

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA “JÚLIO DE MESQUITA”
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS – DEPTO DE
ALIMENTOS E NUTRIÇÃO
DOUTORADO EM CIÊNCIAS NUTRICIONAIS

**“EFEITO COMBINADO DE POLIMORFISMOS NOS
GENES DO METABOLISMO LIPÍDICO (*LIPC*, *APOA1* E
APOE) E ESTILO DE VIDA SOBRE OS FATORES DE
RISCO PARA DOENÇAS CRÔNICAS EM
ADOLESCENTES.”**

EMILIA ALONSO BALTHAZAR

Araraquara – SP

2012

EMILIA ALONSO BALTHAZAR

**“EFEITO COMBINADO DE POLIMORFISMOS NOS
GENES DO METABOLISMO LIPÍDICO (LIPC, APOA1 E
APOE) E ESTILO DE VIDA SOBRE OS FATORES DE
RISCO PARA DOENÇAS CRÔNICAS EM
ADOLESCENTES.”**

Tese apresentada ao programa de pós-graduação em Alimentos e Nutrição da Faculdade de ciências farmacêuticas de Araraquara Unesp, para a obtenção do título de doutor(a) em ciências nutricionais

Orientador (a): Prof^a Dr^a. Maria Rita M. de Oliveira

Co-orientador (a): Prof^a Dr^a. Rozangela Verlengia

Araraquara – SP

2012

Ficha Catalográfica

Elaborada Pelo Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação

Faculdade de Ciências Farmacêuticas

UNESP – Campus de Araraquara

Balthazar, Emilia Alonso

B197e Efeito Combinado de polimorfismos nos genes do metabolismo lipídico (LIPC, APOA1 e APOE) e estilo de vida sobre os fatores de risco para doenças crônicas em adolescentes / Emilia Alonso Balthazar. – Araraquara, 2012

132 f.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista. “Júlio de Mesquita Filho”. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. Programa de Pós Graduação em Alimentos e Nutrição

Orientador: Maria Rita Marques de Oliveira

Coorientador: Rozangela Verlengia

1. Adolescentes. 2. Polimorfismos genéticos. 3. Doenças crônicas. 4. Consumo alimentar. 5. Atividade física. I. Oliveira, Maria Rita Marques de, orient. II. Verlengia, Rozangela, coorient. III. Título.

CAPES: 50700006

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a Maria Rita Marques de Oliveira
(Orientadora)

Prof^a. Dr^a Thaís Borges César
(Membro)

Prof^a. Dr^a Aureluce Demonte
(Membro)

Prof^a. Dr^a Carla Cristina Enes
(Membro)

Prof^a. Dr^a Glenda Nicioli da Silva
(Membro)

Araraquara, 15 de junho de 2012

'LEARN AND LIVE'

Dedicatória:

À DEUS,

Pela força de

seguir em

frente.

Aos Meus pais,

Maria Lucia e

Balthazar, por

sempre

acreditarem

em mim,

mesmo quando

eu duvidava.

Eu só tenho a

agradecer!

AGRADECIMENTO ESPECIAL

À minha família:

Minha irmã Ieda, meu cunhado Diego, meu sobrinho Thiago, minha tia Eliana e avó Iracema, pela força e paciência nos momentos em que tive que dedicar toda a minha atenção à pesquisa.

Ao meu namorado, Pedro Paulo:

Pelo carinho, compreensão e risadas durante esses quatro anos de doutorado.

Eu só tenho a agradecer por vocês existirem em minha vida...

AGRADECIMENTO

À minha orientadora Prof Dr. Maria Rita, pelos ensinamentos e inspiração para seguir em frente na área da pesquisa.

À minha co-orientadora Prof Dr. Rozangela pela orientação durante as etapas da pesquisa do doutorado.

À banca de defesa de tese e de qualificação: Prof Dr. Anderson Navarro, Prof. Dr Glenda Nicioli da Silva, Prof. Dr. Carla Cristina Enes, Prof. Dr. Thais Borges César e Prof. Dr Aureluce Demonte pelas relevantes orientações.

À Prof Dr. Betzabeth Slater pela oportunidade de desenvolver a pesquisa junto com a sua equipe. À Prof Dr. Daisy de Favero Salvadori pela oportunidade de desenvolver os experimentos de genética no seu laboratório de Toxicogenômica & Nutrigenômica.

À Equipe do laboratório da Prof Daisy, principalmente, pela Glenda Nicioli da Silva, João Paulo de Castro Marcondes, Danielle Cristina de Almeida e Elaine Aparecida de Camargo, pela paciência e orientação durante o desenvolvimento do meu experimento.

Ao Professor José Silvio Govone pela orientação estatística.

Às orientadas da Prof (a) Maria Rita pelas risadas e fofocas que surgiam quando ficávamos acampadas na casa da Maria Rita. Não irei colocar nomes para não desfazer de ninguém.

À Ana Cristina Silva Rebelo, Vandeni Kunz, Marina Donato Crepaldi e Marco Carneiro Cordeiro pelas risadas no laboratório de Performance.

À UNESP-Fcfar, pela oportunidade de realização deste trabalho.

Às secretárias da PG: Cláudia, Sônia, Laura, Márcia, Ângela, Daniela e Joice pela atenção e competência.

Aos voluntários e aos pais dos voluntários, pela disponibilidade e colaboração, parte essencial do trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa.

Por esses motivos expressos aqui, os meus mais sinceros agradecimentos!

MUITO OBRIGADA ☺ !!!!!!!

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	X
LISTA DE FIGURAS.....	XI
LISTA DE TABELAS.....	XII
RESUMO.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
CAPÍTULO I.....	15
1.INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	18
2.1. DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS (DCNT).....	18
2.2. METABOLISMO LIPIDICO.....	19
2.2.1 Lipoproteínas.....	19
2.2.2 Transporte de lipídios para os tecidos.....	20
2.2.2.1 Apolipoproteína E (ApoE).....	21
2.2.3 Transporte reverso do colesterol.....	22
2.2.3.1 Lipoproteína de alta densidade (HDL).....	22
2.2.3.2 Apolipoproteína A1 (ApoA1).....	23
2.2.3.3 Lipase hepática (HL).....	24
2.3. SÍNDROME METABÓLICA OU SÍNDROME DA RESISTÊNCIA À INSULINA.....	25
2.4. FATORES DIETÉTICOS.....	26
2.5. ATIVIDADE FÍSICA.....	30
2.6. FATORES GENÉTICOS X ESTILO DE VIDA.....	31
2.7. FATORES GENÉTICOS.....	31
2.7.1 O Gene da Lipase Hepática (LIPC).....	31
2.7.2 O Gene da Apolipoproteína A1 (ApoA1).....	33
2.7.3 O Gene da Apolipoproteína E (ApoE).....	35
2.8. ESTUDOS EM PIRACICABA COM ESCOLARES.....	37
3. OBJETIVOS.....	38
3.1. OBJETIVO GERAL.....	38
3.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	38
REFERÊNCIAS.....	39
CAPÍTULO II - POLIMORFISMO (-514CT) DO GENE DA LIPASE HEPÁTICA POTENCIALIZA EFEITOS DO PESO CORPORAL E ADIPOSIDADE ABDOMINAL SOBRE TRIGLICERÍDEOS E RESISTÊNCIA A INSULINA ENTRE ADOLESCENTES.....	55
Resumo.....	56
Introdução.....	57
Casuística e métodos.....	58
Resultados.....	63
Discussão.....	66
Referências.....	70

CAPÍTULO III - Efeito combinado do polimorfismo T84C ApoA1 e estilo de vida sobre os fatores de risco para doença cardiovascular em adolescentes.....	76
Resumo.....	77
Introdução.....	78
Casuística e métodos.....	79
Resultados.....	83
Discussão.....	87
Conclusão.....	91
Agradecimentos.....	91
Referências.....	91
CAPÍTULO IV - PRESENÇA DO ALELO APOE4 NOS ADOLESCENTES CONFERE FATOR DE RISCO PARA DOENÇAS CRÔNICAS QUE PODE SER MODIFICADO PELA ALIMENTAÇÃO.....	96
Resumo.....	97
Conhecimentos básicos.....	98
Métodos.....	99
Resultados.....	104
Discussão.....	107
Conclusões.....	111
Conflitos de interesse.....	111
Contribuições de autores.....	111
Agradecimentos.....	111
Referências.....	111
CAPÍTULO V – CONCLUSÕES.....	117
APÊNDICES.....	121
APÊNDICE 1.....	122
APÊNDICE 2.....	129
ANEXO.....	131

LISTA DE ABREVIATURA

ABCA1	<i>ATP-binding cassette protein, subfamília A1'</i>
AGL	Ácido graxo livre
Apo	Apolipoproteína
ApoA1	Apolipoproteína A1
ApoA2	Apolipoproteína A1
ApoB	Apolipoproteína B
ApoB100	Apolipoproteína B100
ApoD	Apolipoproteína D
ApoE	Apolipoproteína E
CE	Colesterol esterificado
CL	Colesterol livre
CETP	Proteína transportadora de colesterol éster
DCV	Doença cardiovascular
HAS	Hipertensão arterial sistêmica
HDL-C	Colesterol de lipoproteínas de alta densidade
HL	Lípase Hepática
HSPG	Proteoglicanas de heparan sulfato
IDL	Lipoproteínas de densidade intermediária
LCAT	Lecitina-colesterol acil transferase
LDL-C	Colesterol de lipoproteínas de baixa densidade
LLP	Lípase lipoprotéica
LIPC	Gene da lipase hepática
MUFA	Ácido graxo monoinsaturado
NCEP	National Cholesterol Education Program
PLTP	Proteína da transferência de fosfolípido
PUFA	Ácido graxo poliinsaturado
Qm	Quilomícrons
SFA	Ácido graxo saturado
SRB1	<i>Scavenger receptor B1</i>
TAF	Ácido graxo trans
TRC	Transporte reverso do colesterol

LISTA DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Localização do gene <i>LIPC</i>	32
Figura 2. Localização do gene <i>ApoA1</i>	34
Figura 3. Localização do gene <i>ApoE</i>	35

CAPÍTULO II

Figura 1. Influência da presença de sobrepeso na concentração sérica de TG em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos do polimorfismo -514CT no gene <i>LIPC</i>	65
Figura 2. Influência da presença de cintura de risco para doença crônica metabólica na concentração sérica de TG em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos do polimorfismo -514CT no gene <i>LIPC</i>	65
Figura 3. Influência da concentração de TG no índice de resistência à insulina do polimorfismo -514CT no gene <i>LIPC</i>	66

CAPÍTULO III

Figura 1. Resposta ao consumo proporcional de macronutrientes da dieta em adolescentes de acordo a frequência genotípica do polimorfismo T84C <i>APOA1</i>	84
Figura 2. Influência da atividade física na concentração da glicemia e triglicérides em adolescentes de acordo com os genótipos do polimorfismo T84C <i>APOA1</i>	86

CAPÍTULO IV

Figura 1. Influência do consumo de ácido graxo poliinsaturada em percentual energético na concentração de CT, LDL-C, em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos da mutação missense do gene <i>ApoE</i>	105
FIGURA 2. Influência do consumo de alimentos gordurosos (a), ácido graxos total (b) e saturado(c) e carboidrato (d) segundo proporção percentual energética no percentil de pressão arterial, em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos da mutação missense do gene <i>ApoE</i>	106

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO II

Tabela 1. Características bioquímicas, antropométricas, dietéticas segundo a distribuição genotípica para o polimorfismo -C514T no gene <i>LIPC</i>	63
--	----

CAPÍTULO III

Tabela 1. Características antropométricas, bioquímicas e dietéticas de adolescentes de acordo com o polimorfismo T84C <i>ApoA1</i> , em Piracicaba-SP, 2009.....	83
Tabela 2. Influência do consumo de alimentos na concentração de lipídios séricos em adolescentes de acordo a frequência genotípica do polimorfismo T84C <i>ApoA1</i>	85

CAPÍTULO IV

Tabela 1. Comparação do perfil lipídico, glicêmico e insulínico entre adolescentes portadores do alelo E2, E4 e genótipo E3E3 da mutação <i>missense</i> do gene da <i>ApoE</i>	104
--	-----

RESUMO

Introdução: A interação entre gene e meio ambiente tem sido apontada como responsável pelo aumento das doenças crônicas metabólicas, cujos fatores de risco vêm se manifestando nas populações humanas, em idades cada vez mais precoces.

Objetivo: Analisar os efeitos dos polimorfismos -514C/T no gene da *LIPC* e CT84 no gene da *ApoA1*, bem como da mutação missense no gene da *ApoE* sobre os fatores de risco para doenças crônicas, numa amostra de adolescentes, de um município do interior do Estado de São Paulo, Brasil.

Metodologia: Foi realizado um estudo transversal com 214 adolescentes de ambos os sexos com idade mínima de 10 anos. Na coleta de dados foram incluídos: questionário de frequência alimentar e de atividades físicas específico para adolescentes, antropometria, aferição da pressão arterial, dosagens bioquímicas (insulina, glicose, colesterol total e frações, triglicerídeos e *Apoa1*) e genotipagem por PCR-real time dos genes selecionados.

Resultados: Os adolescentes portadores do alelo raro para o polimorfismo -514CT do gene *LIPC* apresentaram maior prevalência de síndrome metabólica. Em relação ao polimorfismo TC84 da *ApoA1*, os adolescentes com o genótipo TT apresentaram maior prevalência de hipertrigliceridemia e se encontraram mal adaptados à prática de atividade física e consumo de carboidrato. Analisando a mutação missense do gene da *ApoE* foi verificado que os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* apresentaram maior prevalência de fatores de risco para doenças crônicas e eram beneficiados pelo consumo de gordura em substituições aos carboidratos.

Conclusão: Recomendações dietéticas e prática de atividades físicas direcionadas ao perfil genético do adolescente poderão prevenir o desenvolvimento de fatores de risco metabólico e o aparecimento de doenças crônicas na vida adulta.

Palavras-chave: Adolescentes, polimorfismos genéticos, doenças crônicas, consumo alimentar e atividade física.

ABSTRACT

Introduction: The interactions between genes and environment has been identified as responsible for the increase of chronic metabolic diseases, in which risk factors are positioning themselves in human populations at earlier years of age. **Objective:** To analyze the effects of the polymorphisms -514CT *LIPC* gene and CT84 *ApoA1* gene, as well as, missense mutation *ApoE* gene on the outcome of risk factors for chronic diseases in a sample of adolescents from a city in the state of Sao Paulo, Brazil. **Methods:** It was conducted a cross-sectional study in 214 adolescents of both sexes with a minimum of 10 years of age. The data collection included: food frequency and physical activity questionnaire, anthropometry, blood pressure, biochemical measurements (insulin, glucose, Total cholesterol and fractions, triglycerides e *Apoa1*) and genotyping of the selected genes by PCR-real time. **Results:** The adolescents with the rare allele for the -514CT *LIPC* polymorphism had higher prevalence of metabolic syndrome. Regarding TC84 *ApoA1* polymorphism, the adolescent's carriers of the TT genotype had higher prevalence of hypertriglyceridemia and found themselves ill-suited to the practice of physical activity and carbohydrate consumption. Analyzing the missense mutation of the *ApoE* gene it was found that adolescents with the *ApoE4* allele had a higher prevalence of risk factors for chronic diseases and were benefited by the consumption of fat to carbohydrate substitutions. **Conclusion:** A dietary and physical activity treatment targeted to the genetic profile of the adolescent may prevent the development of metabolic risk factors and the onset of chronic diseases in adulthood.

Key words: Adolescents, genetic polymorphisms, chronic diseases, dietary intake and physical activity.

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO

O deciframento de identidades genéticas individuais têm potencial de ampliar radicalmente muitas das estratégias utilizadas na melhoria da população (CHÁVES; DE CHÁVES, 2003).

A obesidade, uma doença de múltiplos determinantes genéticos, apresenta-se atualmente como um grande problema de saúde e tem afetado o ser humano em todos os seus estágios de vida, o que inclui a infância e a adolescência (RANKINEN et al, 2006).

A infância e a adolescência são consideradas períodos críticos para o desenvolvimento de fatores de risco para doenças a serem manifestadas na vida adulta (DIETZ, 1998).

A genética não explica este crescente aumento da obesidade, já que desde o início da humanidade a composição genética dos indivíduos modificou-se marginalmente. Porém os hábitos cotidianos dos indivíduos, que incluem consumo alimentar e atividade física, têm se modificado de forma marcante durante a história da humanidade e essas alterações parecem ter “despertado” a atuação de variáveis genéticas antes consideradas “adormecidas” (DARNTON-HILL et al, 2004).

A obesidade não é apenas um problema estético e psicossocial. Esta desordem representa risco para o desenvolvimento de outras doenças metabólicas, como diabetes, hipertensão arterial e dislipidemias. O conjunto dessas doenças é normalmente precedido pela síndrome metabólica (SM), que envolve desordens do metabolismo da glicose e lipídico (GRUNDY, 2011).

As alterações no metabolismo lipídico relacionadas às triglicérides (TG), colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDL-C) e colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) estão intimamente ligadas ao desenvolvimento dessas doenças crônicas metabólicas e a SM (NOCK; PILLAI, 2012).

A apolipoproteína E (ApoE), a apolipoproteína A1 (ApoA1) e a lipase hepática (HL) são componentes importantes do metabolismo lipídico que interagem com essas lipoproteínas e lipídio (ORDOVAS, 2009).

A presença de polimorfismos nos genes que expressam essas proteínas tem modificado a concentração de lipoproteínas séricas e o risco de desenvolvimento de doenças crônicas metabólicas. Em Piracicaba-SP, local de desenvolvimento deste estudo, resultados de trabalho anterior revelaram elevada prevalência de alterações lipídicas, independentemente do estado nutricional, sugerindo que nesta população poderia estar ocorrendo a interação de fatores genéticos e ambientais na determinação das alterações encontradas, visto que a composição da dieta teve influência tanto na adiposidade corporal (BALTHAZAR, OLIVEIRA, 2011), quanto nos lipídeos séricos (BALTHAZAR, 2008), mas não o suficiente para explicar o fenômeno encontrado naqueles adolescentes.

Assim sendo, o estudo teve como objetivo analisar os efeitos dos polimorfismos nos genes *LIPC*, *ApoA1* e *ApoE* sobre os fatores de risco para doenças crônicas metabólicas, numa amostra de adolescentes, considerando também a influência do consumo alimentar e atividade física na resposta destes polimorfismos.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. DOENÇAS CRÔNICAS NÃO TRANSMISSÍVEIS (DCNT)

As doenças cardiovasculares (DCV) estão entre as grandes preocupações de saúde pública nos países desenvolvidos e em desenvolvimento. No Brasil as DCV representam a principal causa de morte no país (MALTA et al, 2006), como em outros países da América Latina e do Caribe (PRAMPARO et al, 2006).

As DCV geralmente estão associadas a um ou mais fatores de risco, que incluem aqueles não modificáveis: predisposição genética, sexo, idade e os modificáveis, como, obesidade, diabetes, hipertensão e dislipidemia (colesterol total e colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) elevado, assim como baixo colesterol de lipoproteínas de alta densidade (HDL-C) (DE GODOY et al 2006; ORDOVAS, 2009).

Estudos epidemiológicos têm mostrado uma maior prevalência de DCV em populações com altas concentrações sanguíneas de colesterol. O efeito do colesterol sanguíneo na formação do ateroma tem início precoce. Foi mostrado que as estrias gordurosas começam aparecer na aorta aos três anos de idade e, aos quinze anos comprometem 15% desta artéria e estas alterações tendem a permanecer na maioria (FORTI et al, 1998).

No Brasil em alguns estudos com números restritos de crianças e adolescentes se tem mostrado diversos tipos de dislipidemias. Na cidade de Florianópolis, uma pesquisa com 1009 crianças e adolescentes verificou que 23% da amostra apresentavam baixo nível de HDL-C e 25% apresentavam altos níveis de colesterol não HDL (GIULIANO et al, 2011).

Em Itapetininga, cidade do interior do estado de São Paulo, uma pesquisa com uma amostra de 494 crianças e adolescentes verificou que 51% desses indivíduos apresentavam aumento no Colesterol, 40.5% aumento no LDL-C, 8,5% aumento no triglicérides (TG) e baixa concentração de HDL-C em 6,1% dessas crianças (PEREIRA et al, 2009). Em Belém do Pará, um estudo prospectivo e transversal com escolares na faixa etária entre 6 e 19 anos verificou que 41% da amostra apresentava algum tipo de dislipidemia, sendo as

alterações de HDL-C a de maior frequência (29,5%) seguidos pela alterações de TG (15,8%) (RIBAS; SILVA, 2009).

Tradicionalmente, a redução dos riscos para as DCV costumam ser medidos a partir dos efeitos de determinada variável sobre os lipídios plasmáticos, mais especificamente sobre as concentrações de componentes das lipoproteínas, que são responsáveis pelo transporte e distribuição de lipídios pelo corpo (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

2.2. METABOLISMO LIPÍDICO

2.2.1 Lipoproteínas:

As lipoproteínas são partículas globulares formadas a partir da combinação de lipídios e proteínas em proporções variadas. Os TG e os ésteres de colesterol são seus principais lipídios constituintes. Na superfície, que é hidrofóbica, encontram-se fosfolipídios, uma pequena quantidade de colesterol livre (CL) e proteínas chamadas apolipoproteínas (Apo) (BIGGERSTAFF; WOOTEN, 2004).

As lipoproteínas são classificadas de acordo com a densidade, que é determinada pela quantidade de lipídios e proteínas contidas nas partículas. Quanto maior quantidade de proteínas maior será a densidade (SIKORSKI, 2006).

As lipoproteínas são classificadas em: quilomícrons (Qm) - lipoproteína formada no intestino que transporta TG para os tecidos, ciclo exógeno - as lipoproteínas de muita baixa densidade (VLDL), as lipoproteínas de densidade intermediária (IDL), as LDL, a lipoproteína(a) (partícula semelhante a LDL que apresenta a Apo(a) e é considerada um marcador para DCV) e as HDL (SIKORSKI, 2006).

2.2.2 Transporte de lipídios para os tecidos

Os TG da dieta transportados até o fígado pelos Qm ou aqueles produzidos endogenamente a partir de carboidratos e proteínas são os principais componentes das VLDL que são sintetizadas pelo fígado (RECKLESS; LAWRENCE, 2003). A principal Apo da VLDL é a ApoB100, responsável pela sua secreção, porém essa partícula apresenta também outras proteínas em sua estrutura, como, as ApoC (C1,C2,C3) e ApoE. (CHANDALIA; ABATE, 2003).

A VLDL é liberada do fígado para os músculos e tecido adiposo, onde a ApoC2 ativa a Lípase Lipoprotéica (LLp) que hidrolisa os TG e libera ácidos graxos para armazenamento de gordura no tecido adiposo ou para serem oxidados na produção de energia pelos músculos e outros tecidos (KIRK, 2005). Com a depleção de TG e enriquecimento com colesterol esterificado (CE) é formados os remanescentes de VLDL que podem ser recicladas no fígado pela interação com o receptor hepático de LDL, em processo mediado pelas ApoB e ApoE (SIKORSKI et al, 2006, NAKAJIMA et al, 2011). Outro processo alternativo é a remodelação de VLDL remanescente em IDL e em seguida LDL a partir da Lípase hepática (HL) (SIKORSKI, 2006).

A LDL é constituída de 20% de ApoB100, 9% de CL, 38% de CE e 7% de TG (SIKORSKI, 2006). A LDL é responsável pelo fornecimento de colesterol aos tecidos, usado na síntese e reparação da membrana celular e para processos como síntese de hormônios esteróides e vitamina D (SIKORSKI, 2006).

As partículas de LDL permanecem por longo tempo no plasma, mas podem ser captadas pelo fígado, sendo esta a principal forma de controle das concentrações séricas de colesterol (TEERLINK et al, 2004).

O aumento de colesterol exógeno leva a uma queda da expressão de receptores hepáticos para LDL, o que leva ao aumento do LDL-C no sangue, aumentando a possibilidade de que seja oxidado e, por consequência, promova a formação de placa aterosclerótica (DAVIGNON; GANZ, 2004).

2.2.2.1 Apolipoproteína E (ApoE)

A ApoE é uma glicoproteína componente estrutural da maioria das classes das partículas de lipoproteínas circulantes (GOLLEDGE et al., 2010; BURMAN et al, 2009).

A maior parte da ApoE é sintetizada pelo fígado, sendo a outra parte sintetizada por diversos tecidos (glândulas adrenais, ovários, pulmões, tecido adiposo, rins) (MINIHANE et al, 2007).

A ApoE humana é formada por uma única cadeia polipeptídica de 299 resíduos de aminoácidos com uma massa molecular de 34,2 kDa. Na ApoE existem dois domínios dobrados independentes: O N - terminal e o C-terminal (SAITO et al, 2004).

O domínio N - terminal é responsável pela ligação da ApoE ao receptor de LDL e o domínio C - terminal possui alta afinidade com os lipídios e é responsável pela mediação da ligação da ApoE à superfície das partículas de apolipoproteína (SAITO et al, 2004).

A ApoE possui funções importantes no metabolismo das lipoproteínas, como: co-fator na síntese de VLDL, participa da hidrólise dos remanescentes de VLDL para a produção de LDL, é responsável pela captação das lipoproteínas pelo fígado e sítios periféricos, já que é um ligante de alta afinidade para o receptor que media a remoção dos remanescentes das lipoproteínas (DO et al, 2009; MINIHANE et al, 2007).

A ApoE parece estar associada com variações nas concentrações de lipoproteínas séricas em adultos (SMART et al., 2010) e com o desenvolvimento e progressão da aterosclerose (GOLLEDGE et al, 2010).

2.2.3 Transporte reverso do colesterol

2.2.3.1 Lipoproteína de alta densidade – HDL

A HDL tem origem no fígado a partir da síntese de ApoA1 e ApoA2, podendo ApoA1 também originar-se no intestino (LUND-KATZ et al, 2003). A HDL nascente, contendo apenas ApoA1 e fosfolipídio, é instável e pronta para adquirir lipídeos, o que ocorre ao interagir com células periféricas, como os macrófagos prontos para doar CL (BARTER et al, 2004; SINGH et al, 2007; GERMAN et al 2006). Esse processo é mediado pela '*ATP-binding cassette protein, subfamília A1*' (ABCA1), que promove a solubilização desses lipídios. A ApoA1 é a principal apolipoproteína das HDL, mas essas partículas podem também conter ApoA2, ApoC, ApoD e ApoE. Esta lipoproteína é a de maior densidade ($1,06 - 1,20 \text{ g mL}^{-1}$) e de menor diâmetro (10nm) (LUND-KATZ et al, 2003).

As HDL formam um grupo de partículas com variadas densidades, entre as quais predominam as partículas maduras, esféricas, menos densas e ricas em CE, as frações de HDL₃ e HDL₂. Em menor quantidade, encontram-se as partículas de muito alta densidade, incluindo as pré- β -HDL, das quais depende a eficiência da HDL na remoção do colesterol dos tecidos periféricos (LUND-KATZ et al, 2003; SIKORSKI, 2006).

Ao processo de remoção do colesterol dos tecidos periféricos e das lipoproteínas ricas em colesterol pelas HDL é dado o nome de transporte reverso do colesterol (TRC). Além da ABCA1, nesse processo então envolvidas a enzima lecitina-colesterol acil transferase (LCAT), a proteína transportadora de colesterol ester (CETP) e a PLTP (proteína da transferência de fosfolipídio). Pela ação da LCAT há esterificação do colesterol livre no interior das partículas atua sua maturação, na forma de HDL₂, passando antes pelo formato de HDL₃, uma partícula menor e mais densa (BARTER et al., 2003; WANG; BRIGGS, 2004). Pela mediação da CETP e da PLTP, o CE e os fosfolipídios são exportados das HDL para lipoproteínas que contém ApoB, enquanto as HDL recebem TG dessas mesmas.

O enriquecimento das partículas de HDL₂ com TG torna a partícula substrato para a lipase endotelial e para a HL, esta última é uma enzima aderida ao endotélio dos vasos hepáticos (EISENBERG, 1984; VON ECKARDSTEIN et al, 2001; SANTAMARINA et al, 2004). A ação da HL e das proteínas de transferência formam partículas de HDL pobres em lipídeos, convertendo novamente a HDL₂ à HDL₃, que retorna ao ciclo de remoção tecidual. No fígado, o '*Scavenger receptor B1*' (SR-B1) media a absorção seletiva de ésteres de colesterol da HDL para o fígado e órgãos esteroidogênicos. (BURTIS et al, 1999; PROCASKA, 2008; SILVA, 2007).

2.2.3.2 Apolipoproteína A1 (ApoA1)

A ApoA1 é a apolipoproteína que possui um principal papel na inicialização do TRC (REICHL; MILLER, 1989). A produção e o catabolismo desta apolipoproteína irão determinar a concentração plasmática do HDL-C (BOLANOS-GARCIA; MIGUEL, 2003).

A ApoA1 é sintetizada no fígado e, em menor quantidade, no intestino; sua forma humana consiste de 243 resíduos de aminoácidos e massa molecular de 28kDa (BOLANOS-GARCIA; MIGUEL, 2003). A ApoA1 é dividida em dois domínios: Um domínio N-terminal (resíduos 1-43) e um domínio C-terminal (resíduos 44-243) (SAITO et al, 2004).

A α -hélice do terminal C é o segmento mais apolar da molécula apoA-I humana e, presumidamente, esta é responsável pelo estímulo do efluxo do colesterol (SAITO et al, 2004). Um estudo realizado por Lyssenko et al. (2012) indicou que tanto a taxa de efluxo de colesterol e os tamanhos das HDL são sensíveis a hidrofobicidade da hélice da ApoA1 (LYSSENKO et al, 2012).

