



## Influência de Combinações Genéticas nos Níveis de HDL-c em uma População do Sul do Brasil

*Influence of Genetic Combinations on HDL-C Levels in a Southern Brazilian Population*

Fabiana Michelsen de Andrade<sup>1</sup>, Marilu Fiegenbaum<sup>2,3</sup>, Silvana de Almeida<sup>3</sup>, Mara Helena Hutz<sup>4</sup>

Universidade Feevale<sup>1</sup>; Centro Universitário Metodista IPA<sup>2</sup>; Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre<sup>3</sup>; Universidade Federal do Rio Grande do Sul<sup>4</sup>, Porto Alegre, RS - Brasil

### Resumo

**Fundamento:** Baixos níveis de HDL-c são importantes preditores de doença coronariana, a primeira causa de morte no mundo todo. Muitos fatores afetam os níveis de HDL-c, tais como os polimorfismos de genes que codificam proteínas-chave para a via de transporte reverso de colesterol.

**Objetivo:** Investigar a influência de sete polimorfismos dos genes CETP, APOA1, ABCA1 e SCARB1 genes nos níveis de HDL-c em uma população da região sul do Brasil.

**Métodos:** Os polimorfismos foram investigados em uma amostra de 500 indivíduos de descendência europeia, mas os níveis de HDL-c de somente 360 indivíduos foram ajustados para cofatores usando regressão linear múltipla no estudo de associação. A amostra foi dividida em tercís de acordo com os níveis ajustados de HDL-c e frequências de alelos e haplótipos foram comparadas entre o 1º e o 3º tercís dos níveis ajustados de HDL-c.

**Resultados:** Quando as combinações dos alelos de risco foram testadas, a frequência de combinações alélicas em três genes (haplótipo 1 do gene APOA1, variante 2S do gene SCARB1, e alelo B1 do gene CETP) foi significativamente mais alta no tercil inferior dos níveis ajustados de HDL-c (28,3%) do que no tercil superior (14,9%;  $p=0,008$ ), o que indica que a presença dessas variantes aumentou 2,26 vezes a chance de ter níveis de HDL-C < 39,8 mg/dl.

**Conclusão:** Espera-se que esses marcadores, quando estudados separadamente, tenham uma pequena influência na característica que está sendo analisada, mas uma influência maior foi detectada quando os marcadores foram estudados em combinação. Em uma população da região sul do Brasil, nossos dados mostraram uma influência significativa das combinações das variantes dos genes APOA1, SCARB1 e CETP nos níveis de HDL-c. (Arq Bras Cardiol 2010; 95(4): 430-435)

**Palavras-chave:** Colesterol HDL/genética, população/genética, polimorfismo genético, região sul/Brasil.

### Abstract

**Background:** Low HDL-C levels are important predictors of coronary disease, the first cause of death worldwide. Many factors affect HDL-C levels, such as polymorphisms of genes encoding for key proteins of the reverse cholesterol transport pathway.

**Objective:** To investigate the influence of seven polymorphisms of the CETP, APOA1, ABCA1 and SCARB1 genes on HDL-C levels in a southern Brazilian population.

**Methods:** The polymorphisms were investigated in a sample of 500 individuals of European descent, but HDL-C levels from only 360 individuals were adjusted for cofactors using multiple linear regressions in the association study. The sample was divided in tertiles according to adjusted HDL-C levels, and allele and haplotype frequencies were compared between the 1<sup>st</sup> and 3<sup>rd</sup> tertiles of adjusted HDL-C levels.

**Results:** When combinations of risk alleles were tested, the frequency of allele combinations in three genes (haplotype 1 of APOA1 gene, variant 2S of SCARB1 gene, and allele B1 of CETP gene) was significantly higher in the lower tertile of adjusted HDL-C (28.3%) than in the upper tertile (14.9%;  $p=0.008$ ), which indicated that the presence of these variants increased 2.26 times the chances of having HDL-C levels below 39.8 mg/dl.

**Conclusion:** These markers, when studied separately, are expected to have a small influence on the characteristic under analysis, but greater influence was detected when the markers were studied in combination. In a population of southern Brazilians, our data showed a significant influence of variant combinations of APOA1, SCARB1 and CETP genes on HDL-c levels. (Arq Bras Cardiol 2010; 95(4): 430-435)

**Key words:** Cholesterol, HDL/genetics; population/genetics; polymorphism, genetic; south region/Brazil.

Full texts in English - <http://www.arquivosonline.com.br>

Correspondência: Fabiana Michelsen de Andrade •

Universidade Feevale - 239/2755, PROPI s. 201 F - Vila Nova - 93352-000 - Novo Hamburgo, RS - Brasil

E-mail: fabiana.andrade@feevale.br, fabiana.michelsen@hotmail.com

Artigo recebido em 21/08/09; artigo revisado recebido em 03/03/10; aceito em 12/04/10.



