



UNIVERSIDADE LUTERANA DO BRASIL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM DIAGNÓSTICO GENÉTICO e
MOLECULAR

Estudo sobre a relação entre o polimorfismo A-278C presente no gene CYP7A1 (Colesterol 7 α -hidroxilase) e a responsividade à dieta em indivíduos dislipidêmicos do sexo masculino

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Diagnóstico Genético e Molecular da Universidade Luterana do Brasil para obtenção do Grau de Mestre em Diagnóstico Genético e Molecular

Ramissés Chies

Orientadora Prof. Dra. Cláudia Maria Dornelles da Silva

CANOAS
2008

Livros Grátis

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

Milhares de livros grátis para download.

Este trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Molecular da Universidade Luterana do Brasil, subvencionado pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS) e Universidade Luterana do Brasil (ULBRA).

AGRADECIMENTOS

Em essência, dedico esse trabalho à Dra. Cláudia Maria Dornelles da Silva que sem ela nada teria acontecido.

Resumo

É sabido que mudanças na dieta alteram as concentrações de lipídios no plasma e que isso difere significativamente entre os indivíduos. Para esclarecer o mecanismo dessas diferenças interindividuais, nós investigamos o efeito do polimorfismo -278A>C no gene CYP7A1, que codifica a colesterol 7alfa-hidroxilase, em relação a resposta aos níveis lipídicos em um grupo de 82 indivíduos dislipidêmicos submetidos a uma dieta reduzida de gorduras. Os resultados mostraram reduções significativas nas concentrações de colesterol total ($p < 0,001$), LDL colesterol ($p = 0,006$) e triglicerídeos ($p = 0,001$) no plasma após intervenção dietética. O alelo C teve uma freqüência de 43%. Portadores do alelo C apresentaram concentrações significativamente reduzidas de triglicerídeos ($p = 0,02$) em relação aos homocigotos AA. Nenhuma associação do polimorfismo -278A>C em relação às concentrações de colesterol total, LDL e HDL foram observadas. Análise de regressão linear mostrou que os genótipos AC e CC contribuíram para as variações de 6,2% e 5,2% de triglicerídeos totais e de triglicerídeos após a intervenção da dieta, respectivamente. Quando os pacientes foram divididos em hipercolesterolêmicos, hipotrigliceridêmicos e dislipidêmicos mistos, o efeito do polimorfismo -278A>C nas alterações de triglicerídeos foram independentes do tipo de dislipidemia ($p = 0,04$). Em conclusão, o presente estudo fornece evidências de que o polimorfismo -278A>C presente no gene CYP7A1 pode influenciar na modificação dos níveis de triglicerídeos em resposta a alterações na dieta em indivíduos dislipidêmicos do sexo masculino. Colocando esse gene como um potencial locus para a identificação de respondedores durante dietas com reduzida concentração de gorduras e para abordagens nutrigenéticas.

Abstract

It is well known that effect of dietary changes on plasma lipid concentrations differs significantly between individuals. To clarify the mechanism of this interindividual differences, we investigated the effect of the -278A>C polymorphism in the CYP7A1 gene, which encodes cholesterol 7 α -hydroxylase, on the response of plasma lipids to a decreased intake of fat diet in a group of 82 dyslipidemic individuals. There were highly significant reductions in plasma total cholesterol (TC) ($p < 0.001$), low-density lipoprotein (LDL) cholesterol ($p = 0.006$) and trygliceride concentrations ($p = 0.001$) after dietary intervention. The minor allele C has a frequency of 43%. Carriers of the C allele had significantly lower trygliceride concentrations ($p = 0.02$) than AA homozygotes. After adjustment of covariates, AC and CC genotypes showed a greater reduction in triglyceride levels compared to AA genotype. No associations of -278A>C polymorphism with TC, LDL and HDL concentrations were observed. Multiple linear regression analyses showed that the AC and CC CYP7A1 genotypes accounted for 2.6% and 5.2% of the total variation in the triglyceride concentrations and triglyceride levels after dietary intervention, respectively. When patients were divided in hypercholesterolemic, hypetrygliceridemic and mixed dyslipidemic groups, the effect of -278A>C polymorphism on triglycerides changes was independent of type of dyslipidemia ($p = 0.04$). In conclusion, the present study provides evidence that -278A>C polymorphism in CYP7A1 gene can modify the triglyceride levels in response to dietary changes in a dyslipidemic male population, putting this gene as a potential locus to identify responders during lipid-lowering diets and for nutrigenetic directed approach.

ÍNDICE

| | |
|---|----|
| Resumo | 4 |
| Abstract..... | 5 |
| 1. Introdução..... | 7 |
| 1.1 Doenças Cardiovasculares e Dislipidemias | 7 |
| 1.2 Circunferência da Cintura, Índice de Massa Corporal e Relação Cintura/Quadril..... | 8 |
| 1.3 Suscetibilidade Genética | 9 |
| 1.4 Nutrigenética..... | 10 |
| 1.5 Polimorfismo A-278C no gene CYP7A1 Humano..... | 10 |
| 2. Justificativa | 14 |
| 3. Objetivos | 15 |
| 4. Artigo Científico | 16 |
| 5. Conclusões | 37 |
| 6. Referências Bibliográficas | 38 |

1. Introdução

1.1 Doenças Cardiovasculares e Dislipidemias

As doenças cardiovasculares (DCV) são responsáveis, mundialmente, por altas taxas de morbidade e mortalidade. Relatórios da Organização Mundial da Saúde (OMS) de 1997 revelaram que as DCV foram responsáveis por cerca de 30% de todas as mortes que ocorreram no mundo, correspondendo a quase 15 milhões de óbitos por ano, sendo que a maioria (9 milhões) é proveniente dos países em desenvolvimento (BRANDÃO, 2000).

No Brasil, as DCV representam a primeira causa de morte dentre as doenças não transmissíveis. Como fatores de risco estão o tabagismo e o sedentarismo, além de dieta rica em gorduras saturadas, com o conseqüente aumento dos níveis de colesterol e surgimento de hipertensão (ISHITANI, 2006). Em 1950, cerca de 40% dos óbitos no país eram decorrentes de doenças infecto-contagiosas e apenas 12% decorrentes de doenças cardiovasculares. Porém, a partir da década de 90, os índices para doenças infecciosas tornaram-se menores que 10%, enquanto que a freqüência de doenças cardiovasculares elevou-se para 34,5% (OLIVEIRA *et al.*, 2006). Sabe-se ainda que, desde a década de 60, as DCV vêm apresentando aumento progressivo em todo mundo. No Brasil, destacam-se as cidades das Regiões Sul e Sudeste, com alta incidência de doenças isquêmicas (CHOR *et al.*, 1995).

Designam-se dislipidemias as alterações metabólicas lipídicas decorrentes de distúrbios em qualquer fase do metabolismo lipídico, que ocasionem repercussão nos níveis séricos das lipoproteínas (HEGELE, 2001). As dislipidemias são consideradas um dos principais fatores determinantes para o desenvolvimento de DCV. Elevadas concentrações de triglicerídeos (TG), colesterol (CT) e sua fração de lipoproteína de baixa densidade (LDL), associadas à diminuição nos valores de lipoproteína de alta densidade (HDL), aumentam a probabilidade do desenvolvimento dessas enfermidades, principalmente a doença arterial coronariana (SANTOS, 2001).

A Doença Arterial Coronariana (DAC) é uma DCV, e apresenta-se como uma desordem multifatorial, resultado da interação entre fatores genéticos e ambientais, tais

como: dieta, tabagismo e atividade física. Essa condição é usualmente associada a fatores de risco convencionais, como: hipertensão, diabetes mellitus e hipercolesterolemia. Entretanto, em alguns indivíduos, a DAC parece não estar relacionada muito fortemente a fatores ambientais, sugerindo que a constituição genética do indivíduo esteja contribuindo para a predisposição (SANTOS, 2001).