A ApoA1 media três passos no TRC: (1) a formação da HDL nascente a partir de colesterol livre (CL) e fosfolipídios pela ação da ABCA1; (2) a conversão de CL nas partículas de HDL em CE por atuar como co-fator na associação de HDL com a enzima LCAT e; (3) a transferência de CE e CL da HDL para o fígado por atuar como um ligante para o SR-BI localizado na superfície dos hepatócitos (BOLANOS-GARCIA; MIGUEL, 2003; SAITO et al, 2004).

A molabilidade e a instabilidade da ApoA1 torna a apta para se ligar a várias partículas lipídicas e formar partículas de HDL de diversos tamanhos (BOLANOS-GARCIA; MIGUEL, 2003; SAITO et al, 2004).

Vários estudos epidemiológicos e clínicos revelaram associação entre as baixas concentrações plasmáticas de HDL-C e de ApoA1 e o aumento do risco de infarto do miocárdio. (SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA, 2007).

2.2.3.3 *Lípase Hepática (HL)*

A HL é uma glicoproteína membro da superfamília lípase (ISAACS et al, 2004). Esta enzima é sintetizada e secretada principalmente pelo fígado e em menor quantidade na glândula adrenal e ovário (SANTAMARINA-FOJO et al, 1998). Nesta enzima são encontrados dois domínios: o domínio N-terminal que contém uma tríade catalítica (Aspartato – Histidina - Serina) e o domínio C-terminal, onde é localizado o mais importante sítio de ligação aos lipídios (SANTAMARINA-FOJO et al, 1998).

A HL é encontrada ligada às proteoglicanas de heparan sulfato (HSPG), na superfície dos hepatócitos e células endoteliais podendo ser liberada na corrente sanguínea pela heparina e HDL (JI et al, 1998).

A HL possui um importante papel no metabolismo e modelação de lipoproteínas pró e anti aterogênicas, sendo considerada por alguns autores como fator de risco e por outros como proteção para DCV (ISAACS et al, 2004). A HL funciona tanto como hidrolase de acilglicerol, hidrolisando TG dos remanescentes de Qm, IDL, LDL e HDL e fosfolipase de HDL₂ (JANSEN et al, 2002). Quanto maior a atividade da HL maior a formação de LDL pequenas e densas (CARR et al, 2001).

A HL também pode facilitar o processo do TRC, pois ao mediar à conversão de HDL₂ rica em TG em HDL₃ pobre em TG libera ApoA1 e HDL pobre em lipídios que retornam ao periférico para recomeçar o ciclo do TRC (HILL; MCQUEEN, 1997) .

A função da HL não é apenas atribuída à atividade lipolítica, mas devido a sua habilidade de se ligar ao HSPG ela facilita a captação de lipoproteínas pelo fígado, incluindo os remanescentes de Qm, beta-VLDL, LDL como também HDL (SANTAMARINA-FOJO et al, 1998).

2.3. Síndrome metabólica ou síndrome de resistência à insulina:

A dislipidemia, obesidade, hipertensão arterial sistêmica (HAS) e diabetes mellitus são causadas por fatores de risco resultantes de mudança de hábitos de vida e se encontram patogenicamente interligadas, sendo essa associação caracterizada pelo termo de síndrome metabólica ou síndrome de resistência à insulina (GRUNDY, 2011).

O acúmulo de gordura intra-abdominal aumenta a atividade lipolítica celular, ocorrendo maior liberação de ácidos graxos livres (AGL) na veia porta. Os AGL em excesso contribuem para maior liberação hepática de VLDL e diminuição da extração hepática de insulina (BOSELLO; ZAMBONI, 2000; OLIVEIRA et al, 2004). A resistência à insulina também pode aumentar a produção de VLDL por duas vias: (1) Redução da mediação da insulina na supressão da lipase hormônio-sensível (enzima responsável pela quebra de triglicérides em glicerol e ácidos graxos nos adipócitos); (2) Diminuição da degradação da ApoB (ADELI et al, 2001).

Maior liberação e maior tempo de permanência da VLDL na circulação levam à redução das concentrações e do tamanho da HDL e aumento da formação de LDL menores e mais densas. Isso, uma vez que o CETP facilita a troca de triglicérides (por colesterol) da VLDL para as partículas de HDL e LDL, aumentando a ação da HL nestas lipoproteínas, formando HDL menores que são mais facilmente eliminadas pelo rim e LDL menores mais densas que são consideradas bem mais aterogênicas (BLACKBURN; BELVIS, 2004; OLIVEIRA et al, 2004; BAYS et al, 2005).

A HAS desenvolve-se pelas mesmas vias da dislipidemia, com o aumento de ácidos graxos liberados pelo tecido adiposo e inibição da produção de óxido nítrico endotelial, um potente vasodilatador (CARVALHO et al, 2006). Ao mesmo tempo é estimulada a geração de ânions super-óxidos por células endoteliais e vasculares, contribuindo para a diminuição da biodisponibilidade de óxido nítrico (CARVALHO et al, 2006).

2.4. FATORES DIETÉTICOS

A dieta é um importante fator de modulação das lipoproteínas plasmáticas, sendo considerado pelo National Cholesterol Education Program (NCEP) um dos primeiros tratamentos para a redução do colesterol sérico elevado (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

Pelo NCEP, os componentes essenciais para a mudança da dieta incluem a redução do ácido graxo saturado (SFA) (< 7% do total de energia) e do colesterol dietético (< 200mg/dia), uma vez que esses lipídios são os responsáveis pelo aumento do LDL-C (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

Os SFA não apresentam na sua estrutura dupla ligação entre os átomos de carbono tornando o saturado de hidrogênio, reduzindo assim a velocidade de eliminação do colesterol sérico, facilitando a sua deposição nos vasos (CHUN-LAN et al, 1992).

Na dieta ocidental o ácido palmítico (C_{16:0}) é o mais importante SFA, sendo seguido pelo ácido esteárico (C_{18:0}), mirístico (C_{14:0}), láurico (C_{12:0}) e aqueles de cadeias médias e curtas (C_{10:0} ou menos - MCFA) (VIANNI; BRAZ FILHO, 1995).

No geral 1% de aumento no total de energia da dieta proveniente de SFA, aumenta em 2% o LDL-C (MENSINK; KATAN, 1992). Concomitante, também é verificado aumento na concentração de HDL-C e TG, quando comparado a substituição de carboidrato (MENSINK et al, 2003).

Porém, nem todos os SFA se comportam da mesma maneira, o ácido láurico e o mirístico são os que têm maior potencial para aumentar a concentração do colesterol total e de LDL, como também do HDL (MENSINK et al, 2003). Porém o ácido láurico tem um maior efeito sobre o HDL em comparação ao mirístico. Em relação ao ácido graxo palmítico, alguns estudos indicam que este ácido graxo é menos aterogênico que o láurico e o mirístico (SUNDRAM et al, 1994; MENSINK et al, 2003), apesar de não confirmado em todos os estudos (ZOCH et al 1994; BERRY, 2009).

O ácido esteárico apesar de ser classificado como SFA possui um efeito muito diferente dos demais ácidos dessa categoria (HUNTER et al, 2010). Em

alguns estudos foi verificado que ele possui um pequeno efeito sobre a concentração do LDL-C ou tende a diminuir a concentração desta lipoproteína quando comparado a outros SFA, o mesmo foi verificado com a concentração de HDL-C (ARO et al, 1997; SNOOK et al, 1999; BECKER et al, 1999). Gorduras naturalmente ricas em ácido esteárico incluem o óleo de noz de Karité, manteiga de cacau, manteiga, banha de porco e sebo bovino (HUNTER et al, 2010).

Os ácidos graxos trans (TAF) aumentam a quantidade de LDL-C tanto quanto o SFA, as recomendações brasileiras indicam um consumo abaixo de 1% do total de caloria (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2007).

Os TAF são ácidos graxos insaturados que contém uma ou mais ligações duplas de etileno na configuração geométrica trans, ou seja, os átomos de hidrogênio estão em lados opostos da cadeia de carbono (LARQUÉ et al, 2001).

Esse ácido pode ser encontrado naturalmente na gordura animal, mas também pode ser produzido nas indústrias pelo processo de hidrogenação catalítica de óleos vegetais (MICHA; MOZAFFARIAN, 2008).

Esses ácidos graxos são encontrados em bolachas, biscoitos, pães, sorvetes, alimentos fritos em gordura hidrogenada, entre outros (STACHOWSKA et al, 2006).

Além da redução do SFA, TAF e colesterol dietético, outros macronutrientes também devem ser considerados para que se tenha uma dieta saudável: ácido graxo monoinsaturado (MUFA) ($\leq 20\%$ da energia consumida), ácido graxo poliinsaturado ($\leq 10\%$ da energia), gordura total (25 a 35% da energia) carboidrato (50 a 60% de energia), proteínas ($\cong 15\%$ da energia) e fibras dietéticas (20 a 30g por dia) (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

Os MUFA, como o próprio nome sugere, apresentam apenas uma única dupla ligação na cadeia de carbono (BRONDZ, 2005). Esta dupla ligação está posicionada no nono átomo de carbono, contando a partir do final da metila (ômega) da cadeia de ácidos graxos (BRONDZ, 2005).

O mais comum MUFA da dieta é o ácido oléico ($C_{18:1}$), mas também são encontrados o palmitoléico ($C_{16:1}$), o ácido miristoléico ($C_{14:1}$), ácido gadoléico

(C_{20:1}) e o ácido erúico (C_{22:1}) (MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOODS, 1998).

Uma dieta rica em MUFA tem resultado em diminuição das concentrações plasmáticas de LDL-C, enquanto mantém ou aumenta as concentrações de HDL-C e diminui o TG (GILLINGHAM et al, 2011).

Em todos os estudos consultados foi confirmada a necessidade de substituir a energia de SFA por ácidos graxos insaturados, mas ainda é incerto se a troca deve ser por MUFA ou ácidos graxos poli-insaturados (PUFA), existe quem defenda a troca por MUFA, porém para alguns essa decisão é precipitada (GUSTAFSSON et al, 1992; FANG-HSUEAN et al, 2010).

Num estudo de revisão Truswell et al. (1998) analisaram as diferenças entre os vários tipos de óleos dietéticos ricos em MUFA (óleo de oliva, canola, girassol e cártamo). Foi verificado que com o consumo de óleo de oliva a concentração de LDL-C foi maior que com o consumo dos demais óleos (TRUSWELL; CHOUDHURY, 1998).

O óleo de oliva é o que apresenta maior quantidade de MUFA, o óleo de canola apresenta maior quantidade de PUFA em relação ao óleo de oliva, o óleo de cártamo apresenta maior quantidade de PUFA e menor quantidade de SFA em relação ao óleo de oliva e por ultimo o óleo de girassol apresenta menor quantidade de SFA (TRUSWELL; CHOUDHURY, 1998). Deste modo pode se avaliar que a melhora nas concentrações de LDL-C nesses óleos ricos em MUFA, não seja realmente por causa desse ácido graxo e sim por outros componentes (TRUSWELL; CHOUDHURY, 1998).

Deve-se lembrar de que o MUFA ganhou atenção devido à dieta mediterrânea, indivíduos que consumiam essa dieta apresentavam menor risco de DCV, nesta dieta o óleo de oliva é a fonte predominante de gordura, mas esses indivíduos também consomem uma menor quantidade de SFA e uma maior quantidade de peixes, grãos, frutas, legumes (SOFI et al, 2008). Portanto o efeito benéfico pode não estar apenas relacionado ao consumo de óleo de oliva e sim a outros componentes presentes na dieta mediterrânea.

O PUFA apresenta dois ou mais duplas ligações *cis*, com a posição da primeira dupla ligação no átomo de carbono seis a partir do final da metila da molécula. O ômega n-6 (Linoléico) é o PUFA predominante na dieta e é

encontrado nas castanhas, sementes e nos óleos vegetais, como os de milho e soja. O ômega n-3 (Linolênico) é encontrado nos peixes, principalmente savelha, salmão, atum e anchova (MEYER et al, 2003).

As dietas ricas em PUFA tendem a diminuir as concentrações colesterol em todas as lipoproteínas (MATA et al,1998; ORDOVAS et al, 2006). Vários ensaios clínicos controlados têm comparado o efeito de PUFA, ao substituir os SFA e se tem verificado que essa substituição tem reduzido os riscos de DCV, devido ao balanço entre ácidos graxos ômega-3 e 6 na resposta inflamatória (RUXTON et al, 2004; KAPOOR et al, 2006).

Nas diretrizes do NCEP para a dieta, também foca-se a quantidade total de gordura a ser consumida, porém isto é apenas realizado para evitar um excesso no consumo de SFA. Muitos também substituem SFA por carboidrato, apesar de haver uma queda de LDL-C, a quantidade de TG e HDL-C, respectivamente, aumenta e diminui (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

Além de sofrer influências de macronutrientes, o risco para DCV pode estar associado aos padrões dietéticos (U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES, 2000; KRAUSS et al, 2000). Em muitos estudos têm se verificado que um padrão dietético que privilegia um consumo de legumes, leguminosas, frutas, grãos protege contra doenças metabólicas (KOLETZKO; TOSCHKE, 2010; AOUNALLAH-SKHIRI et al, 2011; BALTHAZAR; OLIVEIRA, 2011). Este padrão dietético parece estar relacionado ao aumento de nutrientes antioxidantes, ácido fólico, fibras dietéticas, vitaminas do complexo B, entre outros micronutrientes (NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM, 2002).

2.5. ATIVIDADE FÍSICA

A atividade física é definida por qualquer movimento que seja resultado de contração muscular voluntária que leve a um gasto energético acima do repouso. Por exemplo, andar, dançar, correr, pedalar, subir escadas, jardinar ou nadar (MATSUDO et al, 2006).

A atividade física é um importante determinante das características físicas de adultos e adolescentes. A falta de atividade física associada com o excesso de consumo de alimentos densamente energéticos pode resultar em doenças crônicas, como obesidade, dislipidemias entre outras (FONSECA et al, 1998).

A inatividade física está associada com risco aumentado para DCVs. Por outro lado, a prática de atividade física modifica favoravelmente vários fatores de risco, como, redução de LDL-C e TG, aumento do HDL-C e melhora da sensibilidade à insulina e HAS. Evidências de vários estudos observacionais têm observado a associação de atividade física com diminuição de risco para DCVs (PAFFENBARGER et al, 1993 HASKELL et al, 1994).

A inatividade física, que é caracterizada pela falta de atividade física do dia a dia (ocupação e transporte) e aumento das atividades sedentárias (uso de computador e televisão), reduz o gasto calórico e esta redução contribui para o desenvolvimento da obesidade (HOPIN, 2005).

Os mecanismos pelos quais a inatividade física aumenta o risco para DCVs provavelmente são multifatoriais.

Alterações lipídicas podem estar associadas a este ganho de peso, porém esse mecanismo ainda é controverso (RAITAKARI et al, 1997). Estudos de intervenção evidenciam a melhora de perfil lipídico e de lipoproteínas com a atividade física. Esse efeito é independente de sexo, peso corporal e adoção da dieta, porém pode ser dependente do grau de tolerância à glicose (LAMPMAN; SCHTEINGART, 1991; DURSTINE; HASKELL, 1994).

2.6. FATORES GENÉTICOS X ESTILO DE VIDA

A identidade genética, que pode ser definida como uma combinação única de variantes comuns de milhares de genes polimórficos que regem vias metabólicas e endócrinas (metabolismo lipídico, metabolismo energético, função cardíaca, metabolismo da glicose, entre outras), interage com fatores ambientais (DARNTON-HILL et al, 2004). A dieta é um dos mais importantes fatores que influencia a resposta dos genes e que modula diversas doenças com patogênese multifatorial (ORDOVAS, 2009).

A gordura dietética é um importante macronutriente para o crescimento e desenvolvimento do organismo (JUMP; CLARKE, 1999). Além do seu papel de fonte energética e o seu efeito na composição das membranas biológicas, a gordura dietética tem um profundo efeito na expressão gênica, levando a mudanças no metabolismo, crescimento e diferenciação celular (JUMP; CLARKE, 1999).

A atividade física, como já mencionada, possui um importante papel no gasto energético total diário, contribuindo para a regulação do peso corporal. A atividade física parece diminuir a expressão de genes relacionados com a síntese de ácido graxo e redução de lipogênese (FIEBIG et al, 1999). Portanto, pode diminuir os efeitos de genes relacionados à obesidade (CHANOCK et al, 2007) e consequentemente fatores de risco para DCV.

Nesta revisão focaremos na interação dos fatores genéticos com os dietéticos na resposta do metabolismo lipídico. Serão analisados os polimorfismos de nucleotídeo único (SNP) do gene da *ApoA1*, da *LIPC* (Lípase hepática) e da *ApoE* (mutação missense).

2.7. FATORES GENÉTICOS

2.7.1 O Gene da Lípase Hepática (*LIPC*)

O gene humano da lípase hepática (*LIPC*), localizado no cromossomo 15q21-q23 com um tamanho de fragmento >120kb de DNA, codifica uma proteína de 449 aminoácidos, a HL (CARR et al, 2001).

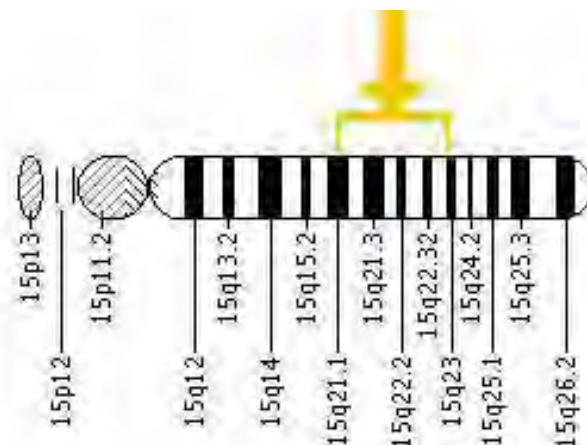


Figura 1. Localização do gene *LIPC*

Fonte: Genetic Home Reference, 2012

Tem se verificado que quanto maior a expressão da HL, menor a concentração de HDL e quanto menor a expressão da HL maior a concentração de HDL (ISAACS et al, 2004). Notavelmente, a variação alélica do gene *LIPC* é responsável pela variabilidade da concentração plasmática de colesterol de HDL (CARR et al, 2001; ISAACS et al, 2004; GÓMES et al, 2005; JI et al, 2002; ORDOVAS et al, 2002; SOMEKAWA et al., 2002; ZAMBON et al, 2001; ZHANG et al, 2005; YAMAKAWA-KOBAYASHI et al, 2002).

Na região 5'-flanqueadora do gene *LIPC* são verificados 4 polimorfismos relacionados ao sitio de transcrição e que apresentam-se em total *linkage disequilibrium* (*desequilíbrio de ligação*), encontrando-se associados à baixa atividade da HL e maior concentração de HDL-C (GUERRA et al, 1997).

Neste trabalho focou-se numa substituição comum de C (citocina) por T (timina) na posição -514 (rs1800588) da região promotora do gene *LIPC*. O alelo T está associado com a queda da atividade da HL, aumento da concentração de partículas de HDL, aumento da subfração de grandes HDL e grande flutuabilidade das partículas de LDL; ao contrário do alelo C que se apresenta associado ao aumento da concentração de LDL pequenas e densas (ISAACS et al, 2004; CARR et al, 2001).

Em um estudo de meta-análise a partir de 25 publicações, em torno de 24 mil indivíduos analisados, encontrou-se significativo aumento da média de HDL-C no grupo com genótipo CT em torno de 0,04 mmol/L (1,54 mg/dl) e no grupo TT o aumento foi de 0,09mmol/L (3,47mg/dL), comparados ao grupo CC (ISAACS et al, 2004).

Em estudos experimentais, nos quais foi investigada a associação do polimorfismo -514CT com o consumo de ácidos graxos foi mostrado que as concentrações dos lipídios plasmáticos se alteram de acordo com o tipo de ácidos graxo consumido e com a presença de alelos T e C no gene da *LIPC*.

No Framingham Study verificou-se que a presença do genótipo TT poderia prejudicar o funcionamento normal do metabolismo lipídico, quando dietas ricas em gorduras de origem animal fossem consumidas, pois quando o consumo de gordura era maior que 30% da energia proveniente da dieta em indivíduos com genótipo TT, as concentrações de HDL-C foram baixas. Estas relações foram verificadas com as gorduras saturadas e monoinsaturadas, mas não com as gorduras poliinsaturadas (ORDOVAS et al, 2002).

No estudo de Gómes et al. (2005) foi verificado que a concentração de glicose plasmática foi significativamente maior em homens que carregavam o alelo T após o consumo de uma dieta rica em gorduras saturadas, do que após um consumo de uma dieta rica em carboidratos ou de uma dieta mediterrânea (GÓMES et al, 2005).

Numa pesquisa realizada com homens diabéticos, o alelo T foi associado com alta concentração de HDL-C apenas em homens que não apresentavam excesso de peso e que consumiam uma alta quantidade de gordura saturada (ZHANG et al, 2005).

2.7.2 O Gene da Apolipoproteína A1 (*ApoA1*)

O gene da *ApoA1* está localizada na região 23 do braço longo do cromossomo 11 (11q23) e esta região é conhecida por influenciar os parâmetros lipídicos em humanos, sendo que mutações nesta região cromossômica têm sido associadas a grave hipertrigliceridemia, evidenciada há mais de 15 anos (GROENENDIJK et al., 2001a).

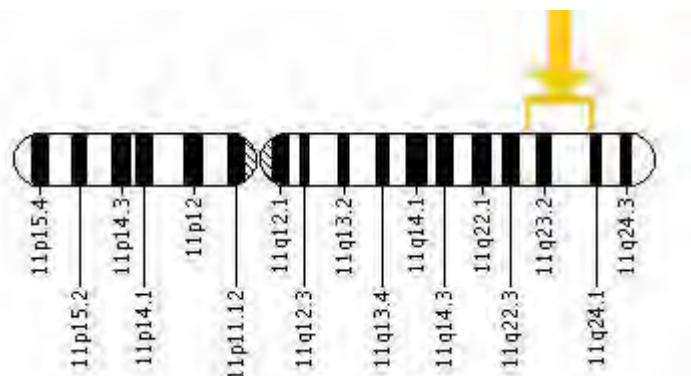


Figura 2. Localização do gene *ApoA1*

Fonte: Genetic Home Reference, 2012

A diminuição das concentrações de HDL-C e ApoA1 tem sido associada a diferentes mutações no gene da *ApoA1* (FRANÇA et al, 2005; HONG et al, 1997; ROMA et al, 1990 SINGH et al, 2007).

Os polimorfismos da *ApoA1* são muito estudados e tem se verificado a influência destes na concentração de HDL-C e TG (ORDOVAS et al, 2002; FRANÇA et al, 2005; SINGH et al, 2007; GROENENDIJK et al, 2001b; SHIOJI et al, 2004). Além disso, tem se constatado uma associação desses polimorfismos com as DCVs (SHIOJI et al, 2004; DAWAR et al, 2010).

O polimorfismo T84C HaeIII *ApoA1* (rs5070) localizado na região intrônica 2 foi um dos mais recentes descobertos no gene *APOA1* e este polimorfismo encontrou-se associado com hipertrigliceridemia (GROENEDJKI et al, 2001b, YAMADA et al, 2007; SHIOJI et al, 2004,) e HDL-C abaixo do normal (SHIOJI et al, 2004).

A expressão genética da *ApoA1*, tem visto ser influenciada pelo consumo dietético de ácidos graxos essenciais como os PUFA n-3 e n-6 (Omega 3 e Omega 6) (ORDOVAS, 2006). No geral, estes estudos estavam relacionados aos polimorfismos -75GA (rs670) e +83CT MspI (rs5069) (MATA et al, 1998; ORDOVAS et al, 2002). Foi identificado apenas um estudo que relacionou a interação de consumo alimentar com o polimorfismo T84C *ApoA1* e este não verificou nenhuma associação (RUAÑO et al, 2006a).

Pesquisadores têm utilizado polimorfismos da *ApoA1* para prever o efeito dos exercícios no perfil das lipoproteínas (GÓMEZ-GALLEG0 et al, 2010; RUAÑO et al, 2006b). Em um estudo, pesquisadores verificaram que o

polimorfismo -75GA apresentou-se associado com elevação do HDL-C em resposta ao exercício regular (Ruaño et al, 2006b).

2.7.3 O Gene da Apolipoproteína E (*ApoE*)

As concentrações de lipoproteínas são influenciadas por polimorfismos do gene da *ApoE* (GOLLEDGE et al, 2010). Devido a estas características, o gene *apoE* é a variante mais estudada em relação às doenças cardiovasculares (MINIHANE et al, 2007).

O gene da *ApoE* localiza-se no cromossomo 19q13.2, com uma extensão de 3160 pares de bases, consiste de 4 exons e três introns (MINIHANE et al, 2007). O *locus* desse gene é polimórfico, sendo identificado até hoje oitenta e quatro variantes desse mesmo (LOVEGROVE; GITAU, 2008).



Figura 3. Localização do gene *ApoE*
Fonte: Genetic Home Reference, 2012

O polimorfismo mais conhecido e amplamente caracterizado é a mutação missense, que resulta em três isoformas alélicas: E2, E3, E4 (ou $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$) (LOVEGROVE; GITAU, 2008; IZZO, 2010) denotados como: *ApoE**E2; *ApoE**E3 e *ApoE**E4.

Estes alelos diferem entre si apenas pela troca de dois aminoácidos (arginina e cisteína) nas posições 112 (rs429358) e 158 (rs7412) (CLARK et al., 2009, TAYLOR et al, 2010 IZZO, 2010)

No polimorfismo rs7412 o alelo de menor frequência é a timina e no polimorfismo rs429358 o alelo de menor frequência é a citosina. Numa troca de C por T na posição 158 (rs7412) e na posição 112 (rs429358) há formação do aminoácido cisteína e ao contrário (T por C) há formação de arginina.

O Alelo *ApoE**E3 codifica a forma ancestral, na posição 112 há presença de uma cisteína e na posição 158 uma arginina, no alelo *ApoE**E4 há presença de arginina na posição 112 e 158 e no alelo *ApoE**E2 há presença de cisteína na posição 112 e 158 (LOVERGROVE; GITAU, 2008 ; IZZO, 2010).

Os estudos in vitro revelam uma diferença funcional entre as isoformas E2, E3 e E4, de modo que, enquanto a *ApoE*3 e *ApoE*4 se ligam com afinidade semelhantes entre si aos receptores de LDL, a *ApoE*2 apresenta apenas 2% dessa afinidade de ligação (CLARK et al, 2009).

Em indivíduos que apresentam o alelo E4 é verificada maior circulação de colesterol total e LDL-C e Apo B em comparação aos portadores de E2. LDL-C concentrações para portadores de E4 e E2 são na média 8.3% maiores e 14.2% menores, respectivamente, dos homozigotos para E3. A baixa concentração de LDL-C em indivíduos com E3/E2 e E2/E2 pode ser explicada por diversos mecanismos, como, aumento da remoção de LDL pelo receptor hepático, baixa conversão de VLDL para LDL (MINIHANE et al, 2007).

No Reino Unido, em um estudo com crianças, verificou-se que a concentração de colesterol total e LDL-C aumentava com o número de alelos E4 e decaía com o número de alelos E2 ($p < 0,0001$). Ao contrário, a concentração de HDL-C diminuía com o número de alelos E4 e aumentava com o número de alelos E2 ($p < 0,0001$) (TAYLOR et al, 2010).

Um estudo realizado no Canadá, com indivíduos chineses, europeus e sul-asiáticos verificou que o genótipo E4 estava associado com um aumento de LDL-C ($p < 0.001$), e uma diminuição de ApoA1 ($< 0,001$) e HDL-C ($p = 0,005$) (BURMAN et al, 2009).

Em relação ao gene da *ApoE*, tem se verificado que este gene modifica a sua resposta no organismo de acordo com o conteúdo total de gordura e a composição de ácido graxo consumido na dieta (MINIHANE et al, 2007).

Um estudo de revisão do gene *ApoE* realizado em 2006, verificou que no geral os portadores do alelo E4 eram mais responsivos a manipulação da gordura da dieta, principalmente manipulação de gordura saturada, monoinsaturada e poliinsaturada (MINIHANE et al, 2007).

Um estudo de revisão brasileiro realizado em 2009 também verificou que os portadores do Alelo E4 do gene da *ApoE* eram mais responsivos à

modificações do conteúdo de gordura na dieta, enquanto que os portadores do alelo E2 eram mais responsivos ao conteúdo de carboidratos. Num estudo realizado no Reino Unido foi verificado que com o aumento da gordura saturada os portadores de E4 apresentavam maior quantidade de LDL-C (SCHUCH et al, 2010).

2.8. Estudos em Piracicaba com escolares

Desde 2003 o nosso grupo de pesquisa, que inclui pesquisadores da UNIMEP e UNESP, em colaboração de pesquisadores da USP, vem realizando levantamentos sobre a prevalência de fatores de risco para DCNT em escolares do município de Piracicaba (OLIVEIRA et al, 2006).

Em 2008, foram comparados os dados de fatores de risco modificáveis e não modificáveis entre escolares obesos e eutróficos (n=84). Apesar de encontrado um grande número de crianças com alteração no perfil lipídico, não foi possível explicar, principalmente, as alterações de HDL-C e LDL-C, já que não foram encontradas relação desse fenômeno com as variáveis analisadas (BALTHAZAR, 2008). Por esta razão, foi suposto que poderia haver outras variáveis, que não as que estavam sendo analisadas, influenciando essas alterações.

Nesse sentido, começamos a levantar dados sobre alterações lipídicas e características genéticas e identificamos quatro polimorfismos genéticos, dois ligados as alterações da HDL-C (polimorfismos do gene *LIPC* e *ApoA1*) e dois ligados as alterações do CT e LDL-C que (polimorfismos do gene *ApoE*), os quais havia fundamento investigar, pois poderiam estar influenciando as alterações no perfil lipídico, o que resultou na hipótese do presente estudo.

