

Recebido em 22/02/10.
Galdino

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Estudo de Fatores de Risco Genéticos que Predispõem à Aterosclerose em
Quatro Comunidades Afro-Brasileiras de Mato Grosso do Sul

Tatsuya Sakuma

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Mário H. Hirata

São Paulo
2001

16.832

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FACULDADE DE CIÊNCIAS FARMACÊUTICAS
Programa de Pós-Graduação em Farmácia
Área de Análises Clínicas

Estudo de Fatores de Risco Genéticos que Predispõem à Aterosclerose em
Quatro Comunidades Afro-Brasileiras de Mato Grosso do Sul

Tatsuya Sakuma

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR

Orientador:
Prof. Dr. Mário H. Hirata

São Paulo
2001

16.832

DEDALUS - Acervo - CQ



30100003902

Ficha Catalográfica

Elaborada pela Divisão de Biblioteca e
Documentação do Conjunto das Químicas da USP.

Sakuma, Tatsuya
S158e Estudo de fatores de risco genéticos que predisõem à
aterosclerose em quatro comunidades afro-brasileiras de Mato
Grosso do Sul / Tatsuya Sakuma. -- São Paulo, 2001.
131p.

Tese (doutorado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas
da Universidade de São Paulo. Departamento de Análises
Clínicas e Toxicológicas.

Orientador : Hirata, Mário Hiroyuki

1. Análise clínica : Medicina 2. Bioquímica clínica :
Medicina I. T. II. Hirata, Mário Hiroyuki, orientador.

616.0756-9 CDD

BIBLIOTECA
Faculdade de Ciências Farmacêuticas
Universidade de São Paulo

Tatsuya Sakuma

Estudo de Fatores de Risco Genéticos que Predispõem à Aterosclerose em
Quatro Comunidades Afro-Brasileiras de Mato Grosso do Sul

Comissão Julgadora

Tese para obtenção do grau de
DOUTOR


Prof. Dr. Mário Hiroyuki Hirata
Orientador/Presidente

Profa. Dra. Neusa Assumpta Forti
1º Examinador

Prof. Dr. José Ernesto dos Santos
2º Examinador

Prof. Dr. Osmar Monte
3º Examinador

Prof. Dr. Rui Curi
4º Examinador

São Paulo, 25 de abril de 2001

Aos meus pais,
pelo carinho, exemplo e extrema dedicação na minha formação.

À minha esposa, Erci, e aos filhos, Tatiana, Thais e Hebert,
pela alegria que me proporcionam diariamente.

A Deus, pela bondade e privilégio de poder participar desse convívio diário.

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Titular Jorge Mancini Filho, Diretor da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da USP.

À Prof^a Assoc. Dulcineia S. P. Abdalla, chefe do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da USP, pelo desempenho, melhoria na qualidade do ensino e oportunidade de aprimoramento científico.

À Prof^a Dra. Primavera Borelli, coordenadora do Programa de Pós-graduação em Farmácia, área de Análises Clínicas, da USP, pelo empenho na melhoria do programa de pós-graduação.

Aos professores e funcionários do Departamento de Análises Clínicas e Toxicológicas da USP pela acolhida, amizade e eterna gratidão pela minha formação científica

Aos colegas, funcionários e alunos do Departamento de Farmácia e Bioquímica da UFMS, pelo incentivo e oportunidade de concluir este trabalho.

Ao Prof. Assoc. Mário H. Hirata, pela orientação e contribuição na minha formação científica.

À Prof^a Dra. Rosário D. C. Hirata, pela amizade, acolhida, assessoria científica e revisão deste trabalho.

À Fernanda Pimentel, pelo apoio técnico na elaboração deste trabalho.

Ao Luis Antonio Salazar Navarrete, pela revisão deste trabalho

À Benedita Espírito Santo de Oliveira, Elaine Midori Ychico e Jorge Alves de Lima que nunca mediram esforços para atender às minhas necessidades.

À equipe do Laboratório Biomol, Regina De Sordi, Adriana Natsue Ozaki, Walter Yukio Hirata, Shirlei da Silva Oliveira e Alberto Wagner Delmondes Cabral, pelo valioso apoio técnico na metodologia molecular deste trabalho.

À equipe do Laboratório Bioclinico, pelo apoio técnico na determinação dos analitos bioquímicos e pela preciosa contribuição na elaboração deste trabalho.

À Anezia Higa Ávalos, Maria Aparecida Rogado Brum, Lucília Peres Maia de Barros, Regina Rocha de Lima e Liliane de Souza Papa Martins pelo companheirismo e inestimável contribuição na colheita do material biológico nas comunidades estudadas.

A CNpq, pela bolsa concedida para conclusão deste trabalho.

Aos Drs Luís Alberto Ovando e Jussara T. Hokama, pelo estudo clínico, pelo exame ecocardiográfico e orientação terapêutica.

A todos os membros dessas comunidades que foram solidários na cessão de materiais biológicos para que fosse possível a realização desta pesquisa.

À Maria Antonia dos Santos pela preciosa colaboração na organização e acompanhamento na colheita do material nas Furnas do Dionísio, assim como ao Sr. Michel na comunidade São Benedito.

Ao Ricardo Paulo Novais, pelo brilhante trabalho de revisão de português.

À Creusa Dal Bó, pela contribuição na análise estatística deste trabalho.

Finalmente, a todos que me ajudaram de alguma forma ou que participaram em algum momento dessa etapa tão importante da minha vida profissional, o meu profundo reconhecimento e eterna gratidão.

"MESTRE NÃO É QUEM SEMPRE ENSINA, MAS QUEM DE REPENTE
APRENDE."

João Guimarães Rosa

SUMÁRIO

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Lista de Abreviaturas

1	Introdução	1
1.1	Generalidades	1
1.2	Possíveis Mecanismos da Aterogênese	5
1.3	Fatores de Risco de Doença Arterial Coronariana (DAC)	12
1.3.1	Hipercolesterolemia	12
1.3.2	Polimorfismo do Gene da Apolipoproteína B	16
1.3.3	Polimorfismo do Gene da Apolipoproteína E	19
1.3.4	Hipertensão Arterial	22
1.3.5	Polimorfismo da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA)	26
2.	Objetivos	31
3.	Materiais e Métodos	32
3.1	Casuística	32
3.1.1	Grupos de Estudo	32
3.1.2	Critérios de Exclusão	33
3.1.3	Características do Grupo de Estudo	33
3.2	Materiais	35
3.2.1	Amostras Biológicas	35
3.2.2	Reagentes	35

3.3	Métodos	36
3.3.1	Determinações Bioquímicas	36
3.3.2	Determinação de Pressão Arterial	39
3.3.3	Obtenção do DNA Genômico das Células do Sangue Periférico	40
3.3.4	Procedimento para Amplificação da Região Polimórfica de DNA, Protocolo Básico	41
3.3.5	Determinação do Polimorfismo Inserção/Deleção (I/D) do Gene da ECA	41
3.3.6	Determinação do Polimorfismo do Gene da apo E	42
3.3.7	Determinação do Polimorfismo I/D no Peptídeo Sinalizador do Gene da apo B	43
3.3.8	Obtenção do Peso e Altura	44
3.3.9	Análise Estatística	45
4.	Resultados	46
4.1	Análise do Polimorfismo de Inserção/Deleção (I/D) do Gene da ECA	53
4.2	Análise do Polimorfismo do Gene da apo E	74
4.3	Análise do Polimorfismo I/D na Seqüência Codificadora do Peptídeo Sinalizador da apo B	78
5.	Discussão	82
6.	Conclusões	93
	Referências Bibliográficas	94
	Resumo	120
	<i>Abstract</i>	121
	Anexos	122

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Evolução natural da aterosclerose	2
Figura 2. Hipótese das múltiplas funções da LDL oxidada na aterogênese	8
Figura 3. Fatores que levam à disfunção e ativação endotelial	9
Figura 4. Evolução das lesões ateroscleróticas	11
Figura 5. Gráfico ilustrando a distribuição percentual dos indivíduos afro-brasileiros hipertensos e normotensos dos diversos grupos estudados (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte)	48
Figura 6. Gráfico representando a relação entre o índice de massa corpórea (grupos com IMC < 25 kg/m ² e ≥ 25kg/m ²) e a pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros das Quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte)	50
Figura 7. Gráfico representando a influência da idade (faixa etária de 20 a 40 anos, 41 a 60 anos e acima de 40 anos) sobre pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte)	52
Figura 8. Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo mostrando os genótipos do polimorfismo da ECA	53
Figura 9. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros da comunidade Furnas do Dionísio	56
Figura 10. Gráfico representando a associação do polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina com hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte)	58
Figura 11. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com IMC < 25 kg/m ² das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa	61

Sorte)

Figura 12. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com IMC ≥ 25 kg/m² das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte) 62

Figura 13. Gráfico representando a associação do polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina com hipertensão nas mulheres afro-brasileiras das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte) 65

Figura 14. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos homens afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte) 66

Figura 15. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros de 20 a 40 anos das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte) 72

Figura 16. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros acima de 40 anos de idade das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte) 73

Figura 17. Fotografia do gel de poliacrilamida a 15% mostrando os genótipos do polimorfismo da apo E 74

Figura 18. Gráfico representando o efeito do polimorfismo do gene da apolipoproteína E sobre as concentrações de lipídeos séricos dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte) 77

Figura 19. Fotografia do gel de poliacrilamida a 10%, corado com sais de prata, mostrando os genótipos do polimorfismo I/D da apo B 78

Figura 20. Efeito do polimorfismo I/D no peptídeo sinalizador do gene da apo B sobre os parâmetros lipídicos dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte)

81

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1. Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul que constituíram o grupo de estudo	34
Tabela 2. Distribuição percentual do número de indivíduos afro-brasileiros normotensos e hipertensos de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito)	47
Tabela 3. Efeito do Índice de Massa Corpórea (IMC) na pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros de Quatro comunidades de Mato Grosso do Sul	49
Tabela 4. Influência da idade na pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito)	51
Tabela 5. Frequência dos alelos do polimorfismo de inserção/deleção do gene da ECA nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito)	54
Tabela 6. Associação dos alelos do polimorfismo de inserção/deleção do gene da ECA e a frequência de hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros da comunidade Furnas do Dionísio em Mato Grosso do Sul	55
Tabela 7. Associação do polimorfismo I/D do gene da ECA com a frequência de hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Furnas do Dionísio, Boa Sorte, Limão e São Benedito)	57
Tabela 8. Associação entre o polimorfismo I/D do gene da ECA e	

- hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com IMC abaixo de 25 kg/m² das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito) 59
- Tabela 9.** Associação entre o polimorfismo I/D do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com IMC \geq 25 kg/m² das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito) 60
- Tabela 10.** Associação do polimorfismo do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros do Sexo feminino de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Limão, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e São Benedito) 63
- Tabela 11.** Associação do polimorfismo do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Limão, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e São Benedito). 64
- Tabela 12.** Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA na PAD nos indivíduos afro-brasileiros do sexo feminino das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, São Benedito e Furnas do Dionísio) 67
- Tabela 13.** Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA na PAS dos indivíduos afro-brasileiros do sexo feminino das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito) 68
- Tabela 14.** Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA na PAD dos indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Limão, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e São Benedito) 68
- Tabela 15.** Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA

na PAS dos indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, São Benedito e Furnas do Dionísio)	69
Tabela 16. Associação entre os alelos do polimorfismo do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com faixa etária de 20 a 40 anos das Quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Furnas do Dionísio, Limão e Boa Sorte)	70
Tabela 17. Associação entre o polimorfismo do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com faixa etária acima de 40 anos das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte)	71
Tabela 18. Frequência de alelos do polimorfismo <i>HhaI</i> do gene da apo E nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte)	75
Tabela 19. Efeito dos alelos do polimorfismo <i>HhaI</i> do gene da apo E sobre as concentrações de lipídeos séricos dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e Limão).	76
Tabela 20. Frequência de alelos do polimorfismo I/D na seqüência codificadora do peptídeo sinalizador da apo B nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito).	79
Tabela 21. Influência do polimorfismo I/D na seqüência codificadora do peptídeo sinalizador da apo B sobre os parâmetros lipídicos nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito).	80

LISTA DE ABREVIATURAS

AGE	Produtos Finais da Glicação Avançada
apo B	Apolipoproteína B
apo E	Apolipoproteína E
AVC	Acidente Vascular Cerebral
bp	Pares de Bases
cDNA	Ácido Desoxirribonucléico Complementar
CML	Células do Músculo Liso
CREAT	Creatinina
CT	Colesterol Total
DAC	Doença Arterial Coronária
DNA	Ácido Desoxirribonucléico
DP	Desvio-Padrão
ECA	Enzima Conversora de Angiotensina
EDTA	Ácido Etilenodiaminotetracético
GLI	Glicose
HDL	Lipoproteína de Alta Densidade
HDL-C	Colesterol da Lipoproteína de Alta Densidade
HF	Hipercolesterolemia Familiar
HFC	Hiperlipidemia Familiar Combinada
IAM	Infarto Agudo do Miocárdio
IDL	Lipoproteína de Densidade Intermediária
IMC	Índice de Massa Corpórea
kb	Kilobase
kDa	KiloDalton
LDL	Lipoproteína de Baixa Densidade
LDL-C	Colesterol da Lipoproteína de Baixa Densidade

Lp (a)	Lipoproteína (a)
MMPs	Metaloproteinases de Matriz
mRNA	Ácido Ribonucléico Mensageiro
NCEP	National Cholesterol Education Program
PCR	Reação em Cadeia pela Polimerase
RFLP	Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição
RLDL	Receptores de Lipoproteína de Baixa Densidade
RNA	Ácido Ribonucléico
ROS	Espécies de Oxigênio Reativo
TG	Triacilgliceróis
V	Volt
VCAM-1	Molécula de Adesão da Célula Vascular
VLDL	Lipoproteína de Muito Baixa Densidade
VLDL-C	Colesterol da VLDL

1. INTRODUÇÃO

1.1 Generalidades

A doença arterial coronária (DAC) é o tipo mais comum de comprometimento cardiovascular e principal causa de morte nos países ocidentais. Estima-se que, nos Estados Unidos da América, 50% das mortes de adultos a cada ano são causadas por DAC, que se manifesta geralmente em homens de meia-idade. Cerca de 45% de todos os ataques cardíacos ocorrem em indivíduos com idade inferior a 65 anos. Dados mais recentes mostram que nos EUA ocorrem 500 mil mortes e cerca de 750.000 pacientes são hospitalizados em decorrência de doença arterial coronária, causando um gasto anual estimado em 43 bilhões de dólares em assistência médica, hospitalar e em pesquisa científica (AMERICAN HEART ASSOCIATION, 1996). Segundo as pesquisas do Ministério da Saúde do Brasil, em 1993, as doenças do aparelho circulatório foram responsáveis por 34% de todos os óbitos (BRASIL. Ministério da Saúde, 1993).

A DAC é quase sempre o resultante da aterosclerose que se inicia primariamente pelo acúmulo de lipídeos nas paredes das artérias coronárias, levando à formação de tecido fibroso na parede vascular. Esse processo inicia-se na infância e tem progressão lenta e silenciosa (**Figura 1**), levando décadas para apresentar manifestações clínicas (McGILL, 1988).

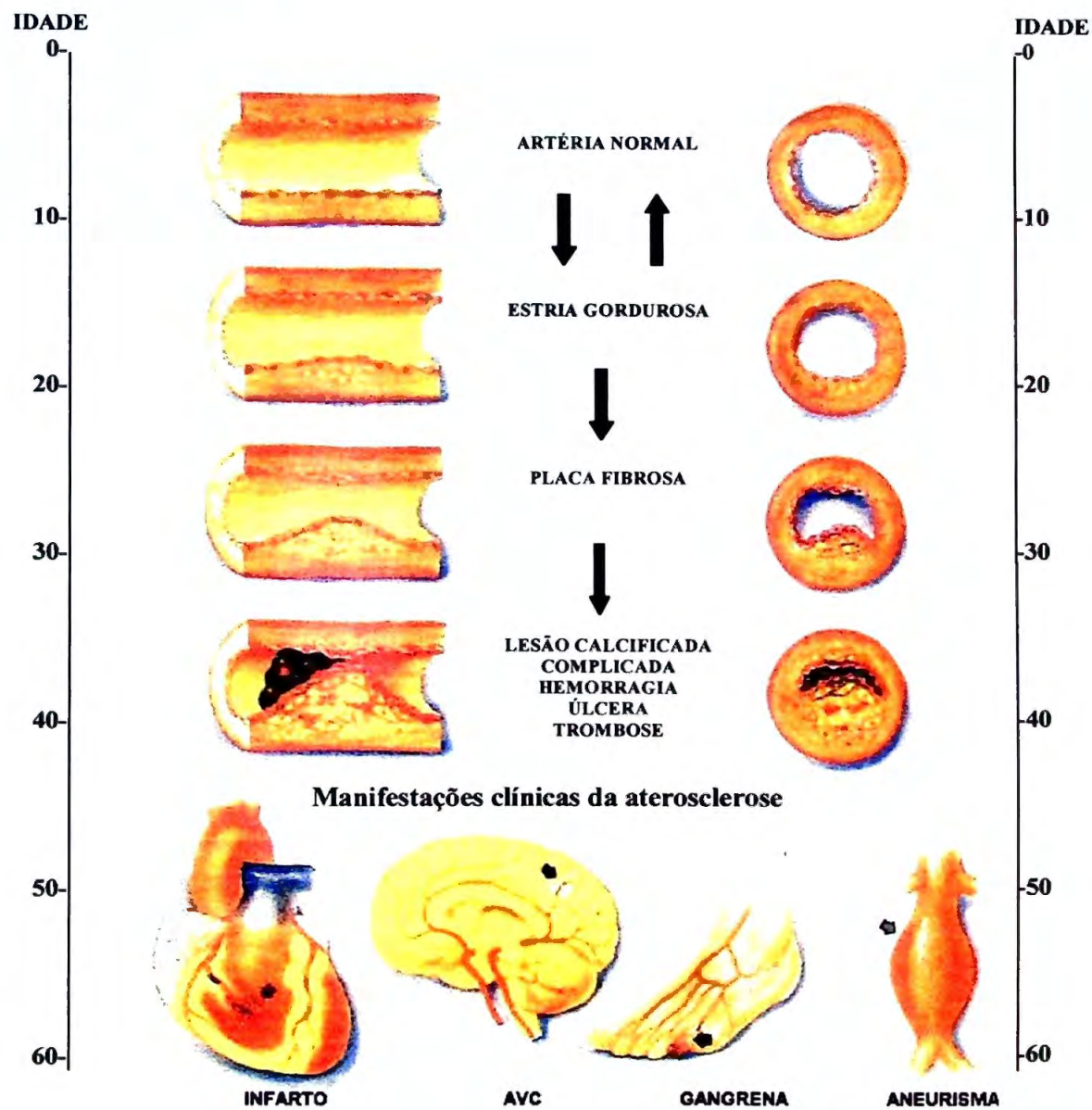


Figura 1. Evolução Natural da Aterosclerose. Adaptado de McGill (1988).

O período no qual a aterogênese se inicia varia com as diferentes artérias. Lesões são encontradas na aorta na primeira década da vida, nas artérias coronárias na segunda década, e na artéria cerebral na terceira e quarta década. Geralmente, as manifestações clínicas da doença arterial coronária e da doença vascular periférica ocorrem antes da quinta década e o acidente vascular cerebral, uma década depois ou mais (McGILL, 1988).

A concentração sérica elevada de lipoproteína de baixa densidade (LDL), principal transportador do colesterol, é o fator mais importante na precocidade da aterogênese (NEWMAN *et al.*, 1986). A associação da hipercolesterolemia com os demais fatores de risco ambientais pode agravar significativamente o processo aterosclerótico. Sabe-se que as associações dos diversos fatores de risco antecipam as manifestações clínicas em duas a três décadas em média (NAITO, 1996).

Sabe-se também que em 50% dos casos de doença arterial coronária ocorre o envolvimento de pelo menos um componente genético, que pode ser potencializado por outros fatores de risco como ingestão excessiva de colesterol e gordura saturada, hipertensão arterial sistêmica, tabagismo, diabetes melito, estresse psicológico, obesidade e ingestão excessiva de sal (RIFAI, 1993).

Os estudos epidemiológicos revelam que as mulheres após a menopausa e os indivíduos do sexo masculino apresentam maior risco para a doença aterosclerótica (ANDERSON *et al.*, 1987; CARAMELLI, 1995). Dados do estudo de Framingham, realizado em 1987, com um acompanhamento de 12 anos, indicam que o risco de DAC aumenta subitamente quando há associação dos fatores de risco (KANNELL *et al.*, 1987). Num importante estudo epidemiológico internacional envolvendo 17

países, realizado na década de 60, durante 10 anos, quando participaram quase 130.000 homens da faixa etária de 40 a 59 anos da Finlândia, Grécia, Itália, Japão, Suíça, Estados Unidos da América e da ex-Iugoslávia, verificou-se que a taxa de mortalidade por DAC foi mais alta na Finlândia e nos Estados Unidos da América onde a dieta é mais rica em colesterol e gordura saturada. Por outro lado, no Japão e nos países do Mediterrâneo, onde a dieta é mais pobre em colesterol e gordura saturada, observou-se que a taxa de mortalidade por DAC é mais baixa (STAMLER, 1973).

De acordo com os dados da Organização Mundial de Saúde, a taxa de mortalidade por DAC está mudando em diferentes partes do mundo. Nos Estados Unidos da América, Canadá, Austrália e Nova Zelândia, a taxa de mortalidade foi reduzida em quase 50% nas últimas décadas (KANE, 1990). Este declínio na taxa de mortalidade pode ser ocorrido graças a um intenso programa na mudança do estilo de vida, ou seja, redução da dieta rica em colesterol, prática de exercício físico e desestímulo ao tabagismo. Entretanto, a taxa de mortalidade está aumentando em outros países como: Singapura, Hungria, Bulgária, antiga Checoslováquia, antiga União Soviética, antiga República Democrática Alemã e alguns países em desenvolvimento da África. A causa desse aumento de mortalidade ainda não está esclarecida, mas em alguns países pode ser atribuída à adoção de estilo de vida e hábitos alimentares ocidentais.

Nosso país, ao mergulhar numa profunda crise financeira, trouxe mais um agravante, o estresse psicológico, que está se tornando um importante fator de risco para doenças cardiovasculares em nosso cotidiano.

Uma vez que não temos ainda uma maneira para o controle ou cura do componente genético que leva à aterosclerose precoce, a manipulação da dieta, bem como a conscientização e uma mudança para o estilo de vida mais saudável, é o meio mais eficaz na prevenção de doenças ateroscleróticas.

1.2 Possíveis Mecanismos da Aterogênese

A parede arterial consiste de três camadas. A íntima – a parte interna do vaso – está associada à média pela lâmina elástica interna e é o local onde se formam as lesões ateroscleróticas. A camada mais externa é a adventícia. A camada média, composta de células de músculo liso, é a parede muscular da artéria. As células do músculo liso que proliferam na camada íntima para formar as lesões ateroscleróticas avançadas originam-se da camada média. A proliferação das células do músculo liso é acompanhada por síntese de elastina celular, colágeno e proteoglicanos que são depositados na parte extracelular nas placas ateroscleróticas em desenvolvimento.

Vários estudos em patologia experimental e em biologia celular (CUSHING *et al.*, 1990) têm demonstrado que a LDL modificada por oxidação desempenha um papel importante na formação da lesão aterosclerótica.

A lesão no endotélio arterial causada por fatores mecânicos, químicos, tóxicos, imunológicos ou infecciosos facilita a infiltração de partículas de LDL circulante no espaço subendotelial em que são discretamente modificadas. A LDL discretamente modificada pode induzir o endotélio a produzir proteína quimiotática de monócitos e fator estimulante de colônia de macrófagos, resultando na ligação de monócitos ao endotélio e sua migração para o espaço subendotelial, em que o fator estimulante de colônia de macrófagos os diferencia em macrófagos de tecidos. Posteriormente, pelos mecanismos que envolvem espécies de oxigênio reativo, os macrófagos modificam a LDL discretamente modificada em uma forma mais oxidada. Na seqüência, a LDL modificada por oxidação pode ser

captada pelos receptores de LDL dos macrófagos derivados de monócitos. A seguir, os macrófagos degradam a LDL modificada e se transformam em células espumosas com acúmulo de colesterol (**Figura 2**). Essas células ativadas podem produzir fatores de crescimento para atrair a migração de células do músculo liso e fibroblastos na íntima para proliferação posterior. As plaquetas estão envolvidas nesse processo aterosclerótico na formação de trombos (STEMBERG *et al.*, 1989).

O endotélio vascular controla a função do músculo liso vascular. Nesse processo, há o efeito vasodilatador do óxido nítrico (SELWYN *et al.*, 1997). Geralmente, a artéria permanece em um estado de relaxamento dinâmico, mediado também por prostaciclina e acetilcolina. A permeabilidade da parede arterial pode desempenhar um papel importante na aterosclerose (NIELSEN, 1996). Há várias evidências de que a redução na síntese de óxido nítrico, e/ou na liberação e/ou na sua atividade, é importante fator para o desenvolvimento de aterosclerose e síndrome coronariana aguda (GIMBRONE, 1995; CAYATTE *et al.*, 1994). A falta de óxido nítrico nos vasos ateroscleróticos contribui para prejudicar o relaxamento vascular (TANNER *et al.*, 1991), induz agregação plaquetária (RADOOMSKI *et al.*, 1990), aumenta a proliferação de músculo liso vascular (GARG & HASSID, 1989) e favorece a adesão de leucócitos ao endotélio (GAUTHIER, 1994; KUBES, 1991). Além da disfunção endotelial, outra característica dos vasos ateroscleróticos é a ativação das células endoteliais (CYBULSKY & GIMBRONE, 1991). O endotélio ativado expressa moléculas de adesão de superfície celular tais como: molécula de adesão de célula vascular (VCAM-1), molécula de adesão intercelular-1 e molécula de adesão de leucócitos endoteliais (Selectina E), que facilitam a aderência de leucócitos circulantes no endotélio vascular (BEVILACQUA, 1993). Adesão de monócitos à parede vascular e sua diferenciação subsequente em macrófagos são os eventos importantes que levam ao aparecimento de células espumosas nas placas ateroscleróticas (LIBBY, 1993). Citocina, lipoproteínas de baixa densidade oxidada (ox-LDL) e agentes infecciosos como citomegalovírus e *Chlamydia*

pneumoniae promovem oxidação de componentes vasculares e inflamação que levam à ativação das células endoteliais (LIBBY, 1990). Dessa maneira, a disfunção e a ativação endotelial por fatores de risco ateroscleróticos e inflamação dos vasos são a base para o desenvolvimento das lesões ateroscleróticas e síndrome coronária aguda (LIAO, 1998) (**Figura 3 e Quadro 1**).

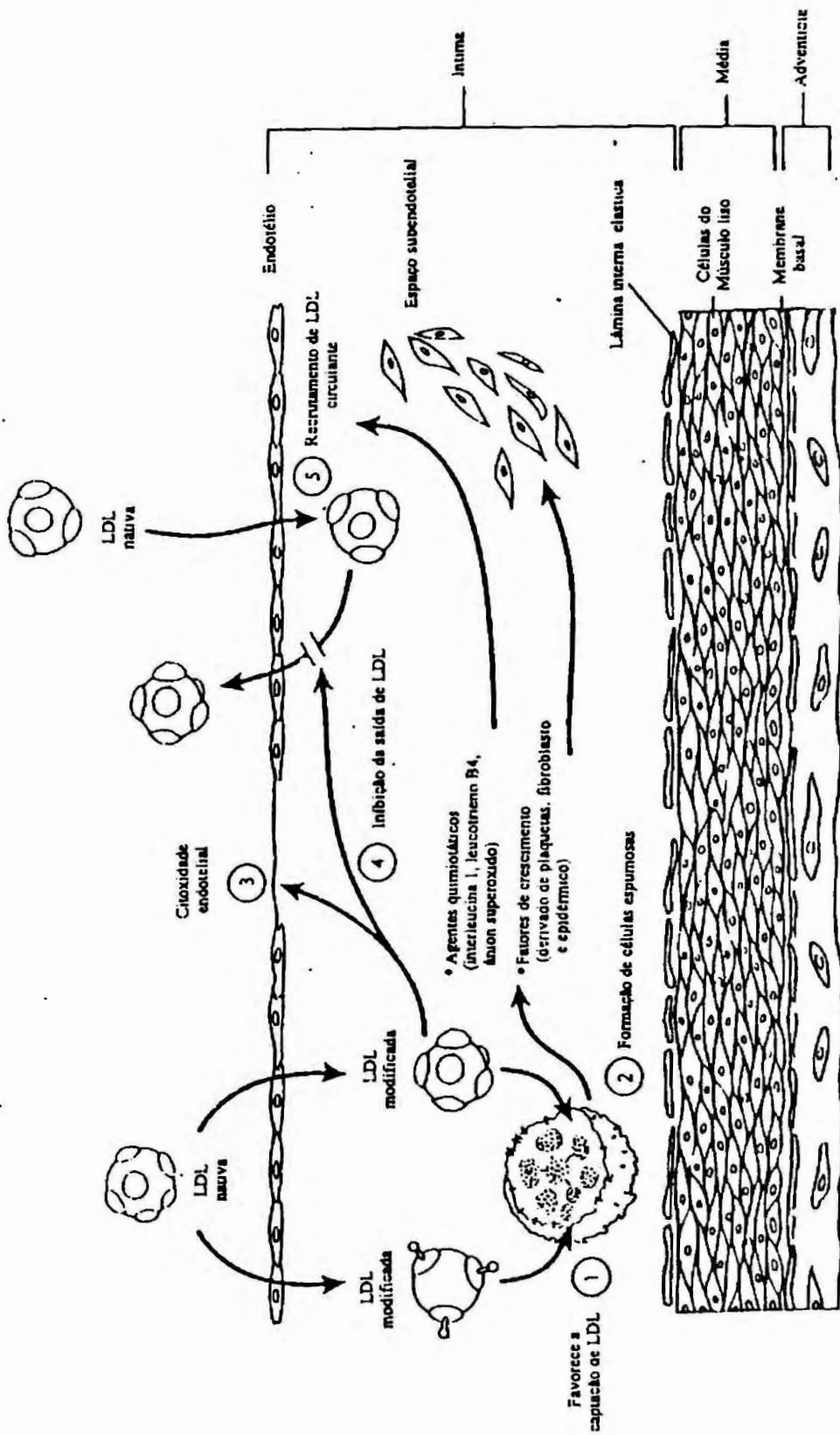


Figura 2. Hipótese das múltiplas funções da LDL oxidada na aterogênese. Adaptado de Steinberg (1989).



Obs.: ROS – Espécies de oxigênio reativo
 AGE – Produtos finais da glicação avançada
 SMC – Células do músculo liso
 MMPs – Metaloproteinases de matriz

Figura 3. Fatores que levam à disfunção e ativação endotelial. Adaptado de Liao (1998).