O papel dos lipídios como importante fator da patogênese da DAC está solidamente estabelecido, pois em sua maioria, os exames de avaliação de perfil lipídico incluem análises do CT, LDL, HDL e TG (FREITAS, 2004). Segundo o Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias (1996), o risco de DAC aumenta significativa e progressivamente acima dos valores desejáveis de CT e LDL. Para o HDL, a relação de risco é inversa, pois quanto mais elevado seu valor, menor o risco de DAC. Níveis de HDL acima de 60 mg/dL são considerados “fatores protetores” para o desenvolvimento de DAC. Considera-se que a hipertrigliceridemia (>200 mg/dL) também aumenta o risco de DAC, quando associada a níveis diminuídos de HDL e/ou aumentados de LDL.

1.2 Circunferência da Cintura, Índice de Massa Corporal e Relação Cintura/Quadril

A maioria dos estudos atuais concorda que existe relação entre circunferência da cintura, como melhor indicador de gordura abdominal, e doenças cardiovasculares (DOBBELSTEYN *et al.*, 2001). A OMS preconiza o uso da circunferência da cintura (ponto de corte de 94 cm para homens e 80 cm para mulheres) como medidas de risco metabólico aumentado. A obesidade e, particularmente, a localização abdominal de gordura têm grande impacto sobre a DCV por associarem-se com grande freqüência a condições tais como: dislipidemias, hipertensão arterial, resistência à insulina e diabetes.

Apesar da circunferência da cintura ser o indicador mais associado a DCV, existem estudos que relacionam também o Índice de Massa Corporal (IMC) e a Relação Cintura/Quadril (RCQ). Um estudo realizado no Canadá por DOBBELSTEYN

et al. (2001), com 9913 indivíduos demonstrou que pode ser relevante a relação entre o IMC, a RCQ e a circunferência da cintura. O IMC é reconhecido como padrão internacional para avaliar o grau de obesidade e é calculado dividindo o peso (em kg) pela altura ao quadrado (em metros) (OMS, 2000).

1.3 Suscetibilidade Genética

Nos últimos anos, muitos avanços sem precedentes têm sido alcançados no campo da genética das doenças multifatoriais, tais como cardiopatias, diabetes, obesidade e câncer. A variação dos níveis lipídicos é uma característica de etiologia multifatorial, sendo determinados por uma ampla gama de fatores, tanto ambientais, quanto genéticos. Variações em um grande número de genes envolvidos na síntese de proteínas estruturais e enzimas relacionadas ao metabolismo de lipídeos poderiam responder, a princípio, por variações do perfil lipídico de cada indivíduo (ANDRADE & HUTZ, 2001).

Desta maneira, qualquer gene que seja responsável pela produção de uma proteína envolvida nesta rota metabólica poderia ser um “gene candidato” na investigação de determinantes genéticos dos níveis lipídicos. Assim, o somatório de variações com pequeno efeito em cada um destes genes poderia levar à modificação do perfil lipídico de um indivíduo, predispondo à cardiopatia. Como estas variantes genéticas são bastante freqüentes na população em geral (de 1% a 80%), seu impacto é muito maior na saúde pública quando comparadas com mutações de grande efeito, mas que são muito mais raras (ANDRADE & HUTZ, 2001).

1.3 Nutrigenética

Nutrigenética e nutrigenômica fazem parte de um conjunto multidisciplinar, emergente e promissor que focaliza em estudos da interação entre nutrição, genética e seus efeitos para a saúde, usando novas técnicas e desenvolvendo conceitos derivados em parte do Projeto Genoma Humano (ORDOVAS, 2004).

Segundo FISLER & WARDEN (2005), a nutrigenética e a nutrigenômica são áreas da ciência voltadas ao estudo da interação entre a dieta e o genótipo, bem como suas influências na promoção de saúde e doença. A nutrigenômica está interessada na avaliação sistemática de como os nutrientes modificam a expressão total nas células e tecidos de interesse. A nutrigenética, por outro lado, é uma ciência baseada na observação da resposta à dieta em indivíduos, e testa a hipótese de que diferenças entre os indivíduos podem estar associadas à presença ou não de marcadores biológicos específicos individuais, como os polimorfismos genéticos, os quais podem permitir um prognóstico de resposta individual à dieta (ORDOVAS, 2004).

Em síntese, esta ciência personifica o estudo de diferenças entre o indivíduo e a relação da resposta particular ao nutriente ou a um padrão de dietas, como os guias e/ou orientações alimentares. Esta tem como objetivo auxiliar os campos da saúde pública e prática clínica, encontrando a melhor recomendação dietética para o indivíduo. Segundo ORDOVAS (2006), as evidências estão aumentando da relação gene-dieta com a identificação de associações entre polimorfismos em genes candidatos e fatores dietéticos. Resultados interessantes e consistentes publicados recentemente associam aspectos nutrigenéticos ao polimorfismo A-278C presente no gene colesterol 7- α hidroxilase (CYP7A1) (HUBACEK & BOBKOVA, 2006).

1.4 Polimorfismo A-278C no Gene CYP7A1 Humano

O gene CYP7A1 codifica a enzima colesterol 7- α hidroxilase que atua na conversão do colesterol a ácidos biliares, apresentando implicações diretas sobre a homeostase do colesterol. A síntese dos ácidos biliares é ativada via regulação

transcricional positiva do gene CYP7A1 (MAST *et al.*, 2005; INSULL, 2006). Estudos mais recentes confirmam a hipótese de que o polimorfismo A-278C afeta a síntese de ácidos biliares (LENICEK *et al.*, 2008).

O gene CYP7A1 foi mapeado por COHEN *et al.* (1992) no cromossomo 8q11-q12, apresenta cerca de 10 Kb, 6 éxons, 5 íntrons, uma região 5' não traduzida e uma região 3' não traduzida. A proteína possui 504 aminoácidos, peso molecular de 57,6 kD, um grupo heme e um domínio de ligação aos esteróis. A proteína humana e a de rato compartilham 82% de identidade na seqüência gênica (NOSHIRO & OKUDA, 1990). Flanqueando a região 5', seqüências consenso de reconhecimento para vários fatores de transcrição fígado-específicos foram identificadas (COHEN *et al.*, 1992). Uma região TATA Box e uma CAAT Box modificada também foram identificadas na região promotora do gene CYP7A1 por MOLOWA *et al.* (1992).

Estudos *in vitro* em linhagens celulares derivadas de células humanas têm mostrado que a superexpressão do gene CYP7A1 provoca aumento acentuado da síntese de ácidos biliares, via rota clássica associada à supressão da síntese de colesterol. Esta resposta sugere que a proteína codificada pelo gene CYP7A1 em humanos pode ser estar relacionada com os níveis de colesterol no plasma (PANDAK *et al.*, 2001; LUOMA, 2008).

WANG *et al.* (1998) encontraram uma ligação estatisticamente significativa entre as concentrações de LDL e o polimorfismo A-278C presente na região promotora do gene CYP7A1. As concentrações de LDL foram mais altas nos indivíduos com o genótipo CC, tanto em homens, como em mulheres normolipidêmicas. Interessantemente, as concentrações de HDL foram mais altas nos homens que eram homozigotos para o alelo C.

Em outro estudo com os genes CYP7A1, ApoE e LDLR foi demonstrada associação significativa entre as concentrações de LDL e o polimorfismo A-278C do gene CYP7A1, com sua variação alélica respondendo por 27% do total de LDL (LIN *et al.*, 2005).

HOFMAN *et al.* (2004a) e KOVAR *et al.* (2004) verificaram em estudos independentes, que portadores do alelo C apresentavam níveis significativamente mais altos de colesterol total e LDL do que portadores do alelo A, após um período de dieta rica em gorduras.

Como o mecanismo pelo qual a presença do alelo C altera os níveis lipídicos ainda é desconhecido, acredita-se que indivíduos CC sejam incapazes de fazer a regulação positiva da atividade da enzima CYP7A1, após a ingestão de grandes quantidades de gorduras e colesterol (KOVAR *et al.*, 2004). Estudos realizados sobre a regulação transcricional do CYP7A1 revelaram que a região do promotor entre os nucleotídeos -432 e -220 contém muitos elementos acentuadores (*enhancers*) célula-específicos. É plausível, por isso, que o polimorfismo A-278C possa modular a atividade do gene e, conseqüentemente, a taxa de catabolismo do colesterol (DUEZ *et al.*, 2008; SHIN & OSBORNE, 2008).