## Introdução

Estudos epidemiológicos tem fornecido fortes evidências de que níveis baixos de lipoproteína de alta densidade (HDL-c) estão associados com aumento do risco de doença arterial coronariana (DAC)<sup>1</sup>. Sendo assim, as causas dos baixos níveis de HDL-c tem sido intensivamente investigadas e estudos genéticos tem se concentrado nos genes que codificam as proteínas que tem um papel importante no metabolismo do HDL-c ou no transporte reverso do colesterol (TRC). As proteínas nesses grupos incluem: apolipoproteínas, tais como A-I, A-II e E; enzimas, tais como CETP, LCAT e LIPC; e receptores de membrana, tais como ABCA1 e SCARB1. Quando associados, esses genes candidatos são substancialmente polimórficos e muitos estudos tem investigado a associação desses polimorfismos com o risco de alterações nos perfis lipídicos. Entretanto, ainda precisa ser esclarecido se esses polimorfismos afetam os perfis lipídicos e se essa influência é encontrada em diferentes populações; o que não foi investigado em nenhuma população sulamericana até hoje.

Este estudo investigou a influência de sete polimorfismos dos genes CETP, APOA1, ABCA1 e SCARB1 nos níveis de HDL-c em uma população da região sul do Brasil.

## Métodos

### Indivíduos

A amostra populacional consistiu em 500 indivíduos de ascendência europeia, como anteriormente descrito<sup>2</sup>. Os voluntários incluídos nessa amostra foram convidados a participar do estudo em dois centros clínicos da Universidade Federal do Rio Grande do Sul entre indivíduos que foram encaminhados a vários centros de saúde para exames de sangue de rotina. Um questionário foi utilizado para coletar dados sobre uso de medicamentos e variáveis relacionadas ao estilo de vida, tais como tabagismo, atividade física, etilismo, uso de contraceptivos orais, menopausa e medidas antropométricas. O tabagismo foi classificado como não-fumante ou fumante atual; ex-fumantes foram excluídos. Todos os indivíduos deram seu consentimento livre e informado antes de serem incluídos no estudo. Os critérios de exclusão foram: gravidez, hiperlipidemia secundária devido a doença renal, hepática ou tireoidiana; e diabetes ou níveis de glicemia de jejum > 7 mmol/l<sup>3</sup>. Mulheres recebendo terapia de reposição hormonal e indivíduos recebendo medicamentos hipolipemiantes, beta-bloqueadores ou anti-inflamatórios também foram excluídos.

Os participantes foram examinados pela manhã após um jejum de 12 horas. O peso foi medido sem sapatos e com roupas leves. A altura foi medida sem sapatos, com os calcanhares juntos e as com o dorso encostado na parede. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado como peso/altura<sup>2</sup> (kg/m<sup>2</sup>). A circunferência da cintura (CC) foi medida na menor circunferência horizontal entre a 12<sup>a</sup> costela e a crista ilíaca.

### Análises laboratoriais

As amostras de sangue foram coletadas após um jejum de 12 horas. Colesterol total (CT), lipoproteína de alta densidade,

colesterol (HDL-c) e triglicérides (TG) foram dosados em cada centro clínico usando métodos enzimáticos padronizados<sup>4</sup>. Os níveis de lipoproteína de baixa densidade colesterol (LDL-c) foram calculados usando a fórmula de Friedwald<sup>5</sup>. Os níveis de glicemia também foram dosados para assegurar que nenhum indivíduo com diabetes tenha sido incluído no estudo.

A técnica de *salting-out* foi utilizada para extrair o DNA das amostras de sangue<sup>6</sup>. O DNA foi amplificado utilizando-se PCR e *primers* oligonucleotídeos sob as condições previamente descritas para CETP<sup>7</sup>, APOA1<sup>8</sup>, ABCA1<sup>9</sup> e SCARB1<sup>10</sup>. Os produtos da amplificação foram subsequentemente digeridos com as seguintes enzimas de restrição sob as condições recomendadas pelo fabricante: *Taq* I (CETP - *Taq*IB), *Msp* I (APOA1 - g-75a e c+83t), *Xag* I (ABCA1 - Arg219Lys), *Alu* I (SCARB1 - Gly2Ser), *Apa*I (SCARB1 - c780t) e *Hae* III (SCARB1 - c1050t). Os genótipos foram determinados após a realização de eletroforese em gel de agarose contendo brometo de etídio e um marcador de 100 pb foi usada para determinar os tamanhos das bandas.