Quadro 1 – Fatores que causam a disfunção endotelial

FATORES DE RISCO ATEROSCLERÓTICOS

Hipertensão
 Tabagismo
 Hipercolesterolemia
 Diabetes mellitus
 Sexo masculino
 Idade avançada
 Histórico familiar de aterosclerose

INFECÇÃO CRÔNICA

Herpes
 Citomegalovirus
 Vírus sincicial respiratório
 Helicobacter pylori
 Chlamydia pneumoniae

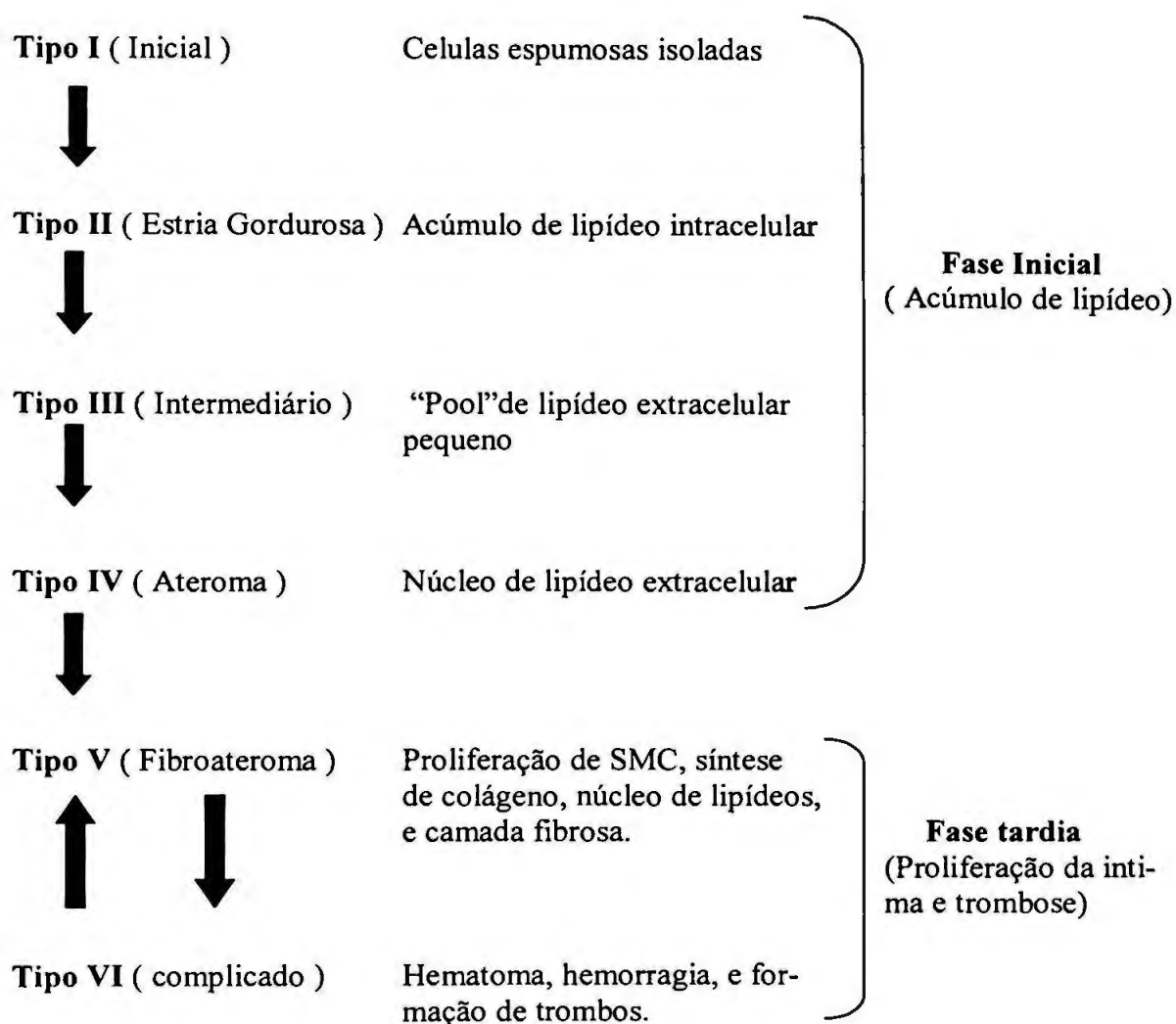
FATORES AMBIENTAIS

Hipoxia
 Fluxo turbulento
 Oxidantes

FATORES GENÉTICOS

Homocisteína
 Lipoproteína (a)
 Hipercolesterolemia familiar
 Hipertrigliceridemia

A recente classificação de lesões ateroscleróticas proposta pela Comissão de Lesões Vasculares da "American Heart Association" é baseada nos estudos de STARY (1989) e apresenta seis estágios no desenvolvimento de placas ateroscleróticas. As lesões precoces, designadas como tipo I, são encontradas nas crianças. Nessas lesões, observa-se número elevado de macrófagos na íntima arterial e o aparecimento das primeiras células espumosas. As lesões do tipo II são estrias gordurosas, um aglomerado de células espumosas que, normalmente, não se projeta ao lúmen vascular (**Figura 4**). Essas lesões aparecem ao redor dos 15 anos de idade e aumentam gradualmente. As lesões do tipo IIa têm propensão a atingir as formas mais avançadas. As lesões do tipo IIb apresentam menos matriz, menor quantidade de lipídeos extracelulares, poucas células do músculo liso e são resistentes à progressão. As lesões do tipo III estão entre as estrias gordurosas e os ateromas. As lesões do tipo IV são os ateromas, que contêm lipídeos na sua parte central, apresentam progressão rápida e têm forte tendência a ruptura. As lesões do tipo V são placas avançadas que se projetam ao lúmen arterial e contêm colágeno. Essas lesões são denominadas de Vb, se ocorrem calcificações, e de Vc quando contêm trombina e grande quantidade de tecido fibroso. As lesões do tipo VI são as complicadas, que podem mostrar superfície fissurada (VIa) ou trombos (VIc). As lesões que são responsáveis pela maioria dos eventos clínicos causam uma estenose que varia de 35 a 65%. A ruptura da placa, que estimula a formação do trombo, resulta num evento agudo. A capacidade oclusiva do trombo é a responsável pela maioria dos infartos de miocárdio. O fissuramento e a ruptura das placas são as principais causas de eventos clínicos (DAVIES & THOMAS, 1985). As placas que são mais vulneráveis à ruptura são aquelas que contêm maior concentração de lipídeos, menos células do músculo liso e maior número de macrófagos.



CML – células do músculo liso.

Figura 4. Evolução das lesões ateroscleróticas. Adaptado de Liao (1998).

1.3 Fatores de Risco de Doença Arterial Coronariana (DAC)

A etiologia da DAC é multifatorial e vários fatores predisponentes associados que aumentam a chance dos indivíduos desenvolverem doenças cardiovasculares no decorrer da vida têm sido descritos pelos pesquisadores. Alguns fatores como susceptibilidade genética, raça, sexo masculino e o envelhecimento são inevitáveis, mas muitos fatores de risco ambientais podem ser minimizados. Entre os principais fatores de risco que predispõem à aterosclerose são: hipercolesterolemia, hipertensão arterial, tabagismo, nível reduzido de colesterol da HDL (HDL-C), diabetes melito e idade avançada. Outros fatores de risco que contribuem de forma significativa são: sedentarismo, estresse psicológico, obesidade, dieta rica em colesterol e gorduras saturadas e alguns distúrbios hormonais (NAITO, 1996). Nos últimos anos, têm-se destacado outros fatores de risco para DAC como: concentrações elevadas de homocisteína, lipoproteínas remanescentes ricas em triacilgliceróis, lipoproteína (a), LDL de partículas pequenas, agentes infecciosos (Citomegalovírus e *Chlamydia pneumoniae*), redução de óxido nítrico, polimorfismo do gene da apo E, da apo B e de receptores da LDL (GALTON, 1997; ALTHAN & GEY, 1997; NAITO, 1996; LIAO, 1998).

1.3.1 Hipercolesterolemia

A alta concentração de colesterol plasmático é o principal fator de risco para DAC (STRONG, 1992; NEWMAN, 1986; NAITO, 1996), sendo a LDL responsável pelo transporte de aproximadamente 60% do colesterol total existente no plasma, o que a torna particularmente importante no

processo aterogênico. A "National Cholesterol Education Program" (NCEP) instituiu um programa de grande alcance para reduzir o colesterol plasmático com o intuito de diminuir a prevalência de doença arterial coronária, que é a principal causa de óbito nos Estados Unidos da América (EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL, IN ADULTS, 1984).

A hipercolesterolemia como um fator de risco na DAC pode ser comprovada pelos estudos clínico-epidemiológicos (SACKS *et al.*, 1996; KULLER & ORCHARD, 1988) e experimentais em humanos e animais que encontraram os seguintes resultados:

1 – presença de colesterol nas placas ateroscleróticas;

2 – redução de mortalidade e morbidade por doenças cardiovasculares em pacientes submetidos a um programa de redução de colesterol;

3 – aterosclerose precoce nos indivíduos que nascem com hipercolesterolemia familiar;

4 – aceleração de aterosclerose nos animais submetidos a uma dieta rica em colesterol.

Os estudos na população Bogalusa (NEWMAN, 1986) revelaram que a doença aterosclerótica começa nas artérias coronárias na infância e está relacionada às concentrações plasmáticas de LDL. O risco varia linearmente com a concentração de colesterol mas reduz significativamente quando a concentração sérica de colesterol total está abaixo de 170 mg/dL. Há uma estimativa de que um indivíduo com 200 mg/dL de colesterol total teria 60% de obstrução de suas artérias quando atingisse a idade de 70 anos, mas se o mesmo indivíduo tivesse um colesterol total de 250 mg/dL, teria esse mesmo grau de obstrução arterial aos 60 anos.

Num estudo clínico o "Scandinavian Simvastatin Survival Study" (4S) (SCANDINAVIAN SINVASTATIN SURVIVAL STUDY, 1994), usando estatina, fármaco que inibe a enzima que regula a síntese de colesterol na célula, 3-hidroxi-3-metilglutárico-CoA (HMG-CoA) redutase, mostrou resultados com benefícios surpreendentes, após acompanhamento por 8 anos, conseguindo uma redução de 30% de mortalidade, ao reduzir em média 25% do colesterol sérico. Nos estudos de "Familial Atherosclerosis Treatment Study" (FATS), houve uma redução de 73% dos eventos clínicos quando se aplicou um programa de redução intensiva de colesterol utilizando uma associação de lovastatina e colestipol (BROWN *et al.*, 1990). Outro estudo semelhante realizado, o "St. Thomas Atherosclerosis Regression Study" (STARS), demonstrou uma redução de 89% nos eventos clínicos no grupo que recebeu colestiramina e dieta adequada para redução de colesterol (WATTS *et al.*, 1992).

Sem dúvida, por ser o principal carreador de colesterol, a lipoproteína de baixa densidade, LDL, é o fator mais importante na aceleração do processo aterosclerótico. A concentração sérica de LDL, geralmente, está aumentada como resultado de uma interação entre a susceptibilidade genética e a dieta contendo relativamente grande quantidade de colesterol e gordura saturada. A participação da dieta e dos componentes genéticos na hiperlipoproteinemia varia entre indivíduos. Na hipercolesterolemia familiar, o componente genético é o fator principal, e nos obesos hipercolesterolêmicos, a dieta é o agente principal (McGILL, 1988).

Os principais tipos de hipercolesterolemia de natureza genética que causam aumento de colesterol plasmático são: hiperlipidemia familiar combinada (HFC), hipercolesterolemia familiar (HF), apolipoproteína B defeituosa familiar (FDB) e hipercolesterolemia poligênica.

A HF caracteriza-se por um aumento da LDL circulante desde o nascimento devido a defeito no gene do receptor da LDL (RLDL).

A ausência ou os defeitos dos RLDL reduzem a remoção da LDL circulante por falha de reconhecimento de LDL pelas células do organismo. Em outra situação, menos comum, a LDL circulante pode interagir com o seu receptor, mas não ocorre a internalização por haver um defeito no sistema de endocitose de LDL nas células (BROWN & GOLDSTEIN, 1986).

A HF é uma doença metabólica herdada de forma autossômica e dominante. A forma homozigota, com prevalência de 1 em 1.000.000, apresenta um valor de colesterol que varia de 600 a 1.200 mg/dL. Esses indivíduos apresentam xantomas nos tendões e têm manifestações cardiovasculares antes dos 20 anos de idade. Na forma heterozigota, com prevalência de 1 em 300 a 500 indivíduos na população americana, o valor de colesterol plasmático varia de 280 mg/dL a 700 mg/dL, os xantomas nos tendões aparecem na segunda década de vida e os pacientes apresentam DAC na quarta a quinta década de vida (WEBBER *et al.*, 1991).

A HFC caracteriza-se bioquimicamente por valores plasmáticos elevados de apo B da LDL. Os pacientes com esse defeito genético podem apresentar três padrões de distribuição de lipoproteínas: aumento sérico apenas de VLDL ou LDL ou a combinação de ambas. A manifestação clínica, geralmente, inicia-se a partir dos 20 anos, e essa hiperlipidemia é encontrada em 15% dos sobreviventes de infarto agudo de miocárdio. As mutações responsáveis por HFC ainda são desconhecidas. Um valor elevado de apo B seria um marcador preliminar importante para detecção desse defeito, independente de sua expressão fenotípica, mas a HFC não está associada com o loco de apo B no cromossomo 2 (RAUH *et al.*, 1990; AUSTIN *et al.*, 1991). Na HFC ocorre um aumento da produção de apo B e também de LDL pequenas e densas, o que dificulta sua interação com os receptores de LDL e, conseqüentemente, menor remoção da circulação,

ocasionando um aumento de LDL sérica. Segundo alguns autores, as LDL pequenas e densas são mais susceptíveis à oxidação, o que pode ser a base para a aceleração da aterogênese (GRAF *et al.*, 1984).

A FDB causada por mutação no gene da apo B, a primeira descrita, envolve a troca de aminoácido arginina por glutamina na posição 3500 de apo B (INNERARITY *et al.*, 1987). A troca do aminoácido provoca um aumento de LDL circulante devido à redução na sua remoção da circulação.

Entre pacientes com diagnóstico clínico de HF, aproximadamente 3% foram heterozigotos para FDB. Por essa razão, essa mutação pode estar associada com hipercolesterolemia grave, xantomas no tendão e uma história de doença cardiovascular precoce. A FDB é indistinguível clinicamente de HF causada por defeito nos receptores de LDL.

Com o desenvolvimento das técnicas moleculares, foi possível ter um grande avanço no conhecimento dos fatores que afetam as concentrações de LDL no plasma. Os polimorfismos genéticos da apolipoproteína B, apolipoproteína E e, principalmente, dos receptores de LDL são os principais responsáveis pela variação de LDL plasmática porque afetam o processo de sua remoção da circulação. Por essa razão, GALTON (1997) considerou esses genes como os que predispõem ao desenvolvimento de aterosclerose.

1.3.2 Polimorfismo do Gene da Apolipoproteína B

A apolipoproteína B (apo B) é uma proteína produzida nos hepatócitos e um componente estrutural de muitas lipoproteínas: VLDL, remanescentes de VLDL, IDL e LDL. A apo B, presente nessas lipoproteínas, interage com os receptores de LDL para a remoção dos lipídeos da corrente circulatória. Para isso, a apo B apresenta um domínio ligante-receptor, localizado na porção C-terminal da molécula, que é essencial para endocitose de LDL

(YANG *et al.*, 1986). Apesar do alto peso molecular da apo B, apresenta apenas um sítio ligante-receptor por molécula.

A VLDL, após ser formada no fígado, é lançada na circulação onde troca componentes com a HDL. Ésteres de colesterol, apo C (C-I, C-II, C-III) e apo E são transferidos da HDL para a VLDL em troca por triacilgliceróis. A VLDL enriquecida com apo C e apo E sofre hidrólise pela lipase de lipoproteína (LPL) gerando partículas menores, remanescentes de VLDL. Nesse estágio, a apo A-I e apo A-IV são transferidas de volta para HDL, ao passo que as remanescentes de VLDL perdem triacilgliceróis, fosfolípidos, apo C e apo E. Isso resulta na formação de LDL. As remanescentes de VLDL têm maior afinidade com os receptores de LDL do que as próprias LDL. Essas remanescentes de VLDL podem ser captadas diretamente pelo fígado ou hidrolisadas posteriormente no plasma para produzir LDL. O metabolismo de VLDL depende muito do tamanho de sua partícula. As remanescentes de VLDL grandes são diretamente metabolizadas, ao passo que as remanescentes de VLDL pequenas são transformadas em LDL.

Após vários anos de pesquisa, acumularam-se evidências de que há uma estreita associação entre o aumento da concentração de apo B sérica e o aparecimento precoce de aterosclerose nas coronárias (DURRINGTON *et al.*, 1988). Essas informações foram suficientes para despertar novas investigações sobre essa proteína. Os pesquisadores levaram muitos anos para conhecer melhor sua estrutura química, bem como suas propriedades físico-químicas por causa da dificuldade na solubilização e tendência à agregação devido ao seu alto peso molecular (BHATNAGAR & DURRINGTON, 1998). Recentemente, graças aos avanços das técnicas de Imunoquímica e de Biologia Molecular, foi possível detalhar os conhecimentos bioquímicos dessa proteína.

O gene da apo B está localizado no cromossomo 2 na região q 23-24. Seu RNA mensageiro (mRNA) contém 14.121 nucleotídeos e codifica para uma proteína de 4.563 aminoácidos, sendo que os 27 aminoácidos N-terminal são clivados, o que resulta na apo B nativa de 4.536 aminoácidos

(CHAN *et al.*, 1985). A apo B é sintetizada no retículo endoplasmático liso e liga-se aos triacilgliceróis, que podem estar previamente armazenados, com auxílio de uma proteína de transferência de triacilgliceróis microsomal (MTP) (PEASE & LEIPER, 1996). Estima-se que a massa molecular de apo B juntamente com os carboidratos em sua estrutura atinja cerca de 550.000 daltons.

A primeira parte da seqüência de cDNA para apolipoproteína B foi publicada por LUSIS *et al.* (1985). Subseqüentemente com a colaboração de vários pesquisadores – CHEN & KANE (1986), CHEN *et al.* (1989), KNOTT *et al.* (1986), CLADARRAS *et al.* (1986) –, foi possível determinar a seqüência total do cDNA, estabelecendo que a apo B tem 24 kb de comprimento com 29 exons. Dois dos exons, o 26 e o 29, são os maiores, contendo 7.572 e 1.906 bases, respectivamente.

Com o advento de novas técnicas analíticas, principalmente, as genético-moleculares, foi possível identificar várias regiões polimórficas no gene da apo B (BERG, 1986). Entretanto, os polimorfismos mais conhecidos são: XbaI, EcoRI, localizados nos exons 26 e 29, respectivamente, e Inserção/Deleção, localizado na região codificadora do peptídeo sinalizador do gene da apo B (VISVIKIS *et al.*, 1992; BOERWINKLE *et al.*, 1990).

A inserção ou deleção de nove pares de bases pode produzir adição ou deleção de três aminoácidos no peptídeo sinalizador do gene da apo B (RENGES *et al.*, 1992). KAMMERER *et al.* (1996), fazendo estudo nos Estados Unidos da América com descendentes de mexicanos, observaram que havia influência do polimorfismo I/D no peptídeo sinalizador do gene da apo B sobre as concentrações séricas de colesterol da LDL (LDL-C). O estudo de HANSEN *et al.* (1993), também revelou evidências de que esse polimorfismo tem efeito sobre as concentrações lipídicas séricas na população da Dinamarca.

Uma pesquisa realizada por GARDEMAN *et al.* (1998), com a participação de 2.259 homens caucasianos na Alemanha, mostrou uma

associação entre o polimorfismo I/D no peptídeo sinalizador do gene da apo B com as concentrações séricas de apolipoproteína B e de colesterol total. Nesse estudo, os portadores do genótipo DD apresentaram concentrações séricas mais elevadas de colesterol total e de apo B e, também, maior prevalência de infarto de miocárdio.

Resultados contraditórios foram encontrados por ZAMAN *et al.* (1997) na população rural japonesa. Nessa pesquisa, os autores não encontraram a associação do polimorfismo I/D no peptídeo sinalizador do gene da apo B com as concentrações séricas de colesterol total e da HDL em 1.328 indivíduos que participaram do estudo.

1.3.3 Polimorfismo do Gene da Apolipoproteína E

A apolipoproteína E (apo E) é encontrada em várias lipoproteínas plasmáticas, incluindo quilomicrons, remanescentes de quilomicrons e de VLDL, VLDL e HDL, que participam no transporte de lipídeos entre tecidos e células (MAHLEY, 1988).

A principal função fisiológica da apo E é mediar a interação de lipoproteínas com os receptores de LDL (RLDL) (apo B/E) e os receptores hepáticos de apo E (ou proteína relacionada ao receptor de LDL, LRP).

Os remanescentes de quilomicrons e de VLDL podem ligar-se tanto aos RLDL como à proteína relacionada ao receptor de LDL. A apo E é sintetizada pelo fígado, macrófagos e por vários tecidos extra-hepáticos; sua função é importante no metabolismo da HDL e no transporte reverso de colesterol, processo pelo qual o excesso de colesterol é removido do tecido periférico e transportado ao fígado. A apo E facilita a expansão da parte central da partícula de HDL, aumentando sua capacidade de transportar

colesterol (KOO *et al.*, 1985). Além disso, ela pode mediar a remoção de HDL enriquecida com ésteres de colesterol pelo fígado (FUNKE *et al.*, 1984).

A secreção de apo E por macrófagos é estimulada de 3 a 8 vezes pela concentração de colesterol. Ao ser secretada, associa-se com fosfolípidos formando uma partícula de densidade maior que 1,21 g/ml. Essas partículas nascentes podem facilitar a remoção de colesterol das células, possivelmente junto com HDL (JOHNSON *et al.*, 1991).

A experiência de MAZZONE (1996) mostra que a apo E sintetizada pelos macrófagos parece ter vários efeitos importantes no metabolismo lipídico e em doença vascular. A apo E derivada de macrófagos modula o balanço de colesterol no macrófago e nas células do músculo liso na parede arterial, o que pode influir na progressão ou regressão da lesão aterosclerótica. Também modula a agregação plaquetária e a proliferação de linfócitos e interage com a matriz extracelular. A matriz pode afetar a retenção de lipoproteínas na parede arterial, a biodisponibilidade de citocinas seqüestradas e fatores de crescimento e a regulação do crescimento de células do músculo liso das artérias. Portanto, é possível sintetizar as principais funções de apo E:

1 – ligação aos receptores de LDL (apo B/E) e de apo E (LRP) e atuação como um mediador importante na remoção de lipoproteínas ricas em triacilgliceróis, incluindo VLDL, quilomicrons e remanescentes de quilomicrons. Pode desempenhar função na conversão de VLDL em LDL e na remoção de HDL contendo apo E da circulação sanguínea (MAHLEY & INNERARITY, 1988); 2 – por aumentar a afinidade da proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) para lipoproteínas, a apo E participa na regulação de transporte reverso de colesterol (KINOSHITA *et al.*, 1993); 3 – a apo E pode estar envolvida na regeneração de nervos, modulação da resposta imune e diferenciação e/ou crescimento de neurônios e células do músculo liso (ISHIBASHI *et al.*, 1993).

A apo E, uma proteína de 34 kDa, codificada por gene de cópia única localizado no cromossomo 19, é polimórfica geneticamente com três alelos comuns – $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$ – herdados de forma co-dominante com três genótipos homocigotos e três heterocigotos, resultando em 6 fenótipos correspondentes. As proteínas expressas pelo gene da apo E são denominadas de apo E-2, apo E-3 e apo E-4 (RALL *et al.* 1982)

A base molecular para o polimorfismo de apo E foi estabelecida por MAHLEY *et al.* (1988). Esses autores, ao determinar a estrutura primária da apo E, descobriram que as isoformas E-4, E-3 e E-2 diferem entre si por uma simples substituição de aminoácido em dois sítios da proteína. As diferenças nas três proteínas expressas pelo gene da apo E estão nos resíduos de aminoácidos nas posições 112 e 158, com a apo E-2 tendo duas cisteínas e a apo E-3, uma cisteína e um arginina, respectivamente, e a apo E-4 tendo arginina nas duas posições. Essas substituições de aminoácidos nesses duas posições produzem diferença de carga na proteína, o que permite a fenotipagem de um indivíduo pela técnica de focalização isoelétrica.

Um estudo epidemiológico mostra que os fenótipos de apo E estão associados com variações na concentração média de colesterol LDL e apo B no plasma (DAVINGNON *et al.*, 1988). Os indivíduos com alelos $\epsilon 2$ apresentam concentrações mais baixas em 10% de colesterol LDL e apo B em relação à concentração média da população-controle, ao passo que os indivíduos com o alelo $\epsilon 4$ apresentaram-nas 5% mais elevadas. Devido à alta frequência desses alelos na população, 8% para $\epsilon 2$ e 15% para $\epsilon 4$, o polimorfismo de apo E constitui um dos principais determinantes genéticos da variação na concentração de colesterol na população como um todo. Por essas razões, esses estudos relatam que o polimorfismo de apo E pode alterar o risco para o desenvolvimento de DAC. O alelo $\epsilon 2$ está associado com risco reduzido, e o alelo $\epsilon 4$ com risco elevado para DAC. Outro estudo, realizado por GYLLING *et al.* (1995), mostra que 47% de variação de colesterol foi explicado pelo polimorfismo de apo E. Outros autores, também,

encontraram influência do polimorfismo da apo E sobre as concentrações séricas de lipídeos (HUMPHRIES, 1988; NIKILA & HEIKINE, 1990; SRINIVASAN *et al.*, 1999). Entretanto, vários estudos mostraram resultados discordantes quanto ao efeito do polimorfismo do gene da apo E sobre as concentrações séricas dos lipídeos (HULMAN *et al.*, 1991; MAHLEY *et al.*, 1995; CORBO *et al.*, 1997; BEDER & ZALIANI, 1998; AGUILAR *et al.*, 1999).

1.3.4 Hipertensão Arterial

A hipertensão arterial é um fator de risco importante, principalmente em mulheres, por estar diretamente envolvida no desenvolvimento de doença cardiovascular, acidente vascular cerebral, doença vascular periférica e doença renal. É uma doença com prevalência de 15 a 20% na população adulta brasileira, e seu alto custo social é responsável por cerca de 40% dos casos de aposentadoria precoce e de absenteísmo no trabalho em nosso meio (III CONSENSO BRASILEIRO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 1998). Nos Estados Unidos da América, cerca de 60 milhões de pessoas são hipertensas. A prevalência de hipertensão aumenta com a idade em todos os grupos: brancos, negros, homens e mulheres. Dados de 1976 a 1980 do "National Health and Nutrition Examination Survey" (NHANES II) indicam que nos negros há prevalência mais alta de hipertensão do que nos brancos (38% contra 29%) (OPAIL, 1992). Pelos resultados de "Framingham Study", em que participaram indivíduos de 50 a 70 anos de idade com valores médios de LDL-C de 165 mg/dl e de HDL-C de 45 mg/dl, o risco relativo de DAC passou de 1,0 para 2,0 com o aumento da pressão arterial sistólica de 120 mmHg para 195 mmHg (MARTIN *et al.*, 1986).

No estudo epidemiológico de "Multiple Risk Factor Intervention Trial" (MRFT), quando foi avaliada a pressão diastólica de mais de 325.000

homens durante 6 anos, observou-se que a taxa de mortalidade de DAC aumentou significativamente com aumento da pressão arterial diastólica (KANNEL *et al.*, 1986). De maneira semelhante, como ocorre com o aumento de colesterol plasmático, o aumento da pressão diastólica resulta no desenvolvimento de doenças cardiovasculares de forma contínua e gradual. Havendo uma redução de 5 a 6 mmHg na pressão sanguínea diastólica, os indivíduos são beneficiados com redução de 40% para acidente vascular cerebral (LITHEL, 1993). Portanto, é primordial o diagnóstico precoce para as medidas preventivas ou a instituição de uma terapêutica adequada com a finalidade de reduzir a ocorrência dos acidentes vasculares.

A causa da hipertensão é desconhecida na maioria dos pacientes em virtude da complexidade dos componentes fisiopatológicos da hemodinâmica dos pacientes com quadro hipertensivo. Os fatores genéticos, ainda pouco conhecidos, e os ambientais, obesidade e dieta rica em sal, são os responsáveis por aproximadamente 95% dos casos de hipertensão primária ou essencial (KAPLAN & LIEBERMAN *et al.*, 1998). A atividade da renina plasmática é geralmente normal na hipertensão primária, mas pode estar suprimida em 25% dos casos e elevada em outros 15%. Na fase maligna da hipertensão, quase sempre a renina está aumentada. O defeito no transporte de sódio pelas membranas celulares ocasionado por uma disfunção de Na^+ , K^+ - ATPase ou por permeabilidade aumentada de sódio pode ser uma das causas da hipertensão.

Os sistemas que regulam a vasodilatação podem estar envolvidos na patogênese da hipertensão. O óxido nítrico produzido nas células endoteliais dos vasos sanguíneos tem uma função importante no relaxamento da musculatura lisa vascular e, conseqüentemente, na vasodilatação. Os estudos de FORTE *et al.* (1997) revelaram que a síntese do óxido nítrico está diminuída nos indivíduos com hipertensão arterial. TADDEI *et al.* (1996), ao estudar a função endotelial em crianças normotensas de pais

hipertensos, também mostraram que na patogênese da hipertensão há o envolvimento de óxido nítrico.

A hipercolesterolemia, além de ser um importante fator de risco para aterosclerose, pode agravar a hipertensão por prejudicar a vasodilatação. O efeito é, provavelmente, mediado por inativação do óxido nítrico pela lipoproteína oxidada (CHIN *et al.*, 1992).

A obesidade está associada com hipertensão. O aumento da pressão arterial nos indivíduos obesos pode ser atribuído ao aumento do débito cardíaco que é proporcional à expansão da massa corpórea (FERRAMINI, 1995).

O envelhecimento também é um fator responsável pelo aumento da pressão ARTERIAL (III CONSENSO BRASILEIRO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 1998). Com o decorrer dos anos os vasos sangüíneos perdem elasticidade e distensibilidade (HALLOCK & BENSON, 1997) e muitos outros fatores foram expostos para o desencadeamento de hipertensão. Em um estudo realizado na população inglesa de 45 a 74 anos de idade mostrou que houve um aumento de óbitos por DAC e AVC em 3 a 4 vezes quando a população envelhecia 10 anos. A pressão arterial e outros fatores de risco têm colaborado nesse aumento de óbitos (WORLD HEALTH ORGANIZATION, International Society of Hypertension, 1999).

Vários modelos experimentais em animais mostram que a hipertensão está associada com a progressão acelerada de aterosclerose (SOLBERG & McGARRY, 1972; ROBERTSON & STRONG, 1968). A hipertensão aumenta a aterosclerose coronária, mas seu efeito maior é na aterosclerose das artérias cerebrais (SOLBERG & STRONG, 1983; SOLBERG & McGARRY, 1972). Em particular, a hipertensão está associada mais com as placas fibrosas do que com as estrias gordurosas, mas ainda não se sabe como a hipertensão produz esse efeito. O mecanismo pode ser o aumento direto da pressão na parede arterial, como um agente físico. O impacto da pressão sangüínea na parede arterial resulta na disfunção endotelial, e como

conseqüência ocorre a ativação celular, que é o início do processo de hipertrofia vascular. O aumento da pressão sangüínea na parede vascular por vários anos pode desencadear a formação de microlesões nos vasos que aumentam a permeabilidade aos fatores de crescimento plasmáticos e às partículas de LDL. Os estudos de GOODE *et al.* (1985) mostraram a associação da hipertensão com dislipidemia. Eles demonstraram também que havia uma associação da hipertensão com disfunção endotelial induzida por LDL oxidada ou nativa.

Os estudos das anormalidades genéticas dos fatores que controlam a atividade endotelial e do sistema renina-angiotensina podem contribuir para o esclarecimento da patogênese da hipertensão arterial.

Renina é uma enzima proteolítica produzida e armazenada nas células justaglomerulares que estão localizadas na parte terminal das arteríolas aferentes do glomérulo renal. Após estimulação do sistema justaglomerular, a renina é liberada na corrente circulatória, em que hidrolisa seu substrato, o angiotensinogênio, para produzir um decapeptídeo chamado de angiotensina I. O angiotensinogênio é uma globulina produzida no fígado. A angiotensina I é rapidamente convertida em um octapeptídeo, a angiotensina II, por uma enzima conversora de angiotensina (ECA) que é sintetizada no pulmão. A angiotensina II é um potente vasoconstritor e estimula as células da zona glomerular das glândulas supra-renais a produzir aldosterona ao facilitar a conversão de colesterol em pregnenolona, um precursor de aldosterona. Estimula também a liberação de adrenalina nos terminais dos nervos simpáticos. A angiotensina tem efeitos hipertróficos nas células do músculo liso dos vasos sangüíneos e cardiomiócitos e aumenta a matriz do colágeno extracelular (DAENEN *et al.*, 1991).

1.3.5 Polimorfismo da Enzima Conversora de Angiotensina (ECA)

A ECA é uma ectoenzima pertencente à classe de zinco metaloproteases, dipeptidil carboxipeptidase I, (EC.3.4.15.1), produzida pelas células endoteliais, células epiteliais e macrófagos, de forma constitutiva e regulada. Tem como função primária converter angiotensina I em angiotensina II e inativar a bradicinina.

A ECA é codificada por um gene de cópia única localizado no cromossomo 17 q23. O gene da ECA clonado em 1988 tem 21 kb e consiste de 26 exons interrompidos por 25 introns. Os 26 exons variam em tamanho, entre 88 bp (exon 16) e 481 bp (exon 26). Os introns variam de 1.500 bp (introns 17 e 25) a 2 kb (intron 20) (SOUBRIER *et al.*, 1988).

O gene da ECA codifica duas isoenzimas, a endotelial e a testicular. As estruturas das duas formas de enzima humana foram determinadas pela clonagem molecular de seus respectivos cDNAs (SOUBRIER *et al.*, 1988; EHLERS *et al.*, 1989). A forma maior, com massa molecular de 170 kDa, está presente nas células endoteliais e na superfície das células epiteliais. A forma menor, com massa molecular de 90 kDa, está presente nas células germinais dos testículos e é codificada por um mRNA menor. A forma maior da enzima apresenta duas regiões homólogas, e um dos domínios homólogos apresenta um sítio ativo, sugerindo uma duplicação de gene. A forma menor contém somente um desses domínios e tem uma região amino terminal diferente. Essa forma menor de ECA é encontrada em várias espécies de mamíferos, incluindo a humana (SOUBIER *et al.*, 1991). A expressão dessas duas formas de enzimas está sob regulação hormonal; a endotelial é induzida pelos glicocorticóides, e a forma testicular é estimulada por andrógenos (VELLETRI *et al.*, 1985).