A administração de resinas de ligação aos ácidos biliares está associada a um aumento cinco vezes maior da atividade da enzima CYP7A1 e uma redução de 20% na concentração de LDL (INSULL, 2006). Alguns autores, entretanto, salientam que o polimorfismo A-278C pode ser não funcional e que as associações encontradas se devam a um completo desequilíbrio de ligação com outro polimorfismo no mesmo gene ou a outro ainda não identificado no mesmo loco gênico (HOFMAN *et al.*, 2004b; SRIVASTAVA *et al.*, 2008).

Ao contrário dos resultados obtidos nos estudos já citados, ABRAHAMSSON *et al.* (2005) descreveram que o polimorfismo A-278C na região promotora do gene CYP7A1 não contribui para variações na atividade da enzima colesterol 7- α hidroxilase, nas taxas de síntese de ácidos biliares e concentrações de LDL. Estes resultados foram obtidos em estudos de associação entre três grupos de homens de meia-idade e de origem sueca.

Em outro estudo realizado por HOFMAN *et al.* (2004a) sobre o polimorfismo A-278C, foi concluído que o mesmo afetou os níveis de triglicerídeos em homens

normolipidêmicos e os níveis de colesterol total em pacientes com hipertrigliceridemia. Teoricamente, a associação entre o genótipo AA e elevados níveis de triacilgliceróis em normolipidêmicos e hipertrigliceridêmicos poderia ser explicada por um aumento na síntese de ácidos biliares em portadores do genótipo AA.

Estudos recentes têm procurado identificar peptídeos nutritivos (derivados da caseína), capazes de controlar a expressão do gene CYP7A1, uma vez que é conhecido o efeito modulador da proteína CYP7A1 sobre o colesterol (LEE *et al.*, 2008; NASS *et al.*, 2008; POND *et al.*, 2008).

2. Justificativa

Alterações nos níveis lipídicos séricos representam os primeiros fatores de risco para o desenvolvimento e progressão de doenças cardiovasculares. Por isso, estudos genéticos sobre o metabolismo do colesterol e sua relação com o metabolismo dos ácidos biliares têm sido um dos alvos das pesquisas científicas nos últimos anos.

Os estudos nutrigenéticos, ainda insipientes, justificam-se pela necessidade da adoção de um planejamento nutricional criterioso, com base no perfil genético de indivíduos em risco. Estudos das interações gene-dieta poderão auxiliar na diferenciação entre indivíduos “respondedores” e “não respondedores” à intervenção alimentar. Assim, espera-se poder definir aquele indivíduo que se beneficiará apenas com a introdução de uma dieta restrita em gordura, daquele indivíduo que, além do controle dietético, necessitará do uso de uma medicação hipolipemiante.

Diferentes estudos sobre o polimorfismo A-278C do gene CYP7A1 têm apontado a importância dessa variante sobre os níveis lipídicos. Sendo assim, justifica-se o presente estudo, que visa conhecer a influência dessa alteração polimórfica em relação aos níveis lipídicos em resposta à intervenção dietética em uma amostra de pacientes dislipidêmicos do sexo masculino da população do Rio Grande do Sul.

3. Objetivos

A presente proposta de pesquisa possui os seguintes objetivos:

a. Investigar a presença do polimorfismo A-278C presente no Gene CYP7A1 (Colesterol 7- α hidroxilase) em indivíduos dislipidêmicos do sexo masculino, visando contribuir para o conhecimento da freqüência do mesmo na população estudada.

b. Correlacionar a presença do polimorfismo A-278C com dados clínicos, bioquímicos e antropométricos, visando contribuir para uma melhor definição da relação entre genótipo e fenótipo da dislipidemia.

**4. ARTIGO CIENTÍFICO ACEITO PELA REVISTA *BRAZILIAN JOURNAL OF
MEDICAL AND BIOLOGICAL RESEARCH***

Association of CYP7A1 -278A>C polymorphism and response of plasma triglyceride levels after dietary intervention in dyslipidemic patients.

Association of CYP7A1 -278A>C polymorphism and response of plasma triglyceride levels after dietary intervention in dyslipidemic patients

A.L.V. Barcelos¹, R. Chies², S.E.M. Almeida^{3,6}, M. Fiegenbaum⁴, I.D. Schweigert⁵, F.G.L. Chula⁶, C.M.D. Silva^{2,6}

¹Curso de Pós-graduação em Genética e Toxicologia Aplicada, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS

²Curso de Pós-graduação em Diagnóstico Genético e Molecular, Universidade Luterana do Brasil (ULBRA), Canoas, RS

³Centro Universitário FEEVALE, Instituto da Saúde, Novo Hamburgo, RS

⁴Centro Universitário Metodista IPA, Porto Alegre, RS

⁵Departamento de Medicina Interna, FAMED, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS

⁶Centro de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CDCT), Fundação Estadual de Produção e Pesquisa em Saúde (FEPPS), Porto Alegre, RS

Running title: Polymorphism and response to diet in dyslipidemic patients

Key words: dyslipidemia, polymorphisms, diet, Southern Brazil.

Research Support by ULBRA, PADCT/FEPPS.

Address for correspondence:

C.M.D. Silva

CDCT/FEPPS

Av. Ipiranga, 5400, CEP 90610-000, Porto Alegre, RS, Brasil

FAX + 55 51 33520336, E-mail: cmdornelles@terra.com.br

Abstract

It is well known that effect of dietary changes on plasma lipid concentrations differs significantly between individuals. To clarify the mechanism of this interindividual differences, we investigated the effect of the -278A>C polymorphism in the CYP7A1 gene, which encode cholesterol 7 α -hydroxylase, on the response of plasma lipids to a decreased intake of fat diet in a group of 82 dyslipidemic individuals. Baseline and follow-up lipid levels were measured. Dietary compliance was assessed from 15-day food records by a nutritionist. The genotypes were determined by the digestion of PCR products with restriction endonuclease *Bsal*. There were highly significant reductions in plasma total cholesterol, LDL cholesterol and trygliceride concentrations after dietary intervention. The minor allele C has a frequency of 43%. Carriers of the C-allele had significantly lower trygliceride concentrations ($p = 0.02$) than AA homozygotes. After adjustment of covariates, AC and CC genotypes showed a greater reduction in triglyceride levels compared to AA genotype. Multiple linear regression analyses showed that the AC and CC CYP7A1 genotypes accounted for 6.2% and 5.2% of the total variation in the triglyceride concentrations and triglyceride levels after dietary intervention, respectively. In conclusion, the present study provides evidence that -278A>C polymorphism in CYP7A1 gene can modify the triglyceride levels in response to dietary changes in a dyslipidemic male population, putting this gene as a potential locus to identify responders during lipid-lowering diets and for nutrigenetic directed approach.

Introduction

Dyslipidemia is a multifactorial disorder in which nutritional factors are closely related to a number of the manifestations of the disease. Clinical trials involving dietary interventions to reduce concentrations of lipids and lipoproteins in plasma demonstrated favorable responses for dyslipidemic individuals, including decreased risk for cardiovascular disease (1,2). However, the response of plasma lipids to dietary interventions shows considerable interindividual variations. This evidence supports that gene–diet interactions modulate plasma lipid concentrations and potentially cardiovascular risk (3).

Several studies showed that this variable response is associated with common polymorphisms at candidate genes related to lipid metabolism (4). Genetic variations in the CYP7A1 gene, which encode cholesterol 7 α -hydroxylase, have been associated with metabolic disorders of cholesterol and bile acids, including hypercholesterolemia, hypertriglyceridemia, atherosclerosis, and gallstone disease (5-13). The cholesterol 7 α -hydroxylase is the first enzyme to catalyze the reaction of the catabolic pathway of cholesterol. This catalytic reaction is the rate-limiting step and the major site for regulating homeostasis of cholesterol and bile acids synthesis in the liver (14).

