado tamanho de nossa amostra.

A mesma limitação provavelmente está relacionada com os dados encontrados sobre a interação entre gene e dieta. Sabe-se que os alimentos investigados influenciam o perfil lipídico, incluindo a influência sobre os níveis de triglicerídeos. Os embutidos, no nosso estudo representado por presunto gordo, mortadela, morcilha, salame e salsicha, assim como os demais produtos de origem animal, possuem características relevantes no desenvolvimento das DCV. São compostos de gordura saturada e colesterol dietético, que elevam o colesterol e os triglicerídeos plasmáticos. O principal ácido graxo saturado responsável por esta elevação é o ácido palmítico, principalmente encontrado em produtos de origem animal (Grundy e Denke, 1990; Santos e cols, 2001). Além disto, uma dieta a base de frutas e verduras apresenta relação protetora do desenvolvimento das DCV. Estes alimentos são compostos de vitaminas, minerais, fibras solúveis e insolúveis e flavonóides (Philippi, 2003). As fibras da dieta mostram ação na diminuição do colesterol e triglicerídeos por pelo menos três mecanismos além da simples substituição dos ingredientes ricos em gorduras da dieta. Primeiro: as fibras podem atuar como agente sequestrador de ácidos biliares, segundo: as fibras provavelmente reduzem as taxas de aumento da insulina pela redução da velocidade de absorção de carboidratos, e terceiro: as fibras podem produzir ácido graxo de cadeia curta, que inibem a síntese de colesterol (Shils e cols, 2003). Ainda assim, a influência de uma dieta rica em frutas e verduras não foi significativa, independentemente do genótipo para *APO AV* (figura 10), assim como a influência do consumo de doces (figura 9).

No entanto, uma interação *borderline* foi detectada entre o consumo de embutidos e o polimorfismo -1131T/C (figura 11). Esta interação ainda não foi demonstrada na literatura, uma vez que não existe nenhum artigo na área da nutrigenética, com o gene *APO AV*. De acordo com nossos dados, os indivíduos com maior propensão a ter níveis de triglicerídeos aumentados devido a uma dieta rica em gordura são os portadores do alelo -1131C, o que estaria de acordo com o efeito deletério deste alelo já detectado em investigações em outras

populações. No entanto, o aumento de triglicérides em homocigotos para o alelo -1131T, em indivíduos com uma dieta com baixo consumo de embutidos não pode ser explicado, a não ser por um erro do tipo II, o que deverá ser solucionado com o aumento do tamanho amostral.

A partir do conhecimento alcançado com estudos de características de etiologia multifatorial, como o presente projeto, espera-se conseguir identificar indivíduos suscetíveis para o desenvolvimento destas doenças. Com o aumento do tamanho amostral do presente estudo, em conjunto com dados de outros genes em nossa população, além de estudos em outras populações, será possível determinar o papel da interação entre gene e ambiente sobre as alterações nas concentrações de triglicérides, que poderiam aumentar o risco de desenvolvimento de complicações cardiovasculares. Assim, no futuro, este conjunto de dados possibilitará a determinação de uma intervenção dietética personalizada, e de uma detecção dos fatores de risco mais importantes em cada indivíduo, de acordo com o perfil genético de cada um, atuando, deste modo, na prevenção primária de doenças cardiovasculares.

7 CONCLUSÕES

1. A frequência do alelo -1131C foi de 39% em homens e 40% em mulheres, não havendo diferença significativa entre os sexos ($p = 0,87$).
2. Não houve associação significativa entre o polimorfismo -1131T/C do gene *APO AV* a determinação dos níveis de triglicerídeos, em ambos os sexos .
3. Foi observado que mulheres no climatério tem uma concentração de triglicerídeos maior do que aquelas que ainda não se encontram neste período ($p < 0,001$), mas não foi observado a influencia do polimorfismo no aumento de triglicerídeos ($p = 0,280$).
4. Não foi observada nenhuma interação entre o polimorfismo do gene *APO AV* e a utilização de hormônios ($p = 0,615$);
5. Quando avaliado separadamente (teste t), o IMC mostrou estar relacionado a variações nos níveis de triglicerídeos, ou seja, indivíduos com $IMC > 25$, apresentaram os níveis de triglicerídeos mais elevados do que aqueles com o IMC normal;
6. Quando avaliado com a abordagem multivariada (análise fatorial), a influência do IMC sobre os níveis de triglicerídeos deixou de ser significativa, provavelmente devido à influência conjunta da circunferência da cintura.
7. A circunferência da cintura esteve diretamente relacionada ao aumento dos níveis de triglicerídeos independente do genótipo da *APO AV* e das outras variáveis investigadas.
8. Não houve uma diferença significativa de aumento de triglicerídeos em indivíduos que praticavam ou não alguma atividade física, ou que são consumidores de álcool ou tabagistas, independentemente do polimorfismo do gene *APO AV*.
9. O consumo de doces, frutas e verduras não foi associado com níveis de triglicerídeos, independentemente do gene *APO AV*.