Com auxílio das técnicas moleculares, foi possível detectar o polimorfismo de inserção/deleção no intron 16 do gene da ECA empregando uma sonda de cDNA completo de ECA. O alelo de inserção foi designado de "I" e o de deleção de "D". O alelo de deleção no gene da ECA consiste de ausência de uma seqüência repetitiva Alu de 287 bp (RIGAT *et al.*, 1992).

O polimorfismo I/D no gene da ECA está fortemente associado com a atividade enzimática circulante. A atividade plasmática em indivíduos homozigotos (DD) é duas vezes mais alta do que nos homozigotos para inserção (II). Os heterozigotos mostraram atividades plasmáticas intermediárias. Embora haja grande variação interindividual na atividade sérica da ECA, os valores intra-individuais são estáveis (RIGAT *et al.*, 1992).

Atividades elevadas da enzima no soro, bem como a maior incidência de infarto do miocárdio, têm sido observadas nos indivíduos com o genótipo DD (RIGAT *et al.*, 1992). Como o efeito principal desse polimorfismo é refletido nos diferentes valores séricos da atividade da ECA, esses autores concluíram que o gene da ECA exerce uma função importante na patogênese de hipertensão essencial.

Pelo estudo realizado por CAMBIEN *et al.* (1992), abriram-se novas perspectivas sobre o possível papel de ECA na patogênese de DAC. Eles observaram em pacientes com história de infarto de miocárdio provenientes da França e Norte da Irlanda que o genótipo DD é um importante fator de risco para as doenças cardiovasculares nos indivíduos de meia-idade e com baixo risco para doenças cardiovasculares pelos critérios usuais (CAMBIEN *et al.*, 1992).

Numa pesquisa realizada no "Belfast MONICA Project", na qual avaliou-se a autópsia de 213 casos fatais de infarto de miocárdio, observou-se que a freqüência do alelo D da ECA era maior do que no grupo-controle. Esses dados mostram claramente a associação do alelo D da ECA com o aparecimento de DAC (EVAN *et al.*, 1994). Outro estudo revelou uma

associação entre o alelo D da ECA e cardiomiopatia com morte súbita (MARIAN *et al.*, 1993).

Um estudo realizado na Europa por TIRET *et al.* (1993) mostrou uma forte associação entre o alelo D da ECA e história paterna de infarto de miocárdio fatal.

Segundo os estudos de NAKAI *et al.* (1994), foi verificado que a frequência de genótipo DD estava mais fortemente associada com DAC nos pacientes japoneses. As frequências foram de 25%, 34% e 41% para os genótipos II, ID e DD, respectivamente.

Ao avaliar o polimorfismo I/D do gene da ECA em 1.226 indivíduos do “Caerphilly Prospective Heart Disease Study”, MATTU *et al.* (1995) verificaram que não havia uma associação entre o alelo D e DAC no grupo todo, mas no subgrupo que apresentava baixo risco para DAC havia uma associação significativa entre esses fatores.

Um estudo realizado numa população austríaca com 315 pacientes que apresentavam DAC grave não revelou associação do alelo D do gene da ECA com DAC mesmo no subgrupo considerado de baixo risco para DAC (FRIELD *et al.*, 1995). Resultados semelhantes foram obtidos na população japonesa com maior número de participantes, 947 com DAC e 813 como controle (FUJIMURA *et al.*, 1987). Também, não houve associação do alelo D do gene da ECA com DAC numa amostra da população chinesa (CHIANG *et al.*, 1997).

O polimorfismo I/D do gene da ECA também está relacionado com acidente vascular cerebral (AVC). Um estudo realizado com 101 indivíduos com história de AVC e 109 indivíduos supostamente normais observou que ocorre maior frequência do genótipo DD nos indivíduos com história de AVC (MANGAGLIONE *et al.*, 1996).

Alguns estudos revelaram a associação do genótipo DD com hipertensão (MORISE *et al.*, 1994; CELENTANO *et al.*, 1998; STEFANSON

et al., 2000), mas outros discordaram, e dentre esses podemos citar o estudo de SCHIMIDT *et al.* (1993) em uma população holandesa e seus descendentes, que não mostrou, aparentemente, uma associação entre o polimorfismo I/D do gene da ECA com hipertensão.

Estudos realizados com populações afro-caribenhas e afro-americanas também mostraram associação do polimorfismo I/D do gene da ECA com hipertensão (BARLEY *et al.*, 1996; DURU *et al.*, 1994).

A partir dos trabalhos realizados em camundongos que referiam que o polimorfismo I/D do gene da ECA afetaria as atividades plasmáticas de ECA e pressão arterial (ESTHER *et al.*, 1996) surgiram estudos mostrando evidências constantes da ligação genética do gene da ECA com hipertensão e pressão arterial em homens (O'DONNELL *et al.*, 1998; OGIHARA *et al.*, 2000). Entretanto, outros estudos não demonstraram a especificidade do sexo masculino na associação do polimorfismo I/D do gene da ECA com pressão arterial (SUGIYAMA *et al.*, 1999; POPOV *et al.*, 1996).

No estudo de CHIANG *et al.* (1996), foi encontrada uma associação do polimorfismo I/D da ECA com hipertensão nos idosos da população chinesa com mais de 65 anos, e KATSUYA *et al.* (1999), ao realizar pesquisa na população japonesa, não obtiveram resultados semelhantes.

O genótipo DD do polimorfismo do gene da ECA foi descrito como estando associado com concentrações séricas mais elevadas de colesterol da LDL em indivíduos saudáveis e também em indivíduos com hipertensão quando comparados com os genótipos ID ou II (OREM *et al.*, 1999).

Apesar do número crescente de informações discordantes nos últimos anos sobre esse assunto, decidimos realizar esta pesquisa porque não há nenhum estudo desta natureza na população afro-brasileira, que é muito heterogênea quanto à sua origem, e acreditamos que alguns fatores ambientais ou genéticos podem afetar a associação entre o alelo D do gene

da ECA e hipertensão e, conseqüentemente, no aparecimento de doenças cardiovasculares e cerebrovasculares.

2. OBJETIVOS

- Associar as frequências dos alelos do polimorfismo I/D no intron 16 do gene da ECA com hipertensão na população afro-brasileira de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul com história familiar de alta prevalência de DAC e AVC;
- Avaliar a influência do sexo, IMC e idade na associação entre polimorfismo I/D do gene da ECA e hipertensão na população afro-brasileira de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul com história familiar de alta prevalência de DAC e AVC;
- Avaliar o efeito do polimorfismo do gene da apo E e do polimorfismo de Inserção /Deleção no gene da apo B sobre as concentrações séricas de lipídeos na população afro-brasileira de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul com história familiar de alta prevalência de DAC e AVC.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Casuística

3.1.1 Grupos de Estudo

Para esse estudo, participaram de forma voluntária 184 indivíduos afro-brasileiros, com história familiar de alta prevalência de DAC e AVC, com idade de 20 a 83 anos, sendo 93 do sexo feminino e 91 do sexo masculino, pertencentes a quatro comunidades de Mato Grosso do Sul, sendo duas localizadas na região urbana e duas na zona rural, como descritas a seguir:

Grupo A: constituído de 107 indivíduos com idade entre 20 e 73 anos, sendo 54 do sexo feminino e 53 do sexo masculino, moradores de Furnas do Dionísio, Município de Jaraguari, a 50 km de Campo Grande – MS.

Grupo B: constituído de 36 indivíduos com idade entre 22 e 79 anos, sendo 20 do sexo feminino e 16 do sexo masculino, moradores da Comunidade São Benedito, localizada na região urbana de Campo Grande – MS.

Grupo C: constituído de 22 indivíduos, camponeses, pequenos agricultores, com idade entre 20 e 83 anos, sendo oito do sexo feminino e 14

do sexo masculino, moradores na Comunidade Boa Sorte, no Município de Corguinho, a 120 km da cidade de Campo Grande – MS. São remanescentes de quilombos.

Grupo D: constituído de 19 indivíduos moradores da região urbana de Campo Grande – MS, na Comunidade do Limão. Dessa comunidade participaram 11 mulheres e 8 homens com idade entre 21 e 60 anos.

3.1.2 Critérios de Exclusão

Foram excluídos deste estudo os indivíduos diabéticos pelo critério da Organização Mundial de Saúde, indivíduos com creatinina sérica acima de 1,5 mg/dL, com Índice de Massa Corpórea (IMC) igual ou superior a 30 kg/m², com hipopotassemia e os que estavam fazendo uso de medicamentos anti-hipertensivos. Além disso, os indivíduos que apresentassem, nos exames clínicos, disfunção tireoidiana e/ou cardiopatias, também foram excluídos.

3.1.3 Características do Grupo de Estudo

Algumas das características clínicas importantes relacionadas ao grupo de estudo estão apresentadas na **Tabela 1**:

Tabela 1. Características clínicas e laboratoriais dos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul que constituíram o grupo de estudo.

Grupo de Estudo	
N = 184	
Sexo	
Feminino	93 (50,5%)
Masculino	91 (49,5%)
Idade (anos)	
Média ±DP	39,6 ±15,1
Faixa etária	20 – 83
Tabagismo	
Fumantes	52 (28,4%)
Não-fumantes	131(71,6%)
Pressão arterial (mmHg)	
PAS±DP*	133,1±26,1
PAD±DP*	84,8±13,1
IMC±DP*	23,9±2,9
Lipídeos (mg/dL)	
CT±DP*	175,8±36,8
HDL-C±DP*	47,1±12,3
LDL-C±DP*	104,8±32,8
TG±DP*	109,3±76,5

* Os valores são expressos como média ± desvio-padrão (DP).

CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: triacilgliceróis; PAS: pressão arterial sistólica; PAD: pressão arterial diastólica; n: número de indivíduos.

3.2 Materiais

3.2.1 Amostras Biológicas

As amostras de sangue foram colhidas de todos os participantes em jejum de 12 horas utilizando o sistema de colheita a vácuo da Becton – Dickinson, Franklin Lakes, NJ, EUA. Um volume sangüíneo de 10 ml foi obtido em um tubo contendo gel separador para soro, 3,0 ml com EDTA-fluoreto, e 3 ml em tubo com EDTA-K3 para sangue total. A separação do soro e plasma foi realizada por centrifugação a 2.500 rpm, durante 15 minutos, na centrífuga CELM, modelo LS 35 (São Paulo).

3.2.2 Reagentes

Álcool etílico, cloreto de potássio, cloreto de sódio, hidróxido de sódio, ácido clorídrico, glicerol, azul de bromofenol, ácido acético glacial foram adquiridos da Merck S/A, Ind. Química, RJ, Brasil. O Triton X-100 foi adquirido da Rohm & Haas Co, EUA. O cloreto de magnésio e dimetilsulfóxido (DMSO) grau biologia molecular foram adquiridos da Sigma Chemical Co (St Louis, MO, EUA). Os marcadores de DNA de 10 e 100 bp, EDTA, Tris (hidroximetil aminometano), agarose, enzimas de restrição *HhaI*, ácido bórico e oligonucleotídeos de todas as amplificações utilizadas na reação em cadeia pela polimerase foram adquiridos da Gibco BRL Life Technologies, Inc. (Gaithersburg, MD, EUA). A Taq DNA polimerase, dNTPs (100 mM de dATP, dCTP, dGTP e dTTP), brometo de etídeo, persulfato de amônio, acrilamida, bisacrilamida, TEMED e azul de bromo fenol foram adquiridos da Pharmacia

Biotech, Inc., (Uppsala, Suécia). O Xilenocianol – FF foi obtido da Fluka Chemic AG (Suíça).

3.3 Métodos

3.3.1 Determinações Bioquímicas

- Glicose Plasmática

A concentração de glicose foi determinada pelo método enzimático-colorimétrico (DADS,1996), GOD-PAP, Kit da Labtest Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa, MG, Brasil).

O método é baseado nas seguintes reações: a glicose oxidase catalisa a oxidação de glicose resultando em ácido glicônico e peróxido de hidrogênio que, com auxílio da peroxidase, transforma a 4-aminoantipirina e fenol em antipirilquinonimina, cuja intensidade da cor avermelhada é proporcional à concentração de glicose na amostra. Os valores de referência da glicemia são de 65 a 110 mg/dL.

- Colesterol Total Sérico (CT)

A determinação de colesterol total sérico foi realizada pelo método enzimático-colorimétrico baseado na reação de Trinder (NAITO,1996) utilizando produto comercial da Boehringer Mannheim, Roche Diagnóstica (SP, Brasil). A reação baseia-se na hidrólise de ésteres de colesterol pela ação da colesterol esterase. O colesterol livre é oxidado pela colesterol oxidase para formar o Δ^4 -colesterona e o peróxido de hidrogênio que, pela ação da peroxidase, oxida o cromógeno 4-aminoantipirina para formar o complexo corado quinonimina, que é proporcional à concentração de

colesterol total existente no soro. Os valores de referência para colesterol total de acordo com a recomendação do II Consenso Brasileiro de Dislipidemias (1996), para pacientes sem DAC são: valores desejáveis, inferiores a 200 mg/dL; limitrofes/altos, de 200 a 239 mg/dL; e aumentados, igual ou acima de 240 mg/dL.

- Colesterol da Lipoproteína de Alta Densidade Sérica (HDL-C)

A concentração de colesterol HDL-C do soro foi determinada pelo método direto utilizando o kit da Labtest Diagnóstica S.A. (Lagoa Santa, Belo Horizonte, MG, Brasil). A reação é baseada na formação de complexos estáveis com a superfície das LDL, VLDL e dos quilomicrons através de um reagente contendo poliânion. As HDL não ficam estabilizadas e solubilizam por ação de um detergente, permitindo a ação do segundo reagente contendo colesterol esterase e colesterol oxidase que atuam de forma semelhante como descrita na determinação de colesterol total. Os valores desejáveis de HDL-C, segundo o II Consenso Brasileiro de Dislipidemias (1996), para adultos com 20 anos ou mais são: igual ou superior a 35 mg/dL.

- Triacilgliceróis Séricos (TG)

A determinação de triacilgliceróis foi realizada pelo método enzimático-colorimétrico com o kit da Boehringer Mannheim, Roche Diagnóstica, SP, Brasil. Na primeira etapa da reação, os triacilgliceróis são hidrolisados pela lipase para formar glicerol e ácidos graxos. Na etapa seguinte, o glicerol, por ação de uma gliceroquinase, é convertido em glicerol-3-fosfato, que é oxidado pela glicerolfosfato-oxidase para di-hidroxiacetato e peróxido de hidrogênio que oxida o 4-aminoantipirina, pela catálise da peroxidase, para formar um produto corado que é a antipirilquinonimina. Os valores séricos desejáveis de triacilgliceróis para

adultos com 20 anos ou mais são de até 200 mg/dL ,conforme II Consenso Brasileiro de Dislipidemias (1996).

- Colesterol da Lipoproteína de Baixa Densidade (LDL-C)

O colesterol da LDL foi calculado pela Fórmula de Friedwald: $LDL-C = CT - (TG/5 + HDL-C)$. Segundo as recomendações da National Cholesterol Education Program ATP II (NCEP ATP II) (BUCHORIK & ROSSA, 1995), os valores desejáveis de LDL-C para indivíduos sem DAC são de até 130 mg/dl; os valores limítrofes/alto risco são de 130–159 mg/dL; os de alto risco são igual ou superior a 160 mg/dL. Para os pacientes com DAC, os valores desejáveis são de até 100 mg/dL.

- Creatinina Sérica

A creatinina sérica foi determinada pelo método direto cinético baseado na reação de Jaffé modificada (MOSS *et al.*1975). A creatinina reage com picrato alcalino para formar um produto corado alaranjado (picrato de creatinina) que é proporcional à concentração de creatinina no soro. Foi utilizado para a determinação o produto da Boehringer Mannheim, Roche Diagnóstica (São Paulo, Brasil). Os valores de referência de creatinina sérica por esse método são de: até 1,4 mg/dL para homens com mais de 50 anos; até 1,3 mg/dL para homens com menos de 50 anos de idade e 1,1 mg/dL para mulheres.

- Sódio e Potássio Sérico

O sódio e o potássio sérico foram determinados utilizando eletrodo seletivo de íons (ISE) no analisador bioquímico automático BM Hitachi, modelo 902, da Roche Diagnóstica (SP, Brasil). Os valores de referência

para sódio e potássio sérico são de 138 a 146 mEq/L e 3,5 mEq/L a 5,5 mEq/L, respectivamente.

Todas as determinações descritas anteriormente foram realizadas no analisador bioquímico automático da BM Hitachi, modelo 902 (Roche Diagnóstica, SP, Brasil).

Para o controle de qualidade, foram utilizados os soros-controle do Programa de Excelência dos Laboratórios Médicos (PELM) da Controlab-Sociedade Brasileira de Patologia Clínica, Rio de Janeiro, e os materiais de referência para bioquímica e lipídeos do College of American Pathologists, Northfield, IL, EUA.

3.3.2 Determinação de Pressão Arterial

A pressão arterial foi medida duas vezes, com intervalo de 2 minutos, com esfigmomanômetro de marca Tycos calibrado por técnico da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul e com certificado de aferição da INMETRO (Campo Grande, MS) O resultado foi a média das duas determinações. Os indivíduos hipertensos foram convidados após quatro semanas para confirmação dos resultados. A hipertensão foi definida como pressão arterial sistólica igual ou superior a 140 mmHg e/ou a diastólica igual ou superior a 90 mm/Hg, conforme recomendação do III CONSENSO BRASILEIRO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL (1998).

3.3.3 Obtenção do DNA Genômico das Células do Sangue Periférico

A extração do DNA genômico das células sangüíneas foi realizada utilizando o método otimizado por SALAZAR *et al.* (1997). A partir de 1,0 ml de sangue total realizou-se a lise celular com 1,0 ml de tampão Tris-1 (Tris-HCl, 10 mM, pH 8,0), KCl, 10 mM, MgCl₂, 10 mM, EDTA, 2 mM, pH 8,0) contendo Triton X-100 a 2,5%. Os núcleos celulares separados após a centrifugação foram lisados com a adição de 220 µL do tampão Tris-2 (Tris-HCl, 10 mM, pH 8,0; KCl, 10 mM; MgCl₂, 10 mM; EDTA, 2 mM, pH 8,0; NaCl, 0,4 M) contendo SDS a 1% com aquecimento a 56°C por 10 minutos. Com a adição de 60 µL de NaCl 5 M, as proteínas foram separadas após centrifugação a 5.000 rpm por 10 minutos. Ao sobrenadante foi acrescido álcool etílico 100% para precipitação, seguida de 2 lavagens com etanol 70%. Ao DNA precipitado, adicionou-se 100 µL do tampão TE (Tris-HCl, 10 mM, e EDTA, 1 mM, pH 8,0) e conservou-se a -20°C.

A quantificação do DNA foi realizada em espectrofotômetro Beckman, modelo DU 640 (EUA) após diluição das amostras (1 : 100) em tampão TE (SAMBROOK *et al.*, 1989), baseado na absortividade molar do DNA a 260 nm e 280 nm.

Para avaliação da pureza das amostras de DNA extraído, calculou-se a relação de absortividade molar 260 nm/280 nm e também avaliada pela técnica de eletroforese em gel de agarose a 1% em tampão TBE (Tris-HCl a 0,45 mM; ácido bórico a 0,45 mM; EDTA a 2,5 mM) contendo brometo de etídeo 0,5 mg/L em cuba submersa da Gibco BRL (Life Technologies Inc. Gaithersburg, MD, EUA). Foram testados 5 µL de DNA diluídos em 3 µL do tampão de amostra (azul de bromofenol 0,25%, xilenocianol FF 0,25% e

glicerol 30%). Após a separação eletroforética por 45 minutos a 100 Volts (fonte de Pharmacia mod. EPS 200), a visualização foi realizada sob luz ultravioleta em um transiluminador Macrovue da Pharmacia LKB, Uppsala (Suécia), a seguir documentada com máquina fotográfica Polaroid, modelo DS 34 (Cambridge, EUA), munida de filtro de cor alaranjada.

3.3.4 Procedimento para Amplificação da Região Polimórfica de DNA, Protocolo Básico

O protocolo básico aqui descrito foi utilizado para a amplificação de todas as regiões polimórficas estudadas. As modificações pertinentes foram realizadas e estão descritas para cada loco amplificado.

Em um tubo específico de amplificação foram pipetados os seguintes reagentes com as respectivas concentrações finais: tampão 10X (Tris-HCl 10 mM, KCl 50 mM, pH 9,0), 10 mM; cada nucleotídeo (dATP, dCTP, dGTP e dTTP), 10 nM; iniciador sense, 0,5 µL; iniciador anti-sense, 0,5 µL; Mg₂Cl₂, 2 mM; DMSO a 5%; DNA, 100 ng; Taq Polimerase, 2U.

3.3.5 Determinação do Polimorfismo Inserção/Deleção I/D do Gene da ECA

- Amplificação da Região Polimórfica I/D do Gene da ECA

A região polimórfica do intron 16 do gene da ECA foi amplificada pela reação em cadeia por polimerase (PCR) utilizando os iniciadores propostos por TIRET *et al.* (1992), seguindo as mesmas condições descritas no protocolo geral. Utilizou-se termociclador Gene Amp PCR System 2400

Perkin – Elmer Cetus, EUA, com a seguinte programação: 98°C durante 3 minutos (desnaturação inicial); 28 ciclos de 1 minuto a 95°C (desnaturação); 28 ciclos de 2 minutos a 68°C (hibridação); 28 ciclos de 1 minuto a 72°C (polimerização); 10 minutos a 72°C (polimerização final). Após a polimerização final, a reação foi interrompida por resfriamento a 4°C.

- **Avaliação dos Produtos da Amplificação**

Alíquotas de 5 µL dos produtos de PCR foram avaliados por eletroforese horizontal em gel de agarose a 2% que foi preparado em tampão Tris pH 8,6. Paralelamente, 1 µL do marcador molecular de DNA de 100 bp diluído 1 : 6 no tampão da amostra foi preparado e utilizado como referência. A separação eletroforética seguiu os mesmos procedimentos para identificação da pureza do DNA, utilizando um tempo de 60 minutos com tensão de 100 V. O gel foi fotografado com o sistema Polaroid modelo DS 34, filme 667 instantâneo, 3000 ASA, após a visualização das bandas de DNA no transiluminador UV. O fragmento de DNA de inserção apresenta 490 bp, e o de ausência de inserção, 190 bp.

3.3.6 Determinação do Polimorfismo do Gene da apo E

- **Procedimento para Amplificação do DNA**

A região polimórfica do gene da apo E foi amplificada por PCR utilizando os iniciadores propostos por HIXSON & VENIER (1990), seguindo as mesmas condições descritas no protocolo geral. Utilizou-se termociclador Gene Amp PCR System 2400 Perkin – Elmer Cetus, EUA, com a seguinte programação: 98°C durante 3 minutos (desnaturação inicial); 30 ciclos de 1 minuto a 95°C (desnaturação); 30 ciclos de 1 minuto e 30 segundos a 68°C (hibridação); 30 ciclos de 2 minutos a 72°C (polimerização); 10 minutos a

72°C (polimerização final). Após a polimerização final, a reação foi interrompida por resfriamento a 4°C.

- Restrição Enzimática

Os produtos amplificados pela PCR foram submetidos à ação da enzima de restrição, *HhaI*, conforme protocolo: em um tubo de Eppendorff de 0,5 ml, foram pipetados 5,0 µL de produtos de amplificação, 3,0 µL de água estéril e 2,0 µL de *HhaI*. Foram incubados em banho de água a 37°C durante 4 horas. Os produtos da restrição enzimática da região polimórfica do gene da apo E foram fracionados por eletroforese vertical, usando como suporte o gel de poliacrilamida a 15% em TBE. 10 µl de produtos de restrição enzimática e paralelamente padrão de 10 bp e 100 pb foram aplicados no gel e a separação se processou utilizando uma corrente de 120 V durante 5 horas e 40 minutos. Após a separação eletroforética e a coloração com sais de prata, observamos fragmentos com 91 e 83 bp que correspondem à presença de Apo E2; 91, 48 e 35 bp que correspondem à presença de Apo E3; 72, 48 e 35 bp que correspondem à presença de Apo E4.

3.3.7 Determinação do Polimorfismo I/D no Peptídeo Sinalizador do Gene da apo B

- Procedimento de Amplificação do DNA

A região polimórfica I/D do gene da apo B, localizada na região do peptídeo sinalizador, foi amplificada pela PCR com o auxílio dos iniciadores, na concentração de 0,2 µM, descritos por BOERWINKLE & CHAN (1989) e RENGES *et al.* (1991) seguindo as mesmas condições descritas no protocolo geral. Utilizou-se termociclador Gene Amp PCR System 2400

Perkin – Elmer Cetus, EUA, com a seguinte programação: 98°C durante 10 minutos (desnaturação inicial); 30 ciclos de 1 minuto e 30 segundos a 96°C (desnaturação); 30 ciclos de 1 minuto e 30 segundos a 52°C (hibridação); 30 ciclos de 10 minutos a 72°C (polimerização); 10 minutos a 72°C (polimerização final). Após a polimerização final, a reação foi interrompida por resfriamento a 4°C.

Uma alíquota de 2 µL do produto de PCR diluída em 1 µL de tampão de amostra foi aplicada em gel de acrilamida a 10% em TBE para proceder a separação eletroforética. Paralelamente, foi aplicado um marcador molecular de 100 bp Gibco BLL Life Technologies. A eletroforese foi realizada em temperatura ambiente, por 3 horas a 90 V. Após a corrida, fixou-se o DNA no gel de acrilamida em solução etanólica-acética (10%/0,5%), a seguir foi corada com sal de prata. Os géis foram imortalizados pela secagem entre duas folhas de papel acetato-celofane (Novex, San Diego, Califórnia, EUA).

A interpretação dos fragmentos da separação eletroforética foi realizada da seguinte forma: um fragmento de 93 bp caracteriza presença de genótipo inserção homocigoto (I/I); um fragmento de 84 bp caracteriza presença de genótipo deleção (D/D); a presença de 2 bandas caracteriza o genótipo heterocigoto (I/D).

3.3.8 Obtenção de Peso e Altura

O peso (kg) e altura (cm) dos participantes foram obtidos com uma balança marca Filizola munida de régua.

O cálculo do índice de massa corpórea (IMC) foi baseado na fórmula de Quetelet, $IMC = \text{peso}/\text{altura}^2$.

3.3.9 *Análise Estatística*

Todas as variáveis foram analisadas descritivamente. Para as variáveis contínuas, a análise foi feita pela observação dos valores mínimos e máximos e do cálculo de médias e desvios-padrão. Para as variáveis classificatórias, foram calculadas frequências absolutas e relativas.

A associação entre os polimorfismos e as variáveis lipídicas foi verificada utilizando-se a Análise de Variância. Para essa análise, as variáveis lipídicas foram transformadas através do logaritmo para a normalização dos dados. A comparação entre proporções foi avaliada pelo teste Qui-quadrado ou teste exato de Fisher. O nível de significância utilizado para os testes foi de 5%.

4. RESULTADOS

Os resultados individuais dos dados clínicos, dos parâmetros bioquímicos, da análise dos polimorfismos (I/D) do gene da enzima conversora da angiotensina (ECA) e do polimorfismo para inserção ou deleção (I/D) na seqüência do peptídeo sinalizador da apo B, assim como a genotipagem da apo E, pressão arterial (diastólica e sistólica) e o hábito de fumar dos indivíduos estudados estão apresentados nos **Anexos 1 e 2**.

Na **Tabela 2** e na **Figura 5** encontram-se os resultados da frequência de indivíduos hipertensos em cada comunidade. Nas comunidades Furnas do Dionísio e São Benedito há maior número de hipertensos, 41,1% e 41,7%, do que nas comunidades do Limão e Boa Sorte, 21,1% e 22,7%, respectivamente; mas o estudo estatístico não mostrou diferença significativa, $p=0,164$.

Tabela 2. Distribuição percentual do número de indivíduos afro-brasileiros normotensos e hipertensos de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito).

COMUNIDADES	PRESSÃO ARTERIAL		
	Hipertensos	Normotensos	Total
Boa Sorte	(5) 22,7%	(17) 77,3%	(22)
Dionísio	(44) 41,1%	(63) 58,9%	(107)
Limão	(4) 21,0%	(15) 78,9%	(19)
São Benedito	(15) 41,7%	(21) 58,3%	(36)
Total	(68)	(116)	(184)

Qui-Quadrado = 5,114 (p = 0,164)

p: probabilidade; número de indivíduos entre parênteses.

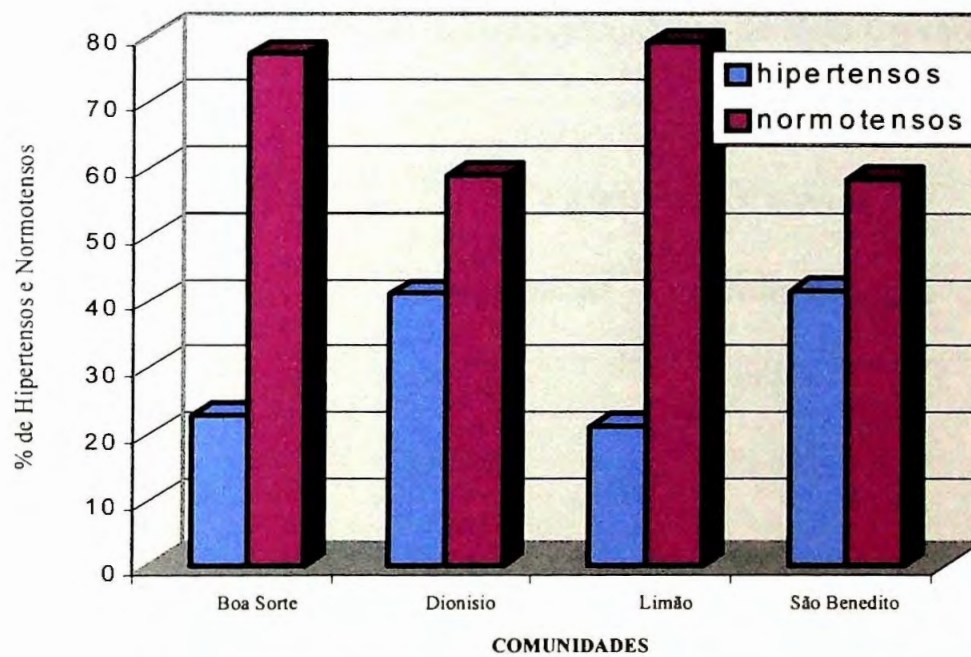


Figura 5. Gráfico ilustrando a distribuição percentual dos indivíduos afro-brasileiros hipertensos e normotensos dos diversos grupos estudados (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte).

Pelo fato de o Índice de Massa Corpórea elevado ser considerado um importante fator de risco para DAC, testou-se seu efeito na pressão arterial dos indivíduos dessas quatro comunidades. Os resultados revelaram que no grupo dos indivíduos com IMC mais elevado ($\geq 25 \text{ kg/m}^2$) encontra-se maior número de hipertensos ($p = 0,001$), como mostra a **Tabela 3** e a **Figura 6**.

Tabela 3. Efeito do Índice de Massa Corpórea (IMC) na pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul.

IMC (kg/m^2)	PRESSÃO ARTERIAL		
	Hipertensos	Normotensos	Total
<25	(32) 27,1%	(86) 72,9%	(118)
≥ 25	(36) 54,5%	(30) 45,5%	(66)
Total	(68)	(116)	(184)

Qui-Quadrado = 13,666 ($p = 0,001$)

IMC: Índice de massa corpórea; p: probabilidade; número de indivíduos entre parênteses.

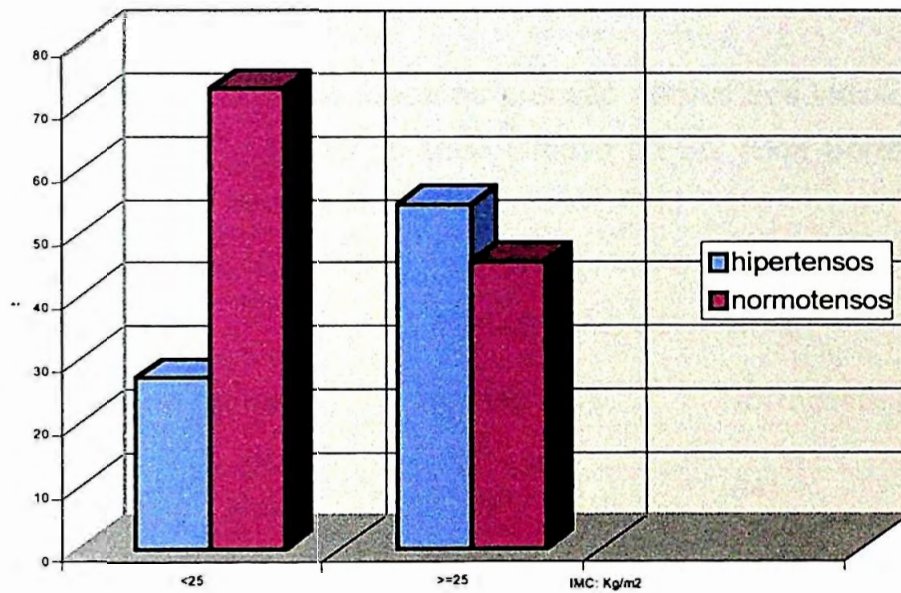


Figura 6. Gráfico representando a relação entre o índice de massa corpórea (grupos com IMC < 25 kg/m² e 25 kg/m²) e a pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio). IMC: índice de massa corpórea.