### Análise estatística

As frequências alélicas foram estimadas pelo método de contagem de genes. Um teste  $\chi^2$  para "goodness of fit" foi utilizado para verificar se as frequências alélicas eram as esperadas de acordo com o equilíbrio de Hardy-Weinberg. As frequências de haplótipos de máxima verossimilhança e o desequilíbrio de ligação foram estimados usando o *software* Arlequin 2000<sup>11</sup>. Os haplótipos dos genes SCARB1 e APOA1 foram determinados usando-se o método descrito por Long<sup>12</sup>.

Apenas 360 indivíduos foram analisados no estudo de associação entre SNPs e níveis de HDL-c, por que os dados completos dos outros indivíduos não estavam disponíveis. Regressões lineares múltiplas foram realizadas para ajustar os níveis de HDL-c usando o método *backward stepwise*. As covariantes incluídas no primeiro modelo foram sexo, idade, CC, tabagismo, etilismo, IMC, níveis de triglicérides (TG) e menopausa, bem como todos os termos de interação possíveis. No modelo final usado para o ajuste dos níveis de HDL-c, as covariantes significantes que permaneceram no modelo foram sexo, idade, IMC, níveis de TG, níveis de TG x idade, estado pós-menopausa e níveis de TG x menopausa para mulheres. Os níveis de TG foram log-transformados para remoção de assimetria na distribuição. A amostra foi dividida de acordo com os tercís de HDL-c e a heterogeneidade entre os grupos em tabelas de contingência foi testada usando o Teste  $\chi^2$  ou Teste Exato de Fisher. As regressões logísticas foram realizadas para obter o *odds ratio* (OR) para cada variante genética ou combinação de variantes. Todas as análises foram realizadas com o *software Statistical Package for Social Sciences* (SPSS), versão 11.0 para Windows.

## Resultados

A Tabela 1 mostra as frequências de alelos e genótipos para os genes *CETP*, *ABCA1* e *SCARB1* genes, bem como as frequências de haplótipos para o gene *APOA1*. As frequências de haplótipos do gene *SCARB1* não são mostradas por que elas não influenciaram os níveis de HDL-c em qualquer análise posterior. Todas as frequências genotípicas estão em

equilíbrio de Hardy-Weinberg (dados não mostrados). Um forte desequilíbrio de ligação entre as duas variantes do gene *APOA1* foi detectado ( $D' = -0,84$ ,  $c^2 = 10,04$ ,  $p < 0,001$ ) e o haplótipo 1 (-75g/+83c) foi o mais comum. Para o gene *SCARB1*, o alelo 780t foi o mais frequentemente encontrado com 1050c, indicando um desequilíbrio significativo ( $D' = -0,44$ ,  $c^2 = 5,97$ ,  $p = 0,015$ ). *Gly2Ser* não esteve ligado a nenhuma das outras duas variantes investigadas nesse gene.

A prevalência de cada haplótipo do gene *APOA1* e as frequências alélicas das outras variantes do estudo foram comparadas entre o 1º e o 3º tercís de HDL-c ajustado para variáveis não-genéticas (Tabela 2) e as características clínicas de acordo com esses grupos são mostradas na Tabela 3. Embora a diferença não tenha sido estatisticamente significativa, o haplótipo 1 do gene *APOA1*, o alelo TaqIB\*1 do gene *CETP*, e o alelo 2Ser do gene *SCARB1* foram mais frequentes no 1º tercil ( $p = 0,18$ ,  $p = 0,16$  e  $p = 0,29$ ). Quando as frequências de alelos e haplótipos foram novamente comparadas entre o 1º e o 4º quartís de HDL-c, as mesmas tendências foram encontradas, exceto pelo *Gly2Ser* SNP do gene *SCARB1*, que tinha um valor de  $p$  menor ( $p = 0,14$ ).

Com base nesses resultados, os alelos de risco para baixos níveis de HDL-c foram selecionados a partir das comparações estatísticas que resultaram em valores de  $p < 0,25$ . Essas variantes, chamadas de “variantes de risco”, são mostradas na Tabela 4, que também mostra como os portadores dessas variantes foram analisados posteriormente: como portadores homocigotos, ou como portadores heterocigotos e homocigotos.