10. Foi observada uma interação significativa entre o polimorfismo do gene *APO AV* e o consumo de embutidos ($p = 0,041$), demonstrando que o alelo raro influencia aumentando os níveis de triglicerídeos comparando aos homocigoto TT, mas somente em indivíduos que possuem um grande consumo de embutidos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acton, Susan e cols.(1999) Association of polymorphisms at the SR-BI gene locus with plasma lipid levels and Body Mass Index in a white population. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, 19: 1.734-1.743.
- Aouizerat B. E., Kulkarni M., Heilbron D.e cols. (2003) Genetic analysis of a polymorphism in the human apoA-V gene: effect on plasma .lipids.**Journal of Lipid Resc.** 44: 1167 – 1173.
- Auroca ASS. 1976. O Dilema Preventivista. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, nimeo.
- Austin, M. A., Hokanson, J. E. (1994). Epidemiology of triglycerides, small dense-low density lipoprotein, and lipoprotein (a) as risk factors for coronary heart disease. **Medical Clinic of North American**, 78: 99.
- Baum L, Tomlinson B and Thomas GN (2003). APOA5-1131T/C polymorphism is associated with triglyceride levels in Chinese men. **Clin Genet** 63:377-379.
- Becker S., Schomburg L., Renko K.,e cols. (2005). Altered apolipoprotein A-V expression during the acute phase response is independent of plasma triglyceride levels in mice and humans. **Biochemical and Biophysical Research Communications** 339:833-839.
- Beckstead J.A.; Oda MN e cols, Struture- Funtion studies of apolipoprotein A-V: A regulacton of plasma lipid homeostais, **Biochemistry**, 42:9416 – 923.
- Beltran DJ. (1999). The enviromment and Health: Links, gaps, actions in parthership. European Environment Agency. Copanhagem. Disponível em <http://themes.eea.eu.int/Environmental_issues/human>. Acessado em Outubro de 2002.

- Boer, Jolanda M. A. E cols. (1997) Interactions between lifestyle-related factors and the apoe polymorphism on plasma lipids and apolipoproteins – The EARS Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, 17: 1.675-1.681.
- Corella, Dolores e cols. (2001) Alcohol drinking determines the effect of the APOE locus on LDL-cholesterol concentrations in men: the Framingham Offspring Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, 73: 736–45.
- Cotran RS; Kumar V; Collins T; Robbins (2000). Patologia Estrutural e funcional. Ed. Guanabara, Rio de Janeiro,
- Chen E. S., Cendoroglo M. S., Ramos L. R.e cols. (2006). APO A-V – 1131T – C polymorphism frequency and its association with morbidity in a Brazilian elderly population. **Clin Chem Lab Med** 44:32-36.
- De Andrade FM (2003). Interação entre fatores genéticos e hábitos de vida na determinação de níveis de HDL-C e risco de doença coronariana na população de Porto Alegre. Tese de Doutorado. Pós-Graduação em Genética e Biologia Molecular, UFRGS.
- De Andrade, Fabiana M. E HUTZ, Mara H. O componente genético da determinação dos lipídeos séricos. **Ciência e Saúde Coletiva**, (1)7: 175-182.
- De Andrade, Fabiana M. *E cols.* Association between –250G/A polymorphism of the hepatic lipase gene promoter and coronary artery disease and HDL-C levels in a Southern Brazilian population. **Clinical Genetics**, 65: 390-395.
- Després, Jean-Pierre e cols. (2000). RACE, Visceral Adipose Tissue, Plasma Lipids, and Lipoprotein Lipase Activity in Men and Women – The Health, Risk Factors, Exercise Training and Genetics Family Study. **Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology**, 20:1932-1938.
- Dijk K. W. V., Rensen P. C.N, Voshol P. And Havekes L. M. (2004). The role and mode of action of apolipoproteins CIII and AV: synergistic actors in triglyceride metabolism? **Current opinion in Lipidology** 15:239-246.
- Djoussé, Luc e cols. (2004)Apolipoprotein E polymorphism modifies the alcohol-HDL association observed in the National Heart, Lung, and Blood Institute Family Heart Study. **American Journal of Clinical Nutrition**, 80: 1639-1644.