Os resultados do estudo da influência da idade na pressão arterial mostram que o número de hipertensos aumenta à medida que avança a idade ($p = 0,001$), conforme mostra a **Tabela 4** e a **Figura 7**.

Participaram deste estudo indivíduos com faixa etária de 20 a 40 anos, de 41 a 60 anos e acima de 60 anos.

Tabela 4. Influência da idade na pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito).

Idade (anos)	PRESSÃO ARTERIAL		Total
	Hipertensos	Normotensos	
20 – 40	(24) 22,2%	(84) 77,8%	(108)
41 – 60	(26) 50,0%	(26) 50,0%	(52)
>60	(18) 75,0%	(6) 25,0%	(24)
Total	(68)	(116)	(184)

Qui-Quadrado: 28,769 ($p = 0,001$)

p: probabilidade; número de indivíduos entre parênteses.

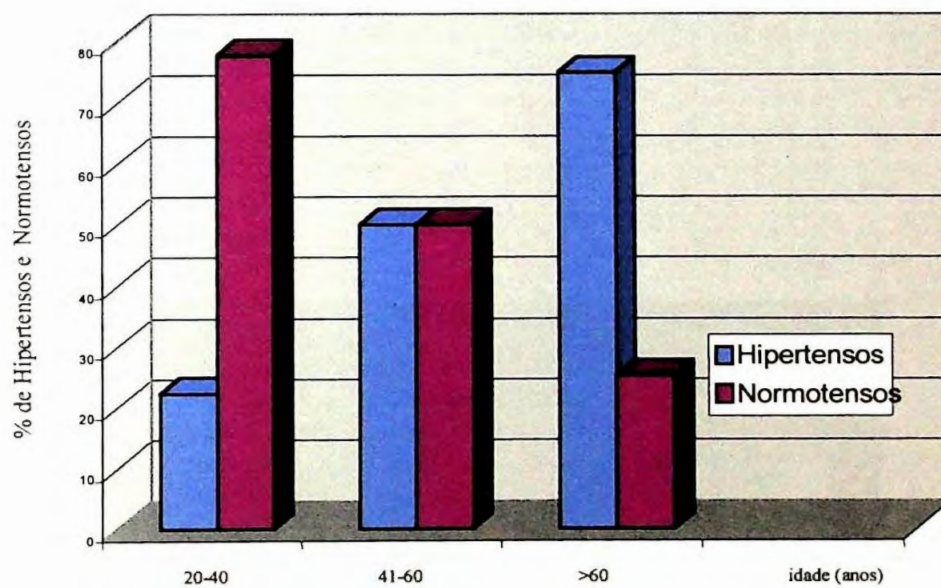


Figura 7. Gráfico representando a influência da idade (faixa etária de 20 a 40 anos, 41 a 60 anos e acima de 60 anos) sobre pressão arterial dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte).

4.1 Análise do Polimorfismo de Inserção/Deleção (I/D) do Gene da ECA

A fotografia dos produtos de amplificação após separação por eletroforese em gel de agarose a 2% está ilustrada na **Figura 8**. Os indivíduos homocigotos para deleção apresentam apenas um fragmento de DNA de 190 bp. Os indivíduos homocigotos para inserção apresentam um fragmento de DNA de 490 bp e os heterocigotos, dois fragmentos de DNA, de 490 bp e de 190 bp.

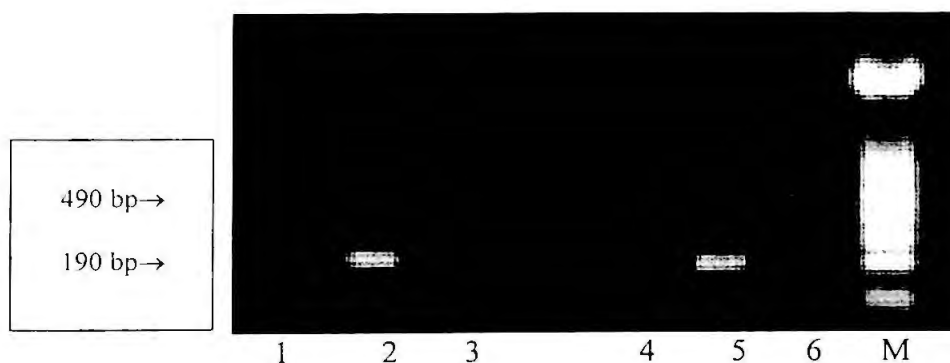


Figura 8. Gel de agarose a 2% corado com brometo de etídeo mostrando os produtos de amplificação do gene da ECA (genótipos DD: linhas 2 e 5; genótipos ID: linhas 1 e 4; genótipos II: linhas 3 e 6; marcador de 100 bp: linha M).

As análises dos genótipos do polimorfismo da ECA (resultados não apresentados) não se mostraram significativas quando correlacionadas com hipertensão, índice de massa corpórea e sexo. Motivo pelo qual foram apresentadas apenas as análises com os alelos.

A **Tabela 5** apresenta os resultados das freqüências dos alelos do polimorfismo do gene da ECA das populações em estudo das quatro comunidades. A freqüência do alelo D foi mais elevada na comunidade Furnas do Dionísio (71,9%), seguida por Boa Sorte (59,1%), Limão (55,3%) e São Benedito (38,9%). Portanto, houve uma diferença significativa nas freqüências desse alelo nas comunidades estudadas ($p = 0,001$).

Tabela 5. Freqüência dos alelos do polimorfismo de inserção/deleção do gene da ECA nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito).

Alelos da ECA	COMUNIDADES				Total
	Boa Sorte	Dionísio	Limão	São Benedito	
D	26 59,1%	154 72,0%	21 55,3%	28 38,9%	229
I	18 40,9%	60 28,0%	17 44,7%	44 61,1%	139
Total	44	214	38	72	368

Qui-Quadrado: 26,282 ($p = 0,001$)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

Foi pesquisada a associação dos alelos D e I do polimorfismo do gene da ECA com a freqüência de hipertensão na comunidade Furnas de Dionísio, que teve maior número de participantes neste estudo, e nas quatro comunidades reunidas. Os resultados estão apresentados nas **Tabelas 6 e 7**

e nas Figuras 9 e 10, que não mostraram associação entre os alelos do polimorfismo do gene da ECA e hipertensão de forma estatisticamente significativa.

Tabela 6. Associação dos alelos do polimorfismo de inserção/deleção do gene da ECA e a frequência de hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros da comunidade Furnas do Dionísio em Mato Grosso do Sul.

Pressão Arterial	Alelos do Polimorfismo I/D do Gene da ECA		
	D	I	Total
Hipertensos	65 42,2%	23 38,3%	88
Normotensos	89 57,8%	37 61,7%	126
Total	154	60	214

Qui-Quadrado: 0,268 (p = 0,605)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

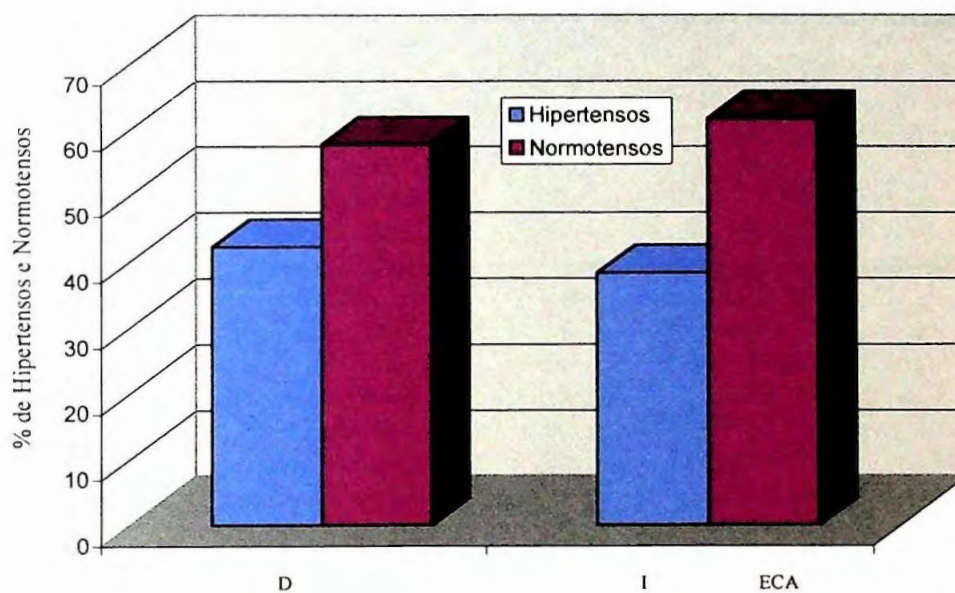


Figura 9. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros da comunidade Furnas do Dionísio. D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina.

Tabela 7. Associação do polimorfismo I/D do gene da ECA com a frequência de hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Furnas do Dionísio, Boa Sorte, Limão e São Benedito).

Frequência de Alelos do Polimorfismo da ECA			
Pressão Arterial	D	I	Total
Hipertensos	91 39,7%	45 32,3%	136
Normotensos	138 60,3%	94 67,7%	232
Total	229	139	368

Qui-Quadrado: 2,013 (p = 0,156)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

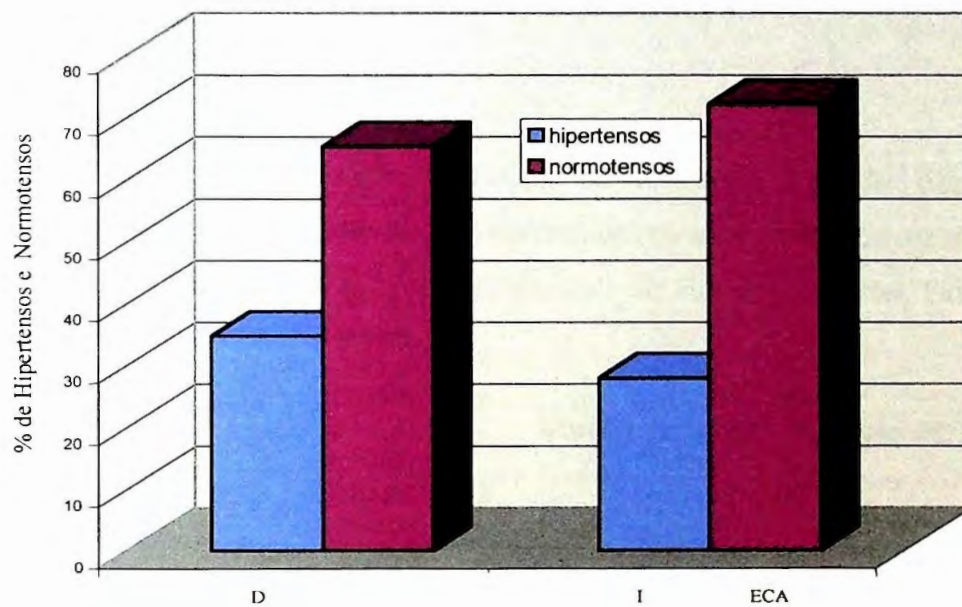


Figura 10. Gráfico representando a associação do polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina com hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio); D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina.

Nos últimos anos, o avanço tecnológico, a vida sedentária e a alimentação hipercalórica contribuíram de forma significativa para o aumento do peso corporal dos indivíduos, que é um fator de risco para DAC. Por essa razão, foi pesquisada a associação entre o polimorfismo do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos com IMC abaixo de 25 kg/m² e com IMC igual ou acima de 25 kg/m². Os resultados obtidos não demonstraram essa associação (Tabelas 8 e 9 e Figuras 11 e 12).

Tabela 8. Associação entre o polimorfismo I/D do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com IMC abaixo de 25 kg/m² das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito).

	Alelos do polimorfismo I/D do Gene da ECA		
	D	I	Total
Hipertensos	43 29,5%	21 23,3%	64
Normotensos	103 70,5%	69 76,7%	172
Total	146	90	236

Qui-Quadrado: 1,055 (p = 0,304)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

Tabela 9. Associação entre o polimorfismo I/D do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com IMC ≥ 25 kg/m² das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito).

	Alelos do polimorfismo do gene da ECA		
	D	I	Total
Hipertensos	48 57,8%	24 49,0%	72
Normotensos	35 42,2%	25 51,0%	60
Total	83	49	132

Qui-Quadrado= 0,974 (p = 0,324)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

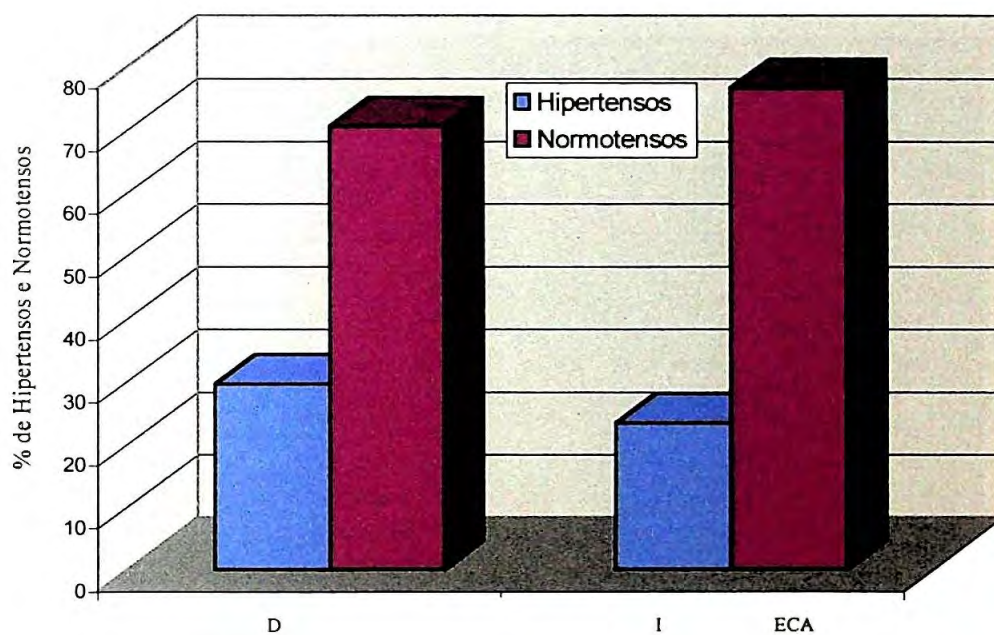


Figura 11. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com $IMC < 25\text{kg/m}^2$ das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio); D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina; IMC: índice de massa corpórea.

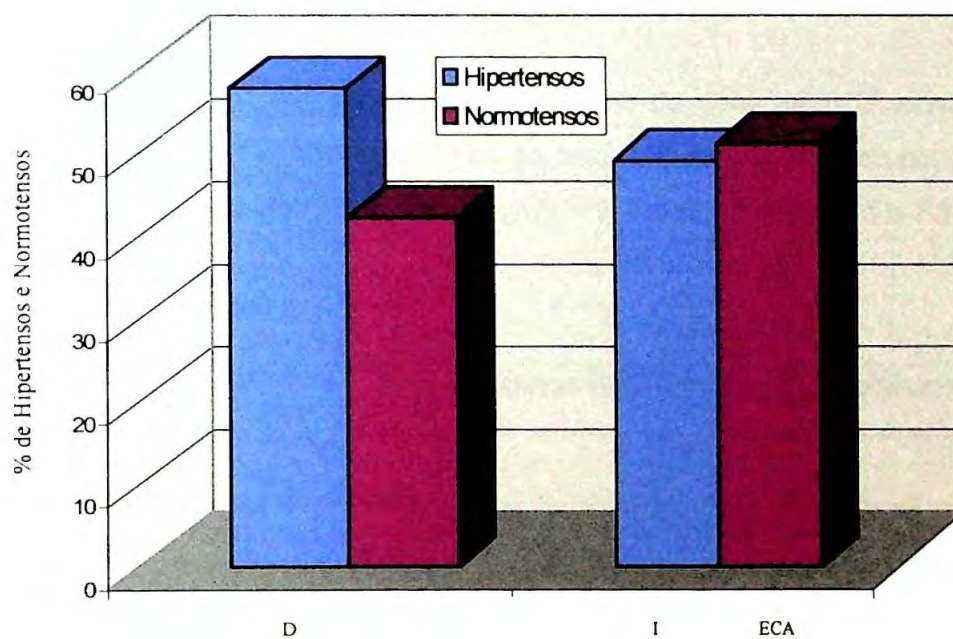


Figura 12. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com $\text{IMC} \geq 25\text{kg/m}^2$ das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio); D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina; IMC: índice de massa corpórea.

Foi estudada, também, a associação do polimorfismo I/D do gene da ECA com hipertensão nos subgrupos separados por sexo (Tabelas 10 e 11 e Figuras 13 e 14) porque há evidências de que o efeito desse fator genético sobre a pressão arterial está ligado ao sexo (KREAGE *et al.*, 1996). Pelos resultados obtidos, foi observada a associação entre o alelo D do gene da ECA e hipertensão nos homens ($p = 0,037$), conforme mostra a Tabela 11 e a Figura 14.

Tabela 10. Associação do polimorfismo do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros do sexo feminino de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Limão, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e São Benedito).

	Alelos do Polimorfismo do Gene da ECA		
	D	I	Total
Hipertensos	38 35,2%	28 35,9%	66
Normotensos	70 64,8%	50 64,1%	120
Total	108	78	186

Qui-Quadrado: 0,010 ($p = 0,920$)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

Tabela 11. Associação do polimorfismo do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Limão, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e São Benedito).

	Alelos do Polimorfismo do Gene da ECA		
	D	I	Total
Hipertensos	53 43,8%	17 32,9%	70
Normotensos	68 56,2%	44 72,1%	112
Total	121	61	182

Qui-Quadrado:4,35 (p = 0,037)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

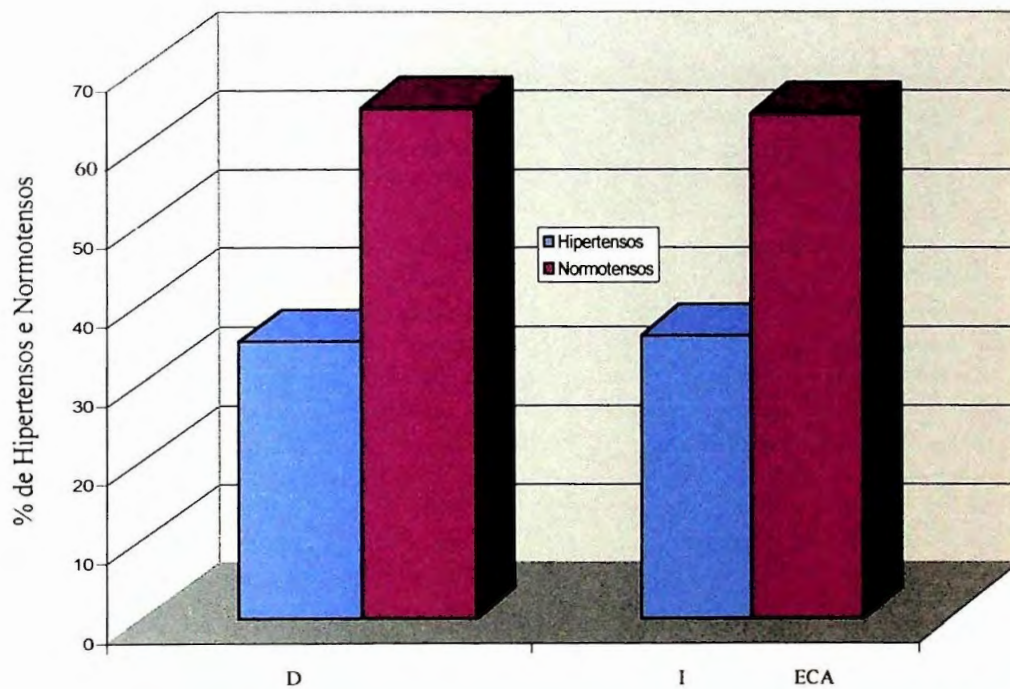


Figura 13. Gráfico representando a associação do polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina com hipertensão nas mulheres afro-brasileiras das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio); D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina.

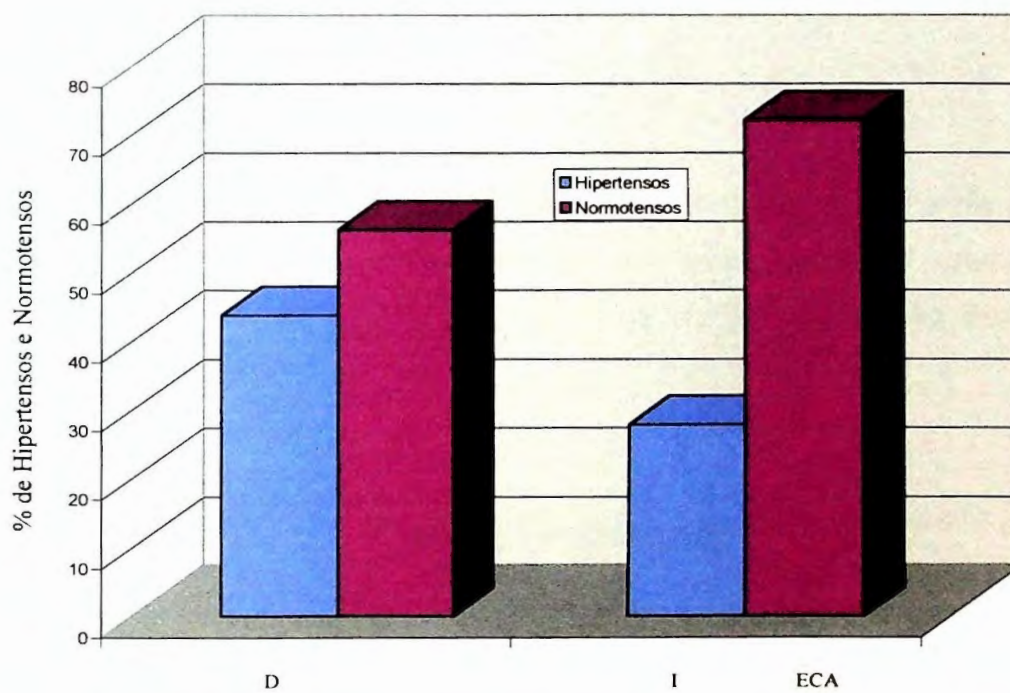


Figura 14. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos homens afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio); D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina.

Como foi encontrada uma associação do alelo D do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos do sexo masculino, foi realizado um estudo para observar se havia efeito desse polimorfismo na pressão arterial sistólica (PAS) ou na pressão arterial diastólica (PAD) nos subgrupos feminino e masculino. Os resultados apresentados só revelaram diferenças significativas, estatisticamente, no subgrupo masculino, tanto para PAD ($p = 0,0147$), como para PAS ($p = 0,0073$) (Tabelas 12, 13, 14 e 15).

Tabela 12. Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA na PAD nos indivíduos afro-brasileiros do sexo feminino das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, São Benedito e Furnas do Dionísio).

ECA	n	PRESSÃO ARTERIAL	
		PAD (mmHg)	DP
D	108	83,74	13,69
I	78	85,33	12,71
Variança t= -0,8064		P>t= 0,421	

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; PAD: média da pressão arterial diastólica; n: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; P>t: probabilidade.

Tabela 13. Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA na PAS dos indivíduos afro-brasileiros do sexo feminino das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito).

ECA	n	PRESSÃO ARTERIAL	
		PAS(mmHg)	DP
D	108	131,22	25,47
I	78	133,25	23,41

Variância $t = -0,5558$ $p > t = 0,5790$

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; PAS: média da pressão arterial sistólica; DP: desvio-padrão; $p > t$: probabilidade; n: número de indivíduos afro-brasileiros do sexo feminino.

Tabela 14. Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA na PAD dos indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Limão, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e São Benedito).

ECA	n	PRESSÃO ARTERIAL	
		PAD (mmHg)	DP
D	121	86,75	14,11
I	61	82,37	9,56

Variância $t = 2,4657$ $p > t = 0,0147$

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; $p > t$: probabilidade; n: número de indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino; PAD: média da pressão arterial diastólica.

Tabela 15. Influência dos alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA na PAS dos indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Limão, São Benedito e Furnas do Dionísio).

PRESSÃO ARTERIAL			
ECA	n	PAS (mmHg)	DP
D	121	137,79	30,03
I	61	127,45	20,65
Variança t=2,7186		p>t= 0,0073	

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p>t: probabilidade; n: número de indivíduos afro-brasileiros do sexo masculino; PAS: pressão arterial sistólica.

Sabe-se que a idade avançada representa um fator de risco para DAC pelo tempo de exposição a vários fatores que predispõem à aterosclerose. Por essa razão, foi testada a associação dos alelos do polimorfismo da ECA e hipertensão nos indivíduos com faixa etária de 20 a 40 anos e acima de 40 anos. Os dados apresentados demonstraram que existe associação, apenas, entre os alelos do polimorfismo do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos acima de 40 anos (**Tabelas 16 e 17 e Figuras 15 e 16**).

Tabela 16. Associação entre os alelos do polimorfismo do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com faixa etária de 20 a 40 anos das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Furnas do Dionísio, Limão e Boa Sorte).

	Alelos do Polimorfismo I/D do gene da ECA		
	D	I	Total
Hipertensos	29 21,5%	19 23,5%	48
Normotensos	106 78,5%	62 76,5%	168
Total	135	81	216
Qui-Quadrado: 0,114 (p = 0,735)			

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

Tabela 17. Associação entre o polimorfismo do gene da ECA e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros com faixa etária acima de 40 anos das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte).

	Alelos do polimorfismo I/D do gene da ECA		
	D	I	Total
Hipertensos	62 66,0%	26 44,8%	88
Normotensos	32 34,0%	32 55,2%	64
Total	94	58	152

Qui-Quadrado: 6,569 (p = 0,010)

ECA: enzima conversora de angiotensina; D: alelo de deleção do gene da ECA; I: alelo de inserção do gene da ECA; p: probabilidade.

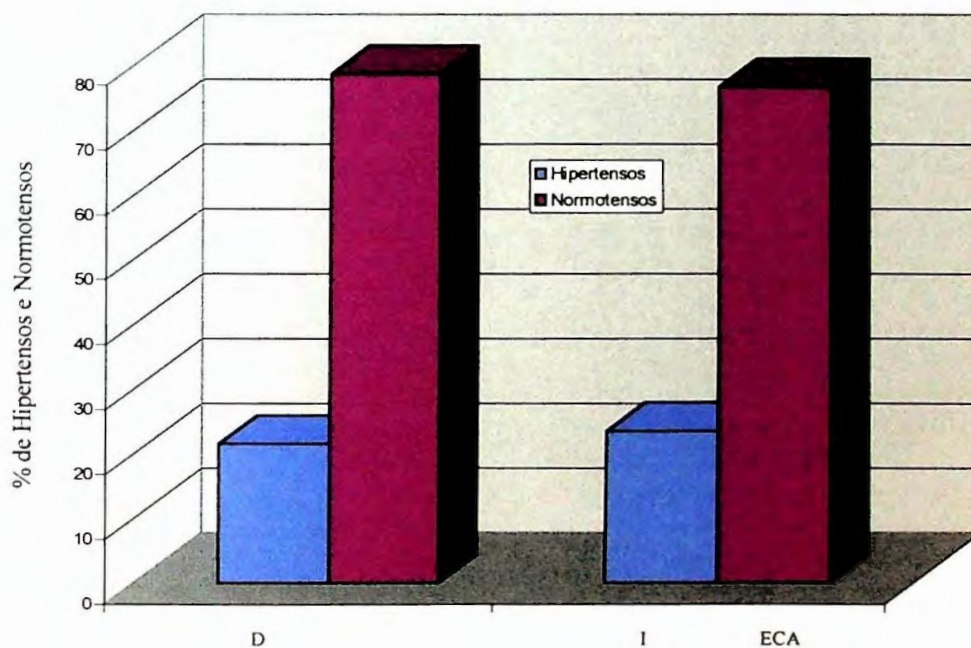


Figura 15. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros de 20 a 40 anos das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio); D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina.

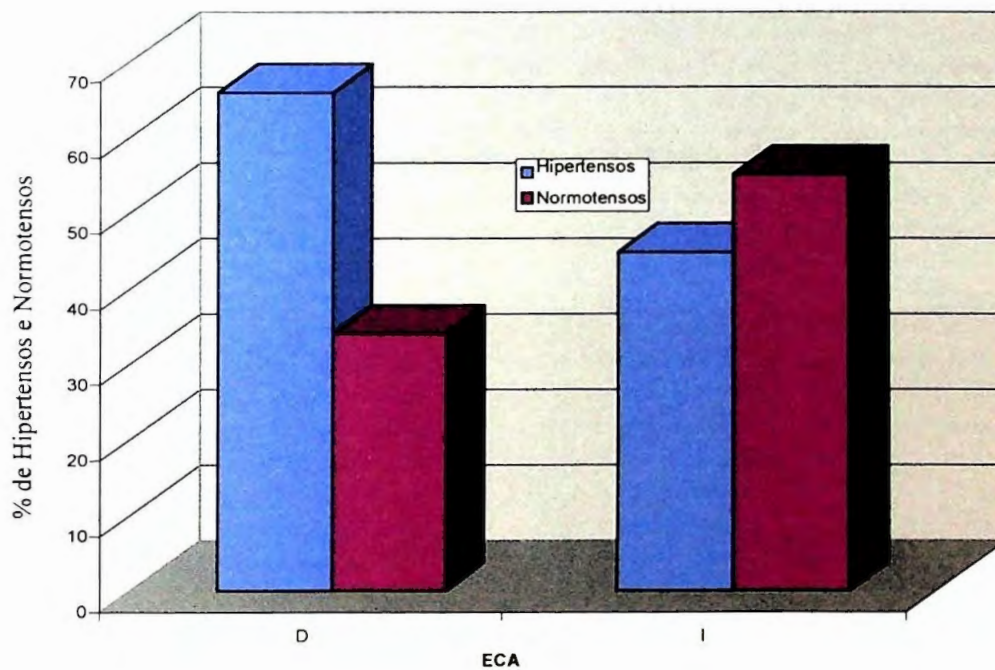


Figura 16. Gráfico representando a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina e hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros acima de 40 anos de idade das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Boa Sorte e Furnas do Dionísio); D: alelo de deleção do polimorfismo do gene da enzima conversora da angiotensina; I: alelo de inserção do polimorfismo da enzima conversora da angiotensina; ECA: enzima conversora da angiotensina.

4.2 Análise do Polimorfismo do Gene da apo E

Os fragmentos de DNA, resultantes da amplificação e da restrição enzimática da região polimórfica *HhaI* do gene da apo E, separados por eletroforese vertical usando como suporte o gel de poliacrilamida a 15%, são ilustrados na **Figura 17**.

Polimorfismo *HhaI* do Gene da apo E

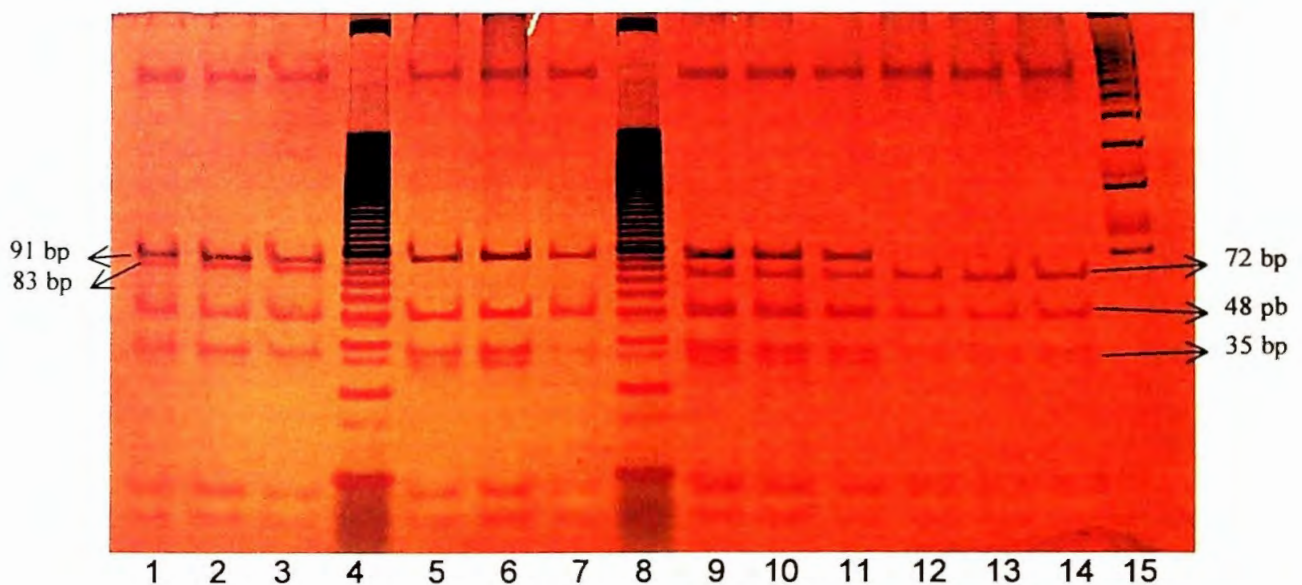


Figura 17. Fotografia do gel de poliacrilamida a 15% corado com sais de prata. Nas linhas 1, 2 e 3 apresentam-se os genótipos E3E2 das apolipoproteínas E; nas linhas 5, 6 e 7, os genótipos E3E3 das apolipoproteínas E; e nas linhas 12, 13 e 14, os genótipos E4E4 das apolipoproteínas E. Nas linhas 4 e 8 apresentam-se os marcadores de 10 bp e na linha 15, o marcador de 100 bp.