A frequência de indivíduos com combinações de risco genético para baixos níveis de HDL-c foi comparada entre o 1º e o 3º tercís de HDL-c (Tabela 5). Primeiro, os portadores de combinações de duas variantes deletérias foram avaliados, como mostrado na Tabela 4 e então a frequência dos portadores de combinações de três variantes deletérias foi comparada. Essas comparações mostraram que ser um portador de variantes de risco dos genes *APOA1* e *CETP* aumentou em 2,4 vezes a chance de ter níveis de HDL-c  $< 39,8$  mg/dl ( $p = 0,005$ ). Quando, além dessa combinação, o indivíduo também é portador do alelo de risco do gene *SCARB1*, essa chance era 2,26 vezes maior ( $p = 0,008$ ). Embora esse gene não pareça alterar o risco de apresentar baixos níveis de HDL-c, isso pode ser o resultado do fato de que apenas um pequeno número de portadores carregam essa combinação tripla. Quando o gene *SCARB1* foi analisado em combinações com os genes *CETP* e *APOA1*, resultados limítrofes foram encontrados ( $OR = 1,6$ ,  $p = 0,08$ ), o que não foi observado quando os genes *CETP* e *APOA1* genes foram avaliados separadamente (Tabela 2).

## Discussão

As frequências alélicas encontradas nesse estudo são em sua maioria similares àquelas detectadas em estudos com diferentes populações. Para o gene *CETP*, a prevalência de 35,7% para o alelo raro é levemente menor que aquela detectada em populações de ascendência europeia exclusivamente, que foi de aproximadamente 40%<sup>13-17</sup>. No gene *ABCA1*, os valores encontrados para o SNP Arg219Lys

Tabela 1 - Frequências de alelos, haplótipos e genótipos na amostra total

Genótipos, alelos, haplótipos	Número GenBank	Amostra total, n = 500	
		n	%
<b>CETP-TaqIB</b>	<b>rs 708272</b>		
B1B1		89	17,9
B1B2		241	48,4
B2B2		168	33,7
B2			35,7
<b>ABCA1 - Arg219Lys</b>	<b>rs 2230806</b>		
Arg Arg		219	43,8
Arg Lys		236	47,2
Lys Lys		45	9
Lys			32,6
<b>APOA1 -g75a</b>	<b>rs 670</b>		
gg		296	59,3
ga		176	35,3
aa		27	5,4
a			23,0
<b>APOA1 +c83t</b>	<b>rs5069</b>		
cc		444	89,0
ct		53	10,6
tt		2	0,4
t			5,7
<b>APOA1 -g75a / +c83t</b>	<b>rs 670 / rs5069</b>		
11		253	50,8
12		164	32,9
13		39	7,8
22		27	5,4
23		13	2,6
33		2	0,4
1) -75g / +83 c			71,2
2) -75a / +83 c			23,2
3) -75g / +83 t			5,6
<b>SCARB1 - Gly2Ser</b>	<b>rs 4238001</b>		
Gly Gly		376	75,2
Gly Ser		116	23,2
Ser Ser		8	1,6
Ser			13,2
<b>SCARB1 - c780t</b>	<b>rs 7967975</b>		
cc		420	84
ct		75	15
tt		5	1
T			17
<b>SCARB1 - c1050t</b>	<b>rs 5888</b>		
cc		180	37,2
ct		233	48,1
tt		71	14,7
t			29,3

## Artigo Original

**Tabela 2 - Frequências alélicas de acordo com os tercís de HDL-C\***

	1º tercíl (< 39,8 mg/dl) n = 120	3º tercíl (> 47,1 mg/dl) n = 121	p
CETP TaqIB*2 (-)	37,8	44,2	0,16
APOA1*haplótipo 1	76,5	71,1	0,18†
ABCA1*219Lys	37,1	33,9	0,51
SCARB1*2Ser	15,4	12	0,29‡
SCARB1*780t	10	7,9	0,43
SRB1*1050t	37,7	38	1

\* Níveis de HDL foram ajustados por gênero, idade, IMC, níveis de triglicérides x idade, estado pós-menopausa e níveis de triglicérides x menopausa em mulheres; † comparação do haplótipo 1 vs outros haplótipos. ‡ quando a diferença entre quartis foram testadas, o valor de p desse SNP foi 0,14.

**Tabela 3 - Características clínicas e laboratoriais dos participantes do estudo de acordo com os tercís de HDL**

	1º tercíl (< 39,8 mmol/l) n = 120	3º tercíl (> 47,1 mmol/l) n = 121	p
CT (mg/dl)	190,8 ± 39,8	204,1 ± 41,6	0,01
HDL-C (mg/dl)	34,8 ± 5,7	56,4 ± 9,4	<0,001
LDL-C (mg/dl)	129,9 ± 36,4	124,0 ± 38,5	0,18
Triglicérides (mg/dl)	130,6 ± 61,7	118,4 ± 68,2	0,04
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	25,9 ± 4,8	26,1 ± 5,3	0,78
Idade (anos)	42,5 ± 14,4	41,0 ± 16,3	0,45
Circunferência cintura (cm)	92,0 ± 12,7	89,5 ± 13,8	0,14
Sexo (% masculino)	72,5%	38%	<0,001
Menopausa <sup>a</sup>	15,2%	24%	0,44
Inatividade física	62,5%	60%	0,79
Fumo <sup>b</sup>	34,2%	29,8%	0,49
Consumo de álcool <sup>c</sup>	24,2%	22,3%	0,76
Consumo de vinho <sup>c</sup>	9,2%	5,8%	0,34