- Galton DJ, Ferns GAA (1999). Genetic markers to predict polygenic disease: a new problem for social genetics. **Q J Med**: 92:223-232.
- Garcia R., e cols, 1994, Interdisciplinarietà y sistemas complejos.(eds) – **Ciencias Sociales y Formacion Ambiental**. Ed. Gedisa, Barcelona.
- Groenendijk M, C. RM, de Bruin TW, Dallinga-Thie GM (2001). The apo AI-CIII-AIV gene cluster. **Atherosclerosis**, 157:1-11.
- Grosskopf I., Baroukh N., Lee S.J., e cols. (2005). Apolipoprotein A-V Deficiency Results in Marked Hypertriglyceridemia Attributable to Decreased Lipolysis of Triglyceride-Rich Lipoproteins and Removal of Their Remnants. **Arterioscler Tromb Vasc Biol**, 25:2573-2579.
- Greenfield, J. R. e cols. (2004). Do gene-environment interactions influence fasting plasma lipids? A study of twins. **European Journal of Clinical Investigation**, 34: 590-598.
- Gus, Iseu; FISCHMANN, Airton; M. Cláudio. (2002) Prevalência dos fatores de risco da Doença Arterial Coronariana no estado do Rio Grande do Sul. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, 78: 478-483.
- Grundty, S. M.; DENKE, M. A., (1990). Dietary influences on serum lipids and lipoproteins. **The Journal of Lipid Research**, 31: 1149-1172,
- Hokanson JF, Austin MA (1996). Plasma triglyceride level is risk factor for cardiovascular disease independent of high-density lipoprotein cholesterol level: a meta-analysis of population based prospective studies. **J Cardiovasc Risk**, 3:231-219.
- Horínek A., Vráblík M., Ceska R., e cols. (2003). T-1131 – C polymorphism within the apolipoprotein AV gene in hypertriglyceridemic individuals. **Atherosclerosis** 167: 369-370.
- Hunter David J. (2005). Gene-Environment Interactions in Human Diseases. **Nature Publishing Group**, 6: 287-298.
- James W. Gallagher e cols, (2003) Structure and Interfacial Properties of Human apolipoprotein A-V. **Journal of Biological Chemistry**, 278: 34438-34444.
- Jang Y., Kim J. Y., Kim O. Y., e cols (2004). The- 1131T-> C polymorphism in the apolipoprotein A5 gene is associated with postprandial hypertriglyceridemia;

elevated small, dense LDL concentration; and oxidative stress in nonobese Korean men. **Am J Clin**, 80:832-40.

Lai C.Q., Tai E.S., Tan C.E., e cols.(2003). The APOA5 locus is a strong determinant of plasma triglyceride concentration across ethnic groups in Singapore. **Journal of Lipid Research**, 44: 2365-2373.

Lewis-Barned, Nicholas J e cols. (1999). Plasma Cholesterol Esterification and Transfer, the Menopause and Hormone Replacement Therapy in Women. The **Journal of Clinical Endocrinology Metabolism**, 84: 3534 – 3538.

López M.J, Marín C, Castro P, e cols (2000).The effect of apolipoprotein B xbai polymorphism on plasma lipid response to dietary fat. **Eur J. Clin Invest**, 30: 678-684.

Martinelli N, Elisabetta T., Antonella B., e cols, (2006) “ *in press*”. The -1131T> and S19W APOA5 gene polymorphisms are associated with high levels of triglycerides and apolipoprotein C-III, but not with coronary artery disease: an angiographic study.

Martins IS, Marucci MFN, Velásquez-Meléndez G., e cols, (1997). Doenças cardiovasculares ateroscleróticas, dislipidemias, hipertensão, obesidade e diabetes melito em população da área metropolitana da região Sudeste do Brasil III – Hipertensão. **Revista de Saúde Pública**, 31:466-71.