Pela análise estatística realizada, não houve influência dos genótipos da apo E nos parâmetros lipídicos (resultados não mostrados) dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades estudadas (Boa Sorte, Limão, Furnas do Dionísio e São Benedito).

Na **Tabela 18** está apresentada a frequência dos alelos do polimorfismo *Hhal* do gene da apo E. Nas quatro comunidades de Mato Grosso do Sul, a frequência do alelo E2 foi a mais baixa, em seguida tivemos a do alelo E4, e a mais alta foi a do alelo E3, que é considerado o mais comum.

Tabela 18. Frequência de alelos do polimorfismo *Hhal* do gene da apo E nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Furnas do Dionísio, Boa Sorte, Limão e São Benedito).

Apo E	COMUNIDADES				Total
	Boa Sorte	Dionísio	Limão	São Benedito	
E2	1 2,3%	35 16,5%	4 10,5%	4 5,6%	44 8,7%
E3	34 77,3%	120 56,6%	25 65,8%	59 81,9%	238 70,4%
E4	9 20,4%	57 26,9%	9 23,7%	9 12,5%	84 20,9%
Total	44	212	38	72	366

Qui-Quadrado: 21,091 (p = 0,002)

E2: alelo E2 da região polimórfica *Hhal* do gene da apolipoproteína E; E3: alelo E3 da região polimórfica *Hhal* do gene da apolipoproteína E; E4: alelo E4 da região polimórfica *Hhal* do gene da apolipoproteína E; p: probabilidade.

O efeito dos alelos do polimorfismo *HhaI* do gene da apo E sobre as concentrações séricas de lipídeos dos indivíduos afro-brasileiros pertencentes a quatro comunidades de Mato Grosso do Sul está demonstrado na **Tabela 19** e na **Figura 18**. Os dados apresentados nessa tabela não revelam diferenças significativas nas concentrações de lipídeos séricos entre os alelos da apo E.

Tabela 19. Efeito dos alelos do polimorfismo *HhaI* do gene da apo E sobre as concentrações de lipídeos séricos dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Boa Sorte, Furnas do Dionísio e Limão).

Lipídeos:	Alelos do Polimorfismo <i>HhaI</i> do Gene da apo E			p
	E2	E3	E4	
média ± DP	n : 43	n : 233	N : 84	
CT mg/dL	179,3 ± 36,3	176,1 ± 35,7	174,4 ± 39,7	0,6961
HDL-C mg/dL	45,6 ± 8,9	47,0 ± 12,7	48,6 ± 12,8	0,4372
LDL-C mg/dL	111,9 ± 31,8	103,8 ± 32,1	104,8 ± 34,8	0,3264
TG mg/dL	102,8 ± 91,2	115,7 ± 77,5	95,6 ± 64,9	0,0517

E2: alelo E2 da região polimórfica *HhaI* do gene da apolipoproteína E; E3: alelo E3 da região polimórfica *HhaI* do gene da apolipoproteína E; E4: alelo E4 da região polimórfica *HhaI* do gene da apolipoproteína E; p: probabilidade; n: número de indivíduos; DP: desvio-padrão; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: triacilgliceróis.

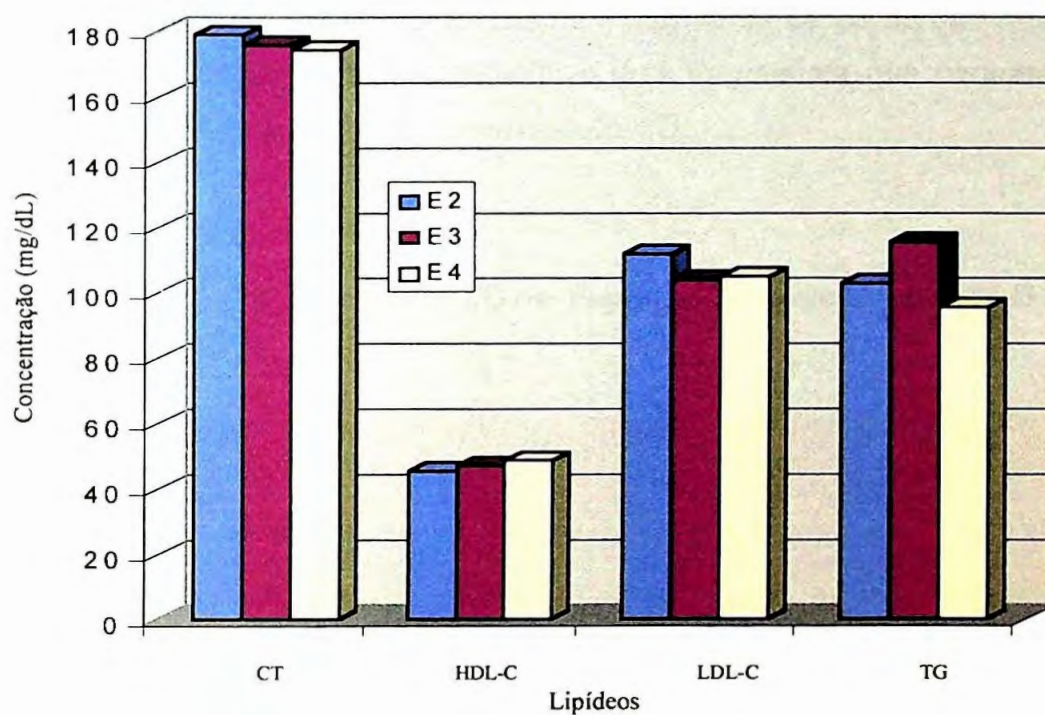


Figura 18. Gráfico representando o efeito do polimorfismo do gene da apolipoproteína E sobre as concentrações de lipídeos séricos dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte); CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: triacilgliceróis; E2, E3 e E4: alelos da apolipoproteína E.

4.3 Análise do Polimorfismo I/D na Sequência Codificadora do Peptídeo Sinalizador da apo B

Os fragmentos de DNA, obtidos após amplificação por PCR seguida da separação por gel de poliacrilamida a 10%, são mostrados na **Figura 19**. No gel, podemos observar um fragmento de 84 bp que corresponde ao genótipo Deleção homozigoto (DD), um fragmento de 93 bp que representa o genótipo Inserção homozigoto (II) e dois fragmentos que caracterizam o genótipo Inserção/Deleção (heterozigoto, I/D).

Polimorfismo I/D do Peptídeo Sinalizador da apo B

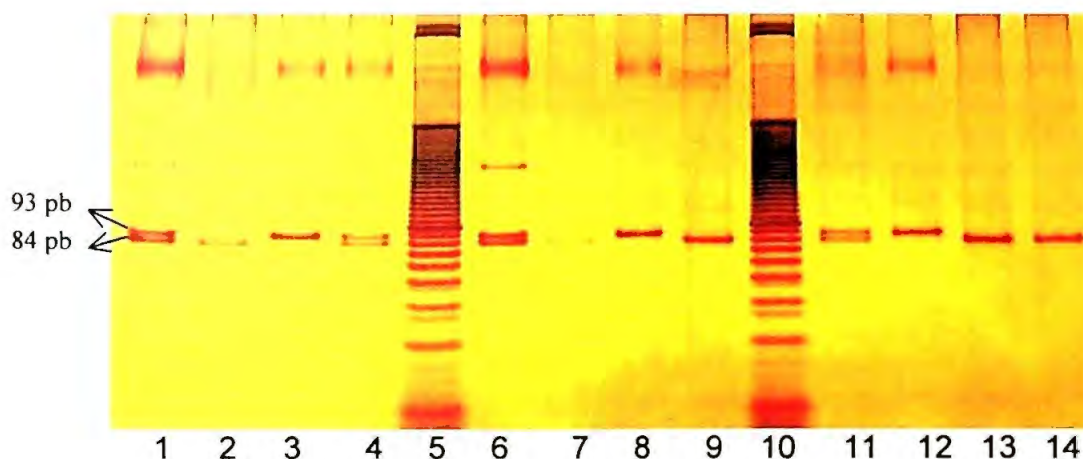


Figura 19. Fotografia de gel de poliacrilamida a 10%, corado com sais de prata, mostrando os genótipos II (linhas 3, 8 e 12); ID (linhas 1, 4, 6 e 11); DD (linhas 2, 9, 13, e 14); e o marcador de tamanho molecular de 100 bp (linhas 5 e 10).

A análise estatística realizada avaliando a influência dos genótipos do polimorfismo do peptídeo sinalizador da apo B sobre as concentrações séricas de lipídeos dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades estudadas (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito) não se mostrou significativa (resultado não apresentado).

As freqüências dos alelos da seqüência codificadora no peptídeo sinalizador da apo B estão apresentadas na **Tabela 20**. A freqüência do alelo I foi mais alta (73,65%) do que a do alelo D (26,35%). Houve uma diferença significativa nas freqüências desses alelos na população afro-brasileira das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul estudadas ($p = 0,001$).

Tabela 20. Freqüência de alelos do polimorfismo I/D na seqüência codificadora do peptídeo sinalizador da apo B nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito).

I/D apo B	COMUNIDADES				Total
	Boa Sorte	Dionísio	Limão	São Benedito	
D	18	39	11	29	97
	40,9%	18,2%	28,9%	40,3%	26,3
I	26	175	27	43	271
	59,1%	81,8%	71,1%	59,7%	73,7
Total	44	214	38	72	368

Qui-Quadrado: 19,411 ($p = 0,001$)

I/D apo B: alelos de inserção e deleção da seqüência codificadora no peptídeo sinalizador da apolipoproteína B; D: alelo de deleção da seqüência codificadora no peptídeo sinalizador da apolipoproteína B; I: alelo de inserção da seqüência codificadora no peptídeo sinalizador da apolipoproteína B.

Os resultados da influência do polimorfismo I/D da seqüência codificadora no peptídeo sinalizador da apo B sobre as concentrações séricas de lipídeos estão demonstrados na **Tabela 21** e **Figura 20**. Os estudos estatísticos não demonstraram diferenças significativas nas concentrações séricas de lipídeos entre os indivíduos portadores dos alelos I/D do polimorfismo na seqüência codificadora do peptídeo sinalizador da apo B, exceto nas concentrações de colesterol total ($p=0,027$).

Tabela 21. Influência do polimorfismo I/D na seqüência codificadora do peptídeo sinalizador da apo B sobre os parâmetros lipídicos nos indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (Boa Sorte, Furnas do Dionísio, Limão e São Benedito).

Lipídeos (mg/dL)	Polimorfismo I/D da apo B		
	D	I	p
Média ± DP	n : 94	n : 268	
CT	183,0 ± 35,4	173,3 ± 36,9	0,027
HDL-C	46,3 ± 9,7	47,5 ± 13,1	0,3756
LDL-C	109,1 ± 32,3	103,3 ± 32,9	0,1416
TG	119,4 ± 77,6	105,9 ± 76,1	0,1431

D: alelo de deleção da seqüência codificadora no peptídeo sinalizador da apolipoproteína B; I: alelo de inserção da seqüência codificadora no peptídeo sinalizador da apolipoproteína B; n: número de indivíduos; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: triacilgliceróis; p: probabilidade; DP: desvio-padrão.

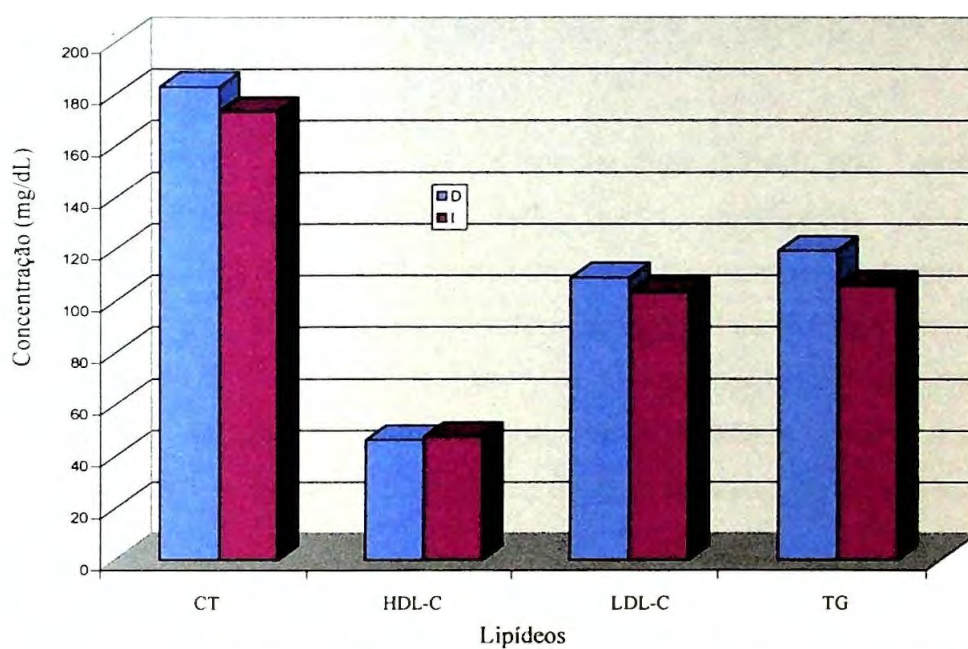


Figura 20. Efeito do polimorfismo I/D no peptídeo sinalizador do gene da apo B sobre os parâmetros lipídicos dos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades de Mato Grosso do Sul (São Benedito, Limão, Furnas do Dionísio e Boa Sorte); D: alelo de deleção do polimorfismo no peptídeo sinalizador do gene da apo B; I: alelo de inserção do polimorfismo no peptídeo sinalizador do gene da apo B; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da HDL; LDL-C: colesterol da LDL; TG: triacilgliceróis.

5. DISCUSSÃO

Durante várias décadas, as doenças cardiovasculares vêm sendo a principal causa de morte e incapacidade para o trabalho nos indivíduos dos países industrializados.

A etiologia da doença aterosclerótica ainda não está totalmente esclarecida. Muitas pesquisas estão sendo realizadas para elucidar a patogênese da aterosclerose, bem como os fatores que aceleram e interagem nesse processo. Muitos componentes genéticos participam no aparecimento dessa doença crônica degenerativa e, também, podem interagir com os fatores ambientais para sua progressão. Essa faceta multifatorial torna a aterosclerose muito complexa e desperta o interesse de muitas áreas de pesquisas.

Outro aspecto complexo no estudo da doença aterosclerótica é que nem sempre os dados estatísticos significativos de um estudo epidemiológico de uma grande população podem ser aplicados diretamente a cada indivíduo, porque vários fatores de risco podem atuar simultaneamente na patogênese da aterosclerose. A heterogeneidade dos fatores genéticos que predispõem à aterosclerose em um indivíduo também aumenta essa complexidade porque os indivíduos são portadores de fatores de risco genéticos que são característicos de cada um deles, e esses fatores podem atuar com maior ou menor intensidade dependendo da situação ambiental. Além disso, esses fatores genéticos podem interagir entre si.

Dentre os fatores de risco primários (hipertensão, hipercolesterolemia, tabagismo, história familiar de doença cardiovascular), há um consenso de que

a hipertensão está intimamente associada à iniciação e progressão do processo aterosclerótico (SOLBERG & McGARRY, 1972).

Vários estudos têm demonstrado que a mudança no estilo de vida e/ou uso de medicamentos anti-hipertensivos têm reduzido a mortalidade de DAC e de AVC nos indivíduos hipertensos (LITHEL, 1985; KANNEL *et al.*, 1986).

O avanço nas técnicas moleculares pode trazer contribuições para o conhecimento mais detalhado dos efeitos dos fatores genéticos no aparecimento da hipertensão.

Os genes que controlam a expressão do sistema renina-angiotensina são os que têm chamado mais atenção para esse estudo. O polimorfismo de inserção e deleção do gene da ECA foi descrito por RIGAT *et al.* (1992). Esse polimorfismo é o responsável pela variação da atividade da enzima circulante. Os indivíduos portadores do genótipo DD apresentam atividade de ECA 50% mais elevada do que os indivíduos portadores do genótipo II, mas os estudos são discordantes quanto à influência do genótipo DD da ECA no aumento da pressão arterial.

Os estudos epidemiológicos e clínicos têm demonstrado que a população negra apresenta maior prevalência de hipertensão do que a população caucasiana. Como as populações das quatro comunidades escolhidas para o nosso trabalho têm revelado pelos estudos epidemiológicos alto índice de mortalidade por DAC e AVC e, também, por não haver no Brasil um estudo do efeito do polimorfismo do gene da ECA sobre a pressão arterial na população negra, tivemos motivação a realizar esta pesquisa. Além disso, o caráter multifatorial na etiologia do processo aterosclerótico fez com que estudássemos a influência do polimorfismo do gene da apo B (I/D no peptídeo sinalizador) e do polimorfismo do gene da apo E nas concentrações séricas de colesterol desses indivíduos.

A análise de frequência dos alelos do polimorfismo no intron 16 do gene da ECA apresentada na **Tabela 5** mostrou que a frequência do alelo I foi de

0,38, ligeiramente inferior à frequência das populações da França (0,43) (RIGAT *et al.*, 1992), da Suíça (0,41) (SCHMIDT *et al.*, 1993) e do Norte da Europa (0,42) (RAYNOLDS *et al.*, 1993). Essa frequência obtida é inferior, também, à da população da Noruega (0,46) (BERGE & BERG, 1994) e da Áustria (0,48) (FRIEDL *et al.*, 1995). Nos indivíduos normotensos da população estudada, a frequência do alelo I foi de 0,41, que é inferior à da população afro-americana normotensa (0,51) (ZIAL *et al.*, 1998; DURU *et al.*, 1994) e da população japonesa (0,60) (ISHIGAMI *et al.*, 1995). Três das quatro comunidades estudadas apresentaram frequências do alelo I similares a essas das populações citadas, mas a frequência na comunidade Furnas do Dionísio foi muito baixa (0,28), que é ligeiramente inferior à encontrada na população da Austrália (0,30), segundo os estudos de JOHNSON *et al.* (1996).

A idade avançada e o aumento do índice da massa corpórea são considerados fatores importantes que predispõem à hipertensão. A idade avançada representa maior tempo de exposição aos fatores genéticos e ambientais que levam à hipertensão, ao passo que a obesidade, geralmente, é o resultado da falta de atividade física, alimentação hipercalórica ou distúrbio hormonal.

A análise dos resultados obtidos do estudo sobre a associação do IMC e hipertensão (**Tabela 3**) mostra que no subgrupo de indivíduos com IMC igual ou acima de 25 kg/m² encontram-se mais hipertensos (54,5%), comparando-se com o subgrupo com IMC inferior a 25 kg/m² (27,1%).

Os dados referentes ao estudo sobre a influência da idade na pressão arterial mostraram que os indivíduos acima de 40 anos têm mais chance de apresentar hipertensão do que os mais jovens (**Tabela 4**).

Esses dados obtidos que associam o IMC e a idade à hipertensão estão de acordo com a literatura (BURT *et al.*, 1995; III CONSENSO BRASILEIRO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 1998).

O envelhecimento, o aumento do IMC e os fatores ambientais como consumo excessivo de sal e álcool podem estar associados ao desencadeamento da hipertensão, mas os fatores genéticos também participam de forma decisiva na variação da pressão arterial dos indivíduos (HAVLIK *et al.*, 1979). O polimorfismo de inserção/deleção no intron 16 do gene da ECA é responsável pela variação da atividade da enzima circulante, fato pelo qual postulou-se que este gene é candidato para a regulação da pressão arterial (O'DONNELL, 1998).

Ao avaliar os resultados do estudo da associação entre o polimorfismo do gene da ECA e hipertensão nas quatro comunidades afro-brasileiras no Estado de Mato Grosso do Sul (**Tabela 7**), observamos que não houve correlação significativa (resultados de genótipos não mostrados), estatisticamente, apesar de no grupo dos indivíduos portadores do alelo D haver mais hipertensos do que no grupo dos indivíduos com alelo I. Também não houve correlação quando foi avaliada isoladamente a população da comunidade Furnas do Dionísio (**Tabela 6**). Os nossos resultados não estão de acordo com os estudos realizados por DURU *et al.* (1994), que envolvem população afro-americana, e por BARLEY *et al.* (1996), com população afro-caribenha, os quais demonstraram a associação do polimorfismo do gene da ECA e hipertensão. Outros estudos que encontraram associação do polimorfismo do gene da ECA e hipertensão foram realizados com populações da Suécia (STEFANSON *et al.*, 2000) e da Suíça (MASTAVA & NUNN, 1997). Entretanto, os resultados do nosso estudo são similares aos de MONDORF *et al.* (1998) (Estados Unidos), de PONTREMOLI *et al.* (1996) (Estados Unidos), de VASSILIKIOTI *et al.* (1996) (Grécia), de SCHMIDT *et al.* (1993) (Holanda), de TIRET *et al.* (1992) (França), de HARRUP *et al.* (1993) (Estados Unidos), de JIAN *et al.* (1996) (Irlanda) e de KIENA *et al.* (1996) (Finlândia). As pesquisas realizadas com a população oriental também não encontraram associação positiva (KIMURA *et al.*, 1997; SHEN *et al.*, 1998), MAGUCHI *et al.*, 1996; MAEDA *et al.*, 1997; NOBORU *et al.*, 1994), exceto a de MORISE *et al.* (1994).

As discrepâncias desses resultados podem ser atribuídas à diluição do efeito de expressão de um simples gene envolvido na regulação da pressão arterial entre o percurso que corresponde ao início de sua expressão no espaço subcelular e ao aparecimento do fenótipo, que é a pressão arterial. O fenótipo resultante sofreu várias modificações por fatores ambientais durante o trajeto de sua expressão. Também, os estudos realizados nessas populações não levaram em consideração o sexo, a idade e o IMC. Além disso, cada população ou pessoa tem seu hábito alimentar e/ou estilo de vida característico que pode interagir de forma diferente na exposição de um simples gene responsável pela regulação da pressão arterial.

Por meio de experimentos em camundongos deficientes de ECA, KREGG *et al.* (1995) obtiveram evidências de que havia uma diferença na pressão arterial entre os camundongos machos e fêmeas. O trabalho de REBBECK *et al.* (1996) também mostra que o pai tem maior contribuição genética do que a mãe no aparecimento de hipertensão nos filhos.

A análise estatística do estudo que avalia a associação dos genótipos da ECA com hipertensão nos indivíduos afro-brasileiros das quatro comunidades (São Benedito, Limão, Furnas de Dionísio e Boa Sorte) agrupados por sexo não foi significativa, mas mostrou que no grupo dos homens portadores do genótipo DD apresentou maior número de hipertensos, mostrando tendência de associação (sexo feminino, $p=0,895$; sexo masculino, $p=0,096$). Ao analisar a influência do alelo D da ECA sobre a pressão arterial, observou-se significância estatística apenas no grupo masculino ($p=0,037$), sugerindo que a análise do alelo apresenta maior sensibilidade, conforme mostra a **Tabela 11**. Esses resultados estão de acordo com o estudo realizado com 3.095 voluntários por O'DONNELL *et al.* (1998) (Framingham Heart Study), que descobriu uma ligação entre o gene da ECA e pressão arterial diastólica apenas nos homens. Em nosso estudo, houve também associação do alelo D do gene da ECA com PAD e PAS, como mostram as **Tabelas 15 e 16**. Outro estudo realizado com população japonesa envolvendo um grande número de voluntários (5.000 pessoas) também verificou que o gene da ECA é um fator de risco específico

para homens com hipertensão arterial (OGIHARA *et al.*, 2000). FORNAGE *et al.* (1998) demonstraram que o polimorfismo do gene da ECA tem influência na variação da pressão arterial nos homens jovens brancos.

Um estudo realizado na Finlândia com a participação de 3.596 crianças e adolescentes de 6 a 18 anos por TAITONEN *et al.* (1999), demonstrou que os portadores do genótipo DD do polimorfismo do gene da ECA apresentaram pressão sistólica mais elevada do que os portadores do genótipo não-DD. Entretanto, os resultados encontrados por KIMURA *et al.* (1997) ao realizar um estudo multicêntrico com 1.919 participantes da população, foram discordantes por não apresentarem diferenças significativas na distribuição de genótipos da ECA entre homens e mulheres hipertensas.

Os resultados de nossos estudos e a maioria dos publicados nos últimos dois anos trazem evidências de que há uma ligação do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos do sexo masculino. Esses resultados obtidos com estudos realizados na população afro-brasileira de Mato Grosso do Sul ainda não devem ser considerados para populações afro-brasileiras de outras regiões porque há uma grande diferença na frequência de alelos I/D do polimorfismo do gene da ECA e também por causa do aspecto multifatorial na etiologia da doença.

É bem conhecido que o excesso do peso corporal (IMC) está associado com o aumento da pressão arterial, como mostra a **Tabela 3**, e é um fator que predispõe à hipertensão. Uma das recomendações básicas no tratamento da hipertensão é a redução do peso corporal.

Ao avaliar a associação entre o polimorfismo do gene da ECA e hipertensão levando em consideração o IMC, observamos que não há diferença significativa entre o subgrupo dos indivíduos com $IMC < 25 \text{ kg/m}^2$ e o subgrupo com $IMC \geq 25 \text{ kg/m}^2$ (**Tabelas 8 e 9**). Esses resultados estão de acordo com os trabalhos realizados por PONTREMOLI *et al.* (1996) e KIENA *et al.* (1996). Portanto, esses dados sugerem que o IMC é um fator de risco independente para hipertensão.

A idade acima de 60 anos representa um fator de risco importante para DAC. No Brasil, a população de idosos está aumentando, e estima-se que em 2025 haverá mais de 30 milhões deles. Cerca de 65% dos idosos são hipertensos, e entre as mulheres com mais de 75 anos a prevalência de hipertensão chega a 80% (III CONSENSO BRASILEIRO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL, 1998).

Neste trabalho, em que se estudou a associação dos genótipos e dos alelos da ECA com hipertensão levando em consideração a faixa etária dos participantes (de 20 a 40 anos e acima de 40 anos), os resultados mostraram que o subgrupo de indivíduos com faixa etária acima de 40 anos e portadores do alelo D (Tabela 17) e genótipo DD (resultado não mostrado) apresentou número maior de hipertensos de forma significativa, estatisticamente, $p=0,010$ para o alelo D e $p=0,007$ para o genótipo DD. Os estudos de ABBUD *et al.* (1998) mostraram que há correlação do genótipo DD do polimorfismo do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos de Nova Jersey, EUA, com mais de 60 anos de idade. Resultados similares também foram encontrados por CHIANG *et al.* (1996) na população taiwanesa com idade acima de 65 anos. BENGTSSON *et al.* (1999) encontraram associação do polimorfismo do gene da ECA com hipertensão nos indivíduos com menos de 70 anos. Por outro lado, KIENA *et al.* (1996) não encontraram associação do polimorfismo do gene da ECA com hipertensão na população finlandesa de meia-idade. Os resultados de KATSUYA *et al.* (1999) também não apresentaram associação positiva nas populações japonesas com menos de 60 anos idade e com mais de 60 anos de idade. Resultados similares também foram encontrados por NAKANO *et al.* (1998) no Japão, por PONTREMOLI *et al.* (1996) na Itália, e por JOHNSON *et al.* (1996) na Austrália.

Esses resultados conflitantes sugerem que o alelo D do polimorfismo do gene da ECA é um fator genético não muito importante na variação da pressão arterial. Por ter ligação ainda controversa com hipertensão, esse polimorfismo é pouco recomendado ainda como um teste de rotina na prevenção e terapêutica da hipertensão.

Diante de vários resultados conflitantes, é importante realizar um estudo com uma população maior e de outras regiões para comprovação de nossos resultados.

O polimorfismo da apolipoproteína E está associado com hiperlipidemia e aterosclerose (HUNPHRIES, 1988) e é um importante determinante genético de DAC (SRINIVASAN *et al.*, 1999). Segundo estudos realizados por NIKILA & HEIKINE, 1990), os indivíduos portadores do alelo E4 apresentavam concentrações séricas mais elevadas de colesterol da LDL e mais baixas de colesterol da HDL. Nesses indivíduos, a prevalência de DAC foi mais alta e, conseqüentemente, a longevidade estava reduzida. Alguns estudos têm encontrado uma freqüência mais baixa de alelos E4 na população de idosos (KERVINEM *et al.*, 1994; POIRIER *et al.*, 1993). Esses estudos sugerem que o alelo E4 aumenta o risco de doenças cardiovasculares.

Ao estudarmos a freqüência dos alelos do polimorfismo da apo E, encontramos uma freqüência de 0,087 para o alelo E2, de 0,704 para o alelo E3 e de 0,209 para o alelo E4 (**Tabela 18**). As freqüências desses alelos são similares às encontradas na população afro-brasileira da região Sul pelo estudo de ANDRADE *et al.* (2000) (E2: 0,0075; E3: 0,70; E4: 0,25). As freqüências obtidas também são similares às publicadas por SANGHERA *et al.*, 1996) na população afro-americana (E2: 0,11; E3: 0,70; E4: 0,19). Quando essas freqüências foram comparadas com as da população caucasiana, observamos que a freqüência do alelo E4 das quatro comunidades estudadas é mais elevada do que a encontrada nos Estados Unidos da América, 0,15 (SANGHERA *et al.*, 1996), na Espanha, 0,078 (GOMEZ-CORONADO *et al.*, 1999), e na Itália, 0,063 (DEIANA *et al.*, 1998).

Pela análise estatística dos dados apresentados na **Tabela 19**, não encontramos influência significativa dos alelos da apo E sobre as concentrações séricas de lipídeos.

SEPEHRNIA *et al.* (1989) não encontraram efeito significativo do alelo da apo E sobre as concentrações séricas de lipídeos na população nigeriana.

MAHLEY *et al.* (1995), HULMAN *et al.* (1991) e CORBO *et al.* (1997) também não encontraram influência significativa do polimorfismo da apo E sobre as concentrações séricas de lipídeos. AGUILAR *et al.* (1999), em seus estudos com população nativa dos Estados Unidos da América, também não encontraram diferenças significativas nas concentrações séricas de colesterol da LDL entre os genótipos E3E4 e E3E3. BEDER & ZULIANI (1998) não observaram diferenças significativas nas concentrações séricas de lipídeos entre os indivíduos portadores dos alelos E2, E3, E4 na população de octogenários e nonagenários da Itália.

Segundo o estudo de KAMBOH *et al.* (1999) com população nigeriana, o polimorfismo da apo E tem influência sobre as concentrações séricas de colesterol total e de colesterol da HDL somente nos indivíduos do sexo feminino. As portadoras do alelo E4 apresentaram concentrações séricas de colesterol total e de colesterol da HDL mais elevadas do que as portadoras dos alelos E3 ou E2.

GOMES-CONRADO *et al.* (1999) também encontraram influências diferentes do polimorfismo da apo E em alguns parâmetros do perfil lipídico entre homens e mulheres. Os homens portadores do alelo E2 apresentaram concentrações séricas de triglicérides mais elevadas do que os portadores do alelo E3 ou E4. Nas mulheres com alelo E2, as concentrações séricas de colesterol da LDL eram mais baixas do que as com alelo E3 ou E4. ANDRADE *et al.* (2000) descreveram também que o alelo E4 estava associado com concentrações séricas mais elevadas de lipídeos apenas nas mulheres.

Em nosso estudo, não houve diferenças significativas, estatisticamente, de colesterol total e de colesterol da LDL entre os alelos E2, E3 e E4 na população feminina, mas apenas uma tendência de aumento de colesterol total e da LDL no sentido do alelo E2 para o alelo E4, como mostram os dados apresentados no **Anexo 3**.

Os resultados de nosso estudo não estão de acordo com os obtidos por GYLLING *et al.* (1995), que encontraram uma variação de até 47% na concentração sérica de colesterol pela influência da apo E.