Diante dos dados apresentados, foram eleitos os polimorfismos nos genes *LIPC* (-514CT - rs1800588); *ApoA1* (C84T rs5070) e *ApoE* (posições 112(rs429358) e 158 (rs7412)) como variáveis a serem analisadas em associação com o perfil dos lipídeos séricos e fatores de estilo de vida, como fatores de risco ou proteção para as DCV.

3. OBJETIVO

3.1. OBJETIVO GERAL

Analisar os efeitos dos polimorfismos -514CT no gene da *LIPC* e C84T no gene da *ApoA1*, bem como da mutação missense no gene da *ApoE* nos fatores de risco para doenças crônicas metabólicas, numa amostra de adolescentes, de um município do interior do Estado de São Paulo, Brasil.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Verificar se a presença dos polimorfismos genéticos altera as concentrações dos componentes das lipoproteínas (CT, HDL-C, LDL-C, TG, APO-A1), glicose e insulina plasmáticas.
 - Verificar se a presença dos polimorfismos genéticos altera a pressão arterial.
 - Verificar se a presença dos polimorfismos genéticos altera a composição corporal (IMC e circunferência de cintura).
 - Verificar se os componentes da dieta modificam as concentrações dos componentes das lipoproteínas, glicose e insulina plasmáticas de forma dependente aos polimorfismos genéticos.
 - Verificar se a prática de atividade física modifica as concentrações dos componentes das lipoproteínas, glicose e insulina plasmáticas de forma dependente aos polimorfismos genéticos.
-

REFERÊNCIA

ADELI, K.; TAGHIBIGLOU, C.; IDERSTINE S.C.V; et al. Mechanisms of hepatic very low-density lipoprotein overproduction in insulin resistance. **Trends Cardiovasc. Med.**, v. 11, p.170–176, 2001.

ARO, A.; JAUHIAINEN, M.; PARTANEN, R.; et al. Stearic acid, trans fatty acids, and dairy fat: effects on serum and lipoprotein lipids, apolipoproteins, lipoprotein(a), and lipid transfer proteins in healthy subjects. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 65, p.1419–26, 1997.

AOUNALLAH-SKHIRI, H.; TRAISSAC, P.; ATI, J.E.; et al. Nutrition transition among adolescents of a south-Mediterranean country: dietary patterns, association with socio-economic factors, overweight and blood pressure. A cross-sectional study in Tunisia. **Nutr. J.**, v. 10, p.1- 17, 2011.

BALTHAZAR E.A. **Fatores de risco para Doenças Crônicas em escolares obesos**. 2008. 146f. Dissertação (Mestrado em Alimentos e Nutrição). Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Araraquara-UNESP, Araraquara, 2008.

BALTHAZAR, E.A.; DE OLIVEIRA M.R.M. Differences in dietary pattern between obese and eutrophic children. **BMC Res. Notes.**, v.4 p.567, 2011. [Epub ahead of print]

BARTER, P.J.; NICHOLLS, S.; RYE, K.A.; et al. Antiinflammatory properties of HDL. **Circ. Res.**, v.95, p.764 -772, 2004.

BARTER, P.; KASTELEIN, J.; NUNN, A.; HOBBS, R.- High density lipoproteins (HDLs) and atherosclerosis; the unanswered questions. **Atherosclerosis.**, v.168, p. 195-211, 2003.

BAYS, H. Adiposopathy, metabolic syndrome, quantum physics, general relativity, chaos and the Theory of Everything. *Expert. Rev., Cardiovasc. Ther.*, v. 3, p.393–404, 2005.

BECKER, C.C.; LUND, P.; HOLMER, G.; et al. Effects of butter oil blends with increased concentrations of stearic, oleic and linolenic acid on blood lipids in young adults. *Eur. J. Clin. Nutr.*, v.53, p.535–541, 1999.

BERRY, S.S.E. Triacylglycerol structure and interestrification of palmitic and stearic acid-rich fats: an overview and implications for cardiovascular disease. *Nutr. Res. Rev.*, v. 22, p.3–17, 2009.

BIGGERSTAFF, K.D.; WOOTEN, J.S. Understanding lipoproteins as transporters of cholesterol and other lipids. *Advan. in Physiol. Edu.*, v. 28, p.105-106, 2004.

BLACKBURN, G.L.; BEVIS, L.C. The obesity Epidemics: Prevention and treatment of the metabolic syndrome. *Medscape*, 2004. Disponível em: www.medscape.com. Acesso em :17/05/2005.

BOLANOS-GARCIA, V.M.; MIGUEL, R.N. On the structure and function of apolipoproteins: more than a family of lipidbinding proteins. *Prog. Biophys. Mol. Biol.*, v.83: p.47–68, 2003.

BOSELLO, O.; ZAMBONI, M. Visceral obesity and metabolic syndrome. *Obes. Rev.*, v.1, n.1, p.47-56, 2000.

BRONDZ, I. Lipidis: Fatty Acids. In: WORSFOLD, P.; TOWNSHEND, A.; POOLE C. *Encyclopedia of Analytical Science (Second Edition)*. Elsevier Inc., Maryland Heights, MO, 2005, p. 76-88.

BURMAN, D.; MENTE, A.; HEGELE, R.A.; et al. Relationship of the ApoE polymorphism to plasma lipid traits among South Asians, Chinese, and Europeans living in Canada. *Atherosclerosis*, v.203, p.192–200, 2009.

BURTIS, C.A.; ASHWOOD, E.R.; TIETZ, N.W. **Tietz textbook of clinical chemistry**. Philadelphia: W.B. Saunders Company, 3ed, 1999.

CARR, M.C.; HOKANSON, J.E, ZAMBON, A.; et al. The contribution of intraabdominal fat to gender differences in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 86, p. 2831–2837, 2001.

CARVALHO, M.H.C; COLAÇO, A.L.; FORTES, Z.B. Citocinas, disfunção endotelial e resistência à insulina. **Arq. Bras. Endocrinol. Metab.**, v.50, n.2, p.304-312, 2006.

CHANDALIA, M.; ABATE, N. Hyperlipidemia. In: JOHNSON, L. **Encyclopedia of Gastroenterology**. Elsevier Inc., Maryland Heights, MO, 2003, p. 403-409.

CHANOCK S.J, MANOLIO, T.; BOEHNKE, M.; et al. Replicating genotype-phenotype associations. NCI-NHGRI Working Group on Replication in Association Studies. **Nature**, v.447, p.655–660, 2007.

CHÁVES A, D.E.; CHÁVES, M.M. Nutrigenomics in public health nutrition: short-term perspectives. **Eur. J. Clin. Nutr.** v.57, S97–S100, 2003

CHUN-LAN, Z.; LYNGMO, V.; NORDOY, A. The effects of saturated fatty acids on endothelial cells. **Thromb. Res.**, v. 65, p.65–75, 1992.

CLARK, D.; SKROBOT, O.A.; ADEBIYI, I.; et al. Apolipoprotein-E gene variants associated with cardiovascular risk factors in antipsychotic recipients. **European Psychiatr.**, v.24, p.456–463, 2009.

De Godoy MF, Lucena JM, Miquelin AR, Paiva FF, Oliveira DLQ, Augustin Jr JL, et al. Mortalidade por doenças cardiovasculares e níveis socioeconomicos na população de São José do Rio Preto, Estado de São Paulo, Brasil. **Arq Bras Cardiol.**, 88: p.200-6, 2007.

DAVIGNON, J.; GANZ, P. Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. **Circulation**, v.109, Supl III, p. 27-32, 2004.

DARNTON-HILL, I.; MARGETTS, B.; DECKELBAUM, R. Public health nutrition and genetics: implications for nutrition policy and promotion. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.63, p.173–185, 2004.

DAWAR, R.; GURTOO, A.; SINGH R. Apolipoprotein A1 gene polymorphism (G-75A and C+83T) in patients with myocardial infarction: a pilot study in a north Indian population. **Am. J. Clin. Pathol.**, v.134, p. 249-55, 2010.

DIETZ, WH. Health consequences of obesity in youth: Childhood predictors of adult. **Pediatrics**, v.101, n.3, p. 518-524, 1998

DO, H.Q.; HASSAN, N., LUC, G.; et al. Influence of cholesteryl ester transfer protein, peroxisome proliferator activated receptor α , apolipoprotein E, and apolipoprotein A-I polymorphisms on high-density lipoprotein cholesterol, apolipoprotein A-I, lipoprotein A-I, and lipoprotein A-I:A-II concentrations: the Prospective Epidemiological Study of Myocardial Infarction study. **Metabolism Clinical and Experimental**, v. 58, p.283-289, 2009.

DURSTINE, J.L., HASKELL, W.L. Effects of exercise on plasma lipids and lipoproteins. **Exerc. Sport. Sci. Rev.**, v.22, p.477-521, 1994

EISENBERG, S. High Density Lipoprotein Metabolism. **J. Lipid Res.**, v.25, p. 1017, 1984.

FANG-HSUEAN, L.; TSAN-HON, L.; MING-JER, S.; et al. Effects of different ratios of monounsaturated and polyunsaturated fatty acids to saturated fatty acids on regulating body fat deposition in hamsters. **Nutrition**, v. 26, p. 811-817, 2010.

FIEBIG, R.; GORE, M.T; JI, L.L. Exercise attenuates nuclear protein binding to gene regulatory sequences of hepatic fatty acid synthase. **J. Appl. Physiol.**, v. 87, p.1009–1015, 1999.

FONSECA, V.M.; SICHIERI, R.; VEIGA. G.V. Fatores associados à obesidade em adolescentes. **Rev. Saúde Pública.**, v.32,n.6, p. 541-549,1998.

FORTI, N.; ISSA, J., DIAMENT, J.; et al. Dislipidemias em crianças e adolescentes. Bases para a Terapêutica. **Arq. Bras. Cardiol.**, v.71, p.807-810, 1998.

FRANÇA, E.; ALVES, J.G.B.; HUTZ, M.H. APOA1/C3/A4 gene cluster variability and lipid levels in Brazilian children. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v.38: p.535-541, 2005.

GERMAN, J.B.; SMILOWITZ, J.T.; ZIVKOVIC, A.M. Lipoproteins: When size really matters. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 11, p.171–183, 2006.

GIULIANO, I.; FREITAS, S.; COUTINHO, M.; et al. Distribution of HDL cholesterol and non-HDL cholesterol in Brazilian children and adolescents The Floripa study. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v.21, p.33-38, 2011.

GILLINGHAM, L.G.; HARRIS-JANZ, S.; JONES, P.J.H. Dietary Monounsaturated Fatty Acids Are Protective Against Metabolic Syndrome and Cardiovascular Disease Risk Factors. **Lipids**. v.46, p. 209-228, 2011.

GOLLEDGE, J.; BIROS, E.; COOPER, M.; et al. Apolipoprotein E genotype is associated with serum C-reactive protein but not abdominal aortic aneurysm. **Atherosclerosis**, v.209, p.487-491, 2010.

GÓMEZ, P.; PÉREZ-JIMÉNEZ, F.; MARÍN, C.; et al. The -514 C/T polymorphism in the hepatic lipase gene promoter is associated with insulin sensitivity in a healthy young population. **J. Mo. Endocrinol.**, v. 34, p. 331–338, 2005.

GÓMEZ-GALLEGO, F.; RUIZ, J.R; BUXENS, A.; et al: Are elite endurance athletes genetically predisposed to lower disease risk? **Physiol. Genomics**, v. 41, p.82–90, 2010.

GROENENDIJK, M.; CANTOR, R.M., DE BRUIN, T.W.A.; et al (a). The apoAII-CIII-AIV gene cluster. *Atherosclerosis*, v.157, p.1-11, 2001.

GROENENDIJK, M.; CANTOR, R.M., DE BRUIN, T.W.A.; et al (b). New genetic variants in the apoA-I and apoC-III genes and familial combined hyperlipidemia. **J. Lipid Res.**, v.42, p.188–194, 2001.

GRUNDY, S.M. The Metabolic syndrome. In: GRUNDY, S.M. **Atlas of Atherosclerosis and Metabolic Syndrome**, Springer, New York, NY, 2011, p. 1-26.

GUERRA, R.J.; WANG, S.M.; GRUNDY, J.C.; et al. A hepatic lipase (LIPC) allele associated with high plasma concentrations of high density lipoprotein cholesterol. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.**, v.94, p.4532–4537, 1997.

GUSTAFSSON, B.; VESSBY, B.; NYDAHL M. Effects of lipid-lowering diets enriched with monounsaturated and polyunsaturated fatty acids on serum lipoprotein composition in patients with hyperlipoproteinaemia. **Atherosclerosis**, v. 96, p.109-118, 1992.

GUYTON, A.C; HALL, J. **Tratado de fisiología médica**. 10ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002.

HASKELL, W.L.; ALDERMAN, E.L.; FAIR, J.M.; et al. Effects of intensive multiple risk factor reduction on coronary atherosclerosis and clinical cardiac

events in men and women with coronary artery disease: the Stanford Coronary Risk Intervention Project (SCRIP). **Circulation**, v.89: p.975-990, 1994.

HILL, S.A.; MCQUEEN, M.J. Reverse Cholesterol Transport—A Review of the Process and Its Clinical Implications. **Clinical Biochem.**, v.30, p.517-525, 1997.

HONG, S.H, PARK W.H; LEE, C.C; SONG J.H; KIM, J.Q. Association between genetic variations of apo AI-CIII-AIV cluster gene and hypertriglyceridemic subjects. **Clin. Chem.**, v. 43, n.1, p.13-17, 1997.

HOPIN, A.G. Assessment and management of childhood and adolescent obesity. **Medscape**, p. 1-29, 2005.

HUNTER JE, ZHANG J, KRIS-ETHERTON P. Cardiovascular disease risk of dietary stearic acid compared with trans, other saturated, and unsaturated fatty acids: a systematic review. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 91, p. 46-63, 2010.

ISAACS, A.; SAYED-TABATABAEI. F.A.; NJAJOU, O.T; et al. The -514 C->T hepatic lipase promoter region polymorphism and plasma lipids: a meta-analysis. **J Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 89, n. 8, p. 3858-3863, 2004.

IZZO, G. **Avaliação de polimorfismos de DNA em genes candidatos de pacientes com comprometimento cognitivo leve e a doença de Alzheimer.** 2008. Dissertação (Genética). Instituto de biociências da Universidade de São Paulo.

JANSEN, H.; VERHOEVEN, A.J.M.; SIJBRANDS, E.J.G. Hepatic lipase: a pro- or anti-atherogenic protein? **J. Lipid Res.**; v.43, p.1352–1362. 2002.

JI, J.; HERBISON, C.E.; MAMOTTE, C.D.S.; et al. Hepatic lipase gene -514 C/T polymorphism and premature coronary heart disease. **J Cardio. Risk**, v. 9, p.105–113, 2002.

JI, Z.S.; DICHEK, H.L.; MIRANDA, R.D.; et al. Heparan sulfate proteoglycans participate in hepatic lipase and apolipoprotein E-mediated binding and uptake of plasma lipoproteins, including high density lipoproteins. **J. Biol. Chem.**, v. 272, p.31285-31292, 1997.

JUMP, D.B.; CLARKE, S. D.Regulation of gene expression by dietary fat. **Annu. Rev. Nutr.**, v. 19, p. 63-90, 1999.

KAPOOR, R.; HUANG, Y.S. Gamma linolenic acid: an anti-inflammatory omega-6 fatty acid. **Curr. Pharm. Biotechnol.**, v.7, p.531–534, 2006.

KRAUSS, R.M.; ECKEL, R.H.; HOWARD, B.; et al. AHA Dietary Guidelines: revision 2000: a statement for healthcare professionals from the Nutrition Committee of the American Heart Association. **Circulation**, v. 102, p.2284-2299, 2000.

KIRK, P. Fatty Acids: Monounsaturated.In: CABALLERO, B.; ALLEN, L., PRENTICE, A. (Ed) **Encyclopedia of Human Nutrition (Second Edition)**, Elsevier Inc.: Maryland Heights, MO, 2005, p. 198-205.

KOLETZKO, B.; TOSCHKE, A.M. Meal patterns and frequencies: do they affect body weight in children and adolescents? **Crit. Rev. Food Sci. Nutr.**, v.50, p.100-105, 2010.

LAMPMAN, R.M.; SCHTEINGART, D.E. Effects of exercise training on glucose control, lipid metabolism, and insulin sensitivity in hypertriglyceridemia and non-insulin dependent diabetes mellitus. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v. 23, p.703-712, 1991.

LARQUÉ, E.; ZAMORA, S.; GIL, A. Dietary trans fatty acids in early life: a review. **Early Human Development**, v. 65, suppl. 2, p.S31-S41, 2001.
LOVEGROVE, J. A.; GITAU, R. NUTRIGENETICS AND CVD: WHAT DOES

THE FUTURE HOLD? **Proceedings of the Nutrition Society**, v. 67, p.206-213, 2008.

LUND-KATZ, S.; LIU, L.; THUAHNAL, S. T.; et al. High density lipoprotein structure. **Frontiers Biosci.**, v.203, p.1044–1054, 2003.

LYSSENKO, N.N; HATA, M.; DHANASEKARAN, P; et al. Influence of C-terminal α -helix hydrophobicity and aromatic amino acid content on apolipoprotein A-I functionality. **Biochimica et biophysica acta**, v.1821, p. 456-63, 2012.

MALTA, D.C.; CEZÁRIO, A.C.; MOURA, L.; NETO, O.L. A construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do Sistema Único de Saúde. **Epidemiologia e Serviços de Saúde**, v. 15, n.1, p.47-65, 2006.

MATA, P; LOPEZ-MIRANDA, P.; POCOVI, M.; et al. Human apolipoprotein A-I gene promoter mutation influences plasma low density lipoprotein cholesterol response to dietary fat saturation. **Atherosclerosis**, v.137, p. 367 – 376, 1998.

MATSUDO, VKR; ARAÚJO, TM; MATSUDO, SMM. Andar: passaporte para a saúde. **Rev. Diag. Tratamento**, v. 11, p. 119-123, 2006.

MINIHANE, A.M.; JOFRE-MONSENY, L.; OLANO-MARTIN, E.; et al. ApoE genotype, cardiovascular risk and responsiveness to dietary fat manipulation. **Proceedings of the Nutrition Society**, v.66, p. 183-197, 2007.

MENSINK, R.P.; KATAN, M.B. Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: a meta-analysis of 27 trials. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.12, p. 911-919, 1992.

MENSINK, R.P.; ZOCK, P.L.; KESTER, A.D.; et al. Effects of dietary fatty acids and carbohydrates on the ratio of serum total to HDL cholesterol and on

serumlipids and apolipoproteins: a meta-analysis of 60 controlled trials. **Am. J. Clin. Nutr.**, v.77, p.1146-55, 2003.

MEYER, B.J.; MANN,N.J.; LEWIS, J.L.; et al. Dietary intakes and food sources of omega-6 and omega-3 polyunsaturated fatty acids. **Lipids**, v. 38, n.4, p.391-398, 2003.

MICHA, R.; MOZAFFARIAN, D. Trans fatty acids: Effects on cardiometabolic health and implications for policy. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.79, p.147-152, 2008.

MINISTRY OF AGRICULTURE, FISHERIES AND FOOD. **Fatty acids: Supplement to Mclance and Widdowson's: The composition of foods**. Royal Society of Chemistry: Cambridge, UK, 1998, p.217.

NAKAJIMA, K.; NAKANO, T.; TOKITA Y.; ET AL. Postprandial lipoprotein metabolism: VLDL vs chylomicrons. **Clin. Chim. Acta**, v.412, p.1306-18, 2011.

NOCK, N.L; PILLAI, A.L.P.C. Dyslipidemia: Genetics and Role in the Metabolic Syndrome. In: KELISHADI, R (ed). **Dyslipidemia - From Prevention to Treatment**, 1st edn. InTech: Rijeka, Croatia, 2012, pp.94-126.

OLIVEIRA, C.L; MELLO, M.T; CINTRA, I.P; et al. Obesidade e síndrome metabólica na infância e adolescência. **Rev. Nutr.**, v. 17, n. 2, p.237-245, 2004.

OLIVEIRA, M.R.M.; MOTTA, D.G.; FOGAÇA, K.C.P.; et al. **Avaliação antropométrica e do consumo alimentar de grupos específicos da população piracicabana**. 2006. 79f. Projeto de Pesquisa apresentado pelo Curso de Nutrição da Faculdade de Ciências da Saúde para encaminhamento ao FAP em novembro de 2003, solicitando apoio à Pesquisa. Universidade Metodista de Piracicaba,São Paulo.

ORDOVAS, J.M. Genetic influences on blood lipids and cardiovascular disease risk: tools for primary prevention. *Am. J. Clin. Nutr.*, v.89, p.1509S–1517S, 2009

ORDOVAS, J.M. Nutrigenetics, Plasma Lipids, and Cardiovascular Risk. **J. Am. Diet. Assoc.**, v. 106, p. 1074-1081, 2006.

ORDOVAS, J.M.; CORELLA, D.; DEMISSIE, S.; et al. Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. **Circulation**, v.106, p. 2315-2321, 2002.

PAFFENBARGER, R.S. JR.; HYDE, R.T.; WING A.L.; et al. The association of changes in physical activity level and other lifestyle characteristics with mortality among men. **N. Engl. J. Med.**, v.328, p.538-45, 1993.

PEREIRA, A.; GUEDES, A.D.; VERRESCHI, I.T.N.; et al. Obesity and its association with other cardiovascular risk factors in school children in Itapetininga, Brazil. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 93, n. 3, Sept. 2009 .

PRAMPARO, P.; MONTANO, C.M.; BARCELÓ, A.; AVEZUM, A.; WILKS, R. Cardiovascular diseases in Latin America and the Caribbean: The present situation. **CVD Prev. Control**, v.2, p.149-157, 2006.

PROCASKA, C.L. **Associação dos polimorfismos 1131T>C e S19W do gene da apolipoproteína A-V com doença arterial coronariana e diabetes melito tipo 2**. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas), Universidade Federal do Paraná. 2006, p. 85.

RANKINEN, T.; ZUBERI, A.; CHAGNON, Y.C.; et al. The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. **OBESITY**, v. 14, p.529-644, 2006.

RECKLESS, J.P.D; LAWRENCE J.M. Hyperlipidemia (Hyperlipidaemia). In: Caballero, B.; TRUGO, L.; FINGLAS P.M. (Ed) **Encyclopedia of food**

sciences and nutrition (Second edition), Johns Hopkins University: Maryland, EUA, p.3183-3192, 2003.

REICHL. D.; MILLER, N.E. Pathophysiology of reverse cholesterol transport. Insights from inherited disorders of lipoprotein metabolism. **Arteriosclerosis**, v.9, p.785–797, 1989.

RIBAS, S. A.; SILVA, L.C. S. Dislipidemia em escolares na rede privada de Belém. **Arq. Bras. Cardiol.**, São Paulo, v. 92, n. 6, 2009.

RAITAKARI, O.T.; TAIMELA, S. PORKKA, K.V.; et al. Associations between physical activity and risk factors for coronary heart disease: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. **Med. Sci. Sports Exerc.**, v.29, p.1055-61, 1997.

ROMA, P; GREGG, R.E, BISHOP, C.; RONAN R.; ZECH, L.A; MENG, M.V. Apolipoprotein A-I metabolism in subjects with a PstI restriction fragment length polymorphism of the apoA-I gene and familial hypoalphalipoproteinemia. **J. Lipid Res.**, v. 31, p. 1753-1760, 1990.

RUANO. G.; WINDEMUTH, A.; KOCHERLA, M.; et al. Physiogenomic analysis of weight loss induced by dietary carbohydrate restriction. **Nutr. Metab.**, v.3, p.20, 2006a.

RUANO, G.; SEIP, R.L.; WINDEMUTH, A.; ET AL. Apolipoprotein A1 genotype affects the change in high density lipoprotein cholesterol subfractions with exercise training. **Atherosclerosis**, v. 185, p. 65–69, 2006b.

RUXTON, C. H. S.; REED, S.C.; SIMPSON, M.J.A.; MILLINGTON, K.J. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. **J. of Human Nutrition and Dietetics**, v. 17, n. 5, p. 449-459, 2004.

SAITO, H.; LUND-KATZ, S.; PHILLIPS, M.C. Contributions of domain structure and lipid interaction to the functionality of exchangeable human apolipoproteins. **Prog. Lipid Res.** V.43 p.350–380, 2004.

SANTAMARINA-FOJO, S.; GONZALEZ-NAVARRO, H.; FREEMAN, L.; et al. Hepatic lipase, lipoprotein metabolism, and atherogenesis. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.24, p.1750–1754, 2004.

SANTAMARINA-FOJO, S.; HAUDENSCHILD, C.; AMAR, M. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. **Curr. Opin. Lipidol.** 1998; v.9, p. 211–219, 1998.

SCHUCH, J.B.; VOIGT, F.; MALUF, S.W.; et al. Nutrigenética: a interação entre hábitos alimentares e o perfil genético individual. **Rev. Bras. Bioci.**, 2010, v.8, p.73-84, 2010.

SINGH, I.M.; SHISHEHBOR, M.H.; ANSELL, B.J.; et al. High density lipoprotein as a therapeutic target: a systematic review. **JAMA**, v. 298, p.786-798, 2007.

SINGH, P.; SINGH, M.; GAUR, S.; et al. The ApoA1-CIII-AIV gene cluster and its relation to lipid levels in type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease: determination of a novel susceptible haplotype. **Diab. Vasc. Dis. Res.**; v.4, p.124-129, 2007.

SHIOJI, K.; MANNAMI, T.; KOKUBO, Y.; et al. An association analysis between ApoA1 polymorphisms and the high-density lipoprotein (HDL) cholesterol level and myocardial infarction (MI) in Japanese. **J. Hum. Genet.**, v. 49, p.433–439, 2004.

SIKORSKI, J.A. Atherosclerosis/Lipoprotein/Cholesterol Metabolism. In: TAYLOR, J.B.; TRIGGLE, D.J. (Ed) **Comprehensive Medicinal Chemistry II Volume 6: Therapeutic Areas I: Central Nervous System, Pain, Metabolic Syndrome, Urology, Gastrointestinal and Cardiovascular**, Elsevier: Maryland Heights, MO, 2006, p.460-492.

SILVA, V.M. **Metabolismo dos quilomícrons e capacidade da lipoproteína de alta densidade (HDL) de receber lípidos na Síndrome Metabólica e no diabetes mellitus tipo 2.** Dissertação (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo. 2007, p. 75.

SMART, M.C.; DEDOUSSIS, G.; LOUIZOU, E.; et al. APOE, CETP and LPL genes show strong association with lipid levels in Greek children. **Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.**, v.20, p.26 –33, 2010.

SNOOK, J.T.; PARK, S.; WILLIAMS, G.; et al. Effect of synthetic triglycerides of myristic, palmitic, and stearic acid on serum lipoprotein metabolism. **Eur. J. Clin. Nutr.**, v. 53, p.597–605, 1999.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE CARDIOLOGIA. IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 88, suppl. 1, 2007.

SOFI, F.; CESARI, F.; ABBATE, R, et al. Adherence to Mediterranean diet and health status: meta-analysis. **BMJ**, v.337, p.1344, 2008.

SOMEKAWA, Y.; UMEKI, H.; KOBAYASHI, K.; TOMURA. S.; ASO. T.; HAMAGUCHI, H. Effects of hormone replacement therapy and hepatic lipase polymorphism on serum lipid profiles in postmenopausal Japanese women. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, v. 87, n. 10, p. 4766-4770, 2002.

STACHOWSKA, E.; LUTEREK, K.; GUTOWSKA, I.; et al. Atherogenic trans isomers of fatty acids in some food products. **Ann. Acad. Med. Stetin**, v.52, p.13-16. 2006.

SUNDRAM, K.; HAYES, K.C.; SIRU, O.H. Dietary palmitic acid results in lower serum cholesterol than does a lauric-myristic acid combination. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 59, p.841–846, 1994.

TAYLOR, A.E.; PHILIP, A.I.; GUTHRIE, G.D.S.; et al. IQ, Educational Attainment, Memory and Plasma Lipids: Associations with Apolipoprotein E Genotype in 5995 Children. **Biol Psychiatry**, p.1-7, 2010.

TEERLINK, T.; SCHEFFER, P. G.; BAKKER, S. J. L.; HEINE, R. Combined Data from LDL Composition and Size Measurement Are Compatible with a Discoid Particle Phape. **J. Lipid Res.**, v.45, p. 954–966, 2004.

THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS (ADULT TREATMENT PANEL III). Final report. **Circulation**, v.106, p.3143–3421, 2002.

TRUSWELL, A.S.; CHOUDHURY, N. Monounsaturated oils do not all have the same effect on plasma cholesterol. **Eur J Clin Nutr.**, v.52, p.312-315, 1998.

U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE AND U.S. DEPARTMENT OF HEALTH AND HUMAN SERVICES. **Nutrition and your health: dietary guidelines for Americans (5th edition)**. Home and Garden Bulletin no. 232. Department of Agriculture: Washington, D.C., 2000; p.44.

VON ECKARDSTEIN, A.; NOFER, J.; ASSMANN, G. High density lipoproteins and arteriosclerosis: Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.21. p.13–27, 2001.

YAMAKAWA-KOBAYASHI, K.; SOMEKAWA, Y.; FUJIMURA, M.; et al. Relation of the -514C/T polymorphism in the hepatic lipase gene to serum HDL and LDL cholesterol levels in postmenopausal women under hormone replacement therapy. **Atherosclerosis**, v. 162, n. 1, p. 17-21, 2002.

YAMADA, Y.; MATSUO, H.; WARITA, S.; et al., 2007. Prediction of genetic risk for dyslipidemia. **Genomics**, v.90, p.551–558, 2007.

WANG, C.S.; BRIGGS, M.R. HDL: the metabolism, function, and therapeutic importance. **Chem Rev.**, v.104, p.119-137, 2004.

ZAMBON, A.; DEEB, S.S.; BROWN, B.G; et al. Common hepatic lipase gene promoter variant determines clinical response to intensive lipid-lowering treatment. **Circulation**, v.103, p. 792 –798, 2001.