<sup>a</sup> mulheres recebendo terapia de reposição hormonal foram excluídas; <sup>b</sup> ex-fumantes foram excluídos; <sup>c</sup> consumo de álcool ou vinho foi definido como sendo pelo menos um copo/taça por semana.

estiveram dentro dos limites de variação encontrados em outras populações de ascendência europeia: de 25% para alemães a 38% para norte-americanos<sup>9,18-21</sup>. Resultados similares foram encontrados para o gene APOA1 quando comparado com valores para outras populações de ascendência europeia<sup>22</sup>. Nossos dados sobre o gene SCARB1 são comparáveis àqueles relatados em alguns poucos estudos publicados até hoje, mas a frequência alélica de 17% encontrada no estudo para o SNP do intron 5 e a frequência de 29,3% para a variante do exon 8 são levemente diferentes das frequências encontradas por Richard e cols.<sup>23</sup> para norte-americanos (9% e 49%) e por Acton e cols.<sup>10</sup> para uma população espanhola (10,5% e 43,8%). Nossa análise da variante no exon 1 mostrou que a frequência do alelo raro foi levemente mais baixa do que aquela encontrada em uma população espanhola<sup>10</sup>. Essas diferenças podem refletir diferenças na composição étnica das populações sendo comparadas.

O padrão do desequilíbrio de ligação entre as variantes do gene APOA1 foi similar àquele encontrado na literatura<sup>24</sup>. Em nossa população, nenhum desequilíbrio de ligação foi encontrada entre o SNP do exon 1 do gene SCARB1 e os outros SNPs do estudo, de acordo com os achados relatados para outras populações<sup>10,25,26</sup>. Entretanto, o padrão de ligação de desequilíbrio entre os SNPs do intron 5 e exon 8 diferem dependendo da população sendo estudada: nas populações espanhola<sup>10</sup> e norte-americana<sup>25</sup>, a variante rara do intron 5 esteve ligada à variante comum do exon 8, que foi o mesmo encontrado em outras populações. Entretanto, em uma amostra populacional da Áustria e em uma amostra populacional diferente dos EUA, os dois alelos comuns estiveram ligados<sup>23,26</sup>.

Quando avaliados separadamente, nossos dados não mostraram nenhuma influência significativa dos polimorfismos estudados nos níveis de HDL-c (Tabela 4). Três das variantes estudadas tinham frequências alélicas similares na comparação

**Tabela 4 - Variantes de risco para cada gene e estado do portador**

Gene	Polimorfismo	Variantes de risco	Estado do portador
APOA1	-g75a / +c83t	Haplótipo 1	Homozigotos 11
SCARB1	Gly2Ser	Ser	SerSer + GlySer
CETP	TaqIB	B1	B1B1 + B1B2

**Tabela 5 - Frequência de variantes de polimorfismo de estado de portador duplo e triplo de acordo com tercís de HDL-C**

	OR (95%CI)	1º tercíl n = 120	3º tercíl n = 121	p
Variantes genéticas do estado de portador duplo				
APOA1, CETP	2,4 (1,26 - 4,48)	85	70	0,005
APOA1, SCARB1	1,6 (0,88 - 2,91)	28	19,8	0,08
CETP, SCARB1	1,6 (0,88 - 2,91)	26	20	0,08
Variantes genéticas do estado de portador triplo				
APOA1, CETP, SCARB1	2,26 (1,19 - 4,29)	28,3	14,9	0,008

entre o 1º e o 3º tercís. Duas delas são polimorfismos do gene SCARB1, encontrados no intron 5 e exon 8, e os poucos dados sobre eles na literatura não mostram nenhuma influência sobre os níveis de HDL-c<sup>10,25-28</sup>, nem indicam qualquer associação com o sexo e uso de hormônios<sup>23,28,29</sup>. Além disso, nenhuma influência da variante Arg219Lys no gene ABCA1 foi encontrada em vários estudos com diferentes populações<sup>20,21,30</sup>.

Selecionamos polimorfismos dos genes CETP, APOA1 e SCARB1 para uma valiação combinada. Embora alguns autores tenham detectado efeitos isolados desses genes nos níveis de HDL-c, vários outros estudos descobriram que a influência desses genes é muito fraca para ser detectada quando eles são avaliados separadamente<sup>13,26,31,32</sup>.