Os dados de nosso estudo também são diferentes dos obtidos nos Estados Unidos da América por SANGHERA *et al.* (1996) com população caucasiana e negra de faixa etária entre 8 e 9 anos. Nesse estudo, os indivíduos com alelo E4 apresentaram concentrações séricas de colesterol da LDL mais elevadas em relação aos portadores dos alelos E3 ou E2.

Da mesma maneira, nossos resultados diferem dos encontrados por SRINIVASAN *et al.* (1999) em população dos Estados Unidos (Bogalusa Heart Study) que consistia de crianças e adultos, com acompanhamento de 16 anos. Esses autores verificaram que as concentrações séricas de colesterol da LDL e da HDL estavam mais elevadas nos indivíduos portadores do alelo E4 em relação aos portadores do alelos E3 e E2.

Portanto, os estudos mostraram que os resultados ainda são contraditórios quanto aos efeitos do polimorfismo do gene da apo E sobre as concentrações dos lipídeos séricos.

Os dados de nosso estudo sugerem que o polimorfismo do gene da apo E não deve ser o responsável pela alta prevalência de doenças cardiovasculares nessas quatro comunidades, no que se refere à sua influência desse polimorfismo sobre os lipídeos séricos, apesar da alta frequência do alelo E4 na população estudada. Essas discrepâncias podem estar relacionadas ao tamanho da amostra, aos fatores ambientais e, talvez, ao fato de em nosso estudo terem sido excluídos os diabéticos e os obesos.

O alelo D do peptídeo sinalizador do gene da apo B está associado com concentrações mais elevadas de colesterol total e de colesterol da LDL (TURNER *et al.*, 1995). GARDEMAN *et al.* (1998) demonstraram com seus estudos que o genótipo DD desse polimorfismo estava associado com infarto do miocárdio na população caucasiana.

A análise de frequência dos alelos I/D do polimorfismo no peptídeo sinalizador do gene da apo B (Tabela 20) mostra que a frequência média do alelo D nas quatro comunidades foi de 0,2635. Essa frequência é similar à encontrada na população chinesa (0,235) (YE *et al.*, 1995). A frequência média do alelo D das quatro comunidades foi inferior à da população nativa do Equador, 0,432 (SCACCHI *et al.*, 1997), e à da população de Belgrado, 0,442 (GLISSIC *et al.*, 1997).

Ao avaliar a influência do polimorfismo I/D no peptídeo sinalizador do gene da apo B sobre as concentrações séricas de lipídeos, observou-se que os indivíduos portadores do alelo D apresentam concentrações séricas de colesterol mais elevadas do que os indivíduos com alelo I, $p=0,027$ (Tabela 21). Não houve influência desse polimorfismo na variação significativa, estatisticamente, em outros parâmetros do perfil lipídico. Entretanto, houve uma tendência de aumento na concentração de colesterol da LDL no grupo dos portadores do alelo D. Os dados de nosso estudo estão de acordo com os obtidos por GARDEMAN *et al.* (1998) na população germânica, por ANDERSON *et al.* (1997) na população negra africana, por TURNER *et al.* (1995) na população espanhola, por HONG *et al.* (1997) na população coreana. Por outro lado, outros trabalhos não encontraram influência desse polimorfismo sobre os lipídeos séricos (CORBO *et al.*, 1999) na Itália, (ZAMAN *et al.*, 1997) no Japão, (GLISSIC *et al.*, 1997) em Belgrado, (KAUFMAN *et al.*, 1999) no Brasil e (SHADRIANA *et al.*, 1996) na Rússia.

Essas discordâncias nos resultados podem estar associadas à diferença no tamanho da amostra e às diferenças no estilo de vida, provavelmente.

Apesar dessas discrepâncias nos resultados, o alelo D do polimorfismo do peptídeo sinalizador do gene da apo B parece ser um fator de risco para doenças cardiovasculares na população afro-brasileira dessas comunidades de Mato Grosso do Sul. Entretanto, ainda são necessários mais estudos para que esse fator genético seja testado rotineiramente na avaliação de risco para doenças cardiovasculares na população em geral.

6. CONCLUSÕES

- A frequência do alelo D do polimorfismo do gene da ECA estava mais elevada nos indivíduos afro-brasileiros hipertensos do sexo masculino na população estudada.
- A frequência do alelo D e do genótipo DD do polimorfismo do gene da ECA estava mais elevada nos indivíduos afro-brasileiros hipertensos com idade acima de 40 anos na população estudada.
- Os alelos do polimorfismo do gene da apo E não influenciaram nas concentrações séricas de lipídeos dos indivíduos afro-brasileiros na população estudada.
- O alelo D do polimorfismo no peptídeo sinalizador da apo B está associado com concentrações séricas mais elevadas de colesterol total dos indivíduos afro-brasileiros na população estudada.
- Na população estudada, a alta prevalência de DAC pode ser atribuída, em parte, aos fatores genéticos como o polimorfismo D do gene da ECA e o polimorfismo D no peptídeo sinalizador da apo B.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 18TH ANNUAL SYMPOSIUM, NATIONAL ACADEMY OF CLINICAL BIOCHEMISTRY. *Clin. Chem.*, v. 41, p.132-175, 1995.
- ABBUD, Z.A., WILSON, A.C., CASGRAVE, N.M., KASTIS, J.B. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in systemic hypertension. *The American Journal of Cardiology*, v. 81, p. 244-246, 1998.
- AGUILAR, C.A., TALAVERA, G., ORDOVAS, J.M., BARRIGUETE, J.A., GUILLEN, L.E., LECO, M.E., PEDRO-BOTET, J., GONZALEZ-BARRANCO, J., GOMEZ-PEREZ, F.J., RULL, J.A. The apolipoprotein E4 allele is not associated with an abnormal lipid profile in a Native American population following its traditional lifestyle. *Atherosclerosis*, v.142 (2), p. 409-414, 1999.
- ALTHAN, G., ARO, A., GEY, K.F. Plasma homocysteine and cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.*, v.337, p.230-236, 1997.
- AMERICAN HEART ASSOCIATION. **Heart and stroke facts: 1996.** Dallas, Statistical Supplement.
- ANDERSON, L.M., CASTELLI, W.P., LEVY, D. Cholesterol and mortality 30 years of follow-up from the Framingham Study. *JAMA J. Am. Med. Assoc.*, v. 257, n.16, p.2176-2180, 1987.
- ANDERSON, J.L., BUNKER, C.H., ASTON, C.E., KAMBOH, M.I. Relationship of two apolipoprotein B polymorphisms with serum lipoprotein and lipid levels in African blacks. *Hum. Biol.*, v. 69(6), p. 793-807, 1997.
- ANDRADE, F.M., LARRANDABURU, M., CALLEGARI-JAQUES, S.M., GASTALDO, G., HERTZ, M.H. Association of apolipoprotein E polymorphism with plasma and Alzheimer's disease in a Southern
-

- Brazilian population. **Braz. J. Med. Biol. Res.**, v. 33(5), p. 529-537, 2000.
- AUERBACH, O., HAMMOND, B.C., GARFINKEL, L. Smoking in relation to atherosclerosis of the coronary arteries. **New Engl. J. Med.**, v. 273, p.775, 1965.
- AUSTIN, M.A., WIJSMAN, E., GUO, S., KRAUSS, R.M., BRUNZELL, J.D., DEEB, S. Lack of evidence for linkage between low density lipoprotein subclass phenotypes and the apolipoprotein B locus in familial combined hyperlipidemia. **Genet. Epidemiol.**, v. 8, p. 287, 1991.
- BAILELY, C.H. Observations on cholesterol-fed guinea pigs. **Proc. Soc. Exp. Biol. Med.**, v. 13, p. 60-62, 1985.
- BARLEY, J., BLACKWOOD, A., MILLER, M., MARKANDA, N.D., CARTER, N.D., JEFFREY, S., CAPPUCCIO, F.P., MACGREGOR, G.A., SANELLA, G.A. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism, blood pressure and the renin-angiotensin system in Caucasian and Afro-Caribbean peoples. **J. Hum. Hypertens.**, v. 10, p.31-35, 1996.
- BEDER, G., ZULIANI, G., KOSTNER, G.M., FELLIN, R. Apolipoprotein E polymorphism is not associated with longevity or disability in a sample of Italian octo- and nonagerians. **Gerontology**, v. 44(5), p. 293-299, 1998.
- BENGTSSON, K., ORLO-MELANDER, M., LINDBLAD, U., MELANDER, O., BOG-HANSEN, E., RANSTAM, J., RASTAM, L., GROOP, L. Polymorphism in the angiotensin-converting enzyme but not in the angiotensinogen gene is associated with hypertension and type 2 diabetes in the Skaraborg Hypertension and diabetes project. **J. Hypertens.**, v. 17(2), p. 1569-1575, 1999.
- BERG, K. DNA polymorphism at the apolipoprotein B locus associated with lipoprotein levels. **Clin. Genet.**, v. 30, p.515-520, 1986.
-

- BERGE, K.E., BERG, K. No effect of insertion/deletion polymorphism at the ACE locus on normal blood pressure level or variability. **Clin. Genet.**, v. 45, p.169-174, 1994.
- BEVILACQUA, M.P. Endothelial-leukocyte adhesion molecules. **Ann. Ver. Immunol.**, v. 11, p.767-804, 1993.
- BHATNAGAR, D., DURRINGTON, N.P. Measurement and clinical significance of apolipoprotein A-1 and B. In: RIFAI, N., WARNICK R.G., DOMINICZAK H.M. Handbook of Lipoprotein Testing. Washington: AACC Press, 1997, cap.10, p.177-198.
- BOERWINKLE, E., LEE, S.S., BUTLER, R., SCHUMAKER, V.N., CHAN, L. Rapid typing of apolipoprotein B DNA polymorphism by DNA amplification. Association between Ag epitopes of human apolipoprotein B-100, a signal peptide insertion/deletion polymorphism and a 3 flanking DNA variable number of tandem repeats polymorphism of the apolipoprotein B gene. **Atherosclerosis**, v. 81, p. 225, 1989.
- BOHN, M., BERGE, K.E., BAKKEN, A., ERIKSEN, J., BERG, K. Insertion/deletion (I/D) polymorphism at the locus for angiotensin I converting enzyme and parental history of myocardial infarction. **Clin. Genet.**, v. 44, p. 298, 1993.
- BOYLES, J.K., PITAS, R.E., WILSON, E., MAHLEY, R.W., TAYLOR, J.M. Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the Central Nervous System and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. **J. Clin. Invest.**, v. 76, p.1501-1513, 1985.
- BRASIL. Ministério da Saúde. Doenças cardiovasculares no Brasil. Brasília: **Sistema Único de Saúde (SUS). Coordenação de Doenças Cardiovasculares**, 1993.
- BROWN, M.S. GOLDSTEIN, J.L. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. **Science**, v.232, p.34-47, 1986.
- BROWN, G., ALBERS, J.J., FISHER, L.D., SCHAEFER, S.M., LIN, J.T., KAPLAN, C. Regression of coronary artery disease as a result of

- intensive lipid lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. **N. Engl. J. Med.**, v. 323, p. 1289-1298, 1990.
- BROWN, M.S., HORTZ, J., KOWAL, R.C., GOLDSTEIN, J.C. The low-density lipoprotein receptor-related protein: double agent or decoy? **Curr. Opin. Lipidol.**, v. 2, p. 65, 1991.
- BROWN, S., HUTCHINSON, R., MORRISSETT, J., BORWINKLE, E., DAVIS, C.E., GOTT, A., PATSCH, W. Plasma lipid, lipoprotein cholesterol and apolipoprotein distributions in selected U.S. communities. The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. **Arterioscler. Thromb. Vac. Biol.**, v. 13, p. 1139-1158, 1993.
- BURT, V.L., WHELTON, P., ROCCELLA, E.J. Prevalence of hypertension in the US adult population. Results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-91. **Hypertension**, v. 25, p. 305-313, 1995.
- CAMBIEN, F., POIRIER, O., LECERF, L. Deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is a potent risk factor for myocardial infarction. **Nature**, v.359, p.641-644, 1992.
- CARAMELLI, B. Aspectos epidemiológicos da doença coronária. **Rev. Bras. Med.**, v. 52, n. 4, p. 313-314, 1995.
- CAVALLI, S.A., OTTA, M.I., HIRATA, R.D.C., NGUYEN, N.Y., HIRATA, M.H. Apolipoprotein E genotyping in Brazilian normolipidemic individuals. **Clin. Chem.**, v. 42, p. 298, 1996.
- CAYATTE, A.J., PALACINO, J.J., HORTEN, K., COHEN, R.A. Chronic inhibition of nitric oxide production accelerates in hypercholesterolemic rabbits. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 14, p. 753-759, 1994.
- CELENTANO, A.A., MANCINI, F.P., CRIVARO, M., PALMIERI, V., FERRARA, L.A., DE STEFANO, A., DI MINNO, G., DE SIMONE, G. Cardiovascular risk factors, angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism and left ventricular mass in hypertension. **Am. J. Cardiol.**, v. 83(8), p.1196-1200, 1998.
-

- CHAN, L., VANFUNIEN, P., LEDBETTER, D.H. The human apo B-100 gene: a highly polymorphic gene that maps to the short arm of chromosome 2. **Biochem. Biophys. Res. Commun.**, v. 133, p. 248-255, 1985.
- CHEN, C.G., HARDMAN, D.A., HAMILTON, R.L., MENDEL, C.M., SCHILLIING, J.W., ZHU, S., LAU, K., WONG, J.S., KANE, J.P. Distribution of lipid-binding regions in human apolipoprotein B-100. **Biochemistry**, v. 28, p. 2477, 1989.
- CHEN, G.C., KANE, J.P. Circular dichroic analysis of lipoprotein lipids. **Methods Enzymo**, v. 128, p. 519, 1986.
- CHIANG, F.T., LAI, Z.P., CHURNS, T.H., TSUNG, C.D., HSU, K.L., LO, H.M., TSUNG, Y.Z. Lack of association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and coronary heart disease in a Chinese population. **Japan Heart J.**, v. 138(2), p. 227-236, 1997.
- CHIANG, F.T., CHEM, T.H., LAI, Z.P., TSENG, C.D., HSU, K.L., TSENG, Y.Z. Age and gender-dependent association of the angiotensin-converting enzyme gene with essential hypertension in a Chinese population. **J. Hum. Hypertension**, v. 10(12), p. 823-826, 1996.
- CHIN, J.H., AZHAR, S., HOFFMAN, B.B. Inactivation of endothelial derived relaxing factor by oxidized lipoprotein. **J. Clin. Invest.**, v.89, p.10-18, 1992.
- CLADARAS, C., HADZOPOULOW-CLADARAS, M., NOLTE, R.T., ATKINSON, D., ZANNIS, V.I. The complete sequence and structural analysis of human apolipoprotein B-100. Relationship between apo B-100 and apo B-48 forms. **EMBO J.**, v. 5, p. 3495, 1986.
- CORBO, R.M., VILARDO, T., MANTUANO, E., RUGGERI, M., GEMMA, A. T., SCACCHI, R. Apolipoprotein B and E, and angiotensin I-converting enzyme (ACE) genetic polymorphisms in Italian women with coronary artery disease (CAD) and their relationships with plasma lipid and apolipoprotein levels. **Clin. Genet.**, v. 32, p. 77-82, 1997.
-

- CORBO, R.M., SCACCHI, R., MUREDDU, L., MULAS, G., CASTRECHINI, S., RIVASI, A.P. Apolipoprotein B, apolipoprotein E, and angiotensin-converting enzyme polymorphism in 2 Italian populations at different risk for coronary artery disease and comparison of allele frequencies among European populations. **Hum. Biol.**, v. 71(6), p. 933-945, 1999.
- CORDER, E.H., SAUNDERS, A.M., STRITTMATTER, W.J. Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late onset families. **Science**, v. 261, p. 921-923, 1993.
- CUSHING, S., BERLINER, J., VALENTE, A. Minimally modified LDL induces monocyte chemotactic protein I in human endothelial cells and smooth muscle cells. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 87, p. 5134-5138, 1990.
- CYBULSKY, M.I., GIMBRONE, M.A. Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. **Science**, v. 251, p. 788-791, 1991.
- DADS, F.R. Diabetes Mellitus. In: KAPLAN, A.L., PESCE J.A. **Clinical Chemistry: theory, analysis, correlation**. Baltimore: Mosby, 1996, capítulo 32, p.634.
- DAENEN, M.J.A.P., LOMBARDI, D.M., BOSMAN, F.T., SCHWARTS, S.M. Angiotensin II induces smooth muscle cell proliferation in the normal and injured rat arterial wall. **Circ. Res.**, v. 68, p. 450-456, 1991.
- DAVIES, M.J., THOMAS, A.C. Plaque fissuring: the cause of acute myocardial infarction, sudden ischemic death and crescendo angina. **Br. Heart J.**, v. 53, p. 363-373, 1985.
- DAVIGNON, J., GREG, R.E, SING, C.F. Apolipoprotein E polymorphism in atherosclerosis. **Arteriosclerosis**, v. 8, p. 1-21, 1988.
- DE GRAF, J., HAK, H.L.M., HECTOR, M.P.C., DEMAKER, P.N.M., HENDRIKS, J.C.M., STAALENHOEF, A.F.H. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. **Arterioscler Thromb**, v. 11, p. 298, 1991.
-

- DEIANA, L., PES, G.M., CARRU, C., ERRIGO, A., PETTINATO, S., CARCASSI, C., BAGGIO, G., CONTU, L. Lack of influence of apolipoprotein E4 on lipoprotein levels in the island population of Sardinia. **Eur. J. Clin. Invest.**, v. 28(4), p. 290-294, 1998.
- DREON, D.M., FERMSTRON, H.A., MILLER, B., DRAUSS, R.M. Apolipoprotein E isoform phenotype and LDL subclass response to a reduced-fat diet. **Arterioscler. Thromb Vasc. Biol.**, v. 15, p. 105-111, 1995.
- DURU, K., FARROW, S., WANG, J.M., LOCKETTE, W., KURTZ, T. Frequency of a deletion polymorphism in the gene for angiotensin-converting enzyme is increased in African-Americans with hypertension. **Am. J. Hypertens.**, v. 7, p.759-762, 1994.
- ESTHER, C.R.J.R., HOWARD, T.E., MARINO, E.M., GODDARD, J.M., CAPECCHI, M.R., BERNASTEIN, K.E. Mice lacking angiotensin-converting enzyme have low blood pressure, renal pathology, and reduced male fertility. **Lab. Invest.**, v. 74, p. 953-965, 1996.
- EISENBERG, S., SCHAYCK, F., Remanant particles and their metabolism I: **Baillieres Clin. Endocrinol. Metabol.**, v. 9, p. 739-753, 1995.
- EVAN, A.E., POIRIER, O., LEAF, L., McCRUM, E., FALCOMER, T., CRANE, J., O'ROURKE, D.F., CAMBIEN, F. Polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene in subjects who die from coronary heart disease. **Q. J. Med.**, v. 87(4), p. 211-214, 1994.
- EXPERT PANEL ON DETECTION, EVALUATION, AND TREATMENT OF HIGH BLOOD CHOLESTEROL IN ADULTS. The second report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) expert panel on detection, evolution, and treatment of high blood cholesterol in adults (adult treatment panel II). **Circulation**, v. 89, p. 1329-1445, 1984.
- FERRAMINI, E. Physiological and metabolic consequences of obesity. **Metabolism**, v.9, p.15-17, 1995.

- FORNAGE, M., AMOS, C.I., KARDIA, S., SING, C.F., TURNER, S.T., BOEWINKLE, E. Variation in the region of the angiotensin-converting enzyme gene influences interindividual differences in blood pressure levels in young white males. **Circulation**, v. 97, p. 1773-1779, 1998.
- FORTE, P., COPLAND, M., SMITH, L.M. Basal nitric oxide synthesis in essential hypertension. **Lancet**, v.349, p.837-842, 1997.
- FRIEDL, W., KREMLER, F., PAULWEBER, B., PICKLER, M., SANDHOFER, F. A deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene is not associated with coronary heart disease in an Austrian population. **Atherosclerosis**, v. 112, p. 137-143, 1995.
- FUJIMURA, T., YOKOTA, M., KATO, S., HIRAYAMA, H., TSUMEKAWA, A.L., INAGAKI, H., TAKETSU, F., NAKASHIMA, N., YAMADA, Y. Lack of association of angiotensin-converting enzyme gene polymorphism or serum enzyme activity with coronary artery disease in Japanese subjects. **Am. J. Hypertens.**, v. 10(12), p. 1384-1390, 1997.
- FUNKE, H., BOYLES, J., WEISGRABER, K.H., LUDWIG, E.H., HUI, D.Y., MAHLEY, R.W., Update of apolipoprotein E-containing high density lipoproteins by hepatic parenchymal cells. **Arteriosclerosis**, v. 4, p. 452-461, 1984.
- GADDI, A., CIARROCHI, A., MATTEUCCI, A. Dietary treatment for familial hypercholesterolemia: differential effects of dietary soy protein according to the apolipoprotein E phenotype. **Am. J. Clin. Nutr.**, v. 53, p.1191-1196, 1991.
- GALTON, D.J. Genetic determinants of atherosclerosis-related dyslipidemias and their clinical implications. **Clin. Chim. Acta**, v.257, p.181-197, 1997.
- GARDEMAN, A., OHLY, D., FINK, M., KATZ, N., TILLMANN, H., HEHERLEIN, F.W., HABERBOSCH, W. Association of the insertion-deletion gene polymorphism of the apolipoprotein B signal peptide
-

- with myocardial infarction. **Atherosclerosis**, v.141(1), p.167-175, 1998.
- GARG, U.C., HASSID, A. Nitric oxide-generating vasodilators and 8-bromo-cyclic guanosine monophosphate inhibit mitogenesis and proliferation of cultured rat vascular smooth muscle cells. **J. Clin. Invest.**, v. 83, p.1774-1777, 1989.
- GAUTHIER, T.W., DAVENPECK, K.L., LEFER, A.M. Nitric oxide attenuates leucocyte-endothelial interaction via P-Selection in splanchnic ischemia reperfusion. **Am. J. Physiol.**, v. 267, p. 562-568, 1994.
- GIMBRONE, M.A.Jr. Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. **Am. J. Cardiol.**, v. 75, p. 67B-70B, 1995.
- GLISSIC, S., PRLJIC, J., RADOVANOVIC, N., ALAVANTIC, D. Study of apo B gene signal peptide insertion/deletion polymorphism in a healthy Serbian population: no association with serum lipid levels. **Clin. Chim. Acta**, v. 263(1), p. 57-65, 1997.
- GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M.S. Familial hypercholesterolemia. In: SCRIVER, C.R., BRANDET, A.L., SLY, W.S., VALLE, D., eds. **The Metabolic Basis of Inherited Disease**. 6. ed. New York: McGraw-Hill, 1989. v. 1, p.1215-1220.
- GOLDSTEIN, J.L., BROWN, M. Binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human fibroblasts: comparison of cells from a normal subject and from a patient with homozygous familial hypercholesterolemia. **J. Biol. Clin.**, v. 249, p. 5153-5158, 1974.
- GOODE, G.K., MILLER, J.P., HEAGERTY, A.M. Hyperlipidemic hypertension and coronary heart disease. **Lancet**, v. 345, p. 362-364, 1985.
- GOMEZ-CORONADO, D., ALVAREZ, J.J., ENTRALA, A., OLMOS, J.M., HERRERA, E., LASUNCION, N.A. Apolipoprotein E polymorphism in men and women from a Spanish population: allele frequencies and
-

- influence on plasma lipids and apolipoproteins. **Atherosclerosis**, v. 147(1), p.167-176, 1999.
- GRAAF, D.J., HAK-LEMMERS, H.M., HECTORS, M.P.C., DEMACKER, P.N.M., HENDRIKS, J.C.M., STALENHOF, A.F.H. Enhanced susceptibility to in vitro oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. **Atherosclerosis**, v.11, p.298-306, 1991.
- GYLLING, H., KONDTULA, K., MIETTINEN, T.A. Cholesterol absorption and metabolism and LDL kinetics in healthy men with different apolipoprotein E phenotypes and apolipoprotein B XbaI and LDL receptor Pvu II genotypes. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 15, p. 201-213, 1995.
- GYLLING, H., KONTULA, K., VOIVISTO, U.M., MIETTINEN, H.E., MIETTINEN, T.A. Polymorphisms of the genes encoding apolipoproteins A-1, B, C-III and E and LDL receptor, and cholesterol and LDL metabolism during increased cholesterol intake. Common alleles of the apolipoprotein E gene show the greatest regulatory impact. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 17(1), p. 38-44, 1997.
- HALLMAN, D.M., BOERWINKLE, E., SAHA, N., SANDHOLZER, C., MENZEL, H.J., CSAZAR, A., UTERMAM, G. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine populations. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 49, p. 338-349, 1991.
- HALLOCK, P., BENSON, I.C. Studies of the elastic properties of human isolated aorta. **J. Clin. Invest.**, v.16, p.595-602, 1997.
- HANSEN, P.S., GERDES, L.U., KLAUSEN, I.C., GREGERSEN, N., FAERGEMAN, O. Polymorphisms in the apolipoprotein B-100 gene contributes to normal variation in plasma lipids in 464 Danish men born in 1948. **Hum. Genet.** v.91, p.45-50, 1993.
- HARRUP, S.B., DAVIDSON, H.R., CONNOR, J.M., SOUBRIER, F., CONVOL, P., FRASER, R., FOY, C.I., WATT, G.C. The angiotensin I converting enzyme gene and predisposition to high pressure. **Hypertension**, v. 21, p. 455-460, 1993.
-

- HAVEL, R.J., KOTETE, L., VIGNE, J.L. Radioimmunoassay of human arginin rich apolipoprotein, apolipoprotein E. **J. Clin. Invest.**, v. 66, p.1351-1362, 1989.
- HAVLIK, R.J., GARRISON, R.J., FEINLEIB, M., KAMEL, W.B., CASTELLI, W.P., McNAMARA, P.M. Blood pressure aggregation in families. **Am. J. Epidemiol**, v. 110, p. 304-312, 1979.
- HEGELE, R.A., HUANG, L.S., HERBERT, P., BLUM, C., BURING, J.E., HENNEKEN, C.H., BRESLOW, J.L. Apolipoprotein B-gene DNA polymorphism associated with myocardial infarction. **New Eng. J. Med.**, v. 315, p.1509, 1986.
- HIXSON, J.E., VERNIER, D.T. Restriction subtyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. **J. Lipid. Res.**, v. 31, p.545-548, 1990.
- HONG, S.H., LEE, C.C., KIM, J.Q. Genetic variation of the apolipoprotein gene in Korean patients with coronary artery disease. **Mol. Cells**, v. 7(4), p. 521-525, 1997.
- HULLMAN, D.M., BOEWINKLE, I., SAHA, W. The apolipoprotein E polymorphism: a comparison of allele frequencies and effects in nine population. **Am. J. Hum. Genet.**, v.49, p.49, 1991.
- HUMPHRIES, S.E. The application of molecular biology techniques to the diagnosis of hyperlipidemia and other risk factors for cardiovascular disease. **Clin. Chim. Acta.**, v. 216, p. 5-18, 1993.
- HUMPHRIES, S.E. DNA polymorphisms of the apolipoprotein genes – their use in the investigation of the genetic component of hyperlipidemia and atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 72, p. 89-108, 1988.
- III CONSENSO BRASILEIRO DE HIPERTENSÃO ARTERIAL. Campos do Jordão, SP, p.1-33, 1998.
- II CONSENSO BRASILEIRO SOBRE DISLIPIDEMIAS: avaliação, detecção e tratamento. **Arq. Bras. Cardiol.**, v. 67, n. 2, p.109-128, 1996.

- INNERARITY, T.L., WEISGRABAR, K.H., AMOLD, K.S., MAHLEY, R.W., DRAUSS, R.M., VEGA, G.L., GRUNDY, S.M. Familial defective apolipoprotein B-100 low-density lipoprotein with abnormal receptor binding. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 84, p. 6919-6923, 1987.
- ISHIBASHI, S., MORI, N., SHIMADA, M. Apolipoprotein E secreted by macrophage plays an important role in nerve injury and repair. **Horm. Metab. Res.**, v. 25, p. 82-87, 1993.
- ISHIGAMI, T., IWAMOTO, T., TAMURA, K., YAMAGUCHI, S., IWASAWA, K., UCHINO, K., UMEMURA, S., ISHI, M. Angiotensin I-converting enzyme gene polymorphism and essential hypertension in Japan. **Am. J. Hypertens.**, v.8, p.95-97, 1995.
- IWAI, N., OHMICHII, N., NAKAMURA, Y., KINOSHITA, M. Genotype of the angiotensin-converting enzyme is a risk factor for left ventricular hypertrophy. **Circulation**, v. 90(6), p. 2622-2628, 1994.
- JIAN, M., CAO, X., HUANG, J., QI, J., LU, G., WANG, J., BAI, D., QIAO, D., ZHACO, J.F., FENG, S., LIU, L. Polymorphism of angiotensin I converting enzyme gene in the older Chinese: linked to ambulatory blood pressure levels and circadian blood pressure rhythm. **Int. J. Cardiol.**, v. 55(1), p.33-40, 1996.
- JOHNSON, W.J., MAHLEY, F.H., ROTHBLAT, G.H., PHILLIPS, M.C. Cholesterol transport between cells an high-density lipoproteins. **Biochem. Biophys. Acta**, v. 1085, p. 273-298, 1991.
- JOHNSON, A.G., SIMOONS, L.A., FRIELDLANDER, Y., SIMONS, J., DAVIS, D.R, MACALLUM, J. I/D polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene does not predict isolated systolic or systolic-diastolic hypertension in the elderly. **J. Hum. Hypertens.**, v. 10(3), p.167-168, 1996.
- KAMBOH, M.I., BUNKER, C.H., ASTON, C.E., NESTLERODE, C.S., MCALLISTER, A.E., UKOLI, F.A. Genetic association of five apolipoprotein polymorphisms with serum lipoprotein-lipid levels in African blacks. **Genet. Epidemiol.**, v. 16(2), p. 205-222, 1999.
-

- KAMMERER, C.M., VANDEBERG, J.L., HAFFNER, S.M., HIXSON, J.E. Apolipoprotein B (apo B) signal peptide length polymorphism are associated with apo B, low density lipoprotein cholesterol, and glucose levels in Mexican Americans. **Atherosclerosis**, v. 120, p. 26-32, 1996.
- KANE, J.P. Regression of coronary atherosclerosis during treatment of familial hypercholesterolemia with combined drug regimens. **JAMA J. Am. Med. Assoc.** v.264, p.3007-3012, 1990.
- KANNEL, W.B., NEATON, J.D., WENTWORTH, D. Overall and coronary heart disease mortality rates in relation to major risk factors in 325,348 men screened for the MRFIT. **Am. Heart. J.**, v.112, p. 825-836, 1987.
- KAPLAN, M.N., LIEBERMAN, E. Primary Hypertension Pathogenesis. In: KAPLAN, M.N., LIEBERMAN, E. **Clinical Hypertension**. Baltimore, Williams & Wilkins, 1998, p.41-99.
- KASS, D.H., BATZER, M.A., DEIN INGER, P.L. A new restriction site polymorphism in exon 18 of the low density lipoprotein receptor gene. **Human. Genet.**, v. 95, p. 363-364, 1995.
- KATSUYA, T., HIGAKI, J., ISHIKAWA, K., SATO, N., OGIHARA, T. Genetic analysis of candidate gene polymorphism in elderly hypertension. **Nippon Ronen Igakkai Zasshi**, v. 36(8), p. 547-552, 1999.
- KATZ, S.L., IBADAH, J.Á., LETIZIA, J.Y., THOMAS, M.T., PHYLIPS, M.C.A. A ¹³C NMR characterization of lysine residues in apolipoprotein B and their role in binding to the low density lipoprotein receptor. **J. Biol. Chem.**, v. 263, p.13831-13838, 1988.
- KAUFMAN, L., VARGAS, A.F., COIMBRA, C.E.Jr., SANTOS, R.V., SALZANO, F.M., HUTZ, M.H. Apolipoprotein B genetic variability in Brazilian Indians. **Hum. Biol.**, v. 71(1), p. 87-98, 1999.
- KIENA, T.R., KAUMA, H., RANTALA, A.O., LIGIA, M., REUNANEN, A., KESYANIEMI, Y.A., SAVOLAINEN, M.J. Variation at the angiotensin-
-