Humans lacking cholesterol 7 α -hydroxylase activity as a result of the mutation in the CYP7A1 gene have significant elevation of total and LDL cholesterol levels, substantial accumulation of cholesterol in the liver, and a markedly decreased rate of bile acid excretion (15). Current genetic studies are focused mainly on analysis of a single nucleotide polymorphism (SNP) at -278A>C (rs3808607) in the promoter

region of the CYP7A1 gene (5-13). However, few observational studies of diet-lipid associations according to CYP7A1 -278A>C polymorphism have been conducted (7,8,11).

Nutrigenetics is a concept that may revolutionize the prevention and treatment of disease. Finding genetic polymorphisms that reveal significant gene-diet interaction may provide tools for personalized and more successful dietary recommendations. In the present study, we investigated the effect of the -278A>C promoter polymorphism in the CYP7A1 gene on the response of plasma lipids to changes of dietary fat intake in a male group of dyslipidemic individuals.

Subjects and methods

Patient population

A total of 82 men with dyslipidemia were recruited for this study at the Hospital de Guarnição from Santo Angelo, Rio Grande do Sul, Brazil. The Hospital Ethics Committee approved the study, and informed consent was obtained from each patient. Lipid levels were classified according to the III Brazilian Guidelines on Dyslipidemia (16). Total cholesterol was defined as normal (<200 mg/dL), moderate (200-239 mg/dL) and high (\geq 240 mg/dL). For LDL cholesterol, the following ranges were considered: normal (<130 mg/dL), moderate (130-159 mg/dL) and high (\geq 160 mg/dL). For HDL cholesterol, the following ranges were considered: high (>60 mg/dL) and low (<40 mg/dL). For triglycerides, values above 200 mg/dL were considered high, values from 150 to 200 mg/dL were considered moderate and values below 150 mg/dL were

considered normal. Individuals who presented at least one high alteration in total cholesterol, LDL cholesterol or triglycerides values were considered to be dyslipidemic. Exclusion criteria were secondary dyslipidemia due to diabetes mellitus, renal, liver or thyroid disease. None of the subjects were using lipid-lowering medication. All participants were instructed by a nutritionist to consume a low-fat diet for an intervention period of 6 to 8 weeks. All received a dietary guideline according to National Cholesterol Education Program III (NCEP III) (17) and were asked to maintain this diet throughout the protocol. Dietary compliance was assessed from 15-day food records by examining food intake records, and questioning participants about their experience during the previous 2-week period. The nutritionist repeatedly emphasized that participants should not modify their diets. During follow-up interviews, 34 of the 116 were excluded from analysis because were unable to sustained adherence. Anthropometric measurements of waist circumference, weight and height were taken only at baseline and the body mass index (BMI) was calculated.

Biochemical analyses, DNA extraction and genotyping

At the beginning and at the end of study, blood samples were collected after 12-h fasting of subjects. Plasma total cholesterol, HDL cholesterol, and triglyceride levels were determined by conventional enzymatic methods. LDL cholesterol was calculated according to Friedewald (18).

DNA was isolated from whole blood by standard procedures (19). CYP7A1 genotyping was performed as previously described (20). Briefly, the PCR was done in a reaction mixture of 10 μ L containing 0.5 units of *Taq* DNA polymerase and 1 μ L of

template DNA with a concentration of 50 to 150 ng/ μ L, using primers 5'-AATGTTTTTCCCAGTTCTCTTTC-3' (sense) and 5'-AATTAGCCATTTGTTTCATTCTATTAG-3' (antisense). The PCR product of 393 bp was digested with 10 units of *Bsal* in a reaction mixture of 20 μ L for 3 hours at 50°C. The digestion results in fragments of 300 and 93 bp for the A allele, and those of 261, 93, and 39 bp for the C-allele. The digested PCR products were applied to electrophoresis in 3% agarose gel and visualized by ethidium bromide.

Statistical analysis

Allele frequencies were estimated by gene counting. The agreement of genotype frequencies with Hardy–Weinberg expectations was tested using the χ^2 test. Continuous variables were expressed as mean \pm standard deviation (S.D.). Multiple linear regression analyses were used to adjust lipid and lipoprotein variables and analyses of variance (ANOVA) were employed to compare lipid levels between genotype groups. The interaction between the -278A>C alleles and type of dyslipidemia (TD) on lipid levels changes was tested by multiple regression analyses; age, BMI and baseline lipid concentrations were entered in each model as covariates. To reduce skewness, log-transformation of triglyceride concentrations was used in all analyses. The Student's paired *t*-test or the Wilcoxon signed-rank test was used to test for differences on lipids levels before and after dietary intervention. Statistical analyses were carried out using the SPSS software package v. 13.0. The significance level was set at $p < 0.05$.

Results

Patients were divided into three dyslipidemic groups: hypercholesterolemic (HC, $n = 19$), hypertriglyceridemic (HTG, $n = 10$) and mixed dyslipidemic (MD, $n = 53$). Baseline and follow-up characteristics of dyslipidemic patients groups are shown in Table 1. In comparison to HC and MD groups, HTG group age was significantly lower ($p = 0.004$). Moreover, BMI was statistically higher in MD and HTG groups ($p = 0.041$). No differences in waist and hip circumferences were observed between patient groups. Baseline and follow-up lipid levels differed significantly between groups ($p < 0.01$ for all lipid parameters).

Overall, there were highly significant reductions in plasma total cholesterol ($p < 0.001$), LDL cholesterol ($p = 0.006$) and triglyceride concentrations ($p = 0.001$) after dietary intervention (Table 2). The percentage of patients with high total cholesterol, LDL cholesterol and triglyceride levels was also reduced (53.0% vs. 34.9%, 47.0% vs. 27.7% and 56.6% vs. 39.8%, respectively).

The frequencies of the genotypes are in Hardy-Weinberg equilibrium. The minor allele C has a frequency of 43%. No significant associations between genotypes and BMI ($p = 0.10$) or waist circumference ($p = 0.29$) were observed (data not shown). The effect of CYP7A1 genotype distribution with response of plasma lipids before and after low-fat dietary interventions and mean percent reductions of lipid and lipoprotein concentrations are shown in Table 3. These results indicate that the CYP7A1 genotype exerts a significant influence on the estimation of triglyceride concentrations after dietary intervention. Carriers of the C-allele had significantly lower triglyceride concentrations ($p = 0.02$) (AC 188.9 ± 99.9 mg/dL; CC 163.4 ± 116.1 mg/dL) than AA

homozygotes (231.3 ± 97.1 mg/dL). After adjustment of covariates, AC and CC genotypes showed a greater reduction in triglyceride levels compared to AA genotype ($-12.9\% \pm 35.2$ and $-13.9\% \pm 32.5$ vs. $-4.9\% \pm 46.4$, $p = 0.04$). No associations of -278A>C polymorphism with total cholesterol, LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations were observed. Multiple linear regression analyses showed that the CYP7A1 polymorphism accounted for 6.2% and 5.2% of the total variation in the triglyceride concentrations and triglyceride levels after dietary intervention, respectively (Table 4).

Since the baseline and follow-up lipid levels differed significantly between HC, HTG and MD groups, the type of dyslipidemia was analysed as a co-factor. Figure 1 describes the interaction between type of dyslipidemia and -278A>C genotype on response to dietary intervention. HC and MD groups have similar total cholesterol levels changes among genotypes, whereas HTG group showed a greater reduction on triglyceride levels when AA and AC plus CC genotypes were compared ($p = 0.027$ for type of dyslipidemia genotype interaction; Figure 1A). No interactions of HDL cholesterol, LDL cholesterol or triglyceride levels were observed (Figure 1B, 1C, and 1D). For triglyceride levels, however, the effect of -278A>C polymorphism was independent of type of dyslipidemia ($p = 0.04$, Figure 1D).

Discussion

It is well known that effect of dietary changes on plasma lipid concentrations differs significantly between individuals. To clarify the mechanism of this association, we

investigated the effect of the -278A>C polymorphism in the CYP7A1 gene on the response of plasma lipids to changes of dietary fat intake in a male group of dyslipidemic individuals.