Essas diferenças na magnitude de uma influência genética podem refletir diferenças entre a composição genética de cada população, bem como as diferenças ambientais entre elas. A avaliação do efeito combinado de genes nos níveis de HDL-c é rara na literatura, o que torna a comparação de dados difícil. A avaliação de dois ou três variantes de risco revelou uma influência significativa das variantes dos genes APOA1, CETP e SCARB1 nos níveis de HDL-c. Esse achado está de acordo com estudos dos genes APOA1 e CETP em outras populações<sup>8,33-37</sup>. Entretanto, para o SNP Gly2Ser do gene SCARB1, os poucos estudos conduzidos até agora associaram a presença do alelo 2Gly com uma diminuição nos níveis de HDL-c. Em nossa população, a combinação do alelo 2Ser e as variantes dos genes APOA1 e CETP foi mais frequente nos participantes com níveis mais baixos de HDL-c (Tabela 5). Dois outros autores<sup>25,27</sup> não detectaram qualquer influência significativa desse alelo sobre os níveis de HDL-c. Dessa forma, o papel desse polimorfismo deve ser investigado em outros estudos e não podemos descartar a possibilidade de que ele atue como marcador de outra variante ainda não estudada, embora seja uma troca de aminoácidos. A confirmação dessa hipótese explicaria as diferenças entre nossos dados e os achados relatados por Acton e cols.<sup>10</sup>.

Os papéis fisiológicos dessas três proteínas estão intimamente associados: CETP é uma enzima-chave no metabolismo de HDL<sup>38</sup>, enquanto SR-BI e apoA1 agem como receptor e ligante do HDL-c<sup>39,40</sup>. Dessa forma, a interação detectada pode ser entendida quando analisada em associação com o metabolismo e via de absorção do HDL-c.

## Referências

1. Assman G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience): Prospective Cardiovascular Munster study. *Am J Cardiol.* 1992; 70 (7): 733-7.
2. de Andrade FM, Silveira FR, Arsand M, Antunes ALS, Torres MR, Zago AJ, et al. Association between -250C/A polymorphism of the hepatic lipase gene promoter and coronary artery disease and HDL-C levels in a Southern Brazilian population. *Clin Genet.* 2004; 65 (5): 390-5.
3. American Diabetes Association. Report of the expert committee on the diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care.* 1997; 20 (7): 1183-97.
4. Pesce AJ, Kaplan LA. *Methods in clinical chemistry.* Saint Louis: The C. V.

O presente estudo detectou influências genéticas nos níveis de HDL-c, mas apresentou algumas limitações. Os maiores problemas foram o pequeno tamanho da amostra para o estudo de associação e o fato de que não havia dados disponíveis para 140 pacientes. Dessa forma, influências genéticas menos evidentes, que podem ser detectadas apenas em uma amostra maior, podem ter sido perdidas. Além disso, um estudo prospectivo da influência das combinações alélicas deve ser realizado para confirmar o impacto clínico desses genes no perfil lipídico de nossa população.

A direção da influência genética nos níveis de HDL-c parece ser, na maioria dos casos, independente do background genético ou de variações ambientais, mas a magnitude desse efeito difere grandemente entre diferentes populações. Qualquer característica multifatorial é influenciada por vários *loci*; dessa forma, análises de interações entre genes devem ser realizadas, pois podem ser a única forma de avaliar seu real papel genético em cada população.

## Agradecimentos

Agradecemos Maria Perpetua de Oliveira Pinto por seu auxílio técnico e Marcel Arsand e Fabiano Roldão por sua ajuda na coleta da amostra. Agradecemos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq, Brasil), Programa de Apoio à Núcleos de Excelência (PRONEX, Brasil) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio Grande do Sul (FAPERGS, Brasil) pelo apoio financeiro.

## Potencial Conflito de Interesses

Declaro não haver conflito de interesses pertinentes.

## Fontes de Financiamento

O presente estudo foi financiado pelo CNPq, CAPES, PRONEX e FAPERGS.

## Vinculação Acadêmica

Este artigo é parte de tese de Doutorado de Fabiana Michelsen de Andrade pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Mosby Co; 1987.