ZHANG, C.; LOPEZ-RIDAURA, R.; RIMM, E.B.; et al. Interactions between the -514C->T polymorphism of the hepatic lipase gene and lifestyle factors in relation to HDL concentrations among US diabetic men. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 81, n. 6, p. 1429-1435, 2005.

ZOCK, P.L.; DE VRIES, J.H.M.; KATAN, M.B. Impact of myristic acid versus palmitic acid on serum lipid and lipoprotein levels in healthy women and men. **Arterioscler. Thromb.**, v.14, p.567–75, 1994.

**CAPÍTULO II - POLIMORFISMO (-514CT) DO GENE DA LIPASE
HEPÁTICA POTENCIALIZA EFEITOS DO PESO CORPORAL E
ADIPOSIDADE ABDOMINAL SOBRE TRIGLICERÍDEOS E
RESISTÊNCIA A INSULINA ENTRE ADOLESCENTES¹**

¹ Preparado para ser encaminhado ao International Journal of Obesity; ISSN= 0307-0565

Resumo

Objetivo

Verificar o efeito do polimorfismo -514CT do gene da lipase hepática (LIPC) em interação com o estado nutricional e consumo alimentar sobre os fatores de risco para a síndrome metabólica em adolescentes.

Casuística & Métodos

Foi realizado um estudo transversal com 214 adolescentes de ambos os sexos com idade entre 10 e 14 anos ($11 \pm 0,9$ anos). A coleta de dados incluiu um questionário de frequência alimentar específico para adolescentes, antropometria, aferição da pressão arterial, dosagens bioquímicas e avaliação da presença de síndrome metabólica. A genotipagem das amostras foi realizada por PCR-real time.

Resultados:

Os adolescentes portadores do alelo T apresentaram maior prevalência de hipertrigliceridemia (15,6%), resistência à insulina pelo HOMA-IR (27,3%) e prevalência de SM (8,6%) em relação aos adolescentes portadores do genótipo CC (TG: 3,5%, $p=0,004$, $\chi^2=7,9$; HOMA-IR: 14,0%, $p=0,020$, $\chi^2=5,4$; SM: 0%, $p=0,008$, $\chi^2=7$). A presença de sobrepeso ($p=0,008$) e cintura de risco ($p=0,020$) nos adolescentes portadores do alelo T foi associada com concentração aumentada de TG. Por sua vez as concentrações aumentadas de TG nos adolescentes portadores do alelo T foi associada com o HOMA-IR ($p=0,037$).

Conclusões

Adolescentes portadores do alelo T apresentaram maior prevalência de hipertrigliceridemia e resistência à insulina, foram mais responsivos aos efeitos metabólicos do excesso de peso corporal e adiposidade abdominal, mas não responderam de forma diferenciada ao consumo alimentar.

Palavra chave: Adolescentes, hipertrigliceridemia, resistência à insulina, síndrome metabólica, -514CT LIPC polimorfismo, obesidade.

Introdução

A presença da obesidade na população infantil representa um desafio aos profissionais de saúde, demandando por melhores estratégias de tratamento e prevenção, uma vez que as consequências metabólicas do excesso de adiposidade corporal vêm se manifestando em crianças e adolescentes.

Apesar de a obesidade ser considerada fator de risco para síndrome metabólica (SM), sua presença não prediz o surgimento dessa síndrome [1]. Indicando a interação de outros fatores nesse processo, entre os quais pode ser citado o perfil genético do indivíduo.

A predisposição genética associada aos efeitos da alimentação sobre fatores de risco metabólicos associa a adiposidade corporal à maioria das doenças crônicas, dentre as quais se destaca a dislipidemia [2].

Polimorfismos relacionados com o gene da Lipase hepática (*LIPC*) têm sido muito estudados, já que esta enzima possui papel importante no metabolismo e modelação de lipoproteínas pró e antiaterogênicas [3,4], sendo considerada por alguns autores fator de risco e por outros de proteção para doença cardiovascular (DCV) [5,6].

A lipase hepática humana (HL) é codificada pelo gene *LIPC* que se encontra localizado no cromossomo 15q21-q23 com um tamanho de fragmento >120kb de DNA. Variações alélicas do gene da HL podem resultar em variação na concentração plasmática de colesterol de HDL [6-10].

Neste trabalho focou-se numa substituição comum de C (citocina) por T (timina) na posição -514 (rs1800588) da região promotora do gene *LIPC*. O alelo T deste polimorfismo de nucleotídeo único foi encontrado associado à queda da atividade da HL e ao aumento da concentração das partículas de HDL, com aumento da subfração das grandes HDL [7]. Porém, também foi verificada concentração aumentada de TG e resistência a insulina [11-13] associadas ao alelo T, que caracterizam a SM.

O consumo alimentar, principalmente de gordura total e ácidos graxos, tem sido associado com alterações na resposta do polimorfismo -514CT do gene *LIPC* sobre as concentrações de lipoproteínas séricas, modificando riscos metabólicos para doenças crônicas [5,7,9].

Embora a associação do polimorfismo -514CT do gene *LIPC* com alterações do metabolismo lipídico e com a adiposidade corporal estejam bem estabelecidas, [14, 15, 16] a interação entre as alterações como lipoproteínas séricas, a adiposidade corporal e o consumo de alimentos sob efeito do polimorfismo -514CT do gene *LIPC* ainda não foi examinada. Desta forma, este trabalho foi proposto considerando que a análise dessas interações poderia elucidar aspectos relevantes para o desenvolvimento de SM e doenças cardiovasculares em adolescentes. O nosso objetivo foi verificar o efeito do polimorfismo -514CT do gene da lipase hepática (*LIPC*) em interação com o estado nutricional e consumo alimentar sobre os fatores de risco para a síndrome metabólica em uma amostra de adolescentes de um município do estado de São Paulo, Brasil.

Casuística e Métodos

Participantes

Este trabalho vincula-se a um projeto mãe: “Fatores determinantes do risco de obesidade em adolescentes de escolas públicas de Piracicaba: estudo transversal como primeira etapa de um estudo de coorte” financiada pela FAPESP (Proc. n 2006/61085-0). Neste estudo foram abrangidos por sorteio 488 escolares da quinta série do ensino fundamental de 26 escolas que representam as prevalências de excesso de peso entre 20% e 32%, erro tipo I de 5% e erro tipo II de 10% de 48 escolas do ensino fundamental público presentes em Piracicaba na época do estudo, inclusive zona rural.

Dentre esses 488 escolares foram recrutados 214 adolescentes para participar da análise das dosagens bioquímicas e genotipagem. Nestes que participaram da análise foram genotipados o polimorfismo *LIPC* rs1800588 na faixa entre 10 e 15 anos de idade ($11 \pm 0,9$ anos). Era necessário um numero amostral mínimo de 210 adolescentes, considerando o valor da menor frequência genotípica para o polimorfismo em avaliação em descendentes europeus (0.26) e a prevalência de alterações no perfil lipídico (0.35) para crianças em 2008 no Brasil, com margem de erro de 10%, poder de 80% e nível de significância de 5%.

O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (nº1633), conforme a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde. Participaram da pesquisa apenas os adolescentes cujos responsáveis legais concordaram e assinaram o termo de consentimento livre e esclarecido e estavam presentes durante a coleta de sangue. Foram excluídos do estudo adolescentes que durante a coleta apresentavam febre, gripe e resfriado ou que na semana anterior e ou na semana de coleta estavam fazendo uso de algum medicamento que poderia alterar o perfil lipídico do voluntário.

Os sujeitos da pesquisa não foram divididos pela cor da pele, pois como indicado por Pena et al. [17], mais de 60% da herança genética dos brasileiros é européia e esta apresenta fraca associação com a cor da pele [17].

As entrevistas com os escolares foram realizadas entre os meses de março e maio de 2009 nas próprias unidades de ensino. As coletas de sangue foram realizadas ou no laboratório de análises sanguíneas ou na própria escola quando está era longe do laboratório.

Medidas antropométricas e bioquímicas

O peso corporal foi obtido em balança eletrônica, do tipo plataforma, marca Tanita® com capacidade de 150 kg. A estatura foi aferida com o auxílio de um estadiômetro rígido, com escala em milímetros, da marca Alturaexata®. Essas medidas foram aferidas em duplicata, obtendo-se assim um valor médio. A partir destas medidas foi possível obter o índice de massa corporal (IMC) que foi utilizado para classificar o estado nutricional dos voluntários, tomando como referência a população e os pontos de corte propostos pelo World Health Organization [18]. A circunferência de cintura foi aferida segundo o procedimento proposto por Callaway et al. (1988) [19]. A circunferência da cintura foi classificada em percentil e quando esta se apresentava acima do percentil 90 era considerada uma medida de risco para DCV. Para essa classificação foi utilizada a população de referência do estudo de McCarthey et al(2001) [20]. Para a realização das medidas antropométricas foi seguido os procedimentos padronizados por LOHMAN et al. (1988) [21].

O sangue foi coletado após 12 horas de jejum durante a noite. A glicose plasmática foi analisada pelo método enzimático - método slein (Advia® chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). A insulina foi dosada pela reação quimioluminescente (Advia centaur®, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). O índice HOMA-IR foi calculado utilizando-se o programa HOMA calculator ® versão 2.2.2 (University of Oxford, Oxford, Reino Unido). As alterações de resistência a insulina foram diagnosticadas pelo ponto de corte de 3,16, definida por Keskin et al. [22]. O TG e o colesterol total e de HDL foram analisados pelo método enzimático (Advia® chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). O colesterol de Lipoproteína de baixa densidade (LDL-C) foi analisado pelo calculo de Friedwald et al.[23], já que todos os valores de TG estavam abaixo de 400mg/dL. Foram utilizados os critérios do *I Guideline for Preventing Atherosclerosis in Childhood and Adolescence* [24] para classificar as alterações do perfil lipídico. As concentrações alteradas de CT, LDL-C e TG foram consideradas iguais ou acima de limítrofes. As concentrações alteradas de HDL-C foram aqueles considerados valores iguais ou abaixo do desejável. A ApoA1 foi analisada por imunoturbidimetria (Advia® chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil).

Pressão arterial

A pressão arterial (PA) foi aferida após pelo menos cinco minutos de repouso, a PA foi aferida em duplicata com intervalo de 1 a 2 minutos entre as medidas, segundo as recomendações das V diretrizes brasileiras de Hipertensão arterial [25]. A pressão arterial foi aferida por um monitor de pressão digital, marca Omron Healthcare® (HEM-742) previamente validado [26]. Para a classificação da pressão arterial, os valores encontrados foram comparados com valores de referência The Fourth Report on the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of High Blood *pressure in children and adolescents* [27]. A presença de hipertensão foi verificada para analisar a presença de SM.

Síndrome metabólica

A prevalência de SM foi avaliada nos adolescentes de acordo com o critério adotado pelo *International Diabetes Federation* para crianças maiores de 10 anos [28].

Consumo Alimentar

O consumo alimentar foi avaliado por um questionário de frequência alimentar simplificado para adolescentes (QFASA). O QFASA partiu da reformulação de um questionário de frequência alimentar para adolescentes que foi validado [29] e calibrado [30] em escolares de Piracicaba. O QFASA sofreu redução de quase 40 alimentos a partir da seleção de itens mais consumidos observados nos recordatórios de 24h do estudo de calibração[30]. Este questionário é composto por categorias de frequência e 58 itens alimentares referentes a um período de três meses anteriores. Para auxílio foi utilizado um material fotográfico com fotos de diferentes utensílios e alimentos, com auxílio de um netbook. A quantidade de alimento consumido foi anotada em medidas caseiras, transformadas em gramas e convertidas em número de porções de alimentos, de acordo com o equivalente energético dos grupos alimentares.

Para o cálculo de nutrientes e da energia da dieta foi utilizada a tabela brasileira de composição de alimentos e o banco de dados de nutrientes norte americano [31,32]. Os nutrientes foram expressos como percentagem do total energético da dieta.

Genotipagem

O DNA genômico foi extraído a partir de sangue total em Edta utilizando o kit *illustra blood genomicPrep Mini Spin kit* (GE Healthcare®, Nova York, NY, EUA), conforme as instruções do Fabricante.

O polimorfismo *LIPC* rs1800588 foi genotipado pela técnica de PCR-real time no equipamento 7500 Fast Real- Time PCR System com sondas TaqMan (Applied biosystems®, Foster City, California, EUA). Os resultados da discriminação alélica foram analisados usando um software automatizado (SDS 1.3.1. Applied biosystems®, Foster City, California, EUA). Em 10% das amostras foram repetidas as genotipagens para confirmação dos resultados,

com 100% de concordância. O polimorfismo encontrou-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, confirmado pelo teste qui-quadrado ($p>0,05$).

Análises estatísticas

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Bioestat 5® (Manuel Ayres, Manuel Ayres Jr e Daniel Lima Ayres, Belém, Pará, Brasil) para Windows Vista e IBM SPSS statistics 19 (IBM, Nova York, NY, EUA).

As diferenças nas variáveis bioquímicas, antropométricas, alimentação de acordo com a presença dos genótipos do polimorfismo -514CT do gene *LIPC* foram analisadas pelo teste T-student (dados paramétricos) e pelo teste Mann-whitney (dados não paramétricos).

Para verificar a influência do consumo de nutrientes e grupos alimentares na concentração de variáveis relacionadas aos fatores de risco para doenças cardiovasculares nos adolescentes de acordo com os genótipos do *LIPC* foi utilizado o teste de análise de variância fatorial. A distribuição de normalidade das variâncias foi testada por Levene's Test of Equality of Error Variances. As variáveis que apresentaram distribuição normal foram comparadas por Turkey e as de distribuição não normal distribuição por Dunnett3t. Para análise dos resultados foi utilizado o modelo recessivo, juntando-se os adolescentes portadores do alelo T (genótipo TT e CT), já que havia uma pequena presença de portadores do genótipo TT e estes se comportavam de forma semelhante aos portadores do genótipo CT, sendo este grupo comparado com os portadores do genótipo CC.

Para testar as diferenças nas proporções foi utilizado o teste do Qui-quadrado, conforme as características da análise. Valores de $p\leq 0,05$ foram considerados como estatisticamente significativos.

O SNP analisado estava em equilíbrio de Hard-Weinberg ($p>0,05$) de acordo com o teste Qui-quadrado.

Resultados

Características gerais segundo a presença do polimorfismo -514CT

Tabela 1. Características bioquímicas, antropométricas, dietéticas segundo a distribuição genotípica para o polimorfismo -514CT no gene *LIPC*

	CC (n=86)	CT/TT (n=128)	T student - P
<i>Variáveis bioquímicas:</i>	<i>média ± dp</i>		
Glicemia (mg/dL)	90,2± 7,9	90,0±7,5	0,7603
Insulina µU/ml	9,4±5,8	11,0±8,0	0,1898
Colesterol total (mg/dL)	150,0±25,2	157,0±29,9	0,0699
Colesterol não-HDL (mg/dL)	101,3±22,4	108,5±28,5	0,1192
HDL-c (mg/dL)	48,7±10,0	48,6±11,8	0,9707
LDL-c (mg/dL)	86,9±20,9	90,6±25,7	0,3272
ApoA1 (mg/dL)	138,4±19,3	137,5 ± 18,1	0,7326
	Mediana (min-max)		
TG (mg/dL)	65,5(29-154)	75,5(28-291)	0,0385*
<i>Antropometria:</i>	<i>média ± dp</i>		
IMC (kg/m ²)	19,4±3,7	20,1±5,3	0,8750
Percentil de IMC	64,3 ±33,6	59,6 ±36,9	0,3427
Percentil de Cintura	71,7±28,8	68,2±30,1	0,4215
	Mediana (min-max)		
Circ, Cintura	62,0 (53,6-93,4)	61,0 ±13,6(52,1-115,7)	*0,6875
<i>Alimentação:</i>	<i>média ± dp</i>		
Energia	3265,7± 1244,0	3330±1406,4	0,7363
Gordura total (% energia)	31,3±3,9	31,3±4,4	0,9864
Carboidrato (%energia)	56,7±4,8	57,0±4,6	0,7246
SAF (%energia)	9,3±1,6	9,2±1,7	0,7920
PUFA (%energia)	9,0±1,3	9,1±1,2	0,6310
MUFA (%energia)	10,7±1,9	10,6±2,1	0,9391
TAF (% energia)	2,1±0,9	2,1±0,9	0,9516
<i>Alterações bioquímicas</i>	<i>n (%)</i>		χ^2 / p
TG:			
Aumentado	3 (3,5)	20 (15,6)	7,90 /
Desejável	83 (96,5)	108 (84,4)	0,004
HOMA-IR:			
Resistência à insulina	12 (14,0)	35 (27,3)	5,4 /
Normal	74 (86,0)	93(72,7)	0,020
Síndrome metabólica:			
Presença	0 (0,0)	11 (8,6)	7,0/
Sem presença	78 (100,0)	117 (91,4)	0,008

* teste Mann Whitney (Dados não paramétricos); HDL-C =colesterol de lipoproteína de alta densidade;LD-C =colesterol de lipoproteína de baixa densidade; ApoA1 = apolipoproteína A1, TG = triglicérides; IMC=índice de massa corporal, Circ cintura= circunferência de cintura; SAF = ácido graxo saturado; PUFA = ácido graxo poliinsaturado; MUFA = ácido graxo monoinsaturado; TAF= ácido graxo trans; HOMA-IR = índice de resistência a insulina pelo modelo HOMA.

Dados gerais de prevalência de genótipo e frequência do alelo

No geral a prevalência do genótipo CC, CT e TT entre os adolescentes analisados, foram de 40,2%, 47,7% e 12,1%, respectivamente. A prevalência do alelo de menor frequência (T) entre a amostra foi de 37%.

Dados gerais de fatores de risco para DCV

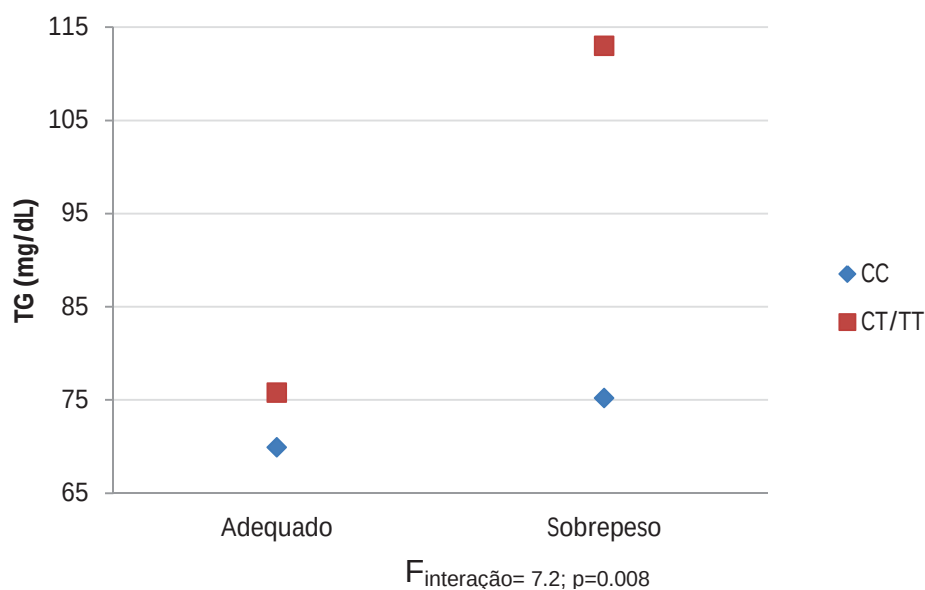
Os adolescentes portadores do alelo T (CT/TT) apresentaram maior prevalência de hipertrigliceridemia, quase sete vezes mais, o dobro de resistência à insulina, encontrando-se entre esses adolescentes todos os casos (8.6%) que preencheram os critérios para classificação de síndrome metabólica (tabela 1). Chama a atenção que não houve diferença na comparação dos indicadores do estado nutricional entre os grupos (tabela 1). Também não houve diferença na comparação das frações de colesterol das lipoproteínas, glicemia e insulina e consumo de energia e nutrientes entre os grupos.

Interações de nutrientes com o genótipo do polimorfismo -514CT no perfil lipídico de adolescentes

A partir da distribuição dos adolescentes em tercís de consumo, averiguamos se aqueles que consumiam maior quantidade de energia e macronutrientes, principalmente ácidos graxos, apresentavam alteração nas concentrações de séricas de lipídios, glicose e insulina, segundo a presença do polimorfismo -514CT, porém não verificamos nenhuma relação.

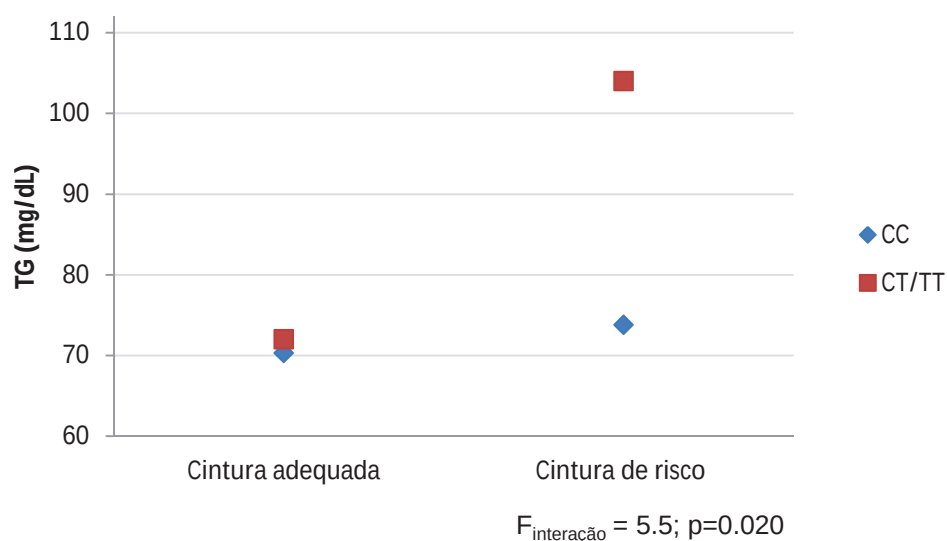
Influência do estado nutricional e circunferência de cintura nas concentrações de lipídios

Ao analisarmos a figura 1 verificamos que, em relação aos portadores do alelo T, os adolescentes obesos apresentaram maior concentração de TG (113mg/dL) em relação aos com estado nutricional adequado (76mg/dL). Nos portadores do genótipo CC isso não aconteceu.



TG = triglicérides

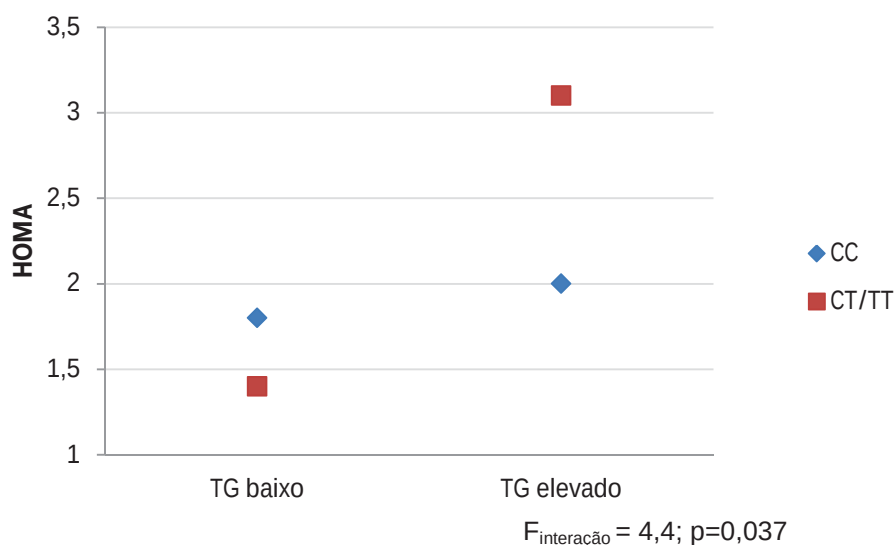
Figura 1. Influência da presença de sobrepeso na concentração sérica de TG em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos do polimorfismo C -514CT no gene *LIPC*.



TG = triglicérides

Figura 2. Influência da presença de cintura de risco para doença crônica metabólica na concentração sérica de TG em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos do polimorfismo -514CT no gene *LIPC*.

Os adolescentes portadores do alelo T que apresentaram cintura de risco para doença crônica metabólica apresentaram maiores concentrações de TG (106mg/dL) em relação aos que não apresentavam cintura de risco (73mg/dL). Não foi verificado o mesmo nos adolescentes com o genótipo CC.



TG = triglicérides; HOMA = índice de resistência a insulina pelo modelo HOMA

Figura 3. Influência da concentração de TG no índice de resistência à insulina do polimorfismo -514CT no gene *LIPC*.

Verificando-se a figura 3, conseguimos observar que os portadores do alelo T, que apresentaram maiores concentrações de TG, possuíam maiores valores de índice de HOMA (3,2 IR) em relação aos que apresentavam menores concentrações de TG (1,4 IR).

Discussão

Neste estudo, avaliou-se o efeito do polimorfismo -514CT do gene da lipase hepática (*LIPC*) em interação com o estado nutricional e consumo alimentar sobre os fatores de risco para a síndrome metabólica em adolescentes. Como resultado, observamos que os adolescentes portadores do alelo T apresentavam maiores concentrações de TG em relação aos portadores do genótipo CC, sendo esta hipertrigliceridemia potencializada pela adiposidade abdominal e peso corporal e acompanhada de resistência à insulina. Esses resultados colocaram os adolescentes portadores do alelo T com excesso de adiposidade corporal, expressa pelo IMC e circunferência de cintura aumentada, num potencial grupo de risco metabólico.

A diminuição na expressão da HL pode conferir mudanças nas concentrações de HDL-C e TG, porém há divergência quanto à interpretação

desses dados, podendo esta mudança ser considerada anti-aterogênica [6] ou pró-aterogênica [5]. Isso se deve ao fato de que a redução na expressão da HL resulta em aumento concomitante de HDL-C e TG [33,34], cujas mudanças nas concentrações costumam ocorrer de forma inversamente proporcional. Encontramos alguns estudos cujos resultados confirmaram que o HDL-C é aumentado na presença do alelo T [6,9, 35-37], porém isso não se reproduziu no nosso estudo. No nosso estudo a presença do alelo T associou-se somente a fatores pró-aterogênicos, em decorrência do aumento de TG, como também foi verificado em outros estudos [12,33,38]. Por outro lado, mesmo em presença de HDL-C aumentado, não necessariamente se pode afirmar seu efeito protetor contra DCV, uma vez que a diminuição da atividade da HL pode comprometer a formação de partículas nascentes, pré- β HDL, que mediam o efluxo deste colesterol, comprometendo assim o transporte reverso de colesterol [39].

A diminuição da atividade da HL pode comprometer a captação dos remanescentes de lipoproteínas ricas em triglicerídeos, de LDL e também HDL [40]. Como resultado, ocorre a elevação tanto de HDL-C, quanto de TG [33,34] o que, segundo Eckardstein et al., pode ser considerado fator de risco para infarto do miocárdio [41].

A hipertrigliceridemia é frequente entre os portadores do alelo T, o que os tornam mais suscetíveis ao desenvolvimento da SM. Isso porque com a maior produção de TG endógeno há maior liberação hepática de VLDL e menor extração hepática de insulina, contribuindo para o quadro de resistência a insulina, principal característica da SM [42,43]. Uma explicação postulada para a associação do polimorfismo -514CT com a resistência a insulina é a mediação da gordura corporal no efeito da HL sobre a sensibilidade da insulina [12].

Entre os adolescentes que analisamos, nos portadores do alelo T, a presença de hipertrigliceridemia foi associada com aumento do índice de resistência à insulina (HOMA-IR), o que resultou no surgimento precoce da SM em 8% desses adolescentes. Embora a resistência à insulina seja fator chave no desenvolvimento da SM [42], sua etiologia é complexa, sendo determinada pela associação de fatores genéticos e ambientais [42,44]. Autores de outros

estudos têm confirmado a associação de polimorfismos do gene da lipase hepática com maior prevalência de resistência à insulina [11-13] e SM [44,45].

Apesar de não termos verificado diferença na proporção de adolescentes com maior deposição de gordura abdominal e sobrepeso, na comparação entre adolescentes portadores do alelo T e genótipo CC, o peso corporal e a deposição de gordura abdominal, nos portadores do alelo T, foi associada com aumento na concentração de TG. É interessante e preocupante notar como a presença de sobrepeso e cintura de risco em portadores do alelo T conferiu um maior risco para hipertrigliceridemia.

Ao aumento de TG sérico decorrente da deposição de gordura abdominal é atribuído à maior liberação de ácidos graxos na veia porta [40]. Essa é uma explicação que foi válida para os adolescentes portadores do alelo T do nosso estudo. Porém, não é válida para os portadores do genótipo CC. O genótipo CC conferiu a estes adolescentes um fator de proteção contra o desenvolvimento de hipertrigliceridemia, resistência à insulina e consequentemente SM. Visto que a baixa atividade da HL é associada a hipertrigliceridemia e consequente aumento do risco aterosclerótico [11, 39, 46-48], é prudente indicar cuidados adicionais aos adolescentes portadores do alelo T, como profilaxia ao desenvolvimento de DCV na vida adulta. Estudos prospectivos nessa linha deveriam ser encorajados e desenvolvidos.

Uma possível forma de evitar o desenvolvimento de SM na adolescência e DCV na vida adulta seria uma investigação da presença de polimorfismos ligados ao desenvolvimento de DCV. O polimorfismo -514CT mostrou ser neste estudo um importante marcador de SM.

Este tratamento preventivo parece estar distante da realidade dos adolescentes avaliados, mas o uso desta medida poderia prevenir uma substancial perda econômica no Brasil e em outros países devido à queda em anos de força de trabalho perdidos por internação e custos com internação pelo sistema de saúde verificadas na presença de DCVs [49,50].