Masson Lindsey F. And mcneill Geraldine (2005). The effect of genetic variation on the lipid response to dietary change: recent findings. **Current Opinion in Lipidology** 16:61-67.

Murray, C.J.L.; LOPEZ, A.D. (1997). Mortality by cause for eight regions of the world: global burden of disease study. **The Lancet**, 349:1269-1276.

Nabika T, Nasreen S, Kobayashi S. E cols, (2002).The genetic effect of the apoprotein AV gene on the serum triglyceride level in Japanese. **Atherosclerosis**, 165:2011-204.

Nishimura Y, Terada Y, Mabuchi H (2001). Effects of hepatic lipase gene promoter nucleotide variations on serum HDL cholesterol concentration in the general Japanese population. **J Human Genet**, 46:172-177.

Ordovas, J. M., Corella D., (2004).Nutritional Genomics. **Genomics Human Genetics**, 5: 71-118.

Organización Panamericana de la y el ambiente el desarrollo sostenible. Washington, DC: OPS, 2000.

Organização Mundial de Saúde 2002. disponível em: <http://www.mre.gov.br/edbrasil/itamaraty/web/port/relext/mre/macun/ogespec/coms/index.htm>

Patrick C.N.Rensen Ko Willems van Dijk., e cols., (2005). Apolipoprotein Av Low Concentration, HighImpact. **Arterioscler Thromb Vasc Biol.** 25: 2445-2447.

Penacchio LA, Olivier M, Hubacek JA., e cols., (2001).An apolipoprotein influencing triglycerides in humans and mice revealed by comparative sequencing. **Science**, 294:169-17

Penacchio LA, Olivier M, Hubacek JA., e cols.,(2002). Two independent apolipoprotein A5 haplotypes influence human plasma triglyceride levels. **Hum Mol Genet**, 11:3031-3038.

Pérez-Martínez P, Ordovás JM, López-Miranda J, e cols., (2003). Polymorphism exon 1 variant at the locus of the scavenger receptor class B type I gene: influence on plasma LDL cholesterol in healthy subjects during the consumption of diets with different fat contents. **Am J Clin Nutr** 77:809–13.

Philippi, S.T., **Nutrição e Técnica Dietética**, 1ª Edição. Barueri-SP, Editora Manole, 2003.

Porto M.F. (1998). Saúde, ambiente e desenvolvimento: reflexões sobre a experiência da COPASAD-Conferência Pan-Americana de Saúde e Ambiente no Contexto do Desenvolvimento Sustentável. **Ciência & Saúde Coletiva**, 3: 33-46

Puska P (1986). Possibilities of a preventive approach to coronary: heart disease starting in childhood. **Acta Paediat Scan**, 318(suppl): 229 – 233

Qi, Lu e cols. (2006).Associations of the apolipoprotein A1/C3/A4/A5 gene cluster with triglyceride and HDL cholesterol levels in women with type 2 diabetes. **Atherosclerosis**, (*in press*).

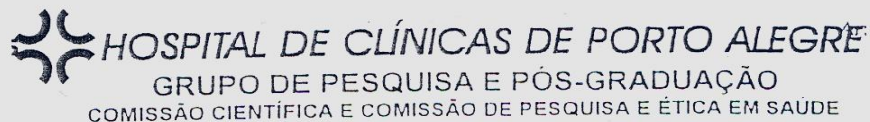
Quadra AA. Viver é resistir, Tese de Mestrado. Instituto de Medicina Social, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, mimeo.