5. Friedwald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem.* 1972; 18 (6): 499-502.
6. Lahiri DK, Nurnberger JI. A rapid non-enzymatic method for the preparation of HMW DNA from blood for RFLP studies. *Nucleic Acid Res.* 1991; 19 (19): 5444.
7. Fumeron F, Betoulle D, Luc G, Behague I, Ricard S, Poirier O, et al. Alcohol intake modulates the effect of a polymorphism the cholesterol transfer protein gene on plasma high density lipoprotein and the risk of myocardial infarction. *J Clin Invest.* 1995; 96 (3): 1664-71.
8. Wang XL, Badenhop R, Humphrey KE, Wilcken DEL. *New MspI*

## Artigo Original

- polymorphism at +83 bp of the human apolipoprotein A1 gene: association with increased circulating high density lipoprotein cholesterol levels. *Gen Epidemiol.* 1996; 13 (1): 1-10.
9. Clee SM, Zwinderman AH, Engert JC, Zwarts KY, Molhuizen HO, Roomp K, et al. Common genetic variation in ABCA1 is associated with altered lipoprotein levels and a modified risk for coronary artery disease. *Circulation.* 2001; 103 (9): 1198-205.
  10. Acton S, Osgood D, Donoghue M, Corella D, Pocovi M, Cenarro A, et al. Association of polymorphisms at the SR-BI gene locus with plasma lipid levels and body mass index in a white population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1999; 19 (7): 1734-43.
  11. Schneider S, Roessli D, Excoffier L. Arlequin ver. 2.000: a software for population genetics data analysis. Geneva: University of Geneva; 2000.
  12. Long JC. Multiple locus haplotype analysis, version 2.0. Software and documentation distributed by the author: section on population genetics and linkage, laboratory of neurogenetics, NIAAA. Bethesda: National Institutes of Health; 1999.
  13. Thompson JF, Durham LK, Lira ME, Shear C, Milos PM. CETP polymorphisms associated with HDL cholesterol may differ from those associated with cardiovascular disease. *Atherosclerosis.* 2005; 181 (1): 45-53.
  14. Klos KLE, Sing CF, Boerwinkle E, Hamon SC, Rea TJ, Clark A, et al. Consistent effects of genes involved in reverse cholesterol transport on plasma lipid and apolipoprotein levels in CARDIA participants. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2006; 26 (8): 1828-36.
  15. Nettleton JA, Steffen LM, Ballantyne CM, Boerwinkle E, Folsom AR. Associations between HDL-cholesterol and polymorphisms in hepatic lipase and lipoprotein lipase genes are modified by dietary fat intake in African American and White adults. *Atherosclerosis.* 2007; 194 (2): e131-40.
  16. Sorlí JV, Corella D, Francés F, Ramírez JB, González JJ, Guillén M, et al. The effect of the APOE polymorphism on HDL-C concentrations depends on the cholesterol ester transfer protein gene variation in a Southern European population. *Clin Chim Acta.* 2006; 366 (1-2): 196-203.
  17. McCaskie PA, Beilby JP, Chapman CM, Hung J, McQuillan BM, Thompson PL, et al. Cholesteryl ester transfer protein gene haplotypes, plasma high-density lipoprotein levels and the risk of coronary heart disease. *Hum Genet.* 2007; 121 (3-4): 401-11.
  18. Porchay I, Péan F, Bellili N, Royer B, Cogneau J, Chesnier M-C, et al. (for the D.E.S.I.R. Study Group): ABCA1 Single nucleotide polymorphisms on high-density lipoprotein-cholesterol and overweight: the D.E.S.I.R. Study. *Obesity.* 2006; 14 (11): 1874-9.
  19. Benton JL, Ding J, Tsai MY, Shea S, Rotter JJ, Burke GL, et al. Associations between two common polymorphisms in the ABCA1 gene and subclinical atherosclerosis: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Atherosclerosis.* 2007; 193 (2): 352-60.
  20. Mantaring M, Rhyne J, Ho Hong S, Miller M. Genotypic variation in ATP-binding cassette transporter-1 (ABCA1) as contributors to the high and low high-density lipoprotein-cholesterol (HDL-C) phenotype. *Transl Res.* 2007; 149 (4): 205-10.
  21. Pasdar A, Yadegarfar G, Cumming A, Whalley L, St Clair D, MacLeod MJ. The effect of ABCA1 gene polymorphisms on ischaemic stroke risk and relationship with lipid profile. *BMC Med Genet.* 2007; 8: 30.
  22. Pulkkinen A, Viitanen L, Kareinen A, Lehto S, Laakso M. MspI polymorphism at +83 bp in intron 1 of the human apolipoprotein A1 gene is associated with elevated levels of HDL cholesterol and apolipoprotein A1 in nondiabetic subjects but not in type 2 diabetic patients with coronary heart disease. *Diabetes Care.* 2000; 23 (6): 791-5.