Considering all patients, Table 2 shows that there were highly significant reductions in plasma total cholesterol, LDL cholesterol and triglyceride concentrations after dietary intervention. Although, when the patients were divided into type of dyslipidemia, the changes in the lipids levels were not similar. These data were expected, but indicate a probable confounding effect of the type of dyslipidemia in the analysis shown in Table 3. However, when the type of dyslipidemia was analysed as a co-factor, as shown in Figure 1, it was possible to verify that the -278A>C polymorphism had an effect on TG response independently of the type of dyslipidemia.

Allele frequencies found in our study are comparable to those found in dyslipidemic individuals in the literature (7,10,21). The main findings of our study were the association of CYP7A1 -278A>C polymorphism with lower triglyceride levels after modification of the diet ($p = 0.02$) and with percentage of TG changes after dietary intervention ($p = 0.04$) (Table 3). These findings are in agreement with the knowledge that CYP7A1 activity may affect the triglyceride levels, since there is a strong correlation between bile acid synthesis and serum triglyceride levels (2).

Previous studies found a link between triglyceride levels and -278A>C polymorphism. Hofman et al. (10) found increased triglyceride levels in normolipidemic males with the AA genotype as compared to CC genotype and a tendency towards increased levels of serum triglycerides, VLDL triglycerides and VLDL cholesterol in patients with hypertriglyceridemia. Couture et al. (5) showed that women homozygous for the C-allele had significantly lower triglyceride levels than carriers of the A-allele.

Several lines of evidence demonstrate that the expression of CYP7A1 is hormonally regulated and its regulation is gender-dependent (22). So, further studies will be required to assess the gender-dependent relationship between plasma triglyceride levels and CYP7A1 genotype.

Fewer studies about the associations of -278A>C polymorphism of the CYP7A1 gene with plasma lipid responses to dietary variation, have been made. In one study, Hubacek et al. (7) documented in a cohort of 131 men from the Czech MONICA study that CC genotype have significantly decrease in plasma total cholesterol after a lowering in dietary fat intake in an 8- year follow-up. Interestingly, in a large cohort of men with coronary atherosclerosis, CC genotype of the CYP7A1 -278A>C polymorphism was associated with increased progression of atherosclerosis and possible risk of new cardiovascular events. After 2 years of treatment with pravastatin, the risk of a new clinical event appears to be reduced in patients with the AA and AC genotypes, but not in patients with the CC genotype (12). These findings support the idea that individuals with CC genotypes could have the best benefit from application of lipid lowering diet.

In this study, no relationships between the -278A>C polymorphism of the CYP7A1 gene and the plasma LDL cholesterol concentrations were found, in agreement with other report (23). In contrast, a previous study indicates that homozygous for the C allele had significantly elevated LDL cholesterol in both men and women (21). In the Framingham Offspring Study, in which more than 2000 subjects were studied, the C-allele was associated with increased LDL cholesterol levels, only in men, and allelic variability at CYP7A1 gene accounted for 1% of the overall variation in plasma LDL cholesterol levels (5). Regarding dietary interventions, Kovar et al. (11)

found in 11 healthy men that CC genotype responds to a high-fat diet by an increase in LDL and total cholesterol. Hofman et al. (8) found in 104 and in 112 subjects that CC genotype is associated with a higher response of plasma HDL cholesterol and total cholesterol after an increased intake of dietary cholesterol and cafestol, respectively.

In the present study, the results suggest that subjects having either an AC or CC genotype will respond to dietary therapy with a significantly greater reduction in plasma triglycerides than those individuals with the AA genotype. Furthermore, differences in dietary intake and composition of the diet, could explain the discrepancies on the type of lipid change between the studies. Cheema et al. (24) reported that, in mice, the response of CYP7A1 to dietary cholesterol is dependent on the type of dietary fat.

Our findings also underline that the CYP7A1 polymorphism contributes to 6.2% of the total variation in the triglyceride concentrations and 5.2% of triglyceride levels after dietary intervention, accounting for a significant proportion of the genetic predisposition of the response of plasma lipids levels and the interindividual changes. However, due to the complex nature of gene-gene and gene-environmental interactions, we cannot exclude that our findings might be linked to another, functional, polymorphism in the CYP7A1 gene or in another unidentified gene nearby the CYP7A1 locus.

The main limitations of our study are its small sample size into the groups and the absence of follow up weight of patients. However, the present study was a prospective cohort and provides evidence that -278A>C polymorphism in CYP7A1 gene can modify the triglyceride levels in response to dietary changes in a dyslipidemic male population with different types of dyslipidemia, putting this gene as a potential locus to identify responders during lipid-lowering diets and for nutrigenetic directed approach.

Acknowledgments

We thank all of the patients who participated in the study.

References

1. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. I. Reduction in incidence of coronary heart disease. *JAMA* 1984; 251: 351-364.
2. The Lipid Research Clinics Coronary Primary Prevention Trial results. II. The relationship of reduction in incidence of coronary heart disease to cholesterol lowering. *JAMA* 1984; 251: 365-374.
3. Katan MB, Beynen AC, de Vries JH, Nobels A. Existence of consistent hypo- and hyperresponders to dietary cholesterol in man. *Am J Epidemiol* 1986; 123: 221-234.
4. Ye SQ, Kwiterovich POJ. Influence of genetic polymorphisms on responsiveness to dietary fat and cholesterol. *Am J Clin Nutr* 2000; 72: 1275S-1284S.
5. Couture P, Otvos JD, Cupples LA, Wilson PW, Schaefer EJ, Ordovas JM. Association of the A-204C polymorphism in the cholesterol 7-hydroxylase gene with variations in plasma low density lipoprotein cholesterol levels in the Framingham Offspring Study. *J Lipid Res* 1999; 40: 1883-1889.
6. Hegele RA, Wang J, Harris SB, Brunt JH, Young TK, Hanley AJ, et al. Variable association between genetic variation in the CYP7 gene promoter and plasma lipoproteins in three Canadian populations. *Atherosclerosis* 2001; 154: 579-587.
7. Hubacek JA, Pitha J, Skodova Z, Poledne R, Lanska V, Waterworth DM, et al. Polymorphisms in CYP-7A1, not APOE, influence the change in plasma lipids in

response to population dietary change in an 8 year follow-up; results from the Czech MONICA study. *Clin Biochem* 2003; 36: 263–267.

8. Hofman MK, Weggemans RM, Zock PL, Schouten EG, Katan MB, Princen HM. CYP7A1 A-278C polymorphism affects the response of plasma lipids after dietary cholesterol or cafestol interventions in Humans. *J Nutr* 2004; 134: 2200-2204.

9. Jiang ZY, Han TQ, Suo GJ, Feng DX, Chen S, Cai XX, et al. Polymorphisms at cholesterol 7 α -hydroxylase, apolipoproteins B and E and low density lipoprotein receptor genes in patients with gallbladder stone disease. *World J Gastroenterol* 2004; 10: 1508-1512.

10. Hofman MK, Groenendijk M, Verkuijlen PJJH, Jonkers IJAM, Mohrschladt MF, Smelt AHM, et al. Modulating effect of the A-278C promoter polymorphism in the cholesterol 7 α -hydroxylase gene on plasma lipid levels in normolipidaemic and hypertriglyceridaemic individuals. *Eur J Hum Genet* 2004; 12: 935-941.

11. Kovar J, Suchanek P, Hubacek JA, Poledne R. The A-204C polymorphism in the Cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) gene determines the cholesterolemia responsiveness to a high-fat diet. *Physiol Res* 2004; 53: 565-568.

12. Hofman MK, Princen HM, Zwinderman AH, Jukema JW. Genetic variation in the rate-limiting enzyme in cholesterol catabolism (cholesterol 7 α -hydroxylase) influences the progression of atherosclerosis and risk of new clinical events. *Clin Sci (Lond)* 2005; 108(6): 539-545.

13. Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, Schaefer EJ. A promoter polymorphism in cholesterol 7 α -hydroxylase interacts with apolipoprotein E genotype in the LDL-lowering response to atorvastatin. *Atherosclerosis* 2005; 180(2): 407-415.