Um quarto dos adultos do mundo tem síndrome metabólica (SM) e se nada for realizado em relação ao seu desenvolvimento, a prevalência só tende a crescer já que esta síndrome já é averiguada em populações infantis [28] .

Em relação à alimentação, não foi possível verificar a influência de macronutrientes, como, carboidrato, gordura e diversos tipos de ácido graxo na mudança da resposta do polimorfismo -514CT sobre o perfil lipídico e resistência à insulina. Apesar de em alguns estudos ser verificado a influencia de fatores dietéticos, principalmente ácidos graxos na resposta do polimorfismo [9,10, 51,52]. Por outro lado, a adiposidade corporal foi fator primordial na manifestação do aumento do TG e esta se relaciona intimamente com o balanço energético, entre consumo e gasto. Uma equação que pode ser modificada pela manipulação da dieta e hábitos de vida mais saudáveis.

Neste estudo optou-se por trabalhar com adolescentes, visto que a SM vem se manifestando precocemente neste grupo, o que deve ser alvo de estudo. Além disso, outro fator favorável a escolha dessa população é que os adolescentes apresentam menores fatores de “confundimento” que poderiam influenciar a resposta do polimorfismo, como a presença de consumo alcóolico, fumo, uso de anticoncepcionais, uso de remédios hipoglicemiantes, hipolipidêmicos.

Este estudo também apresenta limitações, deve-se lembrar que existem vários polimorfismos que afetam o surgimento de fatores de risco para dislipidemias, SM, DCV e o polimorfismo – 514CT não responde por todos esses fatores.

Por meio dos resultados conclui-se que os adolescentes com a presença do alelo T podem estar mais suscetíveis ao desenvolvimento de SM e todas as comorbidades decorrentes dela na vida adulta, sendo necessária uma maior atenção nestes adolescentes para a prevenção de doenças futuras.

Referências

- [1] Alberti KGMM, Zimmet P, Shaw J. Metabolic syndrome—a new world-wide definition. A Consensus Statement from the International Diabetes Federation. *Diabet Med* 2006; **23**: 469–480.
- [2] Nock NL, Pillai ALPC. Dyslipidemia: Genetics and Role in the Metabolic Syndrome. In: Kelishadi R (ed). *Dyslipidemia - From Prevention to Treatment*, 1st edn. InTech: Rijeka, Croatia, 2012, pp.94-126.
- [3] Bensadoun A, Berryman DE. Genetics and molecular biology of hepatic lipase. *Curr Opin Lipidol* 1996; **7**: 77–81.
- [4] Zambon, A., S. S. Deeb, A. Bensadoun, K. E. Foster, and J. D. Brunzell. 2000. In vivo evidence of a role for hepatic lipase in human apoB-containing lipoprotein metabolism, independent of its lipolytic activity. *J. Lipid Res* 2000; **41**: 2094–2099.
- [5] Jansen H, Verhoeven AJM, Sijbrands EJG. Hepatic lipase: a pro- or anti-atherogenic protein? *J Lipid Res* 2002; **43**: 1352–1362.
- [6] Isaacs A, Sayed-Tabatabaei FA, Njajou OT, Witteman JC, Van Duijn CM. The -514 C->T hepatic lipase promoter region polymorphism and plasma lipids: a meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2004; **89**: 3858-3863.
- [7] Gómez P, Pérez-Jiménez F, Marín C, Moreno JA, Gómez MJ, Bellido C, et al.. The -514 C/T polymorphism in the hepatic lipase gene promoter is associated with insulin sensitivity in a healthy young population. *J Mo. Endocrinol* 2005; **34**: 331–338.
- [8] Ji J, Herbison CE, Mamotte CDS, Burke V, Taylor RR, Bockxmeer FMV. Hepatic lipase gene -514 C/T polymorphism and premature coronary heart disease. *J Cardio Risk* 2002; **9**: 105–113.
- [9] Ordovas JM, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Couture P, Coltell O, et al. Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study. *Circulation* 2002; **106**: 2315-2321.
- [10] Zhang C, Lopez-Ridaura R, Rimm EB, Rifai N, Hunter DJ, Hu FB. Interactions between the -514C->T polymorphism of the hepatic lipase gene

- and lifestyle factors in relation to HDL concentrations among US diabetic men. *Am J Clin Nutr* 2005; **81**: 1429-1435.
- [11] Jansen H, Verhoeven AJ, Weeks L, Kastelein JJ, Halley DJ, Van den Ouweland A, et al. Common C-to-T substitution at position -480 of the hepatic lipase promoter associated with a lowered lipase activity in coronary artery disease patients. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 1997;**17**: 2837–2842.
- [12] Pihlajamaki J, Karjalainen L, Karhapää P, Vauhkonen I, Taskinen MR, Deeb SS, and Laakso M. G-250A substitution in promoter of hepatic lipase gene is associated with dyslipidemia and insulin resistance in healthy control subjects and in members of families with familial combined hyperlipidemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; **20**: 1789–1795.
- [13] Lindi V, Schwab U, Louheranta A, Vessby B, Hermansen K, Tapsell L, et al. KANWU Study Group The G-250A polymorphism in the hepatic lipase gene promoter is associated with changes in hepatic lipase activity and LDL cholesterol: the KANWU Study. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 2008;**18**: 88–95.
- [14] Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al. The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update. *Obesity* 2006; **14**: 529-644.
- [15] Yamada Y, Kato K, Kameyama T, Yokoi K, Matsuo H, Segawa T, et al. Genetic factors for obesity. In *J Mol Med* 2006; **18**: 843-851.
- [16] Nie L, Wang J, Clark LT, Tang A, Vega GL, Grundy SM, et al. Body mass index and hepatic lipase gene (LIPC) polymorphism jointly influence postheparin plasma hepatic lipase activity. *J Lipid Res.* 1998; **39**: 1127–1130.
- [17] Pena SDJ, Pietro GD, Fuchshuber-Moraes M, Genro JP; Hutz MH, Kehdy FSG et al. The Genomic Ancestry of Individuals from Different Geographical Regions of Brazil Is More Uniform Than Expected. *PLOS One* 2011; **6**: 17063 – 170.
- [18] World Health Organization. Growth reference data for 5-19 years, WHO reference 2007. Disponível em: <http://www.who.int/growthref/en/> . Acesso em: 20 jun.2008.

- [19] Callaway CW, Chumlea WC, Bouchard C, Hilmes JH, Lohman TG, Martin AD, et al. Circumferences. In. T.G. Lohman, A.F. & L.R. Martorell.(ed). *Anthropometric Standardization Reference Manual*, 1st edn. Human Kinetics Books: Champaign, IL, USA, 1988, pp.39-54.
- [20] McCarthy HD, Jarret KV, Crawley HF. The development of waist circumference percentiles in british children aged 5.0 – 16.9y. *Eur J Clin Nutr* 2001; **55**: 902-907.
- [21] Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric standardization reference manual*, 1st edn. Human Kinetics Books: Champaign, IL, USA, 1988, pp.39-54.
- [22] Keskin M, Kurtoglu S, Kendirci M, Atabek ME, Yazici C. Homeostasis model assessment is more reliable than the fasting glucose/insulin ratio and quantitative insulin sensitivity check index for assessing insulin resistance among obese children and adolescents. *Pediatrics* 2005; **115**: e500-e503.
- [23] Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; **18**: 499-502.
- [24] Sociedade Brasileira De Cardiologia. I Guideline for Preventing Atherosclerosis in Childhood and Adolescence. *Arqu Bras Cardiol* 2005; **85**: 1-36.
- [25] Sociedade Brasileira de Cardiologia. V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão. *Arq Bras Cardiol* 2006; 1-48.
- [26] Christofaro DG, Fernandes RA, Gerage AM, Polito MD, Alves MJ, Oliveira AR. Validação do medidor de pressão arterial Omron HEM-742 em adolescentes. *Arq Bras Cardiol* 2009; **92**: 10-15.
- [27] National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents: The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics* 2004, **114**:1–22.
- [28] Zimmet P, Alberti KG, Kaufman F, Tajima N, Silink M, Arslanian S, et al. The metabolic syndrome in children and adolescents—an IDF consensus report. *Pediatr Diabetes* 2007; **8**: 299–306.

- [29] Voci SM, Enes CC, Slater B. Validação do questionário de frequência alimentar para adolescentes (QFAA) por grupos de alimentos em uma população de escolares. *Rev Bras Epidemiol* 2008; **11**: 561-72.
- [30] Voci SM, Slater B, Silva MV da, Marchioni DML, Latorre MRDO. Estudo de calibração do Questionário de Frequência Alimentar para Adolescentes (QFAA). *Ciênc. saúde coletiva* 2011; **16**: 2335-2343.
- [31] Núcleo de Pesquisas e Pesquisas em Alimentação/Unicamp. Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO (Versão 2). Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>. Acesso em: 15 Agosto 2010.
- [32] U.S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service (USDA-ARS). Nutrient Data Laboratory. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>. Acesso em: 21/05/2010
- [33] Hegele R, Little J, Vezina C, Maguire G, Tu L, Wolever T, et al. Hepatic lipase deficiency: clinical, biochemical, and molecular genetic characteristics. *Arterioscler Thromb* 1993; **13**: 720–728.
- [34] Knudsen P, Antikainen M, Ehnholm S, Uusi-Oukari M, Tenkanen H, Lahdenperä S, et al. A compound heterozygote for hepatic lipase gene mutations Leu3343Phe and Thr3833Met: correlation between hepatic lipase activity and phenotypic expression. *J Lipid Res* 1996; **37**:825– 834.
- [35] Cenarro A, Artieda M, Gonzalvo C, Merino-Ibarra E, Aristegui R, Ganan A, et al. Genetic variation in the hepatic lipase gene is associated with combined hyperlipidemia, plasma lipid concentrations, and lipid-lowering drug response. *Am Heart J* 2005; **150**: 1154–1162.
- [36] Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, et al. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet* 2008; **40**:161-169.
- [37] Kashani MAF, Azizi F, Hedayati M, Daneshpour MS, Shamshiri AR, Siassi F. Association between CETP Taq1B and LIPC -514C/T polymorphisms with the serum lipid levels in a group of Tehran's population: a cross sectional study. *Lipids in Health and Disease* 2010; **9**: 96-103.
- [38] Couture P, Otvos JD, Cupples LA, Lahoz C, Wilson PWF, Schaefer EJ et al. Association of the C-514T polymorphism in the hepatic lipase gene with

- variations in lipoprotein subclass profiles. The Framingham Offspring Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000; **20**:815–822.
- [39] Dugi KA, Brandauer K, Schmidt N, et al. Low hepatic activity is a novel risk factor for coronary artery disease. *Circulation* 2001; **104**: 3057–3062.
- [40] Santamarina-Fojo S, Haudenschild C, Amar M. The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 1998; **9**: 211–219.
- [41] Eckardstein A.V, Schulte H, Assmann G. Increased risk of myocardial infarction in men with both hypertriglyceridemia and elevated HDL cholesterol *Circulation* 1999; **99**: p. 1925
- [42] McCarthy JJ, Meyer J, Moliterno DJ, Newby LK, Rogers WJ, Topol EJ. Evidence for substantial effect modification by gender in a large-scale genetic association study of the metabolic syndrome among coronary heart disease patients. *Hum Genet* 2003; **114**: 87–98.
- [43] Bosello O, Zamboni M. Visceral obesity and metabolic syndrome. *Obes Rev* 2000; **1**: 47-56.
- [44] Yamada Y, Kato K, Hibino T, Yokoi K, Matsuo H, Segawa T, et al. Prediction of genetic risk for metabolic syndrome. *Atherosclerosis* 2007, **191**: 298–304.
- [45] Kraja AT, Vaidya D, Pankow JS, Goodarzi MO, Assimes TL, Kullo I J, et al. A Bivariate Genome-Wide Approach to Metabolic Syndrome. *Diabetes* 2011; **60**:1329–1339.
- [46] Shohet RV, Vega GL, Anwar A, Cigarroa JE, Grundy SM, Cohen JC. Hepatic lipase (LIPC) promoter polymorphism in men with coronary artery disease. Allele frequency and effects on hepatic lipase activity and plasma HDL-C concentrations. *Arterioscler Thromb Vasc Bio* 1999; **19**: 1975–1978.
- [47] Fan YR, Laaksonen T, Janatuinen R, Vesalainen P, Nuutila T, Koivula, J. et al. Hepatic lipase gene variation is related to coronary reactivity in healthy young men. *Eur J Clin Invest* 2001; **31**: 574–580.
- [48] Hakonson JES, Cheng JK, Snell-Bergeon BA, Fijal MA, Grow C, Hung H A et al. A common promoter polymorphism in the hepatic lipase gene (LIPC-480C_T) is associated with an increase in coronary calcification in type 1 diabetes. *Diabetes* 2002; **51**: 1208–1213.

- [49] Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, et al. Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association. *Circulation* 2011;**123**: 933- 944.
 - [50] Schmidt MI, Duncan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al. Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges. *Lancet* 2011, **377**: 1949–1961.
 - [51] Nettleton J A, Steffen L M, Ballantyne C M, Boerwinkle E, Folsom A R. Associations between HDL-cholesterol and polymorphisms in hepatic lipase and lipoprotein lipase genes are modified by dietary fat intake in African American and White Adults. *Atherosclerosis* 2007; **194**: e131–e140.
 - [52] Riestra P, Lo L, Pez-Simo N, Ortega H, Gorgojo L, Martin-Moreno JM, Schoppen S, et al. Fat Intake Influences the Effect of the Hepatic Lipase C-514T Polymorphism on HDL-Cholesterol Levels in Children. *Exp Biol Med* 2009; **234**: 744–749.
-

**CAPÍTULO III - Efeito combinado do polimorfismo T84C
ApoA1 e estilo de vida sobre os fatores de risco para doença
cardiovascular em adolescentes²**

² Encaminhado para o periódico Nutrition ISSN 0899-9007

Resumo

Objetivo.

O estudo analisou a influência do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) T84C *APOA1* nos fatores de risco para doença cardiovascular em interação com o consumo alimentar e atividade física entre adolescentes.

Métodos da pesquisa & Procedimentos.

Foi realizado um estudo transversal com 214 adolescentes de ambos os sexos com mínimo de 10 anos. Na coleta de dados foram incluídos: questionário de frequência alimentar e de atividade física específico para adolescentes, antropometria, aferição da pressão arterial, dosagens bioquímicas e genotipagem por PCR-real time. Foi considerado um $p < 0,05$.

Resultados:

Os adolescentes portadores do genótipo TT apresentaram maior prevalência de hipertrigliceridemia (26%) em relação aos demais genótipos CT (10,4%) e CC (5,6%) ($P=0,0368$; $\chi^2=6,5$). Os portadores do genótipo TT que consumiam maior proporção de energia da dieta proveniente de carboidratos apresentaram maior concentração sérica de TG ($110,5 \pm 8,8$) e menor concentração de HDL-C ($44,1 \pm 2,3$) em relação àqueles de mesmo genótipo que consumiam menor quantidade de carboidrato (TG= $67,9 \pm 12,0$, $p=0,008$; HDL-C = $52,8 \pm 3$; $P=0,030$). O consumo de gordura poliinsaturada ($p=0,034$) e saturado ($p < 0,012$) resultaram em efeito inverso, aumentando a concentração de HDL-C.

Conclusões

Os adolescentes com o genótipo TT são mais suscetíveis às alterações na composição da dieta em macronutrientes, apresentando maiores concentrações de TG e menor concentração de HDL-C quando consomem maiores proporções de carboidratos na distribuição da energia da dieta.

Palavras chaves: Adolescentes, carboidrato dietético, gordura dietética, triglicérides, polimorfismo da *APOA1*, doença cardiovascular.

Introdução

As doenças cardiovasculares (DCV) estão entre as principais causas de morte de adultos no mundo [1], no entanto, seus fatores de risco vêm se manifestando cada vez mais precocemente, atingindo crianças e adolescentes [2]. Alterações na concentração de HDL-C e TG podem favorecer o surgimento de ateromas [3,4] e há evidências de que esta formação inicia-se na infância [2].

A etiologia da DCV é uma combinação de fatores metabólicos e de estilo de vida [5]. Porém nem sempre esses fatores conseguem predizer eficazmente o desenvolvimento do processo aterosclerótico, sugerindo a influência de fatores genéticos [6].

A lipoproteína de alta densidade (HDL) é considerada um fator de proteção contra DCV, devido ao seu importante papel no transporte reverso do colesterol [7], sendo a apolipoproteína A1 (ApoA1) sua principal proteína constituinte.

A produção e o catabolismo da ApoA1 determina a concentração plasmática do HDL-C [8]. Polimorfismos da *APOA1* influenciam concentração de HDL-C e triglicérides (TG) de variadas maneiras [9-13]. Por exemplo, o polimorfismo na região intrônica 2, o *APOA1* T84C (rs5070) associa-se com hipertrigliceridemia [13-15]. No entanto, pouco se sabe se essa associação manifesta-se na infância e adolescência e se hábitos de vida podem modificar esse efeito.

Deste modo, o estudo teve por objetivo analisar o efeito do polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) *APOA1* T84C nos fatores de risco para DCV em interação com componentes da dieta e frequência de atividade, numa amostra de adolescentes de um município do interior do Estado de São Paulo, Brasil.

Casuística e métodos

Sujeitos da pesquisa

Participaram do estudo, 214 adolescentes saudáveis $11 \pm 0,7$ anos de idade, matriculados na quinta série do ensino público fundamental de todas as regiões de Piracicaba-SP, Brasil. Este trabalho está inserido em um projeto regular intitulado “Fatores determinantes do risco de obesidade em adolescentes de escolas públicas de Piracicaba: Estudo de coorte transversal como primeira etapa de um estudo de coorte (processo FAPESP: 2006/61085-0)”. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo (nº1633), conforme a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/Ministério da Saúde. Participaram da pesquisa apenas os adolescentes que os responsáveis legais concordassem e assinassem o termo de consentimento livre e esclarecido e estavam presente durante a coleta de sangue.

Protocolo de trabalho

No projeto regular estavam inclusos, por sorteio, 488 escolares matriculados na quinta série num âmbito de 26 escolas do ensino fundamental público que representam as prevalências de excesso de peso entre 20% e 32%, erro tipo I de 5% e erro tipo II de 10% de um total de 48 escolas presentes em Piracicaba na época do estudo, inclusive zona rural.

Estes 488 escolares foram convidados a participar do estudo, porém de acordo com o cálculo amostral eram necessários 210 adolescentes. O tamanho amostral foi baseado nos dados descritos para a população de descendentes europeus, considerando o alelo de menor frequência para o polimorfismo em avaliação ($P=0.26$), e a prevalência ($P = 0.35$) de alterações no perfil lipídico com margem de erro de 10%, poder de 80% e nível de significância de 5%.

Os sujeitos da pesquisa não foram estratificados pela cor da pele pois, como indicado por Pena et al [16], mais de 60% da herança genética dos brasileiros é européia e apresenta fraca associação com a cor da pele.

O critério de exclusão foi a presença de febre, gripe e resfriado ou uso de algum medicamento durante a semana anterior e de coleta que poderia influenciar as variáveis bioquímicas.

Análises bioquímicas

As dosagens bioquímicas foram realizadas no sangue após 12 horas de jejum durante a noite. A glicemia foi analisada pelo método enzimático (Advia chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). A insulina foi dosada pela reação quimioluminescente (Advia centaur, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). O índice HOMA-IR foi calculado utilizando-se o programa HOMA calculator versão 2.2.2 (University of Oxford, Oxford, Reino Unido). O TG, o colesterol total e o HDL-C foram analisados pelo método enzimático (Advia chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). O LDL-C foi analisado pelo cálculo de Friedwald et al. [17], já que todos os valores de TG estavam abaixo de 400mg/dL. O *I Guideline for Preventing Atherosclerosis in Childhood and Adolescence* [3] foi utilizado para classificar as alterações nos componentes das lipoproteínas. A ApoA1 foi analisada por imunoturbidimetria (Advia chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). As concentrações alteradas de CT, LDL-C e TG foram consideradas iguais ou acima de limítrofes. As concentrações alteradas de HDL-C foram aqueles considerados valores iguais ou abaixo do desejável.

Consumo Alimentar

Os dados de consumo alimentar foram obtidos por um Questionário de Frequência Alimentar Simplificado para Adolescentes (QFASA) baseado num questionário de frequência alimentar para adolescentes validado e calibrado [18,19]. Este questionário sofreu redução de quase 40 alimentos a partir da seleção de itens mais consumidos observados nos recordatórios de 24h do estudo de calibração [19] e possui 58 alimentos, representando um consumo alimentar de três meses. Foi utilizado material fotográfico de diferentes utensílios de cozinha e alimentos para ajudar na aplicação do questionário, por meio de netbook. Por meio de tabelas de medidas caseiras foi realizada a conversão para valores em unidades de peso e medida e em seguida foram convertidos em número de porções de alimentos de acordo com o equivalente energético dos grupos alimentares [20].

O cálculo de energia e nutrientes foi realizado com o apoio da tabela brasileira de composição de alimentos e do banco de dados de nutrientes norte americano [21,22].

Os nutrientes da dieta e alguns itens alimentares (por exemplo: arroz, pão, feijão, batata, carne vermelha frita, refrigerantes, frutas cítricas, banana e etc) foram expressos em percentual de energia do total da dieta. Sendo também alguns destes itens alimentares agrupados para a análise: frutas, legumes e verduras; doces e açúcar; sucos naturais; bebidas artificiais e alimentos gordurosos. Estes grupos alimentares foram analisados em função da contribuição proporcional de energia da dieta.

Antropometria

O peso corporal foi obtido em balança eletrônica, do tipo plataforma, marca Tanita® com capacidade de 150 kg. A estatura foi aferida com o auxílio de um estadiômetro rígido, com escala em milímetros, da marca Altura exata®. Essas medidas foram aferidas em duplicata, obtendo-se assim um valor médio e a partir destas variáveis foi obtido o índice de massa corporal (IMC). O IMC foi utilizado para classificar o estado nutricional dos voluntários, tomando como referência a população e os pontos de corte propostos pelo World Health Organization [23]. Para a realização das medidas antropométricas foi seguido os procedimentos padronizados por LOHMAN et al. (1988) [24].

Atividade física

Para a avaliação da atividade física (AF) foi utilizado o Questionário de AF para Adolescentes Versão Informatizada (QAFAVI) [25]. O QAFAVI é uma versão adaptada e informatizada de FLORINDO et al. [26] validada em escolares de Piracicaba. Este questionário permite avaliar a frequência semanal e duração das práticas de esportes, exercícios físicos e atividades físicas de locomoção. O questionário gera um escore final em minutos (semanal e anual).

Genotipagem

Foi utilizado o kit illustra blood genomicPrep Mini Spin kit para extrair o DNA genômico a partir de sangue total em Edta (GE Healthcare, Nova York, NY, EUA).

Pela técnica de PCR-real time, equipamento 7500 Fast Real - Time PCR System e sondas TaqMan (Applied biosystems®, Foster City, California, EUA) foi realizada a genotipagem do SNP T84C *APOA1* (rs5070). Em 10% das

amostras foram repetidas as genotipagens para confirmação dos resultados, obtendo-se 100% de concordância. O polimorfismo encontrou-se em equilíbrio de Hardy-Weinberg, confirmado pelo teste qui-quadrado ($p>0,05$).

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas pelo programa Bioestat 5® (Manuel Ayres, Manuel Ayres Jr e Daniel Lima Ayres, Belém, Pará, Brazil) e IBM SPSS statistics 19 (IBM, Nova York, NY, EUA) para Windows Vista.

As diferenças nas variáveis bioquímicas, antropométricas, alimentação de acordo com a presença dos genótipos do polimorfismo em estudo foram analisadas pelo teste T-student (dados paramétricos) e pelo teste Mann-whitney (dados não paramétricos). A distribuição de normalidade das variâncias foi testada por Levene's Test of Equality of Error Variances. Para verificar a influência do consumo de nutrientes, grupos alimentares nas concentrações séricas de variáveis relacionadas aos fatores de risco para DCV nos adolescentes de acordo com os genótipos da *APOA1* foi utilizado o teste de análise de variância fatorial.

Para análise estatística, os adolescentes distribuídos segundo a presença dos genótipos foram divididos em tercís de acordo o consumo de macronutrientes, itens alimentares, grupos alimentares ou quantidade de prática de atividade física. O tercil 1 representou o baixo consumo ou sem prática de atividade física e o tercil 2 e 3 foram unidas formando o elevado consumo ou prática de atividade física.

As prevalências proporcionais de fatores entre os genótipos foram comparadas pelo teste do Qui-quadrado, conforme as características da análise. Valores de $p<0.05$ foram considerados como estatisticamente significativos.

Resultados

Dados gerais

Em relação aos genótipos do polimorfismo T84C *APOA1*, a prevalência dos genótipos CC, CT e TT foram de 33,2%, 49,5% e 17,3%, respectivamente. A prevalência do alelo de menor frequência (T) foi de 42,1% entre os adolescentes analisados.

Tabela 1. Características antropométricas, bioquímicas e dietéticas de adolescentes de acordo com o polimorfismo T84C *APOA1*, em Piracicaba-SP, 2009.

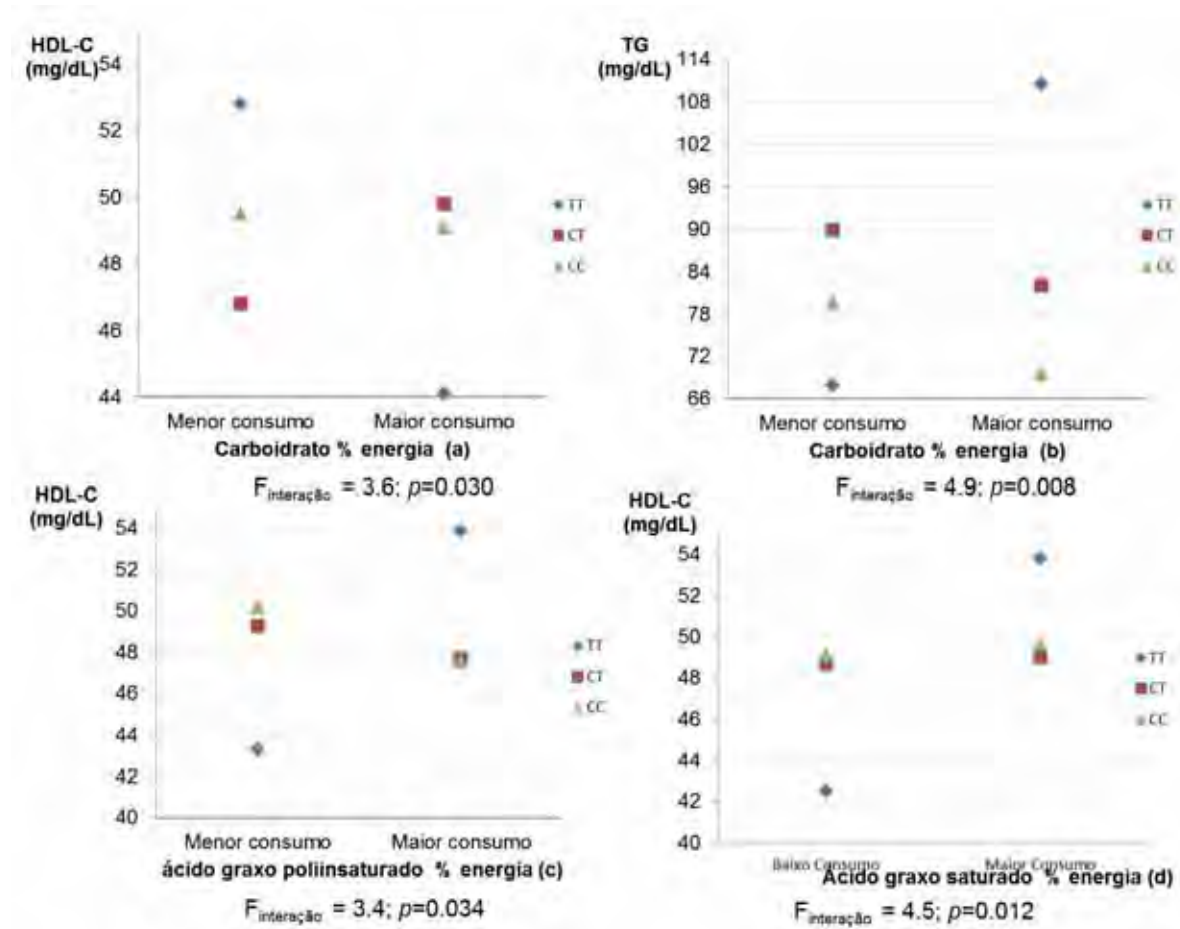
Variáveis	Adolescentes (n=214)			ANOVA valor – ρ
	TT (n=37)	CT(n=106)	CC(n=71)	
Peso	44,3±13,8	42,8±14,4	44,1±12,0	0,757
IMC (kg/m ²)	20,1±4,6	19,5±4,9	20,1±4,5	0,682
Percentil de IMC	64,3±35,0	58,7±36,4	64,1±34,7	0,537
Pressão sistólica	106,5±13,9	106,5±15,4	104,6±16,5	0,803
Pressão diastólica	64,7±15,0	60,4±13,2	61,0±13,9	0,124
Glicemia (mg/dL)	89,6±6,4	90,3±6,7	89,8±9,4	0,860
Insulinemia (μU/mL)	8,9±7,5	11,7±13,0	13,7±14,5	0,112
Colesterol total (mg/dL)	151,1±31,2	156,0±28,3	150,3±26,5	0,341
Triglicérides (mg/dL)	97,1±55,0a	84,7±44,1b	70,4±30,1b	0,038
LDL-C (mg/dL)	90,8±27,2	90,3±24,2	86,5±21,8	0,527
HDL-C (mg/dL)	47,2±13,1	48,8±10,6	49,2±10,8	0,659
ApoA-I (mg/dL)	135,4±17,2	139,9±19,7	136,2±17,3	0,284
Energia	3256±1055	3462±1501	3327±1445	0,386
Carboidrato (%)	56,7±4,6	57,0±4,7	57,0±4,8	0,888
Gordura dietética total (% energia)	31,4±4,3	31,4±4,2	31,2±4,2	0,942
SFA (% energia)	9,1±1,6	9,3±1,7	1,2±1,8	0,728
PUFA (% energia)	9,2±1,2	9,1±1,3	9,1±1,1	0,854
MUFA (% energia)	10,8±2,1	10,6±2,1	10,5±1,9	0,812
TAF (% energia)	2,1±0,8	2,1±0,9	2,3±0,9	0,362
	n(%)	n(%)	n(%)	Qui- quadrado
Triglicérides:				
Desejável	29 (78,4)	95 (89,6)	66 (94,4)	$\rho = 0,039$
Aumentado	8 (21,6)	11 (10,4)	4 (5,6)	$\chi^2=6,500$

Foram realizados o teste Qui-quadrado, para verificar diferenças na prevalência de obesidade, hipertensão arterial, diabetes, resistência a insulina, dislipidemias e síndrome metabólica entre os diferentes genótipos do polimorfismo T84C *APOA1*, porém não foi verificada diferença de acordo com o genótipo (dados não mostrados). Foi verificada apenas diferença nas concentrações de TG.