- Razzaghi H, Aston CE, Hamman RF, e cols.,(2000). Genetic screening of the lipoprotein lipase gene for mutations associated with high triglyceride/low HDL-cholesterol levels. **Hum. Genet**, 107:257-267.
- Ribalta J, Figuera L, Fernández-Ballart J, e cols.,(2002). Newly identified apolipoprotein AV gene predisposes to high plasma triglycerides in familial combined hyperlipidemia. **Clin Chem**, 48:1597-1600.
- Rigotto R. M. (2003). Saúde Ambiental e Saúde dos Trabalhadores: uma aproximação promissora entre o Verde e o Vermelho. **Rev. Bras. Epidemiol.** 6:388-404.
- Ruidavets, J-B e cols,(2002) Types of alcoholic beverages and blood lipids in a French population. **Journal of Epidemiology and Community Health**, 56: 24-28.
- Sabroza Paulo C., Leal Maria do Carmo e Buss Paulo M. (1992). A Ética do Desenvolvimento e a Proteção às condições de Saúde. **Cad. Saúde Públ.**, 8: 88-95.
- Santos Raul D., Maranhão Raul C. E cols (1998). Comparação entre Homens e Mulheres Hipercolesterolêmicos de Alto Risco de Desenvolvimento de Aterosclerose: Estudo dos Fatores de Risco e da Resposta ao Tratamento com Pravastatina. **Arq Bras Cardiol**, 70:383-387.
- Schaap, F. G., e cols. (2004). Apo AV reduces plasma triglycerides by inhibiting very low density lipoprotein-triglyceride (VLDL-TG) production and stimulating lipoprotein lipase-mediated VLDL-TG hydrolysis. **The Journal of Biological Chemistry**, 279: 27941-27947.
- Schiavo, Marli; LUNARDELLI, Adroaldo; de OLIVEIRA, Jarbas R. (2004). Influência da dieta na concentração sérica de triglicérides. **Jornal Brasileiro de Patologia e Medicina Laboratorial**, 39: 283-288.
- Shils, M. E., e cols. (2003). **Tratado de nutrição moderna na saúde e na doença**, Volume 1 e 2, 9ª Edição. Barueri-SP, Editora Manole.
- Stefanick, Marcia L. (1999).Physical activity for preventing and treating obesity-related dyslipoproteinemias. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, 31: S609-S618.

- Talmud PJ, Hawe E, Martin S, e cols.(2002).Relative contribution of variation within the APOC3/A4/A5 gene cluster in determining plasma triglycerides. **Hum Mol Genet**, 11:3039-3046.
- Talmud PJ, Martin S, Taskinen M, e cols, (2004). APOA5 gene variants, lipoprotein particle distribution, and progression of coronary heart disease results from the LOCAT study. **Journal of lipid Research**, 45:750-756.
- Tambellini A. Testa e Câmara Volney de Magalhães (1998). A temática saúde e ambiente no processo de desenvolvimento do campo da saúde coletiva: aspectos históricos, conceituais e metodológicos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 3: 47-59.
- Thompson, Paul D. e cols.(2004). Apolipoprotein E genotype and changes in serum lipids and maximal oxygen uptake with exercise training. **Metabolism**, 53: 193-202.
- Vliet der Van Hendrik N., Sammels M.G., Leegwaters A. C. J., e cols.,(2001). A novel apolipoprotein associated with an early phase of liver regeneration. **The Journal of Biological Chemistry**, 276: 44512-44520.
- Zoffi RS, Gerber, Zielinsky P. (1997). Fatores de risco de Aterosclerose na Infância: um estudo Epidemiológico. **Arq Bras Cardiol** 69: 231-236.
- Ward, K.J., e cols. (2003). Genetic variants in apolipoprotein AV alter triglyceride concentrations in pregnancy. **Lipids in Health and Disease**, 2: 9-16.
- Weinberg R. B., Cook V. R., Beekstead J. A., e cols. (2003).Structure and Interfacial Properties of Human Apolipoprotein A-V. **The Journal of Biological Chemistry**, 278: 34438-34444.
- Wung Shu-Fen and Aouizerat Bradley E. (2003). Gender and Ethnic Differences in a Case-Control Study of Dyslipidemia: Using the Apolipoprotein A-V Gene as na Exemplar in Cardiovascular Genetics. **Research and Theory for Nursing Practice: International Journal**, 17:281-299.
- Wright, A. F.; CAROTHERS, A. D.; CAMPBELL, H. (2002). Gene-environment interactions – the biobank UK study. **The Pharmacogenomics Journal**, 2: 75-82.

ANEXOS

ANEXO 1 – PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA



RESOLUÇÃO

As Comissões Científica e a Comissão de Pesquisa e Ética em Saúde, que é reconhecida pela CONEP como Comitê de Ética em Pesquisa do HCPA, reanalisaram o projeto:

Número: 97308

Título: "DETERMINAÇÃO DA VARIABILIDADE GENÉTICA DAS APOLIPOPROTEINAS COMO FATOR DE SUSCETIBILIDADE À DOENÇA CARDIOVASCULAR ISQUÊMICA ATEROSCLERÓTICA".