14. Princen H, Post SM, Twisk J. Regulation of bile acid synthesis. *Curr Pharm Design* 1997; 3: 59–64.
15. Pullinger CR, Eng C, Salen G, Shefer S, Batta AK, Erickson SK, et al. Human cholesterol 7 α -hydroxylase (CYP7A1) deficiency has a hypercholesterolemic phenotype. *J Clin Invest* 2002; 110:109-117.
16. Santos RD. III Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Guideline of Atherosclerosis Prevention from Atherosclerosis Department of Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol* 2001; 77(Suppl 3): 1-48.
17. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001; 285: 2486-2497.
18. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499–502.
19. Lahiri D, Nurnberger JA. Rapid Non–enzimatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucl Acids Res* 1991;19: 5444.
20. Hagiwara T, Kono S, Yin G, Toyomura K, Nagano J, Mizoue T, et al. Genetic polymorphism in cytochrome P450 7A1 and risk of colorectal cancer: the Fukuoka Colorectal Cancer Study. *Cancer Res* 2005; 65(7): 2979-2982.
21. Wang J, Freeman DJ, Grundy, SM, Levine DM, Guerra R, Cohen JC. Linkage between cholesterol 7-hydroxylase and high plasma low-density lipoprotein cholesterol concentrations. *J Clin Invest* 1998; 101: 1283–1291.
22. Russell DW, Setchell KD. Bile acid biosynthesis. *Biochemistry* 1992; 31: 4737-4749.
23. Abrahamsson A, Krapivner S, Gustafsson U, Muhrbeck O, Eggertsen G, Hohansson I, et al. Common polymorphisms in the CYP7A1 gene do not contribute to variation in

rates of bile acid synthesis and plasma LDL cholesterol concentration. *Atherosclerosis* 2005; 182(1): 37-45.

24. Cheema SK, Cikaluk D, Angellon LB. Dietary fats modulate the regulatory potential of dietary cholesterol on cholesterol 7 alpha-hydroxylase gene expression. *J Lipid Res* 1997; 38: 315-323.

Figure 1: Adjusted marginal means for changes (%) in total cholesterol (TC), HDL-C, LDL-C and log of triglyceride (TG) levels (mg/dL) in patients with different types of dyslipidemia (TD) and -278A>C genotypes.

Figure 1

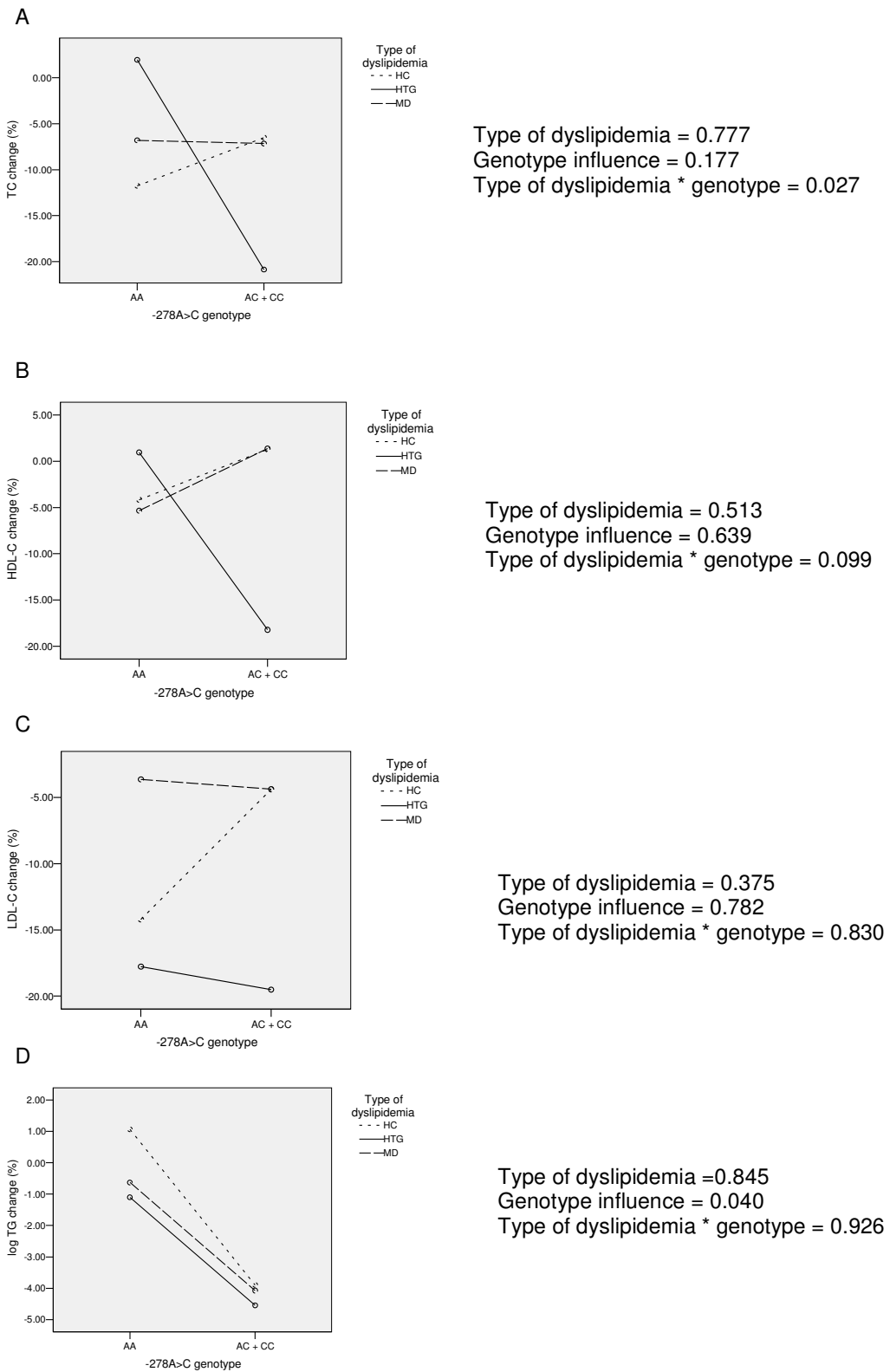


Table 1. Baseline, post-intervention and changes in plasma lipids according to type of dyslipidemia.

| | Total | HC | HTG | MD | p |
|------------------------|---------------|--------------|---------------|---------------|---------|
| N | 82 | 19 | 10 | 53 | |
| Age, years | 46.0 ± 11.7 | 50.2 ± 12.9 | 35.6 ± 11.6 | 46.2 ± 10.3 | 0.004 |
| BMI, kg/m ² | 27.5 ± 3.6 | 25.7 ± 3.1 | 27.3 ± 3.6 | 28.4 ± 3.9 | 0.041 |
| Waist, cm | 99.5 ± 9.7 | 96.2 ± 10.3 | 96.9 ± 9.8 | 101.2 ± 9.2 | 0.103 |
| Hip, cm | 97.9 ± 6.3 | 96.0 ± 6.9 | 96.0 ± 7.6 | 98.9 ± 5.7 | 0.141 |
| <i>Baseline</i> | | | | | |
| TC | 243.0 ± 42.1 | 257.4 ± 32.4 | 175.5 ± 17.4 | 251.6 ± 34.7 | < 0.001 |
| HDL-C | 44.2 ± 10.7 | 53.4 ± 11.6 | 32.3 ± 7.0 | 42.9 ± 7.8 | < 0.001 |
| LDL-C | 163.9 ± 48.7 | 182.1 ± 31.8 | 122.0 ± 66.4 | 166.4 ± 44.6 | 0.004 |
| TG ^a | 234.7 ± 128.4 | 112.6 ± 21.7 | 245.6 ± 79.5 | 277.1 ± 130.4 | < 0.001 |
| <i>Follow-up</i> | | | | | |
| TC | 221.8 ± 41.7 | 226.3 ± 32.9 | 170.1 ± 26.5 | 227.9 ± 43.1 | < 0.001 |
| HDL-C | 42.3 ± 9.4 | 47.8 ± 8.1 | 31.7 ± 5.5 | 42.5 ± 8.9 | < 0.001 |
| LDL-C | 147.6 ± 46.1 | 152.6 ± 32.2 | 105.5 ± 29.2 | 153.5 ± 49.3 | 0.008 |
| TG ^a | 198.1 ± 103.9 | 127.5 ± 43.8 | 213.2 ± 106.9 | 220.6 ± 108.6 | < 0.001 |

^a Statistical analyses performed on log-transformed variable. HC: hypercholesterolemia, HTG: hypertriglyceridemia, MD: mixed dyslipidemia.