IMC= índice de massa corporal; SFA = ácidos graxos saturados, PUFA = ácidos graxos poliinsaturados, MUFA = ácidos graxos monoinsaturados; TAF = ácidos graxos trans.

Adolescentes portadores do genótipo TT do polimorfismo T84C *APOA1* apresentaram maior concentração de TG e maior proporção de hipertrigliceridemia em relação a outros genótipos (tabela1).

Alimentação



*HDL-C = colesterol de Lipoproteína de alta densidade; TG=Triglicérides.

Carboidrato: Menor consumo $\cong$ de 45% a 55%; maior consumo $\cong$ de 55% a 69%.

Ácido graxo poliinsaturado: Menor consumo $\cong$ de 6 a 8,5%; Maior consumo $\cong$ de 8,5 a 12%

Ácido graxo saturado: Menor consumo $\cong$ de 5,3 a 8,6%; Maior consumo $\cong$ de 8,6 a 13%

Figura 1. Resposta ao consumo proporcional de macronutrientes da dieta em adolescentes de acordo a frequência genotípica do polimorfismo T84C APOA1.

Na figura 1 pode ser verificado que os portadores do genótipo TT são mais responsivos aos teores de nutrientes da dieta. Quando esses adolescentes consumiam maior quantidade de carboidrato apresentaram menor de HDL-C (44,0 mg/dL) e maior concentração de TG (110,0mg/dL), em relação aos portadores do mesmo genótipo que consumiam menor quantidade (HDL-C= 53,0mg/dL, TG=67mg/dL). Já em relação ao consumo dos ácidos graxos poliinsaturados e saturados foi verificado o contrário, o HDL-C aumenta com o consumo desses mesmos entre os portadores do genótipo TT (figura 1). Verifica-se que os portadores do genótipo TT apresentaram valores de concentrações de HDL-C e TG que se distanciaram dos demais genótipos

tanto para mais quanto para menos, em resposta ao padrão de consumo dos macronutrientes (figura 1).

Tabela 2. Influência do consumo de alimentos na concentração de lipídios séricos em adolescentes de acordo a frequência genotípica do polimorfismo T84C APOA1.

	TG (mg/dL)					HDL-C (mg/dL)				
	TT	CT	CC	F*	P	TT	CT	CC	F	P
	(n=37)	(n=106)	(n=71)			(n=37)	(n=106)	(n=71)		
Frutas cítricas										
Menor Consumo"	70±23	88±41	75±42	12,8	0,000	51±14	47±11	51±12	6,4	0,002
Maior Consumo	142± 66	78±50	70±24			40±8	51±11	48±9		
Pães										
Menor Consumo"	81±42	88± 37	77±43	4,0	0,019	51±14	49±10	48±11	5,1	0,007
Maior Consumo	122±68	86±56	66±16			40±9	49±12	52±11		
Chips										
Menor Consumo	60 ±12	96± 7	85±9	9.1	0.000	47±15	47±10	49±13	0.486	0.616
Maior Consumo	112± 9	78±5	67±6			47±12	50±11	49±10		

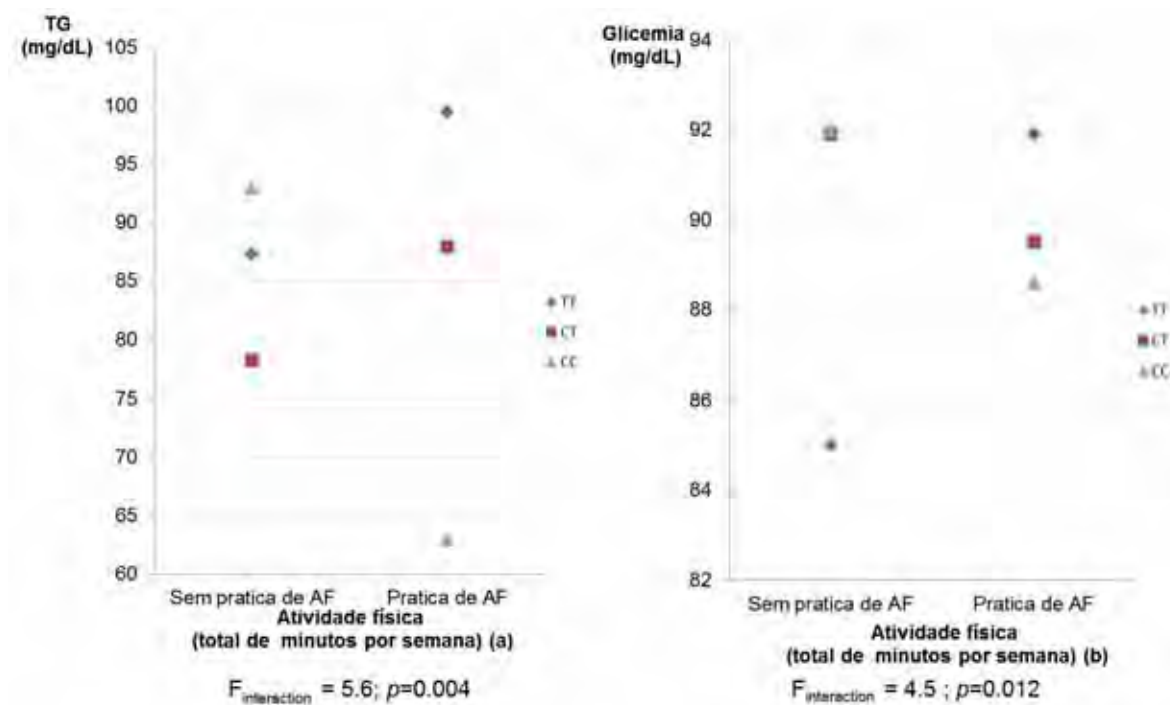
*F-interação; Chips = menor consumo: sem consumo a menos de 1 punhado; maior consumo: 1 punhado a mais de 2 pacotes; pães (não integrais) = menor consumo: sem consumo a 1.5 de pães; maior consumo de 1.5 a 3.5 porções de pães. Frutas cítricas (laranja e tangerina) = menor consumo: sem consumo a 1 unidade média; maior consumo: de 1 a 3 unidades médias.

Os adolescentes de genótipo TT que consumiam maior quantidade de pães, chips e frutas cítricas apresentaram maior concentração sérica de TG. Os adolescentes do mesmo genótipo que consumiam maior quantidade de pães e frutas cítricas apresentaram também menor concentração de HDL-C em relação aos adolescentes portadores do mesmo genótipo com menor consumo (Tabela 2).

Ao analisar a influência dos grupos alimentares nas concentrações de HDL-C foi observado que os portadores do genótipo TT que consumiam maiores quantidades de alimentos do grupo de verduras, frutas e legumes apresentavam menores concentrações de HDL-C (45mg/dL) em relação aos portadores do mesmo genótipo que consumiam menores quantidades de alimentos deste grupo (51,7mg/dL) e em relação aos demais genótipos. Os portadores do alelo C apresentavam comportamento diferente, quanto maior o consumo de frutas verduras e legumes, maior foi a concentração de HDL-C

(Menor consumo: CT = 46,9mg/dL; CC =46,0 mg/dL; Maior consumo CT = 50,0mg/dL; CC =50,8 mg/dL; $F_{\text{interação}} = 3,3$; $p=0,049$). Não foram verificadas associações com outros grupos alimentares (dados não mostrados).

Atividade física



*Sem pratica de AF (atividade física) = 0 minutos de atividade física; Prática de AF (atividade física) = 50 a 1730 minutos por semana

Figura 2. Influência da atividade física na concentração da glicemia e triglicérides em adolescentes de acordo com os genótipos do polimorfismo T84C APOA1

Em relação a pratica de atividades físicas, foi verificado que indivíduos CC que realizavam atividade física ao longo da semana apresentaram menor concentração de TG (63,0mg/dL) em relação aos portadores do mesmo genótipo que não praticavam atividade física (93mg/dL) e aos portadores dos demais genótipos ($p=0,004$). Em relação a glicemia, os portadores do genótipo TT que praticavam atividade física apresentavam maior glicemia (91,8mg/dL) em relação aos portadores do mesmo genótipo que não praticavam atividade (85mg/dL) ($p=0,012$) (Figura 2).

Discussão

O estudo avaliou a relação do SNP T84C *APOA1* com os fatores de risco para DCV, considerando a interação da alimentação e atividade física. Os resultados mostraram que este polimorfismo isoladamente pode influenciar a resposta dos lipídeos séricos à composição da dieta em macronutrientes, apontando para a pertinência de dietas individualizadas conforme o perfil genético. Os portadores do genótipo TT foram mais responsivos aos teores de carboidratos e gordura da dieta, presumidamente beneficiando-se com o menor consumo proporcional de carboidratos.

De uma maneira geral os portadores do genótipo homozigoto para o alelo T apresentaram associação do polimorfismo da *APOA1* com a concentração de TG, portanto, o polimorfismo pode agir de forma pró-aterogênica. Resultados semelhantes também foram encontrados por outros autores [13-15] que chegaram a considerar a presença deste polimorfismo um marcador de risco para o infarto do miocárdio [6-13]. Porém, esta constatação não foi unânime [27-30].

Segundo, Groenedijk et al (2001) o polimorfismo T84C *APOA1* não afeta diretamente a transcrição da *APOA1*, já que não altera as concentrações de ApoA1, mas sim do TG [12].

Hipertrigliceridemia é um dos indicativos da síndrome metabólica (SM) que é caracterizada pela presença de obesidade, hipertensão e intolerância a glicose [4,32,33]. No entanto, nós não encontramos associação do polimorfismo T84C *APOA1* com os outros fatores de risco para SM entre os adolescentes, acompanhando os resultados de Philips et al (2011) [30] e Liu et al. [33].

A dieta é um importante fator de modulação de resposta dos genes na patogênese das principais doenças crônicas não transmissíveis [5].

O tipo, a quantidade e a proporção de gordura na dieta têm importante efeito sobre os processos fisiológicos, podendo levar a mudanças no metabolismo, crescimento e diferenciação celular [34]. Porém os efeitos do consumo de gordura não são iguais para todos os indivíduos, apesar de os resultados serem reprodutíveis no mesmo indivíduo, indicando a interferência de polimorfismos nessa resposta [35].

A resposta metabólica ao consumo de carboidrato pode ser modificada por polimorfismos. Neste estudo, foi verificado que os adolescentes com o genótipo TT apresentavam-se melhor adaptados ao consumo aumentado de gordura (ácido graxo saturado e poliinsaturado) e não respondiam adequadamente ao consumo aumentado de carboidrato já que apresentavam maiores concentrações de TG e baixas concentrações de HDL-C quando comparados aos adolescentes do mesmo genótipo com menor consumo de carboidrato (figura 1). O consumo elevado de carboidrato costuma aparecer associado às DCV [36,37]. As diretrizes do NCEP alertam também que a troca de gordura por carboidrato com o objetivo de reduzir LDL-C pode, em alguns casos, aumentar o TG com concomitante redução de HDL-C.

Todas as classes de ácidos graxos tendem a elevar o HDL-C quando substituem os carboidratos na dieta, e este efeito é mais significativo com os ácidos graxos saturados. Em contrapartida, o aumento de ácido graxo saturado aumenta também o LDL-C [4]. No presente estudo a maior concentração do HDL-C não foi acompanhada por maior concentração de LDL-C no genótipo TT que consumiam maior quantidade de gordura em relação ao mesmo genótipo que consumiam menor quantidade de gordura. Isso provavelmente se deve ao efeito de redução do TG nos indivíduos ao trocarem carboidratos por gordura.

As concentrações de TG costumam aumentar quando o consumo de ácidos graxos é substituído por carboidratos [38], porém, aparentemente, nos adolescentes que apresentavam o alelo C esta relação não ocorreu, evidenciando o papel da genética na modulação da resposta à dieta.

Ao se analisar a associação de tipos de alimentos com o polimorfismo T84C *APOA1*, verifica-se que as fontes de carboidrato, os quais contribuíram para redução do HDL-C e para elevação das concentrações de TG foram na maioria alimentos de alto e médio índice glicêmico: pão branco, salgadinhos de pacote. As frutas cítricas foi o único grupo de alimentos de baixo índice glicêmico associado ao efeito de aumento do TG e diminuição do HDL-C nos indivíduos TT. Não foram encontrados estudos da mesma natureza na literatura. Ruaño et al (2006) estudaram a associação de polimorfismos com os efeitos da restrição do carboidratos na dieta, mas não encontraram associação dos resultados com polimorfismos da *APOA1* [39].

Um possível explicação para os efeitos dos carboidratos é apresentada por Wood et al (2006). Para os autores, o efeito, se deve ao favorecimento da oxidação hepática de ácidos graxos pela redução dos carboidratos como substratos energéticos, sendo esta evidenciada por uma expressiva produção de corpos cetônicos, levando a uma redução de esterificação de ácidos graxos e disponibilidade de TG para incorporação na VLDL, levando à diminuição da transferência de TG da VLDL para a HDL, por meio da CETP e, consequente, diminuição do catabolismo da HDL [40].

Apesar da não diferença na concentração sérica de insulina entre os diferentes genótipos, os portadores do genótipo TT apresentam concentração de insulina próxima ao nível crítico de probabilidade adotado, podendo comprometer o metabolismo de carboidratos.

Os adolescentes portadores do alelo C, ao contrário dos portadores do genótipo TT foram pouco responsivos a mudanças nas concentrações dos componentes das lipoproteínas em função do consumo de alimentos, indicando que a individualização da dieta pode ser justificada.

Quanto à frequência de atividades físicas, os genótipos da *APOA1* têm a capacidade de predizer o efeito dos exercícios no perfil das lipoproteínas [40,41]. Os indivíduos que apresentaram o genótipo CC mostraram-se mais responsivos a prática de atividade física, diminuindo a concentração de TG. Por outro lado, portadores do genótipo TT que praticavam maior quantidade de atividade física por semana, apresentavam maior concentração de glicemia. O aumento da glicemia associado à prática de atividades físicas é um evento frequente entre indivíduos diabéticos tipo 1, em consequência da cetose [42,43]. Nos adolescentes deste estudo, o aumento da glicemia associado a maior prática de atividade física, mais uma vez indica a associação do polimorfismo T84C *APOA1* com menor eficiência no metabolismo da glicose. Esse fenômeno abre a discussão sobre as condições ideais para imprescindível prática de atividades físicas, associadas às orientações nutricionais.

Neste estudo apenas verificou a associação de um polimorfismo no perfil lipídico de adolescentes, no entanto, é sabido que há uma complexa rede de fatores de ordem genética e ambiental atuam de maneira coordenada na

gênese das doenças e que a avaliação de um fator isolado é limitada, porém o gene T84C *APOA1* foi selecionado para este estudo por ser aquele que mais frequentemente aparece nos estudos associado às alterações no metabolismo, especialmente da HDL. Os baixos valores de HDL-C são muito frequentes em diabéticos e obesos. Assim, apesar de suas limitações, este estudo já indica que o tratamento dietético deve ser individualizado, visto que nem todos os adolescentes responderam da mesma maneira ao consumo aumentado de nutrientes específicos.

O QFA tem sido um método muito utilizado em estudos epidemiológicos em razão da confiabilidade, validade relativa, praticidade, rapidez de aplicação e baixo custo. Além do mais é um instrumento que melhor expressar à interação entre consumo alimentar e doenças crônicas [18]. Apesar destas vantagens, esse instrumento de avaliação pode superestimar o consumo de alimentos [44], contudo pelo fato dos dados terem mantido o mesmo padrão, o erro sistemático não comprometeu os resultados. Além disso, a avaliação do consumo alimentar entre adolescentes é também um desafio. No entanto, há que se considerar que nesse aparente consumo alimentar obtido, o erro sistemático não compromete o resultado, visto que segue um mesmo padrão.

Conclusão:

Os adolescentes com o genótipo TT para o SNP T84C do gene *APOA1* são mais suscetíveis às alterações nas modificações da composição da dieta em macronutrientes, apresentando maior suscetibilidade às alterações do metabolismo da glicose relacionadas ao consumo de carboidrato e à atividade física.

Agradecimentos:

A CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), Brasil, pela Bolsa de formação discente. Esta pesquisa recebeu auxílio financeiro da Fapesp (Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo), número de processo: 2006/ 61085-0.

References

- [1] Deaton C, Froelicher ES, Wu L H, Ho C, Shishani K, Jaarsma T. The global burden of cardiovascular disease. *Eur J Cardiovasc Nurs* 2011; 10: S5-S13.
- [2] Forti N, Issa J, Diamant J, Giannini SD. Dislipidemias em crianças e adolescentes. Bases para a Terapêutica. *Arq Bras Cardiol* 1998;71: 807-10.
- [3] Sociedade Brasileira De Cardiologia. I Guideline for Preventing Atherosclerosis in Childhood and Adolescence. *Arqu Bras Cardiol* 2005; 85: 1-36.
- [4] Third report of the National Cholesterol Education Program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults (Adult Treatment Panel III). Final report. *Circulation* 2002;106: 3143–3421.
- [5] Ordovas JM. Genetic influences on blood lipids and cardiovascular disease risk: tools for primary prevention. *Am J Clin Nutr* 2009; 89:1509S–1517S.
- [6] Dawar R, Gurtoo A, Singh R. Apolipoprotein A1 gene polymorphism (G-75A and C+83T) in patients with myocardial infarction: a pilot study in a north Indian population. *Am J Clin Pathol* 2010; 134: 249-55.
- [7] Assmann G, Gotto AM Jr. HDL cholesterol and protective factors in atherosclerosis. *Circulation* 2004; 109: 8 –14.

- [8] Bolanos-Garcia VM, Miguel RN. On the structure and function of apolipoproteins: more than a family of lipidbinding proteins. *Prog Biophys Mol Biol* 2003; 83: 47–68.
- [9] Ordovas, J.M. HDL Genetics: Candidate Genes, Genome Wide Scans and Gene-Environment Interactions. *Cardio. Drugs and Ther* 2002; 16: 273-81.
- [10] França E, Alves JGB, Hutz MH. APOA1/C3/A4 gene cluster variability and lipid levels in Brazilian children. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 535-541.
- [11] Singh P, Singh M, Gaur S, Kaur T. The ApoAI-CIII-AIV gene cluster and its relation to lipid levels in type 2 diabetes mellitus and coronary heart disease: determination of a novel susceptible haplotype. *Diab Vasc Dis Res* 2007; 4:124-129.
- [12] Groenendijk M, Cantor RM, De Bruin TWA, Dallinga-Thie GM (a). The apoAI-CIII-AIV gene cluster. *Atherosclerosis* 2001; 157: 1-11.
- [13] Shioji, K., Mannami, T., Kokubo, Y., Goto, Y., Nonogi, H., Iwai, N., 2004a. An association analysis between ApoA1 polymorphisms and the high-density lipoprotein (HDL) cholesterol level and myocardial infarction (MI) in Japanese. *J. Hum. Genet.* 49, 433–439.
- [14] Groenendijk M, Cantor RM, De Bruin TWA, Dallinga-Thie GM (b). New genetic variants in the apoA-I and apoC-III genes and familial combined hyperlipidemia. *J Lipid Res* 2001; 42:188–194.
- [15] Yamada, Y, Matsuo, H, Warita, S, Watanabe S, Kato, K, Oguri M, et al., 2007. Prediction of genetic risk for dyslipidemia. *Genomics* 90, 551–558.
- [16] Pena SDJ, Pietro GD, FUCHSHUBER-MORAES M, GENRO JP; Hutz MH, Kehdy FSG, et al. The Genomic Ancestry of Individuals from Different Geographical Regions of Brazil Is More Uniform Than Expected. *PLOS One* 2011; 6: 17063 – 170.
- [17] Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson D.S. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18: 499-502.
- [18] Voci SM, Enes CC, Slater B. Validação do questionário de frequência alimentar para adolescentes (QFAA) por grupos de alimentos em uma população de escolares. *Rev Bras Epidemiol* 2008; 11: 561-72.

- [19] Voci SM, Slater B, Silva MV da, Marchioni DML, Latorre MRDO. Estudo de calibração do Questionário de Frequência Alimentar para Adolescentes (QFAA). *Ciênc. saúde coletiva* 2011; 16: 2335-2343.
- [20] Pinheiro ABV, Benzecry EH, Lacerda EMA, Gomes MCS, Costa VM. Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras. São Paulo: Atheneu; 2001.
- [21] Núcleo de Pesquisas e Pesquisas em Alimentação/Unicamp. Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO (Versão 2). Disponível em: <http://www.unicamp.br/nepa/taco>. Acesso em: 15 Agosto 2010.
- [22] U.S. Department of Agriculture. Agricultural Research Service (USDA-ARS). Nutrient Data Laboratory. Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>. Acesso em: 21/05/2010
- [23] World Health Organization. Growth reference data for 5-19 years, WHO reference 2007. Disponível em: <http://www.who.int/growthref/en/> . Acesso em: 20 jun.2008.
- [24] Lohman TG, Roche AF, Martorell R. *Anthropometric standardization reference manual*, 1st edn. Human Kinetics Books: Champaign, IL, USA, 1988, pp.39-54.
- [25] Romero A, florindo AA, Voci SM, Slater B. Reprodutibilidade de questionário informatizado de atividade física em adolescentes. *Rev Bras Ativ. Física e Saúde* 2011; 16: 234-239.
- [26] Florindo AA, Romero A, Peres SV, Silva MV, Slater B. Desenvolvimento, validação e reprodutibilidade de um questionário para avaliação da atividade física em adolescentes. *Rev Saúde Pública* 2006; 40: 802-9.
- [27] Brown CM, Rea TJ, Hamon SC, Hixson JE, Boerwinkle E, Clark, AG, et al. The contribution of individual and pairwise combinations of SNPs in the APOA1 and APOC3 genes to interindividual HDL-C variability. *J Mol Med* 2006; 84: 561–572.
- [28] Haase CL, Tybjærg-Hansen A, Grande P, Frikke-Schmidt R. Genetically elevated apolipoprotein A-I, high-density lipoprotein cholesterol levels, and risk of ischemic heart disease. *J Clin Endocrinol Metab* 2010; 95 :E500-10.

- [29] Dodani S, Henkhaus R, Wick J, Vacek J, Gupta K, Dong L, et al. Metabolic syndrome in South Asian immigrants: More than low HDL requiring aggressive management. *Lipids Health Dis.* 2011;10:45.
- [30] Phillips CM, Goumidi L, Bertrais S, Field MR, McManus R, Hercberg S, Lairon D, Planells R, Roche HM. Gene-nutrient interactions and gender may modulate the association between ApoA1 and ApoB gene polymorphisms and metabolic syndrome risk. *Atherosclerosis* 2011; 214:408-14.
- [31] Bosello O, Zamboni M. Visceral obesity and metabolic syndrome. *Obes Rev* 2000; 1: 47-56.
- [32] Nugent AP. The metabolic Syndrome. *Brit Nutr Found* 2004; 29:36-43.
- [33] Liu ZK, Hu M, Baum L, Thomas GN, Tomlinson B. Associations of polymorphisms in the apolipoprotein A1/C3/A4/A5 gene cluster with familial combined hyperlipidaemia in Hong Kong Chinese. *Atherosclerosis* 2010; 208:427-32.
- [34] Jump DB, Clarke SD. Regulation of gene expression by dietary fat. *Annu Rev Nutr* 1999; 19: 63-90.
- [35] Ordovas JM. Nutrigenetics, Plasma Lipids, and Cardiovascular Risk. *J Am Diet Assoc* 2006; 106: 1074-1081.
- [36] Choi J, Se-Young O, Lee D, Taka S, Hong M, Park SM, et al. Characteristics of diet patterns in metabolically obese, normal weight adults (Korean National Health and Nutrition Examination Survey III, 2005). *Nutr Metab Cardiol Diseases* 2010; 20: 1-8
- [37] Park SH, Lee KS, Park HY. Dietary carbohydrate intake is associated with cardiovascular disease risk in Korean: Analysis of the third Korea National Health and Nutrition Examination Survey (KNHANES III). *Int J Cardio* 2010; 139: 234–240.
- [38] Hu FB, Willett WC. Optimal diets for prevention of coronary heart disease. *JAMA* 2002; 288:2569-2578.

- [39] Ruaño G, Windemuth A, Kocherla M, Holford T, Fernandez ML, Forsythe CE, et al. Physiogenomic analysis of weight loss induced by dietary carbohydrate restriction. *Nutr Metab* 2006; 3: 20.
- [40] Richard JW, Jeff SV, Liu Y, Shachter NS, Contois JH, Fernandez ML. Carbohydrate Restriction Alters Lipoprotein Metabolism by Modifying VLDL, LDL, and HDL Subfraction Distribution and Size in Overweight Men. *J. Nutr* 2006; 136: 384–389.
- [41] Gómez-Gallego F, Ruiz JR, Buxens A, Altmäe S, Artieda M, Santiago C, et al. Are elite endurance athletes genetically predisposed to lower disease risk?. *Physiol Genomics* 2010; 41: 82–90.
- [42] Berger M, Berchtold P, Cuppers HJ, Drost H, Kley HK, Muller WA, et al. Metabolic and hormonal effects of muscular exercise in juvenile type diabetics. *Diabetologia* 1977;13:355–365.
- [43] American Diabetes Association. Standards of medical care in diabetes—2011. *Diabetes Care* 2011; 34:S11–S61.
- [44] Andrade RG, Pereira RA, Sichieri R. Consumo alimentar de adolescentes com e sem sobrepeso do Município do Rio de Janeiro. *Cad Saúde Pública* 2003;19:1485-95.
-

**CAPÍTULO IV - PRESENÇA DO ALELO APOE4 NOS
ADOLESCENTES CONFERE FATOR DE RISCO PARA
DOENÇAS CRÔNICAS QUE PODE SER MODIFICADO PELA
ALIMENTAÇÃO³**

³ Preparado para ser encaminhado ao BMC Public Health ISSN 1471-2458

Resumo

Conhecimento Básico

O conhecimento de suscetibilidades genéticas aos efeitos do meio ambiente sobre doenças crônicas pode promover avanços terapêuticos e preventivos. Nesse sentido, a ApoE, ao estar envolvida nos processos de dislipidemias torna-se importante candidata para estudos de interação de seus polimorfismos com fatores de risco ambientais. Assim, o objetivo foi avaliar, em adolescentes, se a presença da mutação missense pode modificar o risco para o desenvolvimento de doenças crônicas e se essas alterações podem ser moduladas por variação da composição da dieta em macronutrientes. Foram avaliados 214 adolescentes de ambos os sexos, por meio de um questionário de frequência alimentar, antropometria, aferição da pressão arterial, dosagens bioquímicas e genotipagem por PCR-real time.

Resultados

Os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* (*ApoE4E4/ApoE4/E3*) apresentaram maior prevalência de hipercolesterolemia (*ApoE4*=42%; *ApoE3*=30%; *ApoE2* (*ApoE2E2/ApoE2/E3*) =5%) , colesterol de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) elevado (*ApoE4*=33%; *ApoE3*=20%; *ApoE2*=2%), maior prevalência de cintura de risco para doenças crônicas (*ApoE4*=74%; *ApoE3*=51%; *ApoE2*=48%), maior prevalência de pressão arterial elevada (*ApoE4*=48%; *ApoE3*=18%; *ApoE2*=19), portanto, maior número de fatores de risco para doenças crônicas (*ApoE4*=40%; *ApoE3*=20%; *ApoE2*=16%), em relação aos portadores dos demais alelos ($p<0,05$). Os portadores do alelo *ApoE4* também se mostraram mais responsivos ao consumo de ácido graxo . Os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* que consumiam maiores quantidades de ácido graxo poliinsaturado apresentaram em torno de 23,9mg/dL e 26mg/dL menores concentrações, respectivamente, de LDL-C e CT em relação aos adolescentes portadores do mesmo genótipo ($p<0,05$). Esses mesmos adolescentes que consumiam maiores quantidade de gordura total e carboidrato apresentavam respectivamente, 22,8% menores e 24% maiores valores de percentil de pressão arterial em comparação aos portadores do mesmo genótipo ($p<0,05$).

Conclusões

Adolescentes portadores do Alelo *ApoE4* apresentaram maior prevalência de fatores de risco para doenças crônicas porém, menores concentrações de colesterol sérico quando consomem maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados e melhor pressão arterial quando consomem menor proporção de carboidrato na dieta.

Conhecimento básico

O conhecimento de suscetibilidades genéticas aos efeitos do meio ambiente sobre doenças crônicas, entre as quais as dislipidemias, pode promover avanços terapêuticos e indicar a necessidade de atitudes preventivas específicas [1].