Autores: Mara Helena Hutz, Alcides Zago, Marco Antonio R. Torres, André F. Vargas, Marilu Fiegenbaum, Fabiana M. de Andrade, Gisele M. Ewald.

- O mesmo foi aprovado, por estar adequado ética e metodologicamente, de acordo com as Diretrizes e Normas Regulamentadoras de Pesquisa envolvendo Seres Humanos (Resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde) e às Resoluções Normativas do GPPG/HCPA. Os autores deverão encaminhar relatórios semestrais sobre o andamento do Projeto.

Porto Alegre, 18 de março de 1998.

Prof^a Themis Reyerbel da Silveira,
Coordenadora do GPPG e CEP/HCPA.

ANEXO 2 - TERMO DE CONSENTIMENTO PARA A PARTICIPAÇÃO NO ESTUDO SOBRE FATORES GENÉTICOS QUE AFETAM OS NÍVEIS DE COLESTEROL E TRIGLICERÍDEOS NA POPULAÇÃO DE PORTO ALEGRE

Através deste documento, consinto em ser entrevistado e em doar uma quantidade de 5 (cinco) mL de sangue, a ser obtida juntamente com a retirada de sangue para os exames dos quais necessito.

Estou ciente de que os objetivos deste estudo são conhecer um pouco mais sobre algumas das causas do aumento dos níveis de colesterol e triglicerídeos. Além disso, sei que os benefícios virão somente a longo prazo, quando será possível prever o risco genético de um indivíduo ter problemas cardiovasculares.




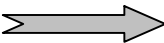
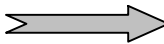
Os resultados do presente estudo estarão a minha disposição tão logo forem obtidos.

Tenho a garantia de que meus dados serão mantidos em sigilo, e que meu nome daqui para frente não será revelado.

Local / data / Assinatura do Paciente

Pesquisadora responsável
Profa. Dra. Mara Helena Hutz
Depto de Genética / UFRGS
Telefone : 3316 – 6720

ANEXO 3 - FICHA DOS PACIENTES

-  1 - JÁ PARTICIPOU DESTE ESTUDO?
 2 - POSSUI MAIS DE 18 ANOS?
 3 - ESTÁ EM JEJUM DE NO MÍNIMO 10 HORAS?
 4- É GESTANTE, COM IDADE DE GESTAÇÃO SUPERIOR A 3 MESES?
 5 - É DIABÉTICO?

IDENTIFICAÇÃO: _____

PRONTUÁRIO: _____

GRUPO ÉTNICO: C N

IDADE _____ PROFISSÃO (ATIVIDADE) _____

SEXO : MASCULINO
 FEMININO { CLIMATÉRIO? SIM NÃO
 INGERE HORMÔNIO? SIM NÃO
DADOS:

- 1 - Complicações cardiovasculares? Sim Não
 2 - História familiar de complicações cardiovasculares? Sim Não
 Pai Mãe Irmão IDADE: _____
 3 - Hipertensão arterial prévia? Sim Não
 4 - Sedentarismo? Sim Não ? _____
 5 - Tabagismo? Sim Maços/dia _____ anos _____
 Não
 6 - Consumo de álcool: Não
 < 1 copo/semana 1- 5 copos/semana >5 copos
 Tipo de bebida ingerida em maior quantidade: _____
 7 - Ingerir algum medicamento? Sim _____
 Não
 11 - Peso _____ Altura _____ Cintura _____ Quadril _____

EXAMES LABORATORIAIS:
 CT _____ mg/dl HDL _____ mg/ dl TRIG _____ mg/ dl
 GLICEMIA _____ mg/ dl

ANEXO 4 - FICHA DE ENTREVISTA SOBRE HÁBITOS ALIMENTARES

Alimento	Raramente	Uma vez por semana	Várias vezes por semana	Mais que uma vez ao dia
Gema de ovo				
Maionese				
Fígado e outros miúdos				
Porco				
Ovelha				
Presunto gordo, mortadela, morcilha ou salame				
Salsicha				
Leite integral				
Queijo amarelo				
Nata				
Creme de leite				
Banha, bacon , toucinho, torresmo ou manteiga				
Chocolate				
Doces				
Pele de frango				
Carne vermelha ou churrasco				
Frituras ou salgadinhos				
Verduras				
Peixe				
Óleo de oliva				
Frutas				

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)