Table 2. Changes in lipid and lipoprotein levels after dietary intervention according to type of dyslipidemia.

| | Baseline | Follow-up | p ^b |
|---------------------------------|---------------|---------------|----------------|
| TC, mg/dL^a | | | |
| Total | 243.0 ± 42.1 | 221.8 ± 41.7 | < 0.001 |
| HC | 257.4 ± 32.4 | 226.3 ± 32.9 | 0.001 |
| HTG | 175.5 ± 17.4 | 170.1 ± 26.5 | 0.482 |
| MD | 251.6 ± 34.7 | 227.9 ± 43.1 | <0.001 |
| HDL-C, mg/dL^a | | | |
| Total | 44.2 ± 10.7 | 42.3 ± 9.4 | 0.057 |
| HC | 53.4 ± 11.6 | 47.8 ± 8.1 | 0.038 |
| HTG | 32.3 ± 7.0 | 31.7 ± 5.5 | 0.800 |
| MD | 42.9 ± 7.8 | 42.5 ± 8.9 | 0.665 |
| LDL-C, mg/dL^a | | | |
| Total | 163.9 ± 48.7 | 147.6 ± 46.1 | 0.006 |
| HC | 182.1 ± 31.8 | 152.6 ± 32.2 | 0.001 |
| HTG | 122.0 ± 66.4 | 105.5 ± 29.2 | 0.430 |
| MD | 166.4 ± 44.6 | 153.5 ± 49.3 | 0.094 |
| TG, mg/dL^a | | | |
| Total | 234.7 ± 128.4 | 198.1 ± 103.9 | 0.001 |
| HC | 112.6 ± 21.7 | 127.5 ± 43.8 | 0.244 |
| HTG | 245.6 ± 79.5 | 213.2 ± 106.9 | 0.142 |
| MD | 277.1 ± 130.4 | 220.6 ± 108.6 | 0.001 |

^a Data is presented as mean ± standard deviation. ^b p value for Student's paired t-test or the Wilcoxon signed-rank test (for TG levels). HC: hypercholesterolemia, HTG: hypertriglyceridemia, MD: mixed dyslipidemia.

Table 3. Effect of CYP7A1 genotype distribution on response of plasma lipids before and after low-fat dietary interventions.

| | CYP7A1 genotype | | | p |
|-----------------------------|-----------------|---------------|---------------|------|
| | AA (n = 27) | AC (n = 40) | CC (n = 15) | |
| <i>Baseline</i> | | | | |
| TC, mg/dL | 246.4 ± 47.9 | 240.2 ± 41.5 | 244.3 ± 33.9 | 0.84 |
| HDL-C, mg/dL | 44.6 ± 12.2 | 44.2 ± 10.5 | 43.5 ± 9.0 | 0.88 |
| LDL-C, mg/dL | 170.5 ± 53.0 | 158.8 ± 51.9 | 165.9 ± 28.9 | 0.95 |
| TG, mg/dL | 255.2 ± 154.5 | 235.4 ± 118.6 | 195.6 ± 97.2 | 0.53 |
| <i>Follow-up</i> | | | | |
| TC, mg/dL | 224.8 ± 37.9 | 219.6 ± 43.4 | 222.3 ± 45.8 | 0.62 |
| HDL-C, mg/dL | 40.6 ± 7.6 | 43.1 ± 11.1 | 43.3 ± 8.1 | 0.58 |
| LDL-C, mg/dL | 145.2 ± 45.6 | 144.6 ± 45.2 | 159.3 ± 50.3 | 0.30 |
| TG, mg/dL | 231.3 ± 97.1 | 188.9 ± 99.9 | 163.4 ± 116.1 | 0.02 |
| <i>Adjusted % of change</i> | | | | |
| TC | -6.4 ± 11.2 | -7.5 ± 16.1 | -8.2 ± 13.7 | 0.92 |
| HDL-C | -4.2 ± 15.4 | -1.8 ± 19.7 | -0.5 ± 13.5 | 0.69 |
| LDL-C | -7.7 ± 32.8 | -5.9 ± 26.9 | -1.1 ± 37.4 | 0.80 |
| TG ^a | -4.9 ± 46.4 | -12.9 ± 35.2 | -13.9 ± 32.5 | 0.04 |

Data is presented as mean ± standard deviation. ^a Unadjusted mean, statistical analyses performed on log-transformed variable. Baseline and follow-up lipid

levels were adjusted by age and body mass index; adjusted % of change values were adjusted by age, body mass index and the correspondent baseline lipid level.

Table 4. Multiple linear regression analyses for follow-up TG levels and adjusted % of TG change.

| | R ² x 100 | β ¹ | p | Partial R ² x 100 |
|--------------------------------|----------------------|----------------|--------|------------------------------|
| <i>Follow-up TG, mg/dL</i> | 19.0 | | | |
| Age | | -0.113 | 0.273 | 1.2 |
| BMI | | 0.332 | 0.002 | 11.6 |
| CYP7A1 -278A>C | | -0.216 | 0.041 | 5.2 |
| <i>Adjusted % of TG change</i> | 30.7 | | | |
| Baseline TG levels | | 0.543 | <0.001 | 27.5 |
| Age | | 0.043 | 0.653 | 0.003 |
| BMI | | -0.198 | 0.054 | 4.8 |
| CYP7A1 -278A>C | | 0.224 | 0.023 | 6.2 |

¹ Standardized coefficients.

5. Conclusões

1. Dados antropométricos e bioquímicos definem a população estudada como sendo de indivíduos com sobrepeso moderado com valores médios de IMC de $27,5 \pm 3,6 \text{ kg/m}^2$ e com média de circunferência de $99,5 \pm 9,7 \text{ cm}$. Após término do período da intervenção dietética, o perfil bioquímico observado mostrou uma significativa redução dos níveis de colesterol total ($p < 0,0001$), LDL colesterol ($p = 0,006$) e de triglicerídeos ($p = 0,013$).
2. Portadores do alelo C tiveram significativa diminuição das concentrações de triglicerídeos ($p = 0,02$) em relação aos homozigotos AA.
3. Análises de regressão linear múltipla mostraram que os genótipos AC e CC são responsáveis por 6,2% e 5,2% da variação total das concentrações de triglicerídeos e dos níveis de triglicerídeos após intervenção dietética, respectivamente.
4. Quando os pacientes foram divididos nos seguintes grupos: hipercolesterolêmicos, hipertrigliceridêmicos e com dislipidemia mista, o efeito do polimorfismo -278A>C sobre as mudanças nos níveis de triglicerídeos foi independente do tipo de dislipidemia ($p = 0,04$).
5. O presente estudo fornece evidências de que o polimorfismo -278A>C presente no gene CYP7A1 pode modificar os níveis de triglicerídeos em resposta a alterações na dieta em uma população de indivíduos do sexo masculino, colocando esse gene como um locus potencial para identificação de respondedores durante dietas recomendadas com baixas quantidades de gorduras.
6. As perspectivas de continuidade deste estudo referem-se, principalmente, à análise de um número maior de indivíduos e à análise combinada de outros polimorfismos relacionados com resposta à dieta.

6. Referências Bibliográficas

ABRAHAMSSON A, KRAPIVNER S, GUSTAFSSON U, MUHRBECK O, EGGERTSEN G, HOHANSSON I, *et al.* Common polymorphisms in the CYP7A1 gene do not contribute to variation in rates of bile acid synthesis and plasma LDL cholesterol concentration. *Atherosclerosis*; 182(1): 37-45, 2005.

ANDRADE FM & HUTZ M. O componente genético da determinação dos lipídeos séricos. *Ciência & Saúde Coletiva*, 7: 175-182, 2001.

BRANDÃO, AP. Tratando a hipertensão arterial, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares-Adalat INSIGHT study. *Rev Bras Cardiol*, 2: 181-183, 2000.