- converting enzyme gene and angiotensin gene loci in relation to blood pressure. **Hypertension**, v. 28(6), p.1070-1075, 1996.
- KIMURA, M., YOKOTA, M., FUGIMURA, T., SHUKEI, K., HIRAYAMA, H., TSUEKAWA, A, MAEDA, M., INAGAKI, H., OGAWA, S., NAKASHIMA, N., YAMADA, Y. Association of a deletion polymorphism of the angiotensin-converting enzyme gene with left-ventricular hypertrophy in Japanese women with essential hypertension; Multicenter Study of 1919 subjects. **Cardiology**, v. 88, p. 309-314, 1997.
- KINOSHITA, M., ARAI, H., FUKASAWA, T. Apolipoprotein E enhance lipid exchange between lipoproteins mediated by cholesteryl ester transfer protein. **J. Lipid Res.**, v. 34, p. 261-268, 1993.
- KNOTT, T.J., PEASE, R.J., POWELL, L.M., WALLIS, S.C., RALL, S.C.Jr., INNERARITY, T.L., BLACKHART, B., TAYLOR, W.H., MARCEL, Y., MILNER, R., JOHSON, D., FULLER, M., LLUSIS, A.J., McCARTHY, B.J., MAHLEY, R.W., LEVY-WILSON, B., SCOTT, J. Complete protein sequence and identification of structural domains of human apolipoprotein B. **Nature**, v. 323, p.734, 1986.
- KNOTT, T.J., WALLIS, S.C., PEASE, R.J., LUSIS, A.J., BLACKHART, B., McCARTHY, B.J., MAHLEY, R.W., LEVY-WILSON, B., SCOTT, J. Complete cDNA and derived protein sequence of human apolipoprotein B-100. **Nucleic Acids Res.**, v. 14, p. 7501, 1986.
- KOO, C., INNERARITY, T.L., MAHLEY, R.W. Obligatory role of cholesterol and apolipoprotein E in the formation of large cholesterol-enriched and receptor-active high density lipoproteins. **J. Biol. Chem.**, v. 260, p.1934-1943, 1985.
- KREAGE, J.H., JOHN, S.W., LANGEMBACH, L.L., HODGIN, J.B., HAGAMAN, I.R., BACHMAN, E.S., JEMETTE, J.C., O'BRIEN, D.A., SMITHIES, O. Male-female difference in fertility and blood pressure in ACE-deficient mice. **Nature**, v. 375, p.146-148, 1995.
-

- KUBES, P., SUZUKI, M., GRANGER, D.N. Nitric oxide: an endogenous modulation of leukocyte adhesion. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 88, p. 4051-4655, 1991.
- KULLER, H.L., ORCHARD, J.T. The epidemiology of atherosclerosis in 1987: Unraveling a common source epidemic. **Clin. Chem.**, v.34, p.40-48, 1988.
- LAHIRI, D., NUNBERGER, J. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. **Nucleic Acids Res.**, v. 19(19), p. 5444, 1991.
- LAW, A., WALLIS, S.C., POWELL, L.M., PEAS, R.J., BRUNT, H., PRIESTY, L.M., KNOTT, T.J., SCOTT, J., ALMAN, D.F., MULLER, F.J., MULLER, N.E. Common DNA polymorphism with coding sequence of apolipoprotein B gene associated with altered lipid levels. **Lancet**, v. 1, p.1301, 1986.
- LEWIS, L.A., OLMSTED, F., PAGE, I.H. Serum lipid levels in normal persons. Findings of a comparative study of lipoproteins and atherosclerosis. **Circulation**, v. 16, p.227, 1957.
- LIAO, K.J. Endothelium and acute coronary syndromes. **Clin. Chem.**, v.44, p.1795-1797, 1998.
- LIBBY, P. Inflammatory and immune mechanisms in atherogenesis. In: LEAF, A., WEBER, P., eds. **Atherosclerosis reviews**. New York: Raven Press, 1990. p.79-89.
- LIBBY, P., CLINTON, S.K. The role of macrophages in atherogenesis. **Curr. Opin. Lipidol**, v. 4, p. 355-356, 1993.
- LINTON, M.F., FARESE, R.N., YOUNG, S.G. Familial hypobetalipoproteinemia. **J. Lipid. Res.**, v. 34. p. 521, 1993.
- LITHEL, H. Hypertension and hiperlipidemic: a review. **Am. J. Hypertens.**, v.6, p. 303-308, 1993.
- LOUBIJIA, J., MIETINEN, H.E., KONTULA, K., TIKKAMEN, M.J., MIETTINEN, T.A., TILVIS, R.S. Aging and genetic variation of plasma apolipoproteins. Relative loss of the apolipoprotein E4

- phenotype in centenarians. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 14, p.1084-1089, 1994.
- LUSIS, A.J., WEST.,R., MEHRABIAN, M., RUBIN, M.A., LEBOEUF, R.C., KAPTEIN, J.S., JONHSON, D.R.F., SCHUMAKER, V.N., YUHASZ, M.P., SCHOTZ, M.C., ELOSVON, J. Cloning and expression of apolipoprotein B, the major protein of low and very low density lipoproteins. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 82, p. 4597, 1985.
- MACAMDREW, P.E., BRANDT, J.T., PEARL, D.K., PRIOR, T.W. The incidence of the gene for thermolabile methylene tetrahydrofolate reductase in Africans Americans. **Tromb. Res.**, v. 83, p. 195-198, 1997.
- MAEDA, Y., IKEDA, U., EBATA, H., HAJO, Y., SEINO, Y., NAKAGAMI, H., SHIMADA, K. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in essential hypertension based on ambulatory blood pressure monitoring. **American Journal of Hypertension**, v. 10, p.786-789, 1997.
- MAGUCHI, M., KOHARA, K., OKURA., T., LI, S., TAKUZAKI, M., NISHIDA, N., HIWADA, K. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in essential hypertensive patients in Japanese population. **Angiology**, v. 47(7), p. 643-648, 1996.
- MAHLEY, R.W. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. **Science**, v. 240, p. 622, 1988.
- MAHLEY, R.W. Atherogenic lipoproteins and coronary artery disease: concepts derived from recent advances in cellular and molecular biology. **Circulation**, v. 72, p. 943, 1985.
- MAHLEY, R.W., INNERARITY, T.L. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cells biology. **Science**, v. 240, p. 622-630, 1988.
- MAHLEY, R.W., PALAOGLU, K.E., ATAK, Z. DAWSON-PEPIN, J., LANGLOIS, A.M., CHEUNG, V., ONAT, H., FULKS, P., MAHLEY, L.L., VAKAR, F., OZBAYRAKÇI, S., GOKDEMIR, O.L., WINKLER,

- W. Turkish heart study: lipids, lipoproteins and apolipoproteins. **J. Lipid. Res.**, v. 36, p. 839-859, 1995.
- MARGAGLIONE, M., CELENTANO, E., GRANDONE, E., VECCHIONE, G., CAPPUCCI, G., GIULIANI, N., COLAIZZO, D., PANICO, S., MANCINI, P.F., DI MINMO, G. Deletion polymorphism in the angiotensin-converting enzyme gene in patients with a history of ischemic stroke. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v.16, p.304-309, 1996.
- MARIAN, A.J., YU, Q., WORKMAN, R.R., GREVE, G., ROBERTS, R. Angiotensin-converting enzyme polymorphism in hypertrophic cardiomyopathy and sudden cardiac death. **Lancet**, v. 342, p.1085, 1993.
- MARTIN, M.J., HULLEY, S.B., BROWNER, W.S. Serum cholesterol, blood pressure and mortality implications from a cohort of 361,662 men. **Lancet**, v. 2, p. 933-936, 1986.
- MASTAVA, S., NUNN, J., Angiotensin-converting enzyme deletion polymorphism is associated with hypertension in a Sikh population. **Hum. Hered.**, v. 47(5), p. 250-253, 1997.
- MATTU, K.K., NEEDHAM, E.M., GALTON, D.J., FRANGOS, E., CLARK, A. J., CAULFIELD, M. A DNA variant at the angiotensin-converting enzyme gene locus associates with coronary artery disease in the Caerphilly Heart Study . **Circulation**, v. 91(2), p. 270-274, 1995.
- MAZZONE, T. Apolipoprotein E secretion by macrophages: its potential physiological functions. **Curr. Opin. Lipid**, v. 7, p. 303-307, 1996.
- McGILL, H.C.Jr. The pathogenesis of atherosclerosis. **Clin. Chem.**, v. 34.8(B), p. B33-B39, 1988.
- MISEREZ, A.R., SCHUSTER, H., CHIDETLI, N., KELLER, U. Polymorphic haplotypes and recombination rates at the LDL receptor gene locus in subjects with and without familial hypercholesterolemia who are from different populations. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 52, p. 808-826, 1993.
-

- MONDORF, U.F., RUSS, A., WIESERMANN, A., HEARERO, M., ORENEK, G., LENZ, T. Contribution of angiotensin I converting enzyme gene polymorphism to blood pressure regulation in essential hypertension. **Am. J. Hypertens.**, v. 11(2), p.174-183, 1998.
- MORISE, T., TAKEUCHI, Y., TAKEDA, R., Angiotensin-converting enzyme polymorphism and essential hypertension. **Lancet**, v. 343, p.125, 1994.
- MOSS, G.A., BONDAR, R.J.L, BUZELLI, D.M. Kinetic enzymatic method for determining serum creatinine. **Clin. Chem.** v.21, p.1422-1426, 1975.
- NAITO, K.H. Coronary artery disease and disorders of lipid metabolism. In: KAPLAN, A.L., PESCE J.A. **Clinical Chemistry: theory, analysis, correlation**. Baltimore: Mosby ,1996, capítulo 33, p.674.
- NAKAI, K., ITOH, C. MIURA, Y. Deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with serum ACE concentration and increased risk for CAD in the Japanese. **Circulation**, v.90, p.2199-2202, 1994.
- NAKANO, Y., OSHIMA, T., HIRAGA, H., MATSURA, H., KAJIYAMA, G., KAMBE, M. DD genotype of the angiotensin I-converting enzyme gene is a risk factor for early onset of essential hypertension in Japanese patients. **J. Lab. Clin. Med.**, v. 13(6), p. 502-506, 1998.
- NEWMAN, W.P., FREDMAN, D.S., VOORS, W. Relation of serum lipoprotein levels and systolic blood pressure to early atherosclerosis: the Bogaluse Heart Study. **N. Engl. J. Med.**, v. 314, p.138-144, 1986.
- NIELSEN, L.B. Transfer of low density lipoprotein into the arterial wall and risk of atherosclerosis. **Atherosclerosis**, v. 5, p. 1-15, 1996.
- NIKILA, M., HEIAKINEN, J. High-density lipoprotein cholesterol and longevity. **Age Aging**, v. 19, p.119-124, 1990.
- O'MALLEY, J.P., ILLINGWORTH, D.R. The influence of apolipoprotein E phenotype on the response to lovastatin therapy in patients with
-

- heterozygous familial hypercholesterolemia. **Metabolism**, v. 3, p.12-16, 1992.
- O'DONELL, J.C., LINDPAINTNER, K., LARSON, G.M., RAO, S.V., ORDOVAS, M.J., SCHAEFER, J.E., MYERS, H.R., LEVY, D. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin-converting enzyme locus with hypertension and blood pressure in men but not women in the Framingham Heart Study. **Circulation**, v. 97, p. 1766-1772, 1998.
- OGIHARA, T., KATSUYA, T., HIGASHI, J. Genetic analysis of essential hypertension in Japanese populations. **Ann. N. Y. Acad. Sci.**, v. 902, p.8-16, 2000.
- OPAIL, S. Arterial hypertension. In: **Cecil Textbook of Medicine**, WB. Saunders Company, St. Louis, v. 1, p.253-257, 1992.
- OREN, I., BROOK, J.G., GERSHONI-BARUCH, R., KEPTEN, I., TAMIR, A., LINN, S., WOLFOWITZ, E. **Atherosclerosis**, v. 145(2), p. 267-271, 1999.
- PATRONO, C., FITZGERALD, G. Isoprostanes. Potencial markers of oxidant stress in atherothrombotic disease (Brief Review). **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 17, p. 2309-2315, 1997.
- PEASE, R.J., LEIPER, J.M. Regulation of hepatic apolipoprotein B-containing lipoprotein secretion . **Curr. Opin. Lipidol**, v. 7, p.132-138, 1996.
- PEDERSEN, J.C., BERG, K. Normal DNA polymorphism at the low density lipoprotein receptor locus associated with serum cholesterol level. **Clin. Genet.**, v. 34, p. 302-312, 1988.
- PONTREMOLI, R., SOFIA, A., TIROTTA, A., RAVERA, M., NICOLELLA, C., VIAZZI, F., BEZANTE, G.P., BORGIA, L, BOBOLA, N., RAVAZZOLO, R., SACCHI, G., DEFERRARI, G. The deletion polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme gene is associated with target organ damage in essential hypertension. **J. Am. Soc. Nephrol.**, v. 7(12), p.2550-2558, 1996.
-

- POIRIER, J., DAVIGNON, J., BOUTHILLIER, D., KOGAN, S., BERTRAND, P., GAUTHIER, S. Apolipoprotein E polymorphism and Alzheimer disease. **Lancet**, v. 342, p. 697-699, 1993.
- POPOV, V., FOMICHEVA, E., KOVALEV, J., SCHWARTS, E. Absence of association between the angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and borderline hypertension in men of St. Petersburg, Russia. **J. Hum. Hypertens.**, v. 10(8), p. 557-559, 1996.
- RADOMSKI, M.W., PALMER, R.M., MONCADA, S. An L-arginine/nitric oxide pathway present in human platelets regulates aggregation. **Proc. Natl. Acad. Sci.**, v. 87, p. 5193-5197, 1990.
- RALL, S.C., WEISGRABER, K.H., MAHLEY, R.W. Human apolipoprotein E: the complete amino acid sequence. **J. Biochem.** v.247, p.4171-4178, 1982.
- RAUH, G., SCHUSTER, H., MULLER, B., SCHEWE, S., KELLER, C., WOLFRAM, G., ZOLLNER, N. Genetic evidence from 7 families that the apolipoprotein B gene is not involved in familial combined hyperlipidemia. **Arteriosclerosis**, v. 183, p. 81, 1990.
- RAYNOLDS, M.V., BRISTOW, M.R., BUSH, E.W., ABRAHAM, W.T., LOWES, B.D., ZISMAN, L.S., TAFI, C.S., PERYMAN, M.B. Angiotensin-converting enzyme DD genotype in patients with ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. **Lancet**, v.342, p.1073-1075, 1993.
- REBBECK, T.R., TURNER, S.T., SING, C.F. Probability of having hypertension effects of sex, history of hypertension in parents, and other risk factors. **J. Clin. Epidemiol.**, v. 49, p. 727-734, 1996.
- RENGES, H.H., PEACOCK, R., DOMING, A.M., TALMUD, P., HUMPHRIES, S.E. Genetic relationship between the 3'VNTR and diallelic apolipoprotein B gene polymorphisms: hapotype analysis in individuals of European and South Asian origin. **Ann. Hum. Genet.**, v. 56, p.11-33, 1992.
- RIFAI, N. Lipoproteins, atherosclerosis and coronary heart disease. In: **Composition, Metabolism, Measurement, and Clinical**
-

- Significance of Lipoproteins**, Washington: AACC Press, 1993. v.1, p.13-20.
- RIGAT, B., HUBERT, C., COVOL, P., SOUBRIER, F. PCR detection of the insertion/deletion polymorphism of the human angiotensin-converting enzyme gene (DCP) (dipeptidyl carboxypeptidase I). **Nucleic Acids Res.**, v. 20, p. 1433, 1992.
- ROBERTSON, W.B, STRONG, J.P. Atherosclerosis in persons with hypertension and diabetes mellitus. **Lab. Invest.**, v. 18, p. 538-551, 1968.
- SACHS, F.M., PFEFFER, M.A., MOYE, L.A., POUTEAU, J.L., RUTHENFORD, J.D., COLE, T.G. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. **N. Engl. J. Med.** v.335, p.1001-1009, 1996.
- SALAZAR, L.A., GIANNINI, S.D., HIRATA, R.D.C., OZAKI, N.A., FORTI, N., DIAMENT, J., ISSA, J., NGUYEN, N.Y., HIRATA, M.H. Polimorfismo genético de apolipoproteína E en mujeres postmenopausia. **Rev. Chil. Cienc. Méd. Biol.**, v. 7, n. 1, p. 52, 1997.
- SAMBROOK, J., FRITSCH, E.R., MANIATIS, T. **Molecular cloning: a laboratory manual**. 2. ed. Cold Spring Harbor. Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989. p. E10-E14.
- SANGHERA, D.K., FERREL, R.E., ASTON, C.E., MCALLISTER, A.E., KAMBOH, M.I., KIMM, S.Y. Quantitative effects of the apolipoprotein E polymorphism in a biracial sample of 9-10-year-old girls. **Atherosclerosis**, v. 27, p. 35-42, 1996.
- SCANDINAVIAN SIMVASTATIN SURVIVAL STUDY GROUP – Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). **The Lancet**, v. 334, p.1383-1389, 1994.
- SCACCHI, R., CORBO, R.M., RICHARDS, O., MANTUANO, E., GUEVARA, A., DE STEFANO, G.F. Apolipoprotein B and E genetic
-

- polymorphisms in the Cayapa Indians of Ecuador. *Hum. Biol.*, v. 69(3), p. 375-382, 1997.
- SCHMIDT, S., VAN HOOFT, M.S.I., GRABBEE, E.D., GANTEN, D., RITZ, E. Polymorphism of the angiotensin I converting enzyme gene is apparently not related to high blood pressure: Dutch Hypertension and Offspring Study. *Journal of Hypertension*, v.11, p. 345-348, 1993.
- SCHUMBERT, H., JACKSON, B., TANG, S.S., SCHOEN, F.J., SMITS, J.F.M., APSTEIN, C.S., LORELL, B.H. Distribution and functional significance of cardiac angiotensin-converting enzyme in hypertrophied hearts. *Circulation*, v. 87, p.1328-1339, 1993.
- SELWYN, A.P., KINLAY, S., LIBBY, P., GANZ, P. Atherogenic lipids, vascular dysfunction, and clinical signs of ischemic heart disease. *Circulation*, v. 95, p. 5-7, 1997.
- SEPEHRNIA, B., KAMBOH, M.I., ADAMS-CAMPBELL, L.L., BUNKER, C.H., NWANDWO, M., MAJUMDER, P.P., FERRELL, R.E. Genetic studies of human apolipoprotein X. The effect of the apolipoprotein E polymorphism on quantitative levels of lipoproteins in Nigerian Blacks. *Am. J. Hum. Genet.*, v. 45, p. 586-591, 1989.
- SHADRIANA, M.I., SLONIMSKI, P.A., OGANOV, R.G., PEROVA, N.V., LIMBORSKAIA, S.A. Analysis of polymorphism of the 5'-terminal region of apolipoprotein B gene in patients with ischemic heart disease. *Genetika*, v. 32(8), p. 1041-1044, 1996.
- SHEN, D., HA, D. The relationship between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and brain infarction in Chinese hypertensives. *Chung Hua I Hsueh I Chuan Hsueh Tsa Chih*, v. 15(3), p. 136-138, 1998.
- SOUBRIER, F., ALHENC, F.G., HUBERT, C. Two putative active centers in human angiotensin I-converting enzyme revealed by molecular cloning. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, v.85, p.9386-9390, 1988.
- SOLBERG, L.A., MCGARRY, P.A. Cerebral atherosclerosis in Negroes and Caucasians. *Atherosclerosis*, v. 16, p.141-154, 1972.
-

- SOLBERG, L.A., STRONG, J.P. Risk factors and atherosclerotic lesions. A review of autopsy studies. **Atherosclerosis**, v. 3, p. 187-198, 1983.
- SRINIVASAN, R.S., ETHNHOLM, C., ELKASABANY, A., BERENSON, G. Influence of apolipoprotein E polymorphism on serum lipids and lipoprotein changes from childhood to adulthood. The Bogalusa Heart Study. **Atherosclerosis**, v. 143, p. 435-443, 1999.
- STAMLER, J. Epidemiology of coronary heart disease. **Med. Clin. Nort. Am.**, v. 57, p. 5-46, 1973.
- STAMLER, J. Established major coronary risk factor. In: MAMOT, M., ELLIOT, P., eds. **Coronary heart disease epidemiology: from etiology to public health**. Oxford: Oxford Medical Publications, 1992. p.35-66.
- STARY, H.C. Evolution and progression of atherosclerotic lesions in coronary arteries of children and young adults. **Atherosclerosis**, v. 9 (supl.), p.1-19, 1989.
- STEFANSON, B., RICKSTEM, A., RYMO, I., AURELL, M., HERLITZ, H. Angiotensin-converting enzyme gene I/D polymorphism in malignant hypertension. **Blood Press**, v. 9(2-3), p.104-109, 2000.
- STEINBERG, D. PARTHASARATHY, S., CAREW, T.E. Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoproteins that increase its atherogenicity. **N. Engl. J. Med.**, v.320, p.915-923, 1989.
- STONE, N.J., LEVY, R.I., FREDRICKSON, D.S., VERTER, J. Coronary artery disease in 116 kindred with familial type II hyperlipoproteinemia. **Circulation**, v. 49, p. 476, 1974.
- STRONG, J.P. Atherosclerotic lesions natural history, risk factors, and topography. **Arch. Pathol. Lab. Med.**, v. 116, p. 1268-1275, 1992.
- SUGIYAMA, T., MORITA, H., KATO, N., KUNIHARA, H., YAMORI, Y. YAZAKI, Y. Lack of sex-specific effects on the association between angiotensin-converting enzyme gene polymorphism and hypertension in Japanese. (**Hypertens. Res.**, v. 22(1), p. 55-59, 1999.
-

- TADDEI, S., VIRDIS, A., MATTEI, P. Defective L-arginina-nitric oxide pathway in offspring of essential hypertensive patients. **Circulation**, v.94, p.1298-1303, 1996.
- TADDEI, S., VIRDIS, A., MATTEI, P. Aging and endothelial function in normotensive subjects and essential hypertension. **Circulation**, v.91, p.1981-1987, 1995.
- TALMUD, P.J., BARNI, G., KESSLING, A.M., CARLSON, P., DARMFORS, C., BJURSELL, G., GALTON, D., WYNN, V., HUMPHRIES, S.E. Apolipoprotein B gene variant are involved in the determination of serum cholesterol levels. A study in normo and hypolipidemic individuals. **Atherosclerosis**, v. 67. p. 81, 1987.
- TANNER, F.C., NOLL, G., BOULANGER, C.M., LUSCHER, T.F. Oxidized low density lipoproteins inhibit relaxations of porcine coronary arteries: role of scavenger receptor and endothelium-derived nitric oxide. **Circulation**, v. 83, p. 2012-2020, 1991.
- TAITTONEN, L., UHARI, M., KONTULA, K., KAINULAINEN, K., NIETTINEN, H., TURTINEN, J., NUUTINEN, M. Angiotensin I-converting enzyme gene insertion/deletion polymorphism, angiotensinogen gene polymorphisms, family history of hypertension, and childhood blood pressure. **Am. J. Hypertens.**, v.12, p-858-866, 1999.
- TIRET, L., KEE, F., POIRIER, O. Deletion polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene associated with parental history of myocardial infarction. **Lancet**, v. 341, p. 991, 1993.
- TIRET, L., KEE, F., PURIER, O., NICAUD, V., LECERF, L., EVANS, L., CAMBIEN, L.P.J., ARVELLIER, D., LUC, G., AMOUYEL, P., CAMBIEN, F. Delection polymorphism in angiotensin-converting enzyme gene associated with parental history of myorcardial infarction. **Lancet**, v. 341. p. 991-992, 1993.
- TIRET, L., RIGAT, B., VISWIKIS, S., BREDA, C., CORVOL, P., CAMBIEN, F., SOUBRIER, F. Evidence from combined segregation and linkage analysis that a variant of the angiotensin I-converting

- enzyme (ACE) gene controls plasma ACE levels. **Am. J. Hum. Genet.**, v. 51, p.197-205, 1992.
- TURNER, P.R., TALMUD, P.J., VISVIKIS, S., EHMOHLM, C. TIRET, L. DNA polymorphism of the apolipoprotein B gene are associated with altered plasma lipoprotein concentration but not with perceived risk of cardiovascular disease: European Atherosclerosis Research Study. **Atherosclerosis**, v. 116(2), p. 221-234, 1995.
- VASSILIKIOT, S., DOUMAS, M., DOUMAS, S., PETIDIS, K., KARAGIANNIS, A., BALASKA, K., VYZANTIADIS, A., ZAMBOULIS, C. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism is not related to essential hypertension in a Greek population. **Am. J. Hypertens.**, v. 9(7), p. 700-702, 1996.
- VISVIKIS, S., CHEM, L., SIEST, G., DROUIN, P., BORRRWINKLE, E. An insertion deletion polymorphism in the signal peptide of the human apolipoprotein B gene. **Hum. Genet.**, v. 84, p.373, 1992.
- WATTS, G.R., LEWIS, B., BRUNT, J.N.H., LEWIS, E.S., COLTART, D.J., SMITH, L.D.R. Effects on coronary artery disease of lipid-lowering diet, or diet plus cholestyramine in the St. Thomas Atherosclerosis Regression Study (STARS). **Lancet**, v. 339, p. 563-569, 1992.
- WEBBER, L.S., SRINIVASCIN, S.R., WATTGNEY, W.A. Tracking of serum lipids and lipoproteins from childhood to adulthood. **Am. J. Epidemiol.**, v.133, p.884-899, 1991.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION, International Society of Hypertension. Guidelines for the Management of Hypertension, Australia, p.1-48, 1999.
- YAMAMOTO, T., DAVIS, C.G., BROWN, M.S., SCHEIDER, W.J., CASEY, M.L., GOLDSTEIN, J.L., RUSSELL, D.W. The human LDL receptor: a cysteine-rich protein with multiple Alu sequences inits mRNA. **Cell**, v. 39, p. 27, 1984.
- YANG, C.Y., CHEN, S.H., GIANTURCO, S.H., BRADLEY, W.A., SPARROW, J.R., TANIMURA, M., LI, W.H., SPARROW, D.A.,
-

- DELLOF, H., ROSSENEU, M., LEE, F.S., GU, Z.W., GOTTO, A.M.Jr., CHAN, L. Sequence, structure, receptor-binding domains and internal repeats of human apolipoproteins B-100. **Nature**, v. 323, p. 738, 1986.
- YANG, C.Y., PWNALL, H.J. Structure and function of apolipoprotein B. In: ROSSENEU, M. **Structure and function of apolipoproteins**. Boca Raton: CRC Press, 1980. v. 82, p.1574-1594.
- YE, P., CHEN, B., WANG, S. Association of polymorphism of the apolipoprotein B gene with coronary heart disease in Han Chinese. **Atherosclerosis**, v. 117(1), p. 43-50, 1995.
- YONEYA, K., OAMOTO, H., MACHIDA, M., ONOZUKA, K., NOGUCHI, M., MIKAMI, T., KAWAGUCHI, H., MURAKAMI, M., UEDA., T., KITABATAKE, A. Angiotensin-converting enzyme gene polymorphism in Japanese patients with hypertrophic cardiomyopathy. **Am. Heart J.**, v. 130(5), p. 1089-1093, 1995.
- YOUNG, S.G. Recent progress in understanding apolipoprotein B. **Circulation**, v. 82, p.1574-1594, 1990.
- ZAMAN, M.M., IKEMOTO, S., YOSHIKE, N., DATE, C., YOKOYAMA, T., TANAKA, H. Association of apolipoprotein genetic polymorphisms with plasma cholesterol in a Japanese rural population. The Shibata Study. **Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.**, v. 17(12), p. 3495-3504, 1997.

RESUMO

Avaliou-se em 184 indivíduos afro-brasileiros de quatro comunidades de Mato Grosso do Sul, com história familiar de alta prevalência de doenças cardiovasculares e acidente vascular cerebral, a associação entre o polimorfismo I/D do gene da enzima conversora da angiotensina (ECA) com a hipertensão, assim como o efeito dos polimorfismos I/D do peptídeo sinalizador do gene da apo B e da apo E sobre as concentrações séricas de lipídeos. As regiões polimórficas dos genes foram amplificadas pela reação em cadeia pela polimerase e os fragmentos obtidos foram caracterizados por eletroforese em gel de agarose a 2% e poliacrilamida a 10% para o polimorfismo da ECA e peptídeo sinalizador da apo B, respectivamente. Para o polimorfismo da apo E, o produto amplificado foi digerido com a enzima de restrição *HhaI* e caracterizado por eletroforese em gel de poliacrilamida a 15%. Os lipídeos séricos foram determinados por métodos enzimáticos comerciais com analisador bioquímico automático, Hitachi modelo 902, utilizando controle de qualidade do Colégio Americano de Patologistas (CAP) e da Sociedade Brasileira de Patologia Clínica (PELM). Os resultados indicam uma associação do alelo D do polimorfismo da ECA entre os indivíduos do sexo masculino ($p:0,037$) e, também, entre os indivíduos com idade acima de 40 anos ($p:0,010$). Na população de afro-brasileiros em geral, esse polimorfismo não apresentou correlação com hipertensão ($0,156$). O polimorfismo da apo E na população afro-brasileira não contribuiu na variação dos lipídeos séricos, enquanto os indivíduos portadores do alelo D do peptídeo sinalizador da apo B apresentaram concentrações séricas mais elevadas de colesterol total ($p:0,027$).

ABSTRACT

The association between insertion/deletion I/D polymorphism of the angiotensin I-converting enzyme (ACE) gene, as well as, the effect of insertion/deletion I/D polymorphism of apolipoprotein B signal peptide and apolipoprotein E genes on lipids serum concentrations were evaluated in 184 afro-Brazilian individuals from four communities of the State of Mato Grosso do Sul, MS, with familial history of high prevalence in coronary heart disease and cerebral vascular accident. The gene's polymorphics regions were amplified by polymerase chain reaction and the products obtained were characterized by electrophoresis using 2% agarose and 10% polyacrylamide gels for ACE and signal peptide of apo B, respectively. The amplified product from Apo E polymorphic region was digested with the restriction enzyme *HhaI* and characterized by electrophoresis in 15% polyacrylamide gel. The serum lipids were measured by commercial enzymatic methods with chemistry automatic analyzer, Hitachi 902, using quality control from the College of American Pathologists (CAP) and from Brazilian Society of Clinical Pathology (PELM). The results indicate an association among male individuals ($p:0,037$), with 40 years ($0,010$) of age older and carriers of D allele of the ACE polymorphism with hypertension. In afro-Brazilians population, in general, this polymorfism hasn't shown relation with hypertension ($p:0,156$). The apo E polymorphism in afro-Brazilian population hasn't contributed in variation of serum lipids, whereas that the carrying individuals with D allele signal peptide of apo B has been shown higher cholesterol total serum concentration ($0,027$).

ANEXOS



ANEXO 1: RESULTADOS DOS ANALITOS, GENÓTIPOS DOS POLIMORFISMOS DOS GENES DA ECA, APO E I/D DA APO B E DADOS CLÍNICOS E LABORATORIAIS DOS INDIVÍDUOS DO GRUPO DE ESTUDO.