As influências genéticas sobre as mudanças nas concentrações de colesterol total e de lipoproteínas de baixa densidade (LDL-C) podem ocorrer a partir da combinação de efeitos sobre produção, composição, metabolismo intravascular e eliminação plasmática das lipoproteínas [2]. Variações no gene, principalmente da *ApoE*, têm sido associadas com variações nas concentrações lipídicas plasmáticas [3,4].

A *ApoE* é uma glicoproteína de importante papel no metabolismo lipídico. Esta proteína se liga com afinidade aos receptores da LDL facilitando a endocitose de partículas de lipoproteínas associadas. Além do mais, a *ApoE* media as interações de lipoproteínas com receptores de LDL, VLDL e outros receptores de lipoproteínas [5].

A mutação missense no gene *ApoE* encontra-se localizada no cromossomo 19, sendo determinada por três alelos comuns ($\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$), que codificam três isoformas E2, E3 e E4 [6]. Essas isoformas estão relacionadas com trocas de cisteína e arginina na posição 112 (rs429358) e 158 (rs7412) da proteína. Ambos os códons possuem troca de nucleotídeo T para C levando a seis tipos de genótipos (E2/2, E2/3, E2/4, E3/3, E3/4 e E4/4) em humanos. O alelo *ApoE3* codifica a forma ancestral da proteína [7,8].

Em indivíduos que apresentam o alelo *ApoE4* há maior prevalência de elevação no colesterol total (CT) e LDL-C [6,9,10,11] e de desordens ateroscleróticas e infarto do miocárdio [12,13] em comparação aos portadores do alelo E2. Também tem sido relatado que portadores do alelo E4 são mais

responsivos às alterações na composição da dieta em nutrientes [12, 14] A magnitude dessas respostas foi bem menos documentada em crianças e adolescentes [10,15]. No entanto, o aumento global na prevalência dos fatores de riscos para doenças cardiovasculares (DCV) vem sendo verificado também entre crianças e adolescentes [16,17], apesar de este aumento estar relacionado com mudanças da alimentação e sedentarismo [18] o perfil genético parece estar associado com esta interação [19].

Deste modo, o objetivo foi avaliar, em adolescentes, se a presença da mutação missense pode modificar o risco para o desenvolvimento de doenças crônicas e se essas alterações podem ser moduladas por variação da composição da dieta em macronutrientes.

Métodos

População e Local do estudo

O presente estudo transversal fez parte de um projeto maior intitulado “Fatores determinantes do risco de obesidade em adolescentes de escolas públicas de Piracicaba: Estudo transversal como primeira etapa de um estudo de coorte”, financiado pela Fapesp (proc nº2006/61085-0).

Neste projeto estavam participando 488 escolares matriculados na quinta série num âmbito de 26 escolas do ensino fundamental público que foram escolhidos por sorteio e representam as prevalências de excesso de peso entre 20% e 32%, erro tipo I de 5% e erro tipo II de 10% de um total de 48 escolas presentes em Piracicaba na época do estudo, inclusive zona rural.

Estes adolescentes foram convidados para a segunda parte do projeto relacionado à genotipagem e dosagens bioquímicas, porém foram recrutados 214 adolescentes, de ambos os sexos, matriculados na quinta série de escolas públicas distribuídas em todas as regiões do município, com idade mínima de 10 anos. Participaram do estudo, adolescentes, em que os responsáveis aceitaram e assinaram o termo de consentimento em participar do estudo. O projeto foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da USP (nº1633), conforme a resolução 196/96 do Conselho Nacional de Saúde/MS.

Foram utilizadas como critério de exclusão a presença de febre, gripe e resfriado e o uso de medicamentos durante a semana anterior e de coleta de

sangue. Os adolescentes não foram estratificados pela cor da pele, pois como indicado por Pena e *et al.* mais de 60% da herança genética dos brasileiros é européia, independente da cor da pele. A cor da pele apresenta fraca relação com ancestralidade geográfica genômica [20].

Antropometria

A avaliação antropométrica foi realizada por uma equipe treinada. Para as aferições das medidas antropométricas os adolescentes estavam descalços com um mínimo de roupas. O peso corporal foi obtido em balança eletrônica, do tipo plataforma, marca Tanita® com capacidade de 150 kg. A estatura foi aferida com o auxílio de um estadiômetro rígido, com escala em milímetros, da marca Alturaexata®. Essas medidas foram aferidas em duplicata, obtendo-se assim um valor médio e assim foi obtido o índice de massa corporal (kg/m^2) que foi utilizado para avaliar o estado nutricional, sendo utilizada a curva de referência e o ponto de corte percentilar propostos pelo World health Organization [21]

A circunferência de cintura foi medida seguindo o protocolo de Callaway *et al.* [22] e foi utilizado a referência e a população de McCarthy *et al.* [23] para classificar o percentil de circunferência de cintura considerado risco para o desenvolvimento de DCVs.

Consumo alimentar

Para avaliação do consumo alimentar foi utilizado um questionário de frequência alimentar simplificado para adolescentes (QFASA) baseado em um questionário de frequência alimentar para adolescentes já validado [24] e calibrado [25]. O QFASA incluiu 58 itens alimentares referentes a um período de três meses, após redução de 40 itens alimentares encontrados no questionário original, esta redução foi baseada nos alimentos consumidos em maior frequência pelo recordatório de 24h utilizado no estudo de calibração de Voci [25]. Foi utilizado material fotográfico informatizado com fotos de diferentes utensílios e alimentos para fins deste estudo. Por meio de tabelas de medidas caseiras foi realizada a conversão dos valores obtidos em medidas caseiras em unidades de peso e medida [26]. Para o cálculo do consumo em energia, macro e micronutrientes foi utilizado a tabela brasileira de composição de alimentos- segunda versão [27] e o banco de dados de nutrientes norte

americano [28] Os nutrientes foram expressos como porcentagem do total energético da dieta. Com o intuito de avaliar a influência do consumo de determinados alimentos sobre os fatores de risco para doenças crônicas, optou-se por classificar alguns itens presentes no QFASA em grupos alimentares: frutas, legumes e verduras; doces e açúcar; sucos naturais; bebidas artificiais e alimentos gordurosos.

Variáveis bioquímicas

As concentrações de CT e de HDL-C foram obtidos pelo método colorimétrico enzimático no soro (Advia® chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). A dosagem de TG foi determinada pelo método enzimático no soro (Advia® chemistry Direct, Siemens, São Paulo, SP, Brasil). O cálculo do LDL-C foi realizado a partir da fórmula de [29], já que todos os valores de TG estavam abaixo de 400mg/dL. Estas dosagens foram comparadas aos pontos de corte de referências do I Guideline for Preventing Atherosclerosis in Childhood and Adolescence para verificar a proporção de alterações das dislipidemias [30]. As concentrações alteradas de CT, LDL-C e TG foram consideradas iguais ou acima de limítrofes. As concentrações alteradas de HDL-C foram aqueles considerados valores iguais ou abaixo do desejável.

A glicemia foi analisada pelo método enzimático (Advia® chemistry Direct, Siemens, São Paulo, Brasil). Para a obtenção das concentrações de insulina foi realizada a dosagem pela reação quimioluminescente (Advia centaur®, Siemens, São Paulo, SP, Brasil).

Pressão arterial

A pressão arterial (PA) foi aferida após pelo menos cinco minutos de repouso, a PA foi aferida em duplicata com intervalo de 1 a 2 minutos entre as medidas, segundo as recomendações das V diretrizes brasileiras de Hipertensão arterial [31]. A pressão arterial foi aferida por um monitor de pressão digital, marca Omron Healthcare® (HEM-742) previamente validado [32]. Os valores encontrados foram comparados com valores do National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents (2004) [33].

Determinação da genotipagem de *ApoE*

O DNA genômico foi extraído a partir de sangue total utilizando um kit de purificação comercial Illustra blood genomicPrep Mini Spin kit (GE Healthcare®, Nova York, EUA), conforme instruções do fabricante. Dois polimorfismos de nucleotídeo único (rs 7412, rs429358) no gene da *ApoE* foram genotipados pela técnica de PCR-real time no equipamento 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied biosystems®, Foster City, California, EUA) com sondas TaqMan para discriminação alélica (quadro1). O método foi descrito pelo fornecedor. Os resultados da discriminação alélica foram analisados usando um software automatizado (SDS 1.3.1. Applied biosystems®, Foster City, California, EUA). Aleatoriamente, 10% das amostras foram genotipadas por uma segunda vez para confirmação dos resultados, obtendo-se 100% de concordância. Todos os grupos de genótipos obedeceram ao equilíbrio de Hardy-Weinberg ($p > 0,05$).

Os genótipos *ApoE2E2* e *ApoE3E2* foram agrupados formando os portadores do Alelo *ApoE2*, o genótipo *ApoE3E3* formou apenas um grupo e o genótipo *ApoE4E4* combinado com o genótipo *ApoE4E3* formaram o grupo dos Alelos *ApoE4*. Em relação ao genótipo *ApoE4E2*, 3 adolescentes portadores deste genótipo foram excluídos desta amostra devido aos supostos efeitos que estes dois alelos possuem no LDL-C. No geral a prevalência dos genótipos da mutação missense foi de 0,5% para os portadores do genótipo *ApoE2E2*, 17,1% para os portadores do genótipo *ApoE3E2*, 63,5% para os portadores do genótipo *ApoE3E3*, 2,8% para os portadores do genótipo *ApoE3E4* e 16,1% para os portadores do genótipo *ApoE4E4*. A prevalência do alelo E3 foi de 80,1%; 9,0% para o alelo E2 e 10,9% para o alelo E4.

Análise estatística

As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o programa Bioestat 5® para Windows Vista (Manuel Ayres, Manuel Ayres Jr e Daniel Lima Ayres, Belém, Pará, Brazil) e IBM SPSS statistics 19 (IBM®, Nova York, NY, EUA). As concentrações dos marcadores bioquímicos com distribuição normal analisados foram comparadas entre os diferentes grupos estudados utilizando

a análise da variância (ANOVA) e os não normais por Kruskal Wallis, seguidos dos testes de Tukey ou Dunn, respectivamente.

Para verificar a influencia do consumo de nutrientes e de grupos alimentares na concentração de variáveis relacionadas aos fatores de risco para doenças cardiovasculares nos adolescentes de acordo com os genótipos da *ApoE* foi utilizado o teste de análise de variância fatorial. As variáveis que apresentaram distribuição normal foram comparadas por Tukey e as de não normal distribuição por Dunnett 3 t . A distribuição de normalidade das variâncias era testada por Levene's Test of Equality of Error Variances.

As frequências alélicas foram obtidas pela contagem dos genes. Para testar as diferenças nas prevalências foi utilizado o teste do Qui-quadrado, conforme as características da análise. Valores de $p < 0,05$ foram considerados como estatisticamente significativos.

Resultados

Resultados referentes aos dados bioquímicos, antropométricos e de pressão arterial

Tabela 1. Comparação do perfil lipídico, glicêmico e insulínico entre adolescentes portadores do alelo E2, E4 e genótipo E3E3 da *mutação missense do gene da ApoE*

	Adolescentes			
	ApoE2 (E2E3/E2E2) (37)	ApoE3E3 (134)	ApoE4 (E4E3/E4E4) (40)	
Dosagens bioquímicas				
	Média±dp	Média±dp	Média±dp	Valor de P*
Glicemia (mg/dL)	88,2±6,3	90,7±8,5	89,7±5,1	0,1733
Insulina (µu/ml)	11,3 ± 7,0	12,2±14,5	12,1 ±12,1	0,6866
HOMA-IR	2,2 ±1,4	2,39 ±3,0	2,36 ±2,5	0,8191
Colesterol total(mg/dL)	134,9 ±22,1 ^a	157,0 ±25,0 ^b	164,8 ±35,0 ^b	0,000
HDL-c(mg/dL)	47,4 ±10,3	49,4 ±10,6	47,3 ±13,5	0,2265
LDL-c(mg/dL)	70,3 ±17,5	91,8 ±20,0	99,0 ±31,3	0,000
TG(mg/dL)	85,8 ±41,8	78,9 ±44,8	92,3 ±45,7	0,0747
Antropometria				
IMC (kg/m ²)	19,7±4,6ab	19,4±4,5a	21,5±5,3b	0,0300
Percentil de IMC	59,7±32,9ab	58,7±36,5a	74,6 ±32,4b	0,0415
Alimentação				
Energia Kcal	3364,1± 1273,0	3308,3±1356,0	3230 ±1506	0,9075
Carboidrato (%energia)	56,2±4,9	56,9±4,8	57,2±4,0	0,8709
Gordura (% energia)	31,6±4,3	31,3±4,2	30,9±4,0	0,7517
SAF (% energia)	9,3±1,7	9,3±1,7	9,1±1,7	0,7982
PUFA (% energia)	9,0±1,1	9,1±1,2	9,2±1,3	0,7645
MUFA (% energia)	10,8 ±2,1	10,6±2,0	10,3±1,8	0,5891
TAF (% energia)	2,3±2,1	2,1±0,9	1,9±0,7	0,0814
	n(%)	n(%)	n(%)	Qui-quadrado /Valor de p
Variáveis Bioquímicas				
LDL-C Desejável	39 (97,5)	109 (81,3)	26 (65,0)	13,9/0,000
LDL-C Alterado	1 (2,5)	25(18,7)	14(35,0)	
CT Desejável	38 (95,0)	94 (70,1)	17 (42,5)	15,0/0,000
CT Alterado	2 (5,0)	40(29,9)	23(57,5)	
Antropometria				
Circ,cintura adequado	21 (52,5)	64 (47,8)	10 (25,0)	7,0/0,030
Circ, cintura risco	19 (47,5)	70(52,2)	30(75,0)	
Pressão arterial				
Percentil adequado de PA	33 (82,5)	111 (82,8)	19 (47,5)	16,1/0,000
Percentil de PA acima de 90	7 (17,5)	23(17,2)	21(52,5)	
Fatores de risco para DCNTs				
+3 fatores	6 (15,0)	26 (19,4)	16 (40,0)	18,5/0,000
1 e 2 fatores	19 (47,5)	73 (54,5)	23 (57,5)	

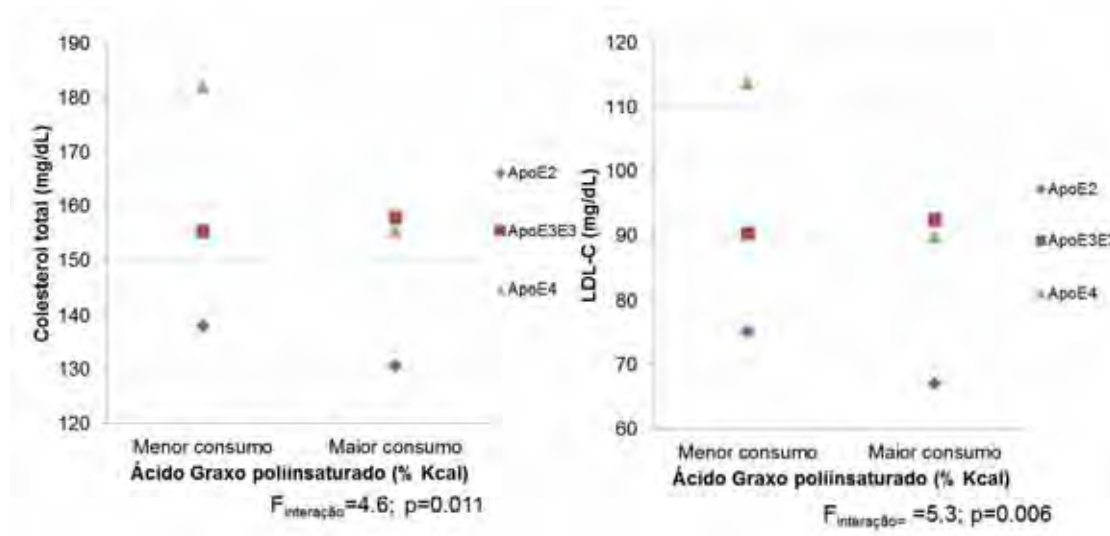
Nenhum fator	15 (37,5)	35 (26,1)	1 (2,5)
--------------	-----------	-----------	---------

*HDL-C = colesterol de lipoproteínas de alta densidade; LDL-C= Colesterol de lipoproteínas de baixa densidade;
TG = triglicérides; IMC = Índice de massa corporal; SAF = ácido graxo saturado; PUFA = ácido graxo poliinsaturado; MUFA = ácido graxo monoinsaturado; TAF=ácido graxo trans; Circ = circunferência; PA = pressão arterial; DCNT = doenças crônicas não transmissíveis

Em relação ao perfil lipídico, os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* apresentaram maior média de colesterol total e LDL-C (tabela 1), como também maior prevalência de alterações lipídicas. Esses adolescentes também apresentaram maior média no percentil de IMC, diferindo estatisticamente daqueles portadores do genótipo *ApoE3E3* (tabela 1). Já em relação à CC de risco os adolescentes portadores do alelo *ApoE2* apresentaram menores prevalência e os portadores do alelo *ApoE4* maiores prevalência. As Alterações de pressão arterial, também se apresentaram mais elevadas nos adolescentes com alelo *ApoE4*.

Como consequência os portadores do alelo *ApoE4* apresentaram também maiores riscos para o desenvolvimento de doenças crônicas (tabela1).

Resultados referentes ao consumo alimentar

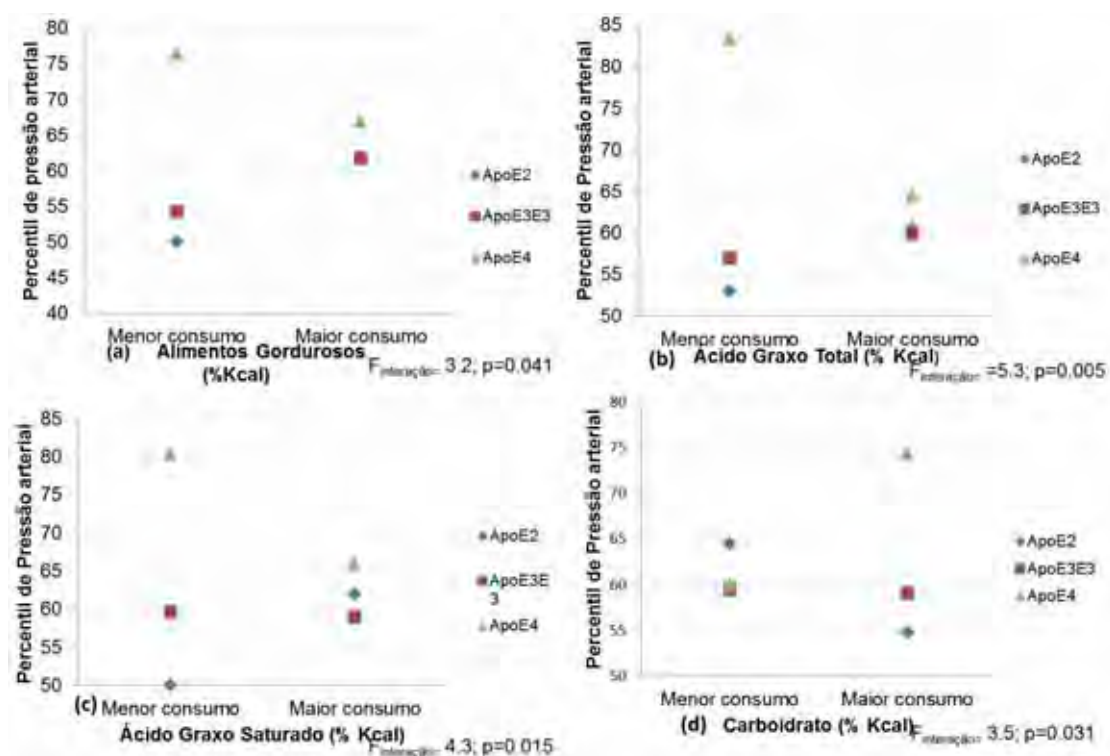


Ácido graxo poliinsaturado = Menor consumo $\cong$ de 6 a 8,5%; Maior consumo $\cong$ de 8,5 a 12%; LDL-C= Colesterol de Lipoproteínas de baixa densidade

Figura 1. Influência do consumo de ácido graxo poliinsaturado em percentual energético na concentração de CT, LDL-C, em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos da mutação missense do gene *ApoE*.

Analisando-se o consumo de macronutrientes e energia, pode-se verificar que os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* que consumiam maiores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados apresentavam menores concentrações séricas de

CT e LDL-C em relação aos portadores do mesmo alelo que consumiam menores quantidades de ácidos graxos poli-insaturados (figura 1).



Alimentos gordurosos: Menor consumo $\cong$ de 1 a 17%kcal; Maior consumo $\cong$ de 17 a 40,5% kcal;

Ácido graxo total: Menor consumo $\cong$ de 21 a 29,8% kcal; Maior consumo $\cong$ de 29,8 a 44% kcal;

Ácido graxo saturado: Menor consumo $\cong$ de 5,3 a 8,6% kcal; Maior consumo $\cong$ de 8,6 a 13% kcal;

Carboidrato: Menor consumo $\cong$ de 45% a 55% kcal;; maior consumo $\cong$ de 55% a 69% kcal;

Figura 2. Influência do consumo de alimentos gordurosos (a), ácido graxos total (b) e saturado(c) e carboidrato (d) segundo proporção percentual energética no percentil de pressão arterial, em adolescentes de acordo com a distribuição de genótipos da mutação missense do gene *ApoE*.

Em relação à pressão arterial, os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* que consumiam maiores quantidade alimentos gordurosos, total de gordura e ácido graxo saturado apresentaram menores percentis de pressão arterial segundo a estatura em relação aos portadores do alelo *ApoE4* que consumiam menores quantidades desse mesmo tipo de alimentos e lipídeos da dieta (Figura 2).

Porém, em relação ao consumo de carboidrato foi verificado o contrário, o maior consumo de carboidrato (% energia) da dieta foi associado com maiores valores de pressão arterial. Em relação aos portadores do alelo *ApoE2*, embora numa menor magnitude, foi verificado o contrário, o maior consumo de alimentos gordurosos e de ácidos graxos foi associado a valores mais

elevados de pressão arterial e de carboidrato a menores valores de pressão arterial. Não foi encontrada associação do consumo de nutrientes, CC e IMC em interação com os grupos portadores dos alelos da mutação missense da *ApoE*.

Alimentos de outros grupos alimentares, com exceção de alimentos gordurosos, não apresentaram relação com fatores de risco para doenças crônicas segundo presença do polimorfismo da *ApoE*.

Discussão

O estudo comparou e estabeleceu diferenças entre os fatores de risco para doenças crônicas em adolescentes de acordo com a distribuição os grupos portadores dos alelos da mutação missense, verificando também a influência da alimentação na resposta desta mutação. Foi constatado que os polimorfismos estudados determinam diferenças significativas na prevalência dos fatores de risco para doenças crônicas em adolescentes, os quais responderam de forma diversa aos macronutrientes da dieta, dependendo da isoforma de *ApoE* que apresentavam.

Entre os diferentes grupos de adolescentes analisados pode-se verificar que os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* apresentaram maiores fatores de risco para doenças crônicas, como, maior prevalência de alterações na composição corporal (IMC e cintura), hipercolesterolemia, LDL-C elevado, alterações na pressão arterial. Já os adolescentes portadores do Alelo *ApoE2* pareceram apresentar fatores de proteção para doenças crônicas. Uma maior prevalência de dislipidemias e ou de obesidade em portadores do alelo *ApoE4* foi verificada também em outros estudos [6,9,10, 34,35]. Segundo Minihane *et al.*, as concentrações de LDL-C nos homozigotos para alelo *ApoE3* geralmente são 8,3% menores em relação aos portadores do *ApoE4* e 14,2% maiores em relação aos *ApoE2* [36].

Esta suscetibilidade aos fatores de risco para doenças crônicas em adolescentes *ApoE4*, como a encontrada neste trabalho, pode estar relacionado a maior afinidade da proteína aos receptores de LDL, tanto em relação ao aumento da concentração de colesterol total e de LDL [7] e maior aumento da deposição de lipídios no tecido adiposo [37].

Neste estudo, a presença de *ApoE4* foi associada com maior pressão arterial, o que, em parte, pode ser justificado pelas alterações na lipemia. Em presença de hipercolesterolemia há redução da disponibilidade do óxido nítrico por meio do aumento da produção de radicais livres derivados da peroxidação lipídica [38]. Um processo que parece estar ocorrendo precocemente entre os adolescentes deste estudo. No entanto, há estudos com população brasileira [37,39] e portuguesa [40] nos quais a associação entre pressão arterial e *ApoE4* não foi verificada.

Iniciativas para o combate das doenças crônicas estão sendo realizadas no mundo inteiro, ficando cada vez mais evidente a variação na suscetibilidade aos fatores do meio ambiente em decorrência da genética [41,42,43]. Apesar de o aumento da prevalência das doenças crônicas não poder ser justificado por mudanças no “pool” genético, já que o genoma humano tenha mudado marginalmente desde a sua origem, parece que variantes genéticas que antes estavam “adormecidas” estão agora sendo acionadas pela mudança do estilo de vida de sociedades modernas [43].

No geral, verificou-se que os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* eram mais responsivos ao consumo de ácido graxo. Em relação a dislipidemia, os indivíduos portadores do alelo *ApoE4* que consumiam maior quantidade de ácido graxo poliinsaturado apresentavam menor concentração de CT e LDL-C em relação aos adolescentes do mesmo grupo com menor consumo proporcional. Porém, foi verificada também uma má adaptação ao consumo de carboidratos nos adolescentes portadores da *ApoE4* frente a mudanças da pressão arterial. Os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* apresentaram maior alteração na pressão arterial e geralmente na presença de hipertensão há presença de resistência à insulina (RI), já que na RI há um aumento exacerbado da atividade simpática. Com o consumo de sacarose, também pode ser verificado aumento na atividade do sistema nervoso simpático [44]. Deste modo, supõe-se que os portadores do Alelo *ApoE4* que apresentam alterações na pressão arterial, também apresentem aumento da atividade do sistema nervoso simpático com maior consumo de carboidratos.

Em dois estudos de revisão foi verificado que os indivíduos portadores do alelo *ApoE4* apresentaram-se mais responsivos aos efeitos dos ácidos graxos

da dieta sobre as concentrações de CT e LDL-C, porém os portadores do alelo *ApoE2* eram mais responsivos a mudança de Carboidrato [45,46]. Masson *et al.* verificaram que portadores do Alelo *ApoE2* eram mais responsivos ao consumo de trigo e farelo de aveia [46].

Em alguns estudos não foi verificada a interação da dieta com presenças de polimorfismos da *ApoE* [10, 47,48], indicando a necessidade de que todos os indivíduos, independentemente do alelo, reduzam gordura saturada e aumentem fibras na dieta, a fim de reduzir lipídios no sangue e o risco de DCV.

Apesar de neste estudo os portadores da isoforma *ApoE4* serem mais propensos ao desenvolvimento de doenças crônicas, esses apresentam-se mais responsivos a mudança da dieta.

Aparentemente os indivíduos portadores do alelo *ApoE2* responderam de forma contrária em relação aos portadores do alelo *ApoE4* quando consumiam carboidrato e ácido graxo, evidenciando a influência do polimorfismo na resposta da manifestação da hipertensão de acordo com o consumo alimentar.

Neste estudo, pode ser constatado que os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* são aqueles indivíduos que necessitam de maior atenção na prevenção do desenvolvimento de fatores de risco para o desenvolvimento de DCV na vida adulta. Sendo esses adolescentes que no futuro estarão utilizando em maior proporção os serviços de saúde pública e consequentemente aumentando gastos financeiros com internação e número de anos perdidos devido a problemas de saúde, invalidez ou morte prematura [42].

Estimativas realizadas pela OMS para o Brasil sugerem que perdas na força de trabalho e diminuição da reserva monetária resultante da carga de apenas três DCNT (diabetes, doença coronariana e derrame) levarão a uma perda de produção econômica de 4,18 bilhões de dólares entre 2006 e 2015 [42]. Esta realidade não é exclusiva do Brasil e sim reflete uma situação visível em países desenvolvidos e em desenvolvimento. Nos EUA as DCV representam uma estimativa de custos anuais diretos e gerais de 273 e 444 bilhões de dólares, respectivamente [49].

Uma potencial forma antecipar a solução para esses problemas poderia centrar-se no cuidado preventivo diferenciado aos indivíduos geneticamente

mais suscetíveis aos efeitos do meio ambiente, como mostraram ser os adolescentes portadores do Alelo *ApoE4*.

Por meio de nossos resultados e estudos que reforçam que a presença do alelo *ApoE4* pode ser um risco para fatores de doenças crônicas e consequentemente DCV, a inclusão de exames genéticos no sistema de saúde Pública que identificassem a presença do alelo *ApoE4* poderia beneficiar populações de risco.

Apesar de ainda não ser considerado na prática clínica, o uso da genotipagem para a identificação da mutação missense em indivíduos como indicador de risco ao longo prazo poderia, ao individualizar o cuidado, diminuir os custos com internação e perda na força de trabalho por invalidez. Já que a heterogeneidade na capacidade de resposta ao tratamento pode ser explicada por variações nos genes, os produtos dos quais afetam o metabolismo de lipoproteínas, por exemplo, apolipoproteínas, enzimas e receptores [46], um tratamento individualizado pode melhorar a resposta do indivíduo a manipulação da dieta.

Por meio desses resultados reafirmamos que a generalização de diretrizes e tratamentos para a prevenção de DCV não é adequada a todos os indivíduos, sendo importante a utilização de investigações genéticas para identificar o melhor tratamento individualizado disponível.

Neste estudo, o questionário de frequência alimentar foi o método de escolha para avaliação de o consumo alimentar, que costuma ser amplamente utilizado em estudos populacionais, devido à facilidade operacional e a relativa reprodutibilidade dos resultados [24]. Porém, esse instrumento permite apenas a avaliação relativa do consumo alimentar, dada a variação intra e interpessoal do consumo de alimentos [50].