CONSENSO BRASILEIRO DE DISLIPIDEMIAS. *Arq Bras Cardiol*, 67: 1-16, 1996.

CHOR D, FONSECA MJM, ANDRADE CR. Doenças cardiovasculares: comentários sobre a mortalidade precoce no Brasil. *Arq Bras Cardiol*, 64: 15-19, 1995.

COHEN JC, CALI JJ, JELINEK DF, MEHRABIAN M, SPARKES RS, LUSIS AJ, RUSSELL DW, HOBBS HH. Cloning of the human cholesterol 7-alpha-hydroxylase gene (CYPA7) and localization to chromosome 8q11-q12. *Genomics*, 14: 153 -161, 1992.

DOBBELSTEYN CJ, JOFFRES MR, MACLEAN DR, FLOWERDEW G. A comparative evaluation of waist circumference, waist-to-hip ratio and body mass index as indicators of cardiovascular risk factors. The Canadian Heart Health Surveys. *Int J Obes Relat Metab Disord*, 25(5): 652-661, 2001

DUEZ H, VAN DER VEEN JN, DUHEM C, POURCET B, TOUVIER T, FONTAINE C, DERUDAS B, BAUGÉ E, HAVINGA R, BLOKS VW, WOLTERS H, VAN DER SLUIJS FH, VENNSTRÖM B, KUIPERS F, STAELS B. Regulation of bile acid synthesis by the nuclear receptor Rev-erb α . *Gastroenterology*, 135: 689-698, 2008.

FISLER JS & WARDEN CH. Dietary fat and genotype: toward individualized prescriptions for lifestyle changes. *Am J Clin Nutr*, 81: 1255-1256, 2005.

FREITAS EV. Triglicerídios e doença arterial coronariana. Artigo de Revisão. *Rev SOCERJ*, 17: 45-49, 2004.

HEGELE RA. Monogenic dislipidemias: windows on determinants of plasma lipoprotein metabolism. *Am J Hum Genet*, 69: 1161-1177, 2001.

HOFMAN MK, GRESENDIJK M, VERKUIJLEN PJJH, JONKERS IJAM, MOHRSCHLADT MF, SMELT AHM, PRINCEN HMG. Modulationg Effect of the A-278C promoter polymorphism in the cholesterol 7-alpha-hydroxylase gene on serum lipid levels in normolipidaemic and hypertriglyceridaemic individuals. *Eur J Hum Genet*, 12: 935-41, 2004a.

HOFMAN MK, WEGGEMANS RM, ZOCK PL, SCHOUTEN EG, KATAN MB, PRINCEN HMG. CYP7A1 A-278C polymorphism affects the response of plasma lipidics after dietary cholesterol or cafestol interventions in humans. *J Nutrition*, 134: 2200-2204, 2004b.

HUBACEK JA & BOBKOVA D. Role of cholesterol 7-alpha-hydroxylase (CYP7A1) in nutrigenetics and pharmacogenetics of cholesterol lowering. *Mol Diagn Ther*, 10: 93-100, 2006.

INSULL JR. Clinical utility of bile acid sequestrants in the treatment of dyslipidemia: a scientific review. *Southern Med J*, 99: 254-73, 2006.

ISHITANI LH. Desigualdade social e mortalidade precoce por doenças cardiovasculares no Brasil. *Rev Saúde Pública*, 40: 684-91, 2006.

KOVAR J, SUCHANEK P, HUBACEK JA, POLEDNE R. The A-204C polymorphism in the cholesterol 7-alpha-hydroxylase (CYP7A1) gene determines the cholesterolemia responsiveness to a high-fat diet. *Phys Res*, 53: 565-568, 2004.

LEE MS, PARK JY, FREAKER H, KWUN IS, KIM Y. Green tea catechin enhances cholesterol 7alpha-hydroxylase gene expression in HepG2 cells. *Br J Nutr*, 99(6): 1182-1185, 2008.

LENICEK M, KOMAREK V, ZIMOLOVA M, KOVAR J, JIRSA M, LUKAS M, VITEK L. CYP7A1 promoter polymorphism -203A>C affects bile salt synthesis rate in patients after ileal resection. *J Lipid Res*, 2008 *in press*.

LIN PP, MYERS RH, ALMASY L, COON HH, ARNETT DK, HONG Y, HUNT S. Linkage of the Cholesterol 7-alpha-hydroxylase gene and low-density lipoprotein cholesterol conditional on Apolipoprotein E association: the national heart, lung, and blood institute family heart study. *Chin Med J*, 118: 362-69, 2005.

LUOMA PV. Cytochrome P450 and gene activation: from pharmacology to cholesterol elimination and regression of atherosclerosis. *Eur J Clin Pharmacol*, 64: 841-50, 2008,.

MAST N, GRAHAM SE, ANDERSSON U, BJORKHEM I, HILL C, PETERSON J, PIKULEVA IA. Cholesterol binding to cytochrome P450 7A1, a key enzyme in bile acid biosynthesis. *Biochemistry*, 44: 3259-3271, 2005.

MOLOWA DT, CHEN WS, CIMIS GM, TAN CP. Transcriptional regulation of the human cholesterol 7-alpha-hydroxylase gene. *Biochemistry*, 31: 2539-2544, 1992.

NASS N, SCHOEPS R, ULBRICH-HOFMANN R, SIMM A, HOHNDORF L, SCHMELZER C, RAITH K, NEUBERT RH, EDER K. Screening for nutritive peptides that modify cholesterol 7alpha-hydroxylase expression. *J Agric Food Chem*, 56: 4987-4994, 2008.

NETO RMN. (Org.) Atlas Corações do Brasil. Rio de Janeiro, São Paulo, 2005.

NOSHIRO M & OKUDA K. Molecular cloning and sequence analysis of cDNA encoding human cholesterol 7-alpha-hydroxylase. *FEBS Let*, 268: 137-140, 1990.

OLIVEIRA GMM, KLEIN CH, SOUZA e SILVA NA. Mortalidade por doenças cardiovasculares em três estados do Brasil de 1980 a 2002. *Rev Panam Salud Publ*, 19: 85–93, 2006.

OMS - Report of a WHO Consultation on Obesity. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Geneva, World Health Organization, 2000 (WHO Technical Report Series, No. 894).

ORDOVAS, JM. The quest for cardiovascular health in the genomic era: nutrigenetics and plasma lipoproteins. *Nutr Society*, 63: 145–152, 2004.

ORDOVAS JM. Nutrigenetics, plasma lipids and cardiovascular risk. *J Amer Diet Assoc*, 106: 1074–108, 2006.

PANDAK WM, SCWARZ C, HYLEMON PB, MALLONEE D, VALERIE K, HUEMAN DM, FISHER A, REDFORD K, VLAHCEVIC ZR. Effects of CYP7A1 overexpression on cholesterol and bile acid homeostasis. *Amer J Physiol Gastroint Liver Physiol*, 281: 878-889, 2001.

POND WG, MERSMANN HJ, SU D, MCGLONE JJ, WHEELER MB, SMITH EO. Neonatal dietary cholesterol and alleles of cholesterol 7-alpha hydroxylase affect piglet cerebrum weight, cholesterol concentration, and behavior. *J Nutr*, 138: 282-286, 2008.

SRIVASTAVA A, PANDEY SN, CHOUDHURI G, MITTAL B. Role of genetic variant A-204C of cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) in susceptibility to gallbladder cancer. *Mol Genet Metab*, 94: 83-9, 2008.

SANTOS RD. (Org.) III Diretrizes brasileiras sobre dislipidemias e diretrizes de Prevenção da Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Bras Cardiol*, 77: 1-48, 2001.

SHIN DJ & OSBORNE TF. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator-1alpha activation of CYP7A1 during food restriction and diabetes is still inhibited by small heterodimer partner. *J Biol Chem*, 283(22): 15089-15096, 2008.

WANG J, FREEMAN DJ, GRUNDY SM, LEVINE DM, GUERRA R, COHEN J. Linkage between cholesterol 7-alpha-hydroxylase and high plasma low-density lipoprotein cholesterol concentrations. *J Clin Invest*, 101: 1283-1291, 1998.

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](#)