  23. Richard E, von Muhlen D, Barrett-Connor E, Alcaraz J, Davis R, McCarthy JJ. Modification of the effects of estrogen therapy on HDL cholesterol levels by polymorphisms of the HDL-C receptor, SR-BI: the Rancho Bernardo Study. *Atherosclerosis.* 2005; 180 (2): 255-62.
  24. Kamboh MI, Bunker CH, Aston CE, Nestlerode CS, McAllister AE, Ukoli FA. Genetic association of five apolipoprotein polymorphisms with serum lipoprotein-lipid levels in African Blacks. *Genet Epidemiol.* 1999; 16 (2): 205-22.
  25. Osgood D, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Wilson PWF, Meigs JB, et al. Genetic variation at the scavenger receptor class B type I gene locus determines plasma lipoprotein concentrations and particle size and interacts with type 2 diabetes: the Framingham Study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003; 88 (6): 2869-79.
  26. Ritsch A, Sonderegger G, Sandhofer A, Stanzl U, Tancevski I, Eller P, et al. Scavenger receptor class B type I polymorphisms and peripheral arterial disease. *Metabolism.* 2007; 56 (8): 1135-41.
  27. Morabia A, Ross BM, Costanza MC, Cayanis E, Flaherty MS, Alvin GB, et al. Population-based study of SR-BI genetic variation and lipid profile. *Atherosclerosis.* 2004; 175 (1): 159-68.
  28. Bauerfeind A, Knoblauch H, Costanza MC, Luganskaja T, Toliat MR, Nürnberg P, et al. Concordant association of lipid gene variation with a combined HDL/LDL-cholesterol phenotype in two European populations. *Hum Hered.* 2006; 61 (3): 123-31.
  29. Roberts CG, Shen H, Mitchell BD, Damcott CM, Shuldiner AR, Rodriguez A. Variants in scavenger receptor class B type I gene are associated with HDL cholesterol levels in younger women. *Hum Hered.* 2007; 64 (2): 107-13.
  30. Frikke-Schmidt R, Nordestgaard BC, Jensen GB, Steffensen R, Tybjaerg-Hansen A. Genetic variation in ABCA1 predicts ischemic heart disease in the general population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2008; 28 (1): 180-6.
  31. Ma YQ, Thomas GN, Tomlinson B. Association of two apolipoprotein A-I gene MspI polymorphisms with lipid and blood pressure levels. *Int J Cardiol.* 2005; 102 (2): 309-14.
  32. Chien KL, Chen MF, Hsu HC, Su TC, Chang WT, Lee CM, et al. Genetic association study of APOA1/C3/A4/A5 gene cluster and haplotypes on triglyceride and HDL cholesterol in a community-based population. *Clin Chim Acta.* 2008; 388 (1-2): 78-83.
  33. Boedkholdt SM, Thompson JF. Natural genetic variation as a tool in understanding the role of CETP in lipid levels and disease. *J Lipid Res.* 2003; 44 (6): 1080-93.
  34. Freeman DJ, Samani NJ, Wilson V, McMahon AD, Braund PS, Cheng S, et al. A polymorphism of the cholesteryl ester transfer protein gene predicts cardiovascular events in non-smokers in the West of Scotland Coronary Prevention Study. *Eur Heart J.* 2003; 24 (20): 1833-42.
  35. Park KW, Choi JH, Kim HK, Oh S, Chae IH, Kim HS, et al. The association of cholesteryl ester transfer protein polymorphism with high-density lipoprotein cholesterol and coronary artery disease in Koreans. *Clin Genet.* 2003; 63 (1): 31-8.
  36. Ma YQ, Thomas GN, Ng MCY, Critchley JAJH, Cockram CS, Chan JCN, et al. Association of two apolipoprotein A-I gene MspI polymorphisms with high density lipoprotein (HDL)-cholesterol levels and indices of obesity in selected healthy Chinese subjects and in patients with early-onset type diabetes. *Clin Endocrinol.* 2003; 59 (4): 442-9.
  37. Zou Y, Hu D, Yang X, Jia X, Wang L, Cui L, et al. Relationships among apolipoprotein A1 gene polymorphisms lipid levels and coronary atherosclerosis disease. *Clin Med J (Engl).* 2003; 116 (5): 665-8.
  38. Bruce C, Chouinard RA Jr, Tall AR. Plasma lipid transfer proteins, high-density lipoproteins, and reverse cholesterol transport. *Annu Rev Nutr.* 1998; 18: 297-330.
  39. Brouillette CG, Anantharamaiah GM, Engler JA, Borhani DW. Structural models of human apolipoprotein A-I: a critical analysis and review. *Biochim Biophys Acta.* 2001; 1531 (1-2): 4-46.
  40. Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor. *Science.* 1996; 271 (5248): 518-20.