Neste artigo avaliamos apenas a interação de uma mutação no desenvolvimento de riscos para doenças crônicas e consequentemente DCV, porém deve se lembrar de que existem outros polimorfismos que influenciam o desenvolvimento de DCV e até mesmo podem influenciar a expressão da mutação missense. Porém, esse polimorfismo é de grande importância para o estudo devido a sua relação muito forte com fatores de risco para doenças crônicas e consequentemente DCV.

Conclusões

Adolescentes portadores do Alelo *ApoE4* apresentaram maior prevalência de fatores de risco para doenças crônicas porém, menores concentrações de colesterol sérico quando consomem maior proporção de ácidos graxos poliinsaturados e melhor pressão arterial quando consomem menor proporção de carboidrato na dieta. Esses resultados sugerem que genotipagem para a mutação missense do gene da *ApoE* apresenta utilidade clínica.

Conflito de interesses

Os autores declaram não apresentar conflitos de interesse.

Contribuições de autores

E.A.B coletou e analisou os dados, fez análise estatística e escreveu o artigo; R.V participou do desenho do estudo, experimento, coleta de dados e revisou o artigo; B.S.V participou do desenho do estudo, preparou o questionário de frequência alimentar e atividade física e revisou o artigo; M.R.M.O participou do desenho do estudo, analisou os dados, escreveu e revisou o artigo.

Agradecimentos

E.A.B foi bolsista da CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), Brasil. Esta pesquisa recebeu auxilio financeiro da Fapesp (Fundação de Amparo à pesquisa de São Paulo), número de processo: 2006/ 61085-0.

Referências

- [1] Cháves A, de Cháves MM: **Nutrigenomics in public health nutrition: short-term perspectives.** *Eur. J. Clin. Nutr.* 2003, **57**: S97–S100
- [2] Darnton-Hill I, Margetts B, Deckelbaum R: **Public health nutrition and genetics: implications for nutrition policy and promotion.** *Proceedings of the Nutrition Society* 2004, **63**: 173–185
- [3] Davignon J, Gregg RE, Sing CF: **Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis.** *Arteriosclerosis* 1988, **8**:1–21

- [4] Tikkanen MJ, Huttunen JK, Ehnholm C, Pietinen P: **Apolipoprotein E4 homozygosity predisposes to serum cholesterol elevation during high fat diet.** *Arteriosclerosis* 1990, **10**:285–8
- [5] Long JR, Liu PY, Liu YJ, et al: **APOE and TGF-beta1 genes are associated with obesity phenotypes.** *J. Med. Genet.* 2003, **40**: 918 –924.
- [6] Siest G, Pillot T, Regis-Bailly A, Leininger-Muller B, Steinmetz J, Galteau M-M, et al: **Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine.** *Clin. Chem.* 1995, **41**:1068–86
- [7] Clark D, Skrobot OA, Adebisi I, Susce MT, De Leon J, Blakemore AIF, et al: **Apolipoprotein-E gene variants associated with cardiovascular risk factors in antipsychotic recipients .** *European Psychiatr* 2009, **24**: 456–463
- [8] Taylor AE, Philip AI, Guthrie GDS, Golding J, Sattar N, Hingorani, AD, et al: **IQ, Educational Attainment, Memory and Plasma Lipids: Associations with Apolipoprotein E Genotype in 5995 Children.** *Biol Psychiatry* 2010, 1-7
- [9] Burman D, Mente A, Hegele RA, Islam S, Yusuf S, Anand SS: **Relationship of the ApoE polymorphism to plasma lipid traits among South Asians, Chinese, and Europeans living in Canada.** *Atherosclerosis* 2009 **203**: 192–200
- [10] Smart MC, Dedoussis G, Louizou E, Yannakoulia M, Drenos F, Papoutsakis C, et al : **APOE, CETP and LPL genes show strong association with lipid levels in Greek children.** *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis* 2010, **20**: 26 –33.
- [11] Tolonen S, Mikkila V, Laaksonen , Sievanen H, Mononen N, Hernesniemi J, et al: **Association of apolipoprotein E promoter polymorphisms with bone structural traits is modified by dietary saturated fat intake — the cardiovascular risk in Young Finns study** *Bone*. 2011, **48**:1058–1065
- [12] Bennet AM, Di A E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlbom A, et al: **Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk.** *JAMA* 2007, **298**: 1300–11.

- [13] Song Y, Stampfer MJ, Liu S: **Meta-analysis: apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease.** *Ann. Intern. Med.* 2004, **141**:137–47
- [14] Lovegrove JA, Gitau R: **Personalized nutrition for the prevention of cardiovascular disease: a future perspective.** *J Hum Nutr Diet* 2008, **21**: 306–316
- [15] Lehtimäki T, Moilanen T, Porkka K, Akerblom H K, Rönnemaa T, Räsänen L, et al: **Association between serum lipids and apolipoprotein E phenotype is influenced by diet in a population-based sample of free-living children and young adults: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study.** *The J. Lipid Res.* 1995, **36**: 653-661
- [16] Ford ES, Li C, Cook S, Choi HK: **Serum concentrations of uric acid and the metabolic syndrome among US children and adolescents.** *Circulation* 2007, **115**: 2526–2532
- [17] Madeira IR, Bordallo MA, Carvalho CN, Gazolla FM, de Souza FM, de Matos HJ, et al: **The role of metabolic syndrome components and adipokines in insulin resistance in prepubertal children.** *J. Pediatr. Endocrinol. Metab.* 2011, **24**:289-95
- [18] Malta DC, CEZÁRIO AC, MOURA L, NETO OL: **A construção da vigilância e prevenção das doenças crônicas não transmissíveis no contexto do Sistema Único de Saúde.** *Epidemiologia e Serviços de Saúde* 2006; **15**: p.47-65
- [19] Ordovas JM: **HDL Genetics: Candidate Genes, Genome Wide Scans and Gene-Environment Interactions.** *Cardio. Drugs and Therapy* 2002, **16**: 273-281
- [20] Pena SDJ, Pietro GD, Fuchshuber-Moraes M, GENRO JP, HUTZ MH, KEHDY FSG, et al: **The Genomic Ancestry of Individuals from Different Geographical Regions of Brazil Is More Uniform Than Expected.** *PLOS One* 2011, **6**: 17063 – 170
- [21] World Health Organization: **Growth reference data for 5-19 years, WHO reference 2007.** Disponível em: <http://www.who.int/growthref/en/> . Acesso em: 20 jun.2008.
- [22] Callaway CW, Chumlea WC, Bouchard C, Hilmes JH, Lohman TG, Martin AD, et al: **Circumferences.** In: *Anthropometric Standardization Reference*

- Manual* Edited by Lohman TG, Martorell LR. Champaign, IL, Human Kinetics Books 1988, 39-54.
- [23] McCarthy HD, Jarret KV, Crawley HF. **The development of waist circumference percentiles in british children aged 5.0 – 16.9y.** *Eur. J. Clin. Nutr.* 2001, **55**: 902-907.
- [24] Voci SM, Enes CC, Slater B: **Validação do questionário de frequência alimentar para adolescentes (QFAA) por grupos de alimentos em uma população de escolares.** *Rev. Bras. Epidemiol.* 2008, **11**: 561-72
- [25] Voci SM, Slater B, Silva MV da, Marchioni DML, Latorre MRDO: **Estudo de calibração do Questionário de Frequência Alimentar para Adolescentes (QFAA).** *Ciênc. saúde coletiva* 2011, **16**: 2335-2343
- [26] Pinheiro ABV, Benzecry EH, Lacerda EMA, Gomes MCS, Costa VM. *Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras.* São Paulo, Atheneu 2001
- [27] Núcleo de Pesquisas e Pesquisas em Alimentação/Unicamp. *Tabela brasileira de composição de alimentos – TACO (Versão 2).* Disponível em: <<http://www.unicamp.br/nepa/taco>>. Acesso em: 15 Agosto 2010.
- [28] U.S. Department of Agriculture. *Agricultural Research Service (USDA-ARS). Nutrient Data Laboratory.* Disponível em: <http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp>. Acesso em: 21/05/2010
- [29] Friedwald 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.
- [30] Sociedade Brasileira De Cardiologia: **I Guideline for Preventing Atherosclerosis in Childhood and Adolescence.** *Arq. Bras. Cardiol.* 2005, **85**: 1-36.
- [31] Sociedade Brasileira de Cardiologia. **V Diretrizes Brasileiras de Hipertensão.** *Arq Bras Cardiol.* 2006; 1-48.
- [32] Christofaro DG, Fernandes RA, Gerage AM, Polito MD, Alves MJ, Oliveira AR: **Validação do medidor de pressão arterial Omron HEM-742 em adolescentes.** *Arq. Bras. Cardiol.* 2009, **92**:10-15.
- [33] National High Blood Pressure Education Program Working Group on High Blood Pressure in Children and Adolescents: **The fourth report on the**

- diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents.** *Pediatrics* 2004, **114**:1–22.
- [34] Golledge J, Biros E, Cooper M, Warrington N, Palmer LJ, Norman PE: **Apolipoprotein E genotype is associated with serum C-reactive protein but not abdominal aortic aneurysm.** *Atherosclerosis* 2010, **209**: 487-491
- [35] Rankinen T, Zuberi A, Chagnon YC, Weisnagel SJ, Argyropoulos G, Walts B, et al: **The Human Obesity Gene Map: The 2005 Update.** *Obesity* 2006, **14**: 529-644
- [36] Miniñane AM, Jofre-Monseny L, Olano-Martin E, Rimbache G: **ApoE genotype, cardiovascular risk and responsiveness to dietary fat manipulation.** *Proceedings of the Nutrition Society* 2007, **66**: 183-197
- [37] Rafael OA, Silvia RSF, Ferreira NE, Santos PCJL, Cunha RS, Mill JG, et al: **APOE polymorphism is associated with lipid profile, but not with arterial stiffness in the general population.** *Lipids in Health and Dis.* 2010, **9**: 128 p. 1
- [38] Vogel RA, Mary CC, Gellman J: **Cholesterol, Cholesterol Lowering, and Endothelial Function.** *Progress in Cardiovascular Diseases* 1998, **41**: 117-136
- [39] Fuzikawa AK, Peixoto SV, Taufer M, Moriguchi EH, Lima-Costa MF: **Association of ApoE polymorphisms with prevalent hypertension in 1406 older adults: the Bambui Health Aging Study (BHAS).** *Braz. J. Med. Biol. Res.* 2008, **4**: 89-94
- [40] Carmo MM, Lima FL, Rodrigues MO, Albergaria I, Fonseca A: **Influence of the APOE genotypes in some atherosclerotic risk factors.** *Acta Med. Port.* 2008, **2**: 433-440
- [41] Lloyd-Jones DM, Hong Y, Labarthe D, et al: **Defining and setting national goals for cardiovascular health promotion and disease reduction.** *Circulation* 2010, **121**: 586-613
- [42] Schmidt MI, Duncan BB, Silva GA, Menezes AM, Monteiro CA, Barreto SM, et al: **Chronic non-communicable diseases in Brazil: burden and current challenges.** *Lancet* 2011, **377**: 1949–61

- [43] Martinez JA: **Body-weight regulation: causes of obesity.** *Proceedings of the Nutrition Society* 2000, 59: 337–345
- [44] Reaven GM, Hoffman BB. **Hypertension as a disease of carbohydrate and lipoprotein metabolism.** *Am. J. Medicine* 1989, **87**: S2–S6
- [45] Schuch JB, Voigt F, Maluf SW, de Andrade FM: **Nutrigenética: a interação entre hábitos alimentares e o perfil genético individual.** *Rev. bras. Bioci.* 2010, **8**: 73-84
- [46] Masson LF, McNeill G, Avenell A: **Genetic variation and the lipid response to dietary intervention: a systematic review.** *Am J Clin Nutr* 2003; **77**: 1098–111
- [47] Ordovas JM, Lopez-Miranda J, Mata P, Perez-Jimenez F, Lichtenstein AH, Schaefer EJ: **Gene-diet interaction in determining plasma lipid response to dietary intervention.** *Atherosclerosis* 1995, **118**: S11–27
- [48] Wu K, Bowman R, Welch AA, Luben RN, Wareham N, Khaw K, et al: **Apolipoprotein E polymorphisms, dietary fat and fibre, and serum lipids: the EPIC Norfolk study.** *Europ. Heart J.* 2007, **28**: 2930-2936
- [49] Heidenreich PA, Trogon JG, Khavjou OA, et al. **Forecasting the future of cardiovascular disease in the United States: a policy statement from the American Heart Association.** *Circulation* 2011;**123**: 933- 944
- [50] Andrade RG, Pereira RA, Sichieri R. **Consumo alimentar de adolescentes com e sem sobrepeso do Município do Rio de Janeiro.** *Cad. Saúde Pública* 2003, **19**: 1485-95
-

CONCLUSÕES

Este estudo trouxe explicações que ajudaram a responder por que alguns indivíduos não respondem da mesma maneira a mudanças de comportamentos prescritos para o controle de doenças crônicas metabólicas, tais como o aumento da prática de atividade física e substituição de ácidos graxos da dieta por carboidratos⁴.

Na complexa rede de genes desses adolescentes, a presença dos SNP selecionados para este estudo, foi capaz de atuar como marcador da suscetibilidade ao desenvolvimento de fatores de risco para doenças crônicas e possivelmente DCV e, mais importante, foi visto que o efeito desses polimorfismos pode ser modulado pelo consumo de alimentos e pela prática de atividade física. Isso considerando que:

***T84C ApoA1* gene:**

- ✓ Os adolescentes que carregavam o genótipo homozigoto para o alelo T (alelo raro) apresentaram maiores concentrações de TG em relação aos adolescentes portadores do alelo C;
- ✓ Não foi verificada relação do polimorfismo *T84C ApoA1* com outras variáveis bioquímicas, pressão arterial e variáveis antropométricas;
- ✓ Os adolescentes portadores do genótipo homozigoto para o alelo T não responderam bem ao consumo de carboidrato em percentual energético do total da dieta. As concentrações de TG e HDL-C foram, respectivamente, maiores e menores nos adolescentes que consumiram maiores quantidades de carboidrato;
- ✓ Porém, os adolescentes portadores do genótipo homozigoto para o alelo T responderam melhor ao consumo de ácido graxo em percentual energético do total da dieta. A concentração de TG foi menor nos adolescentes que consumiram maiores quantidades de ácidos graxos poliinsaturados e saturados;

⁴ Todas as variáveis propostas nos objetivos do trabalho foram testadas para todos os genes, no entanto, algumas das quais não resultaram em associação não foram consideradas na redação do trabalho.

- ✓ Já os adolescentes portadores do alelo C responderam melhor ao consumo de alimentos do grupo de frutas, verduras e legumes. A concentração de HDL-C foi melhor em adolescentes que consumiam maiores quantidades desse alimento;
- ✓ Os adolescentes portadores do alelo C também se apresentaram melhor responsivos a prática de atividade física. Neste grupo quem praticava atividade física apresentava menor concentração de TG.
- ✓ Os adolescentes portadores do genótipo homozigoto para o alelo T não responderam bem a prática de atividade física. Neste grupo quem praticava atividade física apresentava maior concentração de glicemia;
- ✓ Portanto conclui-se que os adolescentes portadores do genótipo homozigoto para o alelo T mostraram maior susceptibilidade a alterações no metabolismo da glicose relacionadas à ingestão de carboidratos e atividade física.

-514CT LIPC:

- ✓ Os adolescentes que apresentaram o alelo T (alelo raro) do polimorfismo -514CT genótipo do gene *LIPC* apresentaram maior prevalência de hipertrigliceridemia, resistência à insulina e SM;
- ✓ Não foi verificado relação deste polimorfismo com as outras variáveis bioquímicas do estudo e com a pressão arterial;
- ✓ Nos adolescentes portadores do alelo T a presença de cintura de risco de risco e sobrepeso era relacionada com maior hipertrigliceridemia;
- ✓ Nesses mesmos adolescentes a presença de TG elevado foi acompanhada de valor do índice HOMA-IR também aumentado;
- ✓ Deste modo, pode-se concluir que os adolescentes portadores do alelo T apresentaram maiores fatores de risco para o desenvolvimento de SM e a adiposidade corporal aumentada influenciou negativamente o desenvolvimento desses fatores de risco.

Mutação missense do gene da ApoE:

- ✓ Os adolescentes portadores do alelo *apoE4* apresentaram maiores fatores de risco para o desenvolvimento de doenças crônicas

metabólicas, como, colesterol total e de LDL elevados, pressão arterial elevada, maior prevalência de C.C de risco;

- ✓ Não foi verificada relação deste polimorfismo com as outras variáveis bioquímicas controladas neste estudo;
- ✓ Os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* apresentaram-se mais responsivos ao consumo de ácidos graxos na dieta, sendo verificado:
 1. Concentração de colesterol total e de LDL mais baixo em indivíduos que consumiam maiores quantidades de ácido graxo poliinsaturado e saturado em percentual energético do total da dieta;
 2. Percentil de pressão arterial mais baixo em indivíduos que consumiam maiores quantidades de: ácido graxo total e saturado em percentual energético do total da dieta e alimentos do grupo de alimentos gordurosos;
- ✓ Os adolescentes portadores do alelo *ApoE4* apresentaram-se mal adaptados ao consumo de carboidrato, em relação a modificação da pressão arterial;
- ✓ Os adolescentes portadores do alelo *ApoE2* apresentaram-se melhor adaptados ao consumo de carboidrato, em relação a modificação da pressão arterial;
- ✓ Portanto, pode-se concluir que o tratamento dietético para melhora da dislipidemia e hipertensão não deve ser realizado de forma generalizada nos adolescentes. Uma vez que a presença da *mutação missense* modifica a forma com que o organismo irá reagir ao consumo de alimentos.

Como consideração final, defendemos que um tratamento direcionado segundo o perfil genético do adolescente pode ser mais eficiente na prevenção de doenças metabólicas na vida adulta.

APÊNDICE 1

Nº DO QUEST

QUESTIONÁRIO E – QUESTIONÁRIO DE FREQUÊNCIA ALIMENTAR SIMPLIFICADO PARA ADOLESCENTES (QFASA)

INÍCIO DO QUESTIONÁRIO

[]	1. DATA DE REALIZAÇÃO DA ENTREVISTA: _____ / _____ / _____
[]	2. NOME DO PESQUISADOR:
[]	3. NOME DA ESCOLA:
[]	4. NOME DO ALUNO:
[]	5. QUAL SÉRIE VOCÊ ESTÁ?
[]	6. QUAL PERÍODO VOCÊ ESTUDA? [1] MANHÃ [2] TARDE
[]	7. QUAL A DATA DO TEU NASCIMENTO? _____ / _____ / _____
[]	8. QUAL O TEU SEXO? [1] MASCULINO [2] FEMININO

9. QUANTAS VEZES VOCÊ COMEU ESTES ALIMENTOS NOS ÚLTIMOS 3 MESES? (ASSINALE COM X A QUANTIDADE DE ALIMENTO QUE O ALUNO CONSUMIU HABITUALMENTE NOS ÚLTIMOS 3 MESES) .

Alimento	Quantidade	FREQÜÊNCIA DE CONSUMO						
		Nunca	Menos de 1 X mês	1 a 3 X mês	1 X por semana	2 a 4 X semana	1 X dia	2 ou mais X dia
9.1. Batatinha tipo chips ou salgadinho	1 ½ pacote médio chips/ 1¼ pacote							
9.2. Guloseimas (balas, chicletes, paçoca, chocolate, brigadeiro, pudim...)	9 balas/ 1½ tablete pequeno/ 3 brigadeiros/ ½ fatia pequena							
9.3. sorvete de frutas	1½ picolé							
9.4. açúcar	2 colheres de sopa rasas							
9.5. bolo simples/ bolo industrializado	2 fatias médias							
9.6. Achocolatado em Pó	2 a 3 colheres de sopa rasas							
9.7. geléia/ glucose de milho/ doces em calda / doces caseiros/ doces em pasta ou em barra	2 colheres de sobremesa cheias/ 1 fatia média							
9.8. Sorvete de massa	3 bolas média							
9.9. Hot dog simples -	1 unidade							

pão, salsicha, molho de tomate e batata palha (ou vinagrete e ketchup ou mostarda ou maionese em substituição a 10g de batata palha)								
9.10. Salgados fritos (incluindo massa de pastel e torta de maçã frita)	1 pastel/ 2 coxinhas/ 2 quibes/ 4 bolinhas de queijo/ 1½ unidade de torta de maçã							
9.11. Salgados assados (enrolado de presunto e queijo, pão de queijo, pão de batata)	1 unidade grande/ 2 pães de queijo médios							
9.12. Pizza	2 fatias médias							
9.13. Tortas salgadas com recheio (frango/ carne seca, presunto e queijo)	2½ pedaços							
9.14. Salada de legumes com maionese	2 colheres de sopa cheias							
9.15. Esfiha de frango / frango com catupiry/ carne/ mussarela	1 unidade							

9.16. Sanduíches tipo fast food (Cheeseburg uer salad bacon/ X - Salada/ Cheeseburgu er/ cheesefrang o/ X-Egg/)	1 unidade							
9.17. iogurte de frutas	1½ pote							
9.18. queijos gordurosos	2 fatias							
9.19. Leite Integral	1½ copo de requeijão/ 1½ caneca/ 2 xícaras de chá							
9.20. Requeijão tradicional	1 colher de sopa cheia							
9.21. Margarina	4 pontas de faca/ 1 colher de sopa rasa							
9.22. maionese/ patê de frango/ patê de atum	1 colher de sobremesa cheia							
9.23. azeite/ óleo	1 colher de sobremesa							
9.24. Arroz	1 prato fundo cheio/ 4 a 5 colheres de servir cheias							
9.25. Macarrão ao sugo/ alho e óleo/ miojo	1 prato fundo raso/ 2½ pegadores/ 1 unidade							
9.26. Batata	1 unidade pequena/ 2 a 3 colheres de sopa cheia							

cozida								
9.27. Milho	3 colheres de sopa cheias							
9.28. Batata frita/ mandioca frita/ polenta frita	5 colheres de sopa cheias/ 2 escumadeiras médias cheias							
9.29. Lasanha de presunto e queijo/ ravioli/ capeleti/ canelone de presunto de queijo)	2 escumadeiras médias cheias/ 4 escumadeiras médias cheias de ravioli/ 1 prato raso de capeleti/ 5 unidades de canelone							
9.30. Risoto de frango (arroz, frango, molho de tomate e ervilha) ou peixe	2½ escumadeiras médias cheias							
9.31. Macarrão a bolonhesa/ macarrão com frango e molho	1 prato fundo/ 2½ pegadores							
9.32. biscoitos sem recheio	9 unidades							
	1½ unidade/ 3 fatias							

9.33. Pães								
9.34. biscoitos com recheio	8 unidades/ 16 tipo wafer							
	4 a 5 fatias médias							
9.35. Tomate								
9.36. Abóbora cozida/ Cenoura crua/ Cenoura cozida	3 colheres de sopa rasas/ 4 colheres de sopa cheias (crua)							
	3 folhas grandes							
9.37. Alface								
9.38. Beterraba crua e cozida	2 colheres de sopa cheias/ 3 colheres de sopa (crua)							
	4 colheres de sopa cheias							
9.39. Chuchu								
9.40. Brócolis	1 prato de sobremesa cheio/ 4 ramos grandes							
	1 unidade média							
9.41 maçã								
9.42 manga, mamão	2 unidades pequenas/ 1 fatia pequena							
	1 unidade grande							
9.43 laranja, tangerina								
9.44. morango, abacaxi	10 unidades médias/ 1 fatia grande							
9.45 Banana	2 unidades médias							
	3 conchas médias rasas							
9.46. Feijão								
	1 bife pequeno/ 2 fatias (assado)							

9.47 Carne de porco/ bovina frita								
9.48. Embutidos (presunto, mortadela, salame)	3 fatias/ 8 fatias salame							
9.49 Frango/ peixe frito	1 filé médio							
9.50. Frango/ peixe grelhado ou assado ou cozido	1 filé pequeno/ 2 pedaços médios/ 2 coxas/ 1 sobrecoxa grande							
9.51 Carne de porco/ bovina grelhada ou assada ou cozida	1½ bife pequeno/ 5 colheres de sopa/ 4 cubos/ 1 fatia grande							
9.52. ovo frito/ omelete/ mexido	1½ unidade/ 1 omelete pequeno/ 5 colheres de sopa rasas							
9.53 Lingüiça frita/ salsicha	2 unidades							
9.54. Refrigerante tradicional	2 copos de requeijão							
9.55 Refrescos naturais com açúcar (limonada, laranjada, suco de maracujá)	½ copo de requeijão							
9.56. sucos artificiais com açúcar (pré-adoçado)	2 copos de requeijão							
9.57 Suco industrializado com açúcar (caixinha)	1 copo americano							
9.58. sucos naturais puros sem adição açúcar (incluindo com adoçante)	2 copos de requeijão							

10. Você costuma adicionar sal à comida já preparada para comer

[1] Não

[2] Sim

[9] Não sei

11. Você costuma comer a gordura visível da carne e/ou a pele do frango?

[1] Não

[2] Sim

[9] Não sei

12. Quem prepara a sua comida?

Digitar: _____

APÊNDICE 2

QUESTIONÁRIO F – AVALIAÇÃO DA ATIVIDADE FÍSICA

INÍCIO DO QUESTIONÁRIO

[]	1. DATA DE REALIZAÇÃO DA ENTREVISTA: ____/____/____
[]	2. NOME DO PESQUISADOR: _____
[]	3. VOCÊ PRÁTICA OU PRATICOU ESPORTE OU EXERCÍCIO FÍSICO EM CLUBES, ACADEMIAS, ESCOLAS DE ESPORTES, PARQUES, RUAS OU EM CASA NOS ÚLTIMOS 12 MESES? [1] Não ⇒ <i>passar para questão 7</i> [2] Sim [9] NS/NR ⇒ <i>passar para questão 7</i>
	4. QUAL(IS) ESPORTE(S) OU EXERCÍCIO(S) FÍSICO(S) VOCÊ PRÁTICA OU PRATICOU NOS ÚLTIMOS 12 MESES?

4.1 MODALIDADE	4.2 TEMPO POR DIA	4.3 VEZES POR SEMANA	4.4 QUANTOS MESES
4.1.1 FUTEBOL DE CAMPO	[:]	[]	[]
4.1.2 FUTEBOL DE SALÃO	[:]	[]	[]
4.1.3 NATAÇÃO	[:]	[]	[]
4.1.4 VOLEIBOL	[:]	[]	[]
4.1.5 HANDEBOL	[:]	[]	[]
4.1.6 BASQUETEBOL	[:]	[]	[]
4.1.7 ARTES MARCIAIS (judô, karate, outros)	[:]	[]	[]
4.1.8 DANÇA (ballet, jazz, outras)	[:]	[]	[]
4.1.9 TÊNIS	[:]	[]	[]
4.1.10 TÊNIS DE MESA (ou ping-pong)	[:]	[]	[]
4.1.11 CAMINHADA POR LAZER	[:]	[]	[]
4.1.12 TREINO COM PESOS	[:]	[]	[]
4.1.13 GINÁSTICA (GERAL)	[:]	[]	[]
4.1.14 QUEIMADA	[:]	[]	[]
4.1.15 CANOAGEM	[:]	[]	[]
4.1.16 SKATE	[:]	[]	[]
4.1.17 OUTRA ATIVIDADE: <i>Digitar</i> _____	[:]	[]	[]
4.1.18 OUTRA ATIVIDADE: <i>Digitar</i> _____	[:]	[]	[]

	questão 14
[]	QUANTO TEMPO POR DIA VOCÊ GASTA NESSAS ATIVIDADES?
[]	QUANTO TEMPO POR DIA VOCÊ COSTUMA JOGAR VÍDEO-GAME? <i>Digitar</i> _____:
[]	QUANTAS VEZES POR SEMANA VOCÊ COSTUMA JOGAR VÍDEO-GAME? <i>Digitar</i> _____
[]	VOCÊ COSTUMA USAR O COMPUTADOR? [1] Não [2] Sim [9] NS/NR
[]	QUANTO TEMPO POR DIA VOCÊ COSTUMA USAR O COMPUTADOR? <i>Digitar</i> _____:
[]	QUANTAS VEZES POR SEMANA VOCÊ COSTUMA USAR O COMPUTADOR? <i>Digitar</i> _____

AGRADEÇA E ENCERRE A ENTREVISTA
AVALIAÇÃO DO ENTREVISTADOR – A ser preenchido pela setor de codificação, crítica e consistência

Freq.	Tipo de erro	Freq.	Tipo de erro	Freq.	Tipo de erro
[]	Não codificou	[]	Ultrapassar o número máximo de opções	[]	Não fez questão dependente
[]	Codificou errado	[]	Respostas vagas	[]	Fez questão dependente indevidamente
[]	Questões em branco	[]	Letra/número ilegível	[]	Erro de consistência

**COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA – COEP/FSP**

Universidade de São Paulo
Faculdade de Saúde Pública

Of.COEP/ 240 /07

Protocolo 1633

Projeto de Pesquisa FATORES DETERMINANTES DO RISCO DE OBESIDADE EM ADOLESCENTES DE ESCOLAS PÚBLICAS DE PIRACICABA

Pesquisador(a) Betzabeth Slater Villar

12 de NOVEMBRO de 2007,

Prezado(a) Orientador(a),

O Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo - COEP **HOMOLOGOU**, em sua 9.ª/07 Sessão Ordinária, realizada em 09/11/2007, de acordo com os requisitos da Resolução CNS/196/96 e suas complementares, o **protocolo** de pesquisa acima intitulado.

Atenciosamente,

Claudio Leone
Professor Associado**Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa – FSP/COEP**

Ilm^{as}, Sr.^{as}
Prof.^{as} Dr.^{as} **BETZABETH SLATER VILLAR**
DEPARTAMENTO DE NUTRIÇÃO