IDENT	INIC.	ID.	SEXO	FUMO	PA	IMC	ECA	apo E	I/D apo B	CT	HDL-C	LDL-C	TG	GLI	CREAT	K
COMUNIDADE FURNAS DO DIONÍSIO GRUPO A																
15	LJM	33	F	NFu	140/100	27,0	II	E3E3	ID	160,4	40,1	100,4	99,5	87,7	1,08	3,4
16	AFM	67	M	NFu	150/90	27,5	ID	E3E3	II	176,1	53,0	110,9	61,1	104,8	1,04	3,9
18	MAS	26	F	NFu	130/80	24,5	II	E2E4	ID	137,2	39,0	82	80,8	76,2	0,76	4,0
19	VM	59	M	NFu	190/90	28,1	DD	E2E4	II	214,3	64,0	135,3	75,0	108,9	1,13	4,0
20	LDS	52	M	NFu	230/100	25,5	ID	E3E4	II	133,2	50,0	75,6	38,1	83,5	1,11	5,0
21	LDJ	60	F	NFu	220/101	20,8	ID	E2E4	II	207,7	55,0	127	93,7	103,7	0,99	3,9
23	IBM	23	F	NFu	110/70	23,9	DD	E2E4	II	134,3	37,2	87,7	47,2	86,4	0,63	3,9
24	EDM	25	M	NFu	151/73	22,7	ID	E2E4	II	118,9	30,3	77,7	54,4	73,3	1,06	4,1
25	DSO	20	F	NFu	110/70	22,6	ID	E3E3	ID	141,2	35,6	96,1	47,4	65,2	0,68	4,0
26	LAS	57	M	NFu	92/71	24,1	ID	E2E4	II	155,2	55,0	88,8	57,2	79,2	0,98	4,0
27	LMS	25	F	NFu	101/75	27,0	DD	E2E4	ID	173,4	40,3	122,4	53,8	80,5	0,72	3,9
28	CAM	53	F	NFu	190/104	21,9	DD	E2E4	II	204,7	60,0	132,7	60,2	71,8	0,71	4,1
29	CAS	23	F	NFu	123/84	23,9	ID	E2E4	ID	183,1	49,5	124,3	46,4	75,7	0,61	4,0
30	CMSB	27	F	NFu	124/92	24,3	ID	E2E4	II	156,1	37,9	87	67,7	77,1	0,90	4,1
31	IMPS	53	F	NFu	153/85	22,4	ID	E3E3	ID	134,8	47,0	72	79,4	80	0,69	4,0
32	MAP	27	M	Fu	112/74	24,6	ID	E3E3	ID	104,5	30,3	66,9	36,6	67,5	0,67	4,0
33	CAM	26	F	NFu	114/76	23,9	ID	E3E3	II	121	38,4	74,3	41,3	60,7	0,74	4,1
34	RAM	21	M	NFu	131/84	22,8	ID	E3E3	II	112,7	27,3	79,7	28,3	130,9	0,83	4,0
35	VFM	29	F	Fu	125/83	24,1	ID	E3E4	ID	178,7	44,5	117,2	85,0	80	0,69	4,0
36	LJM	62	F	NFu	154/103	25,5	ID	E3E3	II	176,1	38,1	121	85,0	80,2	0,83	4,0
37	ALS	20	F	NFu	106/64	21,9	ID	E2E4	II	108,8	37,5	62	46,4	67,3	0,80	4,1
38	IBM	21	F	Fu	103/63	23,7	DD	E3E3	II	113,5	32,6	73	39,4	79,1	0,79	4,0
39	OBS	22	M	NFu	112/75	21,5	DD	E3E3	II	140	26,7	82,6	153,6	53,3	0,97	4,1
40	ZM	24	F	NFu	118/84	21,2	DD	E2E4	II	200,1	45,7	143,7	53,6	71	0,62	4,0
41	LAM	59	M	NFu	151/103	22,6	DD	E3E3	II	160,2	50,0	91,6	93,3	73,1	1,19	4,8
42	NFM	37	M	NFu	124/85	24,6	ID	E3E3	ID	170,1	41,3	87,8	205,3	100,7	1,07	4,1
43	LDS	49	M	NFu	112/76	24,1	ID	E3E4	II	147,1	35,3	100,7	55,5	70,8	0,85	4,0
44	LAT	21	F	NFu	117/84	22,5	DD	E3E4	ID	122,2	38,9	73,1	51,2	76,2	0,76	3,9
45	CAP	29	F	NFu	116/75	22,9	II	E3E4	II	103,5	29,8	65,4	41,6	66,3	0,71	4,0
56	DMS	36	F	NFu	170/85	28,6	DD	E3E3	II	143,6	33,0	65,6	225,5	77,6	0,75	3,8
57	TLS	40	F	NFu	117/73	20,7	DD	E3E3	II	150,8	42,0	98,6	51,2	86,8	0,64	4,2
58	FFS	43	M	Fu*	126/68	21,1	ID	E3E4	II	199,2	42,0	135,7	107,9	69,3	0,74	4,1
59	RDJ	59	F	NFu	155/93	24,2	ID	E3E4	II	175,3	41,0	122,4	59,9	75,9	0,61	3,5

Síglas: Inic.: iniciais dos nomes; F: feminino; M: masculino; Fu*: fumante com menos de 10 cigarros por dia; Nfu: não-fumante; PA: pressão arterial; IMC: índice de massa corpórea; ECA: genótipos da enzima conversora de angiotensina; apo E: genótipos do polimorfismo da apo E; I/D apo B: genótipos do polimorfismo da apo B; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da HDL; LDL-C: colesterol da LDL; TG: triacilgliceróis; GLI: glicose; CREAT: creatinina; K: potássio.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO 1

IDENT	INIC.	ID.	SEXO	FUMO	PA	IMC	ECA	apo E	I/D	apo B	CT	HDL-C	LDL-C	TG	GLI	CREAT	K
60	AMVS	32	F	NFu	121/82	25,7	DD	E3E3	ID	202,6	43,2	141,5	89,9	80,9	0,76	3,8	
61	MAP	54	M	NFu	158/100	29,5	DD	E2E4	ID	205,9	35,0	156,4	72,8	70,1	1,04	3,9	
62	NJCM	22	F	NFu	120/73	21,1	ID	E3E3	ID	204,3	53,5	126,4	122,1	57,3	0,76	4,0	
63	IFM	43	M	NFu	114/85	29,0	ID	E2E4	II	164,5	45,3	106,2	65,0	65,8	1,03	4,2	
65	CAM	65	F	NFu	143/86	19,1	DD	E2E4	II	174,2	53,0	106	76,0	62,1	0,79	4,1	
66	MLT	26	F	Fu	117/72	20,2	ID	E2E4	ID	145,9	40,8	89,2	79,8	65,1	0,65	4,0	
68	MAT	26	F	NFu	150/73	18,5	II	E3E3	ID	198,8	49,9	134,1	74,2	83,4	0,97	3,6	
69	ACS	32	F	Fu	171/122	29,8	II	E3E4	II	165	45,8	103,1	80,6	68,1	0,67	3,9	
70	AMJ	61	F	NFu	149/82	19,5	DD	E3E3	II	257,9	27,0	182	240,0	88,7	0,68	3,8	
71	MGM	33	F	NFu	119/63	24,4	DD	E3E3	ID	184,5	50,3	119,6	73,3	79,2	0,72	4,1	
72	ASC	36	M	NFu	112/64	18,6	DD	E2E4	ID	161,2	37,6	110,7	64,5	73,3	1,10	4,0	
73	MAMS	42	F	Fu	135/91	19,8	ID	E2E4	ID	156,7	46,9	93,1	83,8	72,8	0,83	4,1	
74	MMPC	21	F	NFu	127/75	20,9	ID	E3E3	ID	172,5	41,5	117,3	68,5	61,9	0,76	3,9	
75	SBS	37	M	NFu	111/76	21,5	DD	E3E3	II	175,7	39,1	102,1	172,8	69,8	0,81	4,0	
76	JSM	49	M	Fu*	134/82	21,2	DD	E3E3	II	187	44,8	106,2	180,0	75,3	1,17	3,9	
127	MMSM	33	M	NFu	130/80	28,5	DD	E3E3	DD	183,9	47,6	119,6	83,8	87,9	0,95	5,5	
128	LCS	25	M	NFu	135/81	22,6	ID	E3E3	II	116,4	40,3	66,3	49,3	67,3	0,80	5,1	
129	ABN	28	M	NFu	124/83	21,9	DD	E3E4	II	139,4	36,9	84,2	91,5	71,4	0,78	4,8	
130	SAM	72	M	NFu	201/104	22,0	DD	E3E3	II	169	50,0	110,1	44,9	73,7	0,93	4,9	
131	FCM	34	F	NFu	121/75	18,8	ID	E2E4	II	165,8	49,2	108,3	41,6	74	0,77	4,8	
132	CMSB	20	M	NFu	133/76	23,3	ID	E3E4	II	108,5	37,9	63,3	36,6	98,6	0,82	5,2	
133	AS	27	M	NFu	112/73	21,9	DD	E3E3	II	170,2	40,1	112,9	86,4	79,6	0,83	4,2	
134	JAM	73	M	NFu	200/113	26,8	DD	E3E3	II	189,8	38,8	123,3	138,9	77,1	1,15	4,6	
135	CMX	41	F	NFu	121/92	29,2	DD	E3E3	DD	191,4	44,0	127,7	98,7	83,2	0,53	4,4	
141	SLS	63	M	NFu	153/104	26,7	DD	E3E3	II	218,7	40,6	148,9	148,8	82,6	0,91	4,0	
142	ARJ	63	F	NFu	204/142	29,6	DD	E2E4	II	131,9	46,1	66,5	96,6	69,5	0,76	5,0	
144	JJCM	33	M	NFu	149/101	24,3	DD	E2E4	ID	199,1	45,4	135,6	90,4	72,2	0,91	4,7	
147	CMSB	25	M	NFu	125/72	22,4	ID	E3E4	II	120,5	36,8	7,5	37,6	90,8	0,99	4,1	
148	JBS	23	F	NFu	123/74	19,4	ID	E3E3	II	172,7	47,6	112,4	63,5	88,5	0,89	4,2	
149	ASS	20	M	NFu	124/63	21,5	DD	E2E3	II	170,3	37,6	124,1	43,4	78,6	0,79	4,0	
150	MMS	42	F	NFu	163/94	27,9	DD	E3E3	II	161,4	48,5	102,5	51,8	105,8	0,78	4,6	
151	LMS	28	F	NFu	100/62	20,1	DD	E3E4	II	224,1	49,4	166,5	41,0	71,7	0,65	4,0	
152	AVS	38	M	Fu	112/64	20,7	DD	DD	II	121,9	39,9	58,1	91,4	89,7	0,81	4,1	
153	JAC	44	M	Fu	121/72	21,9	DD	E2E4	II	182	35,7	119,4	134,6	66,7	1,25	4,0	
154	AAM	67	M	Fu	161/93	25,0	DD	E2E4	II	175	40,6	110,9	117,8	76,3	1,02	4,5	
155	SJCM	40	M	NFu	124/83	23,6	DD	E3E3	ID	193,9	40,1	133,9	99,7	73,6	1,18	4,6	
156	JAS	25	F	NFu	131/63	26,0	ID	E2E4	II	217,7	46,7	147,5	117,8	63,3	0,86	4,2	

Siglas: Inic.: iniciais dos nomes; F: feminino; M: masculino; Fu*: fumante com menos de 10 cigarros por dia; Nfu: não-fumante; PA: pressão arterial; IMC: índice de massa corpórea; ECA: genótipos da enzima conversora de angiotensina; apo E: genótipos do polimorfismo da apo E; I/D apo B: genótipos do polimorfismo da apo B; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da HDL; LDL-C: colesterol da LDL; TG: triacilgliceróis; GLI: glicose; CREAT: creatinina; K: potássio.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO 1

IDENT	INIC.	ID.	SEXO	FUMO	PA	IMC	ECA	apo E	I/D	apo B	CT	HDL-C	LDL-C	TG	GLI	CREAT	K
157	ADC	26	M	Fu	129/72	17,4	ID	E3E3	II	157,7	33,9	106,8	85,0	72,2	0,73	4,4	
158	OSSS	33	F	NFu	137/72	24,3	ID	E3E3	II	146,9	48,6	78,5	99,0	81,6	1,02	4,7	
159	OMB	26	F	NFu	123/82	21,6	DD	E3E3	II	147,5	40,9	99,2	37,3	69,2	0,72	3,9	
160	LCS	40	F	NFu	140/81	28,3	ID	E2E4	II	184,8	48,0	121,1	78,9	83	1,07	4,2	
162	ASSM	22	F	NFu	111/80	24,6	DD	E3E3	ID								
163	TMG	65	F	NFu	153/95	25,7	DD	E3E3	II	210,9	48,4	149,6	64,5	90,5	0,97	4,0	
165	MFS	47	M	Fu	135/95	19,6	DD	E2E4	ID	170,3	35,8	90	222,4	77,5	0,80	4,0	
166	DBS	52	M	NFu	153/64	22,5	ID	E3E3	II	227,1	33,0	165,8	141,7	117,2	1,11	4,3	
167	LAC	55	F	Fu	173/94	29,6	ID	E2E4	II	230	53,6	161,5	74,7	78,5	1,04	4,3	
168	ARS	42	F	NFu	180/121	29,0	ID	E2E4	ID	230,4	49,0	151,9	122,8	103,8	0,83	4,4	
169	EAM	35	M	NFu	153/85	22,8	ID	E2E4	II	161,5	35,9	113,2	62,4	64,4	1,16	4,2	
171	MOB	54	F	NFu	128/83	29,0	ID	E2E3	II	143,9	37,8	92,2	69,6	76,1	0,88	3,9	
172	JLJS	69	M	Fu*	121/73	23,0	DD	E2E3	II	220,4	37,6	94,2	443,2	84	1,22	4,0	
173	MFS	72	F	Fu*	110/71	27,4	ID	E3E4	II	204,8	45,3	125,3	171	79,1	1,07	4,0	
174	SCS	35	F	Fu*	111/73	23,9	II	E3E4	ID	161,8	40,2	97	123	72,2	0,85	4,0	
175	VRS	29	F	NFu	143/85	28,1	DD	E3E3	II	180,5	43,9	100,5	70,9	88,1	0,80	3,8	
177	LPS	34	M	NFu	143/103	22,2	DD	E3E3	ID	180,6	36,3	116,1	141,1	64,7	0,96	4,3	
178	OFS	49	M	NFu	210/131	26,1	DD	E2E3	ID	241,7	38,6	155,8	236,3	63,1	1,0	3,9	
179	SMS	22	M	NFu	140/90	22,1	ID	E3E4	II	123,5	27,1	77	47,4	67,8	0,82	3,8	
183	AJCM	41	M	NFu	203/105	26,1	DD	E3E3	ID	175,4	39,6	118,6	86,4	81,3	0,90	4,0	
184	MAMS	38	F	NFu	140/102	22,4	ID	E3E4	II	144,4	40,6	90,2	68	80	0,70	4,2	
185	RBS	45	M	NFu	110/80	20,1	ID	E3E3	II	165	39,6	92,2	166,2	78,6	0,93	4,0	
187	LMS	24	M	NFu	121/84	22,1	DD	E3E4	ID	163,9	40,6	103,2	100,8	65,4	0,88	3,9	
188	LJP	25	F	NFu	110/82	20,8	ID	E3E3	ID	174,2	48,5	110,8	74,9	69,4	0,59	4,0	
189	OBS	26	M	NFu	100/80	25,7	DD	E3E3	ID	177,6	35,1	127,2	76,5	67,6	0,84	4,1	
190	RM	28	M	NFu	115/83	22,9	DD	E3E4	ID	243,6	39,9	177,7	130,1	73,8	0,72	4,0	
191	LCS	46	M	NFu	140/100	23,5	DD	E3E3	II	197,7	43,6	134,6	97,9	69,8	0,75	4,3	
192	PDS	43	M	Fu	131/93	25,0	DD	E2E4	II	190,9	40,5	131,8	93,1	88,3	0,73	4,0	
336	BMLJ	62	F	Fu*	120/81	25,0	DD	E2E3	II								
338	AGM	68	F	Fu	121/80	23,4	DD	E4E4	II	309,7	90,6	195,9	116,2	60,1	0,91	4,0	
339	LCS	28	M	NFu	120/80	21,5	ID	E3E4	II	133,4	49,2	72	61,2	76,1	1,13	4,2	
340	CAS	25	F	NFu	120/80	20,0	ID	E3E4	ID	150,4	54,1	88,4	39,7	73	0,72	4,0	
341	CMS	28	M	NFu	110/80	25,0	II	E3E4	II	137,7	59,5	72,5	28,7	65,9	1,13	3,9	
344	ACM	25	M	NFu	140/100	27,9	ID	E3E4	II	166,4	55,6	95,3	77,3	60,8	1,00	4,0	
345	AM	32	M	Fu	120/81	21,2	DD	E3E4	ID	208,7	53,0	128,4	136,5	78,9	1,35	4,1	

Siglas: Inic.: Iniciais dos nomes; F: feminino; M: masculino; Fu*: fumante com menos de 10 cigarros por dia; Nfu: não-fumante; PA: pressão arterial; IMC: índice de massa corpórea; ECA: genótipos da enzima conversora de angiotensina; apo E: genótipos do polimorfismo da apo E; I/D apo B: genótipos do polimorfismo da apo B; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da HDL; LDL-C: colesterol da LDL; TG: triacilgliceróis; GLI: glicose; CREAT: creatinina; K: potássio.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO 1

IDENT	INIC.	ID.	SEXO	FUMO	PA	IMC	ECA	apo E	I/D apo B	CT	HDL-C	LDL-C	TG	GLI	CREAT	K
346	EDM	25	M	NFu	120/70	25,6	DD	E4E4	II	153,4	65,0	81,3	35,6	85,4	1,34	4,0
348	EAM	20	M	NFu	140/80	24,7	DD	E3E3	II	143,8	77,3	58,9	38	69,4	1,27	4,2
COMUNIDADE SÃO BENEDITO - GRUPO B																
194	JABA	45	M	Fu	114/80	19,6	II	E3E4	ID	153	50,0	72,8	151	101	1,45	4,4
197	ACN	50	F	NFu	118/79	24,6	II	E3E3	ID	190	63,0	101,2	128	84	1,28	4,1
199	DBO	79	F	Fu*	180/102	29,0	II	E3E3	ID	256	47,0	164,6	222	88	1,43	5,2
201	EBS	39	F	Fu*	166/100	24,9	II	E3E3	DD	299	55,0	190,2	268	75	1,50	4,6
202	ASM	32	F	Fu*	118/80	20,5	ID	E3E3	II	143	55,0	75	65	77	0,78	4,1
203	JSM	31	F	NFu	116/82	28,2	ID	E3E3	DD	185	58,0	103,8	116	68	0,75	3,8
205	ABS	54	M	Fu*	140/92	21,8	ID	E3E3	DD	148	48,0	62,8	186	104	0,94	4,2
207	FLS	43	M	NFu	138/82	28,4	ID	E3E3	ID	179	58,0	97	120	83	1,27	4,0
210	MSR	37	F	NFu	160/94	25,8	DD	E3E3	DD	162	35,0	78,2	48,8	95	0,87	4,9
211	EAS	21	F	NFu	110/78	26,0	DD	E2E3	II	138	59,0	59,4	98	76	0,87	4,5
212	IBS	32	F	Fu*	122/85	28,2	ID	E3E3	DD	220	54	56,2	54,9	78	0,83	4,1
215	HAA	42	M	Fu*	122/89	23,8	ID	E3E4	II	239	68	141	150	62	1,13	4,5
217	SAS	63	M	NFu	155/100	29,7	ID	E3E3	DD	177	33	117	135	100	1,06	4,5
218	MOS	39	F	NFu	160/110	23,4	ID	E3E3	II	132	40	42	250	102	0,68	4,6
219	AGSR	48	F	Fu*	154/94	28,5	II	E3E3	ID	188	43	91,8	266	88	0,85	3,6
221	LCA	71	F	NFu	110/80	25,9	ID	E3E4	II	132	40	42	250	102	0,68	4,6
222	APS	70	M	Fu*	250/113	25,8	DD	E3E4	ID	179	68	78,4	163	73	1,08	5,2
223	MLS	40	M	Fu*	115/80	22,3	II	E3E4	II	180,7	54	47,3	397,4	72,4	1,02	4,2
224	VSP	38	M	NFu	110/83	23,0	II	E3E3	II	203,2	69	114,9	96,5	86,8	1,30	4,0
225	VLBD	22	F	NFu	122/88	19,0	II	E3E3	ID	177	44	114,7	91,5	100,9	0,85	4,0
226	ABS	57	M	NFu	140/92	23,0	DD	E3E4	ID	135,9	46	69,2	103,2	88,2	1,13	4,4
227	SAB	22	F	NFu	108/80	20,8	II	E3E4	II	157,6	62	80,3	76,6	80,4	0,98	4,9
228	FLB	28	F	Fu*	130/88	22,5	II	E3E3	II	162,9	50	97,7	75,9	109,8	1,08	3,9
229	JBS	50	M	Fu*	128/88	21,9	ID	E3E4	II	211,2	87	93,3	154,7	82	1,23	5,1
230	JBA	55	M	Fu	118/89	22,2	ID	E3E4	II	192,1	74	80,1	190,2	105,9	1,00	4,0
231	RLS	41	M	NFu	143/92	28,4	II	E3E3	II	227	84	94,2	244,3	105,5	0,97	4,3
232	JCB	25	F	NFu	100/78	23,8	DD	E3E3	II	140,2	66	57,8	81,8	93,1	0,81	3,7
233	ZSB	36	F	NFu	110/70	23,4	II	E3E3	DD	145,2	44	78,1	115,6	91	0,86	4,1
235	LALT	29	F	Fu*	120/80	25,0	ID	E3E3	II	123,9	40	56,2	138,7	76	0,88	4,1
236	SLT	30	F	Fu	108/80	24,0	II	E2E3	ID	184,1	44	128	60,6	99,6	0,78	4,4
237	NCB	75	F	NFu	155/80	25,0	ID	E2E3	DD	167,7	51	78,4	189,4	101,9	1,18	4,4
239	AACJ	23	M	NFu	130/90	29,6	DD	E3E3	II	182,8	52	100	189,9	99	1,25	3,9
240	AM	53	M	NFu	128/98	25,5	ID	E3E3	DD	173,1	41	70,6	307,9	89,9	1,10	4,1
241	OOVB	51	F	Fu*	192/112	23,8	ID	E3E3	II	183,7	46	106,1	158,3	95	1,02	4,6

Síglas: Inic.: Iniciais dos nomes; F: feminino; M: masculino; Fu*: fumante com menos de 10 cigarros por dia; Nfu: não-fumante; PA: pressão arterial; IMC: Índice de massa corpórea; ECA: genótipos da enzima conversora de angiotensina; apo E: genótipos do polimorfismo da apo E; I/D apo B: genótipos do polimorfismo da apo B; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da HDL; LDL-C: colesterol da LDL; TG: triacilgliceróis; GLI: glicose; CREAT: creatinina; K: potássio.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO 1

IDENT	INIC.	ID.	SEXO	FUMO	PA	IMC	ECA	apo E	ID apo B	CT	HDL-C	LDL-C	TG	GLI	CREAT	K
242	JPL	46	M	Fu*	108/78	20,8	II	E3E3	ID	152,3	37	39,7	378,3	99,7	1,09	3,7
243	JRM	71	M	NFu	160/69	26,5	ID	E2E3	ID	196,5	38	62,6	479,9	101,1	1,11	4,3
COMUNIDADE BOA SORTE - GRUPO C																
246	AF	50	M	Fu*	128/94	27,2	DD	E3E3	DD	182	41	91,6	147	92,2	0,88	4,1
253	JFM	53	M	NFu	124/84	25,0	DD	E2E3	ID	214,9	55	137	111,3	60,6	1,32	5,0
254	DFL	43	M	NFu	120/81	21,7	II	E3E3	ID	188,4	40	125,7	113,3	68,2	1,19	5,0
256	HTM	83	M	Fu*	132/70	20,2	II	E3E4	DD	182,3	56	104,3	110	92,2	1,03	5,1
257	APS	52	M	Fu*	110/78	24,8	ID	E3E4	DD	150,7	57	68,4	126,4	79	1,24	4,9
258	CRM	39	M	Fu*	158/106	24,2	ID	E3E3	DD	178,6	45	115,1	92,3	79	1,12	4,8
259	RCS	34	M	Fu*	164/118	21,1	DD	E3E3	II	194	105	63,9	125,5	80,4	1,05	4,9
262B	ALM	25	M	NFu	124/78	21,4	DD	E3E3	DD							
263	AMC	20	M	NFu	124/70	24,0	ID	E3E3	II	164,7	49	91,3	122,1	88,4	0,77	5,1
264	MBS	25	M	NFu	138/82	19,6	DD	E3E4	ID	165,8	50	106	48,7	73,4	0,86	4,5
265	ABL	54	M	Fu	118/82	20,8	ID	E3E3	II	258,7	70	162	133,5	66,5	1,21	5,0
266	TAS	27	F	NFu	110/77	18,1	DD	E3E3	II	159,7	44	79,3	181,9	76,8	0,79	5,2
267	POR	23	F	NFu	104/78	20,5	DD	E3E4	II	157,2	52	45,7	57,6	59,5	0,82	4,6
269	APR	27	M	NFu	126/86	20,8	DD	E3E4	II	197,8	46	132,5	96,7	67,5	1,05	4,0
272	MPJ	42	F	NFu	120/82	26,8	II	E4E4	DD	199,6	51	120	143	78	1,40	5,4
273	OMR	58	F	NFu	138/82	20,9	DD	E3E4	II	161,9	64	82,3	78,1	76,2	1,10	3,8
274	IMOA	67	F	NFu	140/86	26,8	ID	E3E3	II	200,6	46	124,6	150,2	84,6	0,93	4,3
276	fib	35	F	NFu	120/78	26,6	ID	E3E3	II	185,4	50	115,6	99,1	86,7	0,97	4,0
277	DPS	38	F	Fu	122/84	28,6	II	E3E4	II	240,1	29	129,8	406,4	85,1	0,86	4,9
278	IMA	53	F	Fu	130/86	20,7	ID	E3E3	DD	227,8	74,8	139,1	73,3	107,5	1,07	4,3
283	GCS	28	M	NFu	122/85	26,6	II	E3E3	ID	229,5	63	148,1	91,8	82,3	1,20	4,1
COMUNIDADE DO LIMÃO - GRUPO D																
298	IV	32	F	NFu	120/80	29,4	DD	E3E3	ID	222,3	39	139,1	221	71,2	0,88	4,3
300	DBS	40	F	NFu	125/86	26,15	ID	E3E4	II	202,1	39	146,7	81,8	91,5	1,1	4,6
301	DCM	44	F	NFu	150/96	22,27	II	E3E4	II	214,8	54	147,3	67,7	91,1	0,89	4,6
302	CBS	28	M	NFu	118/80	26,74	ID	E3E3	DD	160,9	32,0	121	39,6	83,6	1,16	3,5
303	EBS	35	M	NFu	123/88	23,52	ID	E3E3	ID	180,5	40,1	130,4	50	87	0,96	4,1
305	MMS	27	F	NFu	115/75	25,6	DD	E2E3	II	196,5	61	116,3	95,9	63,5	0,86	4,6
306	RMS	38	F	Fu*	140/90	24,21	DD	E2E4	II	155	70	71,7	66,3	65,8	0,91	4,3
309	PBS	42	M	NFu	120/81	26,77	II	E3E4	ID	188,5	45	113,5	150,4	71,3	1,04	4,3
313	LZLS	60	F	NFu	165/105	22,48	DD	E3E4	ID	224,7	45	155,7	119,2	78,2	0,99	3,9
314	MJVS	48	F	Fu	120/80	20,25	ID	E3E4	II	196	52	130,4	68	95	1	4,0
315	VBS	43	M	Fu	115/80	28,8	ID	E3E3	ID	178,6	44	120,7	69,6	80,7	0,79	4,9

Síglas: Inic.: iniciais dos nomes; F: feminino; M: masculino; Fu*: fumante com menos de 10 cigarros por dia; NFu: não-fumante; PA: pressão arterial; IMC: índice de massa corpórea; ECA: genótipos da enzima convertora de angiotensina; apo E: genótipos do polimorfismo da apo E; ID apo B: genótipos do polimorfismo da apo B; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da HDL; LDL-C: colesterol da LDL; TG: triacilgliceróis; GLI: glicose; CREAT: creatinina; K: potássio.

CONTINUAÇÃO DO ANEXO 1

IDENT	INIC.	ID.	SEXO	FUMO	PA	IMC	ECA	apo E	I/D apo B	CT	HDL-C	LDL-C	TG	GLI	CREAT	K
318	RMS	25	F	NFu	105/70	22,64	DD	E2E3	II	143,9	48	94,6	56,6	72,7	0,88	4,5
319	IAS	29	M	NFu	108/76	26,06	DD	E3E4	II	142,8	41	85,1	83,6	66,9	1,02	4,0
321	LSS	32	F	NFu	120/80	22,26	ID	E3E4	ID	152,8	59	86,3	37,7	68,7	0,83	4,8
322	MABSN	32	F	Fu	111/79	26,42	II	E3E3	ID	163,5	43	111	47,5	89,5	1,08	5,0
325	HC	31	M	Fu*	102/76	24,11	ID	E3E3	II	154,2	62	81,8	52,2	71,1	1,18	4,9
329	ASS	45	F	Fu*	138/89	24	ID	E3E3	ID	227,3	83	134,4	49,3	105,3	0,75	4,4
334	LMVO	21	M	NFu	106/68	19,86	II	E3E4	II	114,2	31	69,9	66,3	76,6	1,02	4,7
335	JFS	38	M	NFu	145/102	19,77	ID	E2E3	ID	294,8	45	211,4	38,4	68,4	0,97	3,5

Siglas: Inic.: iniciais dos nomes; F: feminino; M: masculino; Fu*: fumante com menos de 10 cigarros por dia; NFu: não-fumante; PA: pressão arterial; IMC: índice de massa corpórea; ECA: genótipos da enzima conversora de angiotensina; apo E: genótipos do polimorfismo da apo E; I/D apo B: genótipos do polimorfismo da apo B; CT: colesterol total; HDL-C: colesterol da HDL; LDL-C: colesterol da LDL; TG: triacilgliceróis; GLI: glicose; CREAT: creatinina; K: potássio.

Anexo 2

1 - Descritiva da Amostra.

ESTATÍSTICA SIMPLES

Variável	N	Média	DP	Mediana	Mínimo	Máximo
IDADE	184	39,67935	15,12319	37,00000	20,00000	83,00000
PAS	184	133,19022	26,15991	124,00000	92,00000	250,00000
PAD	184	84,84239	13,10746	82,00000	62,00000	142,00000
IMC	184	23,91565	2,95587	23,85000	17,40000	29,80000
CT	181	175,81105	36,83481	174,20000	103,50000	309,70000
HDL-C	181	47,17624	12,33503	45,00000	26,70000	105,00000
LDL-C	181	104,80497	32,83692	103,20000	7,50000	211,40000
TG	181	109,39171	76,75108	86,40000	28,30000	479,90000
GLI	181	80,22707	13,17829	78,20000	53,30000	130,90000
CREAT	181	0,93735	0,19518	0,91000	0,53000	1,50000

SEXO	Freqüência	Percentagem	Freqüência Cumulativa	Percentagem Cumulativa
F	93	50,5	93	50,5
M	91	49,5	184	100,0

FUMO	Freqüência	Percentagem	Freqüência Cumulativa	Percentagem Cumulativa
Fu	24	13,1	24	13,1
Fu*	28	15,3	52	28,4
NFu	131	71,6	183	100,0

Fu: fumante; Fu*: fuma menos de 10 cigarros/dia
NFu: não-fumante.

PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica;
IMC: Índice de massa corpórea; CT: Colesterol total; HDL-C: Colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: Colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: Triacilgliceróis; GLI: Glicose; CREAT: Creatinina.

Anexo 3

SEXO FEMININO

apo E	N Obs	Variável	N	Média	DP	Mínimo	Máximo
E2	26	CT	25	170,88	32,59	108,80	230,40
		HDL-C	25	48,25	8,39	37,20	70,00
		LDL-C	25	106,18	29,27	59,40	161,50
		TG	25	78,33	31,76	41,60	189,40
		GLI	25	77,50	12,61	62,10	103,80
		CREAT	25	0,83	0,14	0,61	1,18
		PAD	26	85,23	17,16	63,00	142,00
		PAS	26	136,42	32,00	101,00	220,00
E3	117	CT	114	176,56	37,55	103,50	299,00
		HDL-C	114	46,94	10,13	27,00	83,00
		LDL-C	114	105,12	32,60	42,00	190,20
		TG	114	106,79	69,77	37,30	406,40
		GLI	114	82,76	12,30	57,30	109,80
		CREAT	114	0,86	0,19	0,53	1,50
		PAD	117	83,72	11,27	62,00	122,00
		PAS	117	130,80	21,42	100,00	192,00
E4	43	CT	43	181,07	44,60	103,50	309,70
		HDL-C	43	49,17	12,59	29,00	90,60
		LDL-C	43	111,92	36,48	42,00	195,90
		TG	43	90,94	63,97	37,70	406,40
		GLI	43	76,60	11,08	59,50	103,80
		CREAT	43	0,85	0,19	0,61	1,40
		PAD	43	85,79	15,70	62,00	142,00
		PAS	43	132,91	27,74	100,00	220,00

	p	
CT (LOG)	0,6765	
HDL-C (LOG)	0,4871	
LDL-C	0,5162	
TG (LOG)	0,1221	
CREAT (LOG)	0,7341	
PAS	0,5581	
PAD	0,6458	

E2, E3 e E4: Alelos do polimorfismo da apo E; PAS: Pressão arterial sistólica; PAD: Pressão arterial diastólica; IMC: Índice de massa corpórea; CT: Colesterol total; HDL-C: Colesterol da lipoproteína de alta densidade; LDL-C: Colesterol da lipoproteína de baixa densidade; TG: Triacilgliceróis; GLI: Glicose; CREAT: Creatinina.

Anexo 4

Questionário

Comunidade: FURNAS DO DIONÍSIO

DATA ___/___/___

Nome:.....

Pai:.....

Mãe:.....

Idade:.....Peso.....Altura.....

Sexo.....Profissão.....

Pressão Arterial Sentado(1).....Pressão Arterial Sentado(2).....

Pressão Arterial Deitado(1).....Pressão Arterial Deitado(2).....

É fumante? sim não

Número de cigarros por dia.....

Toma medicamento anti-hipertensivo? sim não

Qual?.....

Consome álcool? sim não

Que quantidade por dia..... ou semanal.....

Consumo de sal.

Pouco.....Moderado.....Muito.....

Sente falta de ar? sim não Tem edema? sim não Tem doença renal? sim não Sente alguma dor? sim não Localização:.....Alguém da família teve morte súbita? sim não

Quem?.....Com que idade?.....Qual a doença?.....

Alguém da família tem doença cardiovascular ou cerebrovascular? sim não

Quem?.....Há quantos anos?.....