

INFLUÊNCIA DOS POLIMORFISMOS Da *APOE* em Alguns Factores de Risco de Aterosclerose

Maria CARMO MARTINS, Luís LIMA FALEIRO, Maria Odete RODRIGUES,
Isabel ALBERGARIA, Aidil FONSECA

RESUMO

Este trabalho teve como objectivo estudar a distribuição dos polimorfismos da apolipoproteína E (*APOE*) e sua associação com alguns factores de risco aterosclerótico, todos modificáveis: colesterol total, colesterol das HDL e LDL, triglicéridos, pressão arterial sistólica e diastólica, índice de massa corporal, perímetro abdominal e hábitos tabágicos.

A amostra populacional foi constituída por 672 indivíduos, presumivelmente saudáveis, recrutados na região de Lisboa. Os métodos laboratoriais para os lípidos quantificados foram os usuais, automatizados enzimáticos e os genótipos da *APOE* determinaram-se segundo Hixson e Vernier. A determinação da pressão arterial e a classificação da hipertensão seguiram as recomendações internacionais, Organização Mundial de Saúde. Os restantes índices foram medidos e/ou calculados como é usual. Encontrámos como frequências relativas dos alelos 6.4% de $\epsilon 2$, 83.6% de $\epsilon 3$, 10.0% de $\epsilon 4$ e os genótipos mais prevalentes foram $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$ e $\epsilon 3/\epsilon 4$ respectivamente 11.0%, 70.1% e 16.1%. Só verificámos associações entre os genótipos encontrados e os lípidos, sempre estatisticamente significativas e particularmente consistentes quando o alelo $\epsilon 4$, considerado o mais patogénico, estava presente, o que aliás foi comprovado pela prevalência mais alta de $\epsilon 4$ nos dislipidémicos, com excepção dos caracterizados por baixos valores de HDL-c. Recomenda-se assim que quando presente em dado indivíduo o alelo $\epsilon 4$ se efective uma prevenção eficaz por combate aos factores de risco modificáveis que possam existir em simultâneo, quer por via terapêutica quer por alteração de incorrectos hábitos alimentares e de vida.

SUMMARY

INFLUENCE OF THE *APOE* GENOTYPES IN SOME ATHEROSCLEROTIC RISK FACTORS

The aim of this work was to study the distribution of apolipoprotein E (*APOE*) genotypes and their association with some atherosclerotic risk factors, all of them modifiable: total, HDL and LDL cholesterol, triglycerides, systolic and diastolic blood pressure, BMI, waist circumference and smoking.

The sample population was constituted of 672 healthy subjects recruited in the Lisboa area. Lipids were quantified by usual automatic enzymatic methods and the *APOE* genotypes performed in accordance with Hixson and Vernier. Blood pressure measurement and hypertension classification followed international specifications.

The frequency distribution of *APOE* alleles was: $\epsilon 2 = 6.4\%$, $\epsilon 3 = 83.6\%$ and $\epsilon 4 = 10.0\%$ and the more prevalent genotypes were $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$ and $\epsilon 3/\epsilon 4$ respectively 11.0%, 70.1% and 16.1%.

M.C.M., M.O.R., I.A., A.F.:
Instituto Nacional de Saúde
Ricardo Jorge. Lisboa
L.L.F.: Departamento de Cardiologia. Instituto Português
Reumatologia. Lisboa
© 2008 CELOM

We could only observe associations among the most prevalent genotypes and lipids, always statistically significant, specially when the $\epsilon 4$ allele was present which was even proved by an higher prevalence of $\epsilon 4$ in dyslipidemic subjects with the only exception of those with low HDL-c values. A stronger intervention in the $\epsilon 4$ carriers is so recommended through appropriate intervention measures on the connected modifiable risk factors.

INTRODUÇÃO

O gene da Apolipoproteína E (*APOE*) é polimórfico e três alelos, $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$ codificam as correspondentes formas isomórficas da proteína, E2, E3, E4 que podem ocorrer em seis diferentes fenótipos sendo E3/E3 o mais frequente em várias populações. Estas formas isomórficas da proteína, que diferem por substituição de um único aminoácido, têm diferentes afinidades iónicas para os quatro conhecidos receptores estando os respectivos mecanismos e cinética largamente descritos¹. Através deste principal mecanismo a *APOE* influencia o metabolismo das lipoproteínas aterogénicas – lipoproteínas contendo Apo B – o transporte reverso do colesterol e, consequentemente, as dislipidémias.

Em comparação com o alelo $\epsilon 3$ o $\epsilon 4$ está associado a altos níveis séricos de colesterol total e LDL-c enquanto o oposto se verifica para o $\epsilon 2$ que, por sua vez, se relaciona com tendência para valores mais elevados de triglicéridos².

O objectivo deste trabalho foi estudar a distribuição dos polimorfismos da *APOE* e verificar como se comportam os indivíduos portadores dos alelos referidos e dos genótipos que mais frequentemente os veiculam, na nossa população, relativamente aos seguintes factores de risco aterosclerótico, todos modificáveis: colesterol total e das HDL e LDL, triglicéridos, pressão arterial sistólica e diastólica, índice de massa corporal (IMC), perímetro abdominal e hábitos tabágicos.

MATERIAIS E MÉTODOS

Amostra populacional

Foi seleccionada uma amostra populacional na região de Lisboa, constituída por 264 homens e 408 mulheres, de idades compreendidas entre os 20 e os 80 anos, utentes dos vários laboratórios do INSA, excluídas as grávidas e aqueles para quem eram requeridos testes para rastreio de HIV.

Todos os participantes deram consentimento informado, por escrito, para a sua participação e o estudo foi aprovado pela Comissão de Ética do Instituto Nacional de Saúde.

Extracção do DNA e determinação dos genótipos da *APOE*

Os genótipos da *APOE* determinaram-se segundo Hixson e Vernier³ após extracção de DNA, Miller⁴, sua amplificação por PCR e digestão subsequente por *HhaI*.

FACTORES DE RISCO DE ATEROSCLEROSE

Lípidos

O colesterol total, o colesterol das lipoproteínas de alta densidade (HDL-c) e os triglicéridos, foram determinados por métodos enzimáticos em autoanalisador «Hitachi 911», após jejum de pelo menos 12 horas com coeficientes de variação intra e inter-ensaios a definirem boa precisão dos resultados (2.6% e 2.5% para o colesterol total, 4.0% e 4.5% para o HDL-c, 2.0% e 2.5% para os triglicéridos).

O colesterol das lipoproteínas de baixa densidade (LDL-c) foi calculado segundo a equação de Friedewald-Fredrickson para indivíduos com concentrações de triglicéridos inferiores a 4.54 mmol/L.

Determinaram-se os quocientes colesterol total/HDL-c e triglicéridos/HDL-c.

Seguindo as Recomendações da Sociedade Portuguesa de Aterosclerose⁵ foram as dislipidémias definidas pela existência isolada ou em sobreposição de colesterol total igual ou superior a 4.9 mmol/L, colesterol HDL ≤ 1.16 mmol/L, colesterol LDL ≥ 2.97 mmol/L, triglicéridos ≥ 2.05 mmol/L, Colesterol total/HDL-c ≥ 5 .

Pressão Arterial

As pressões arteriais sistólica e diastólica foram determinadas com auxílio de um esfigmomanómetro de coluna de mercúrio, modelo *BRESCO*.

De acordo com os critérios da Organização Mundial de Saúde (OMS) em ligação com as Guidelines da European Society of Hypertension⁶⁻⁷, foram considerados hipertensos os indivíduos com pressão arterial sistólica maior ou igual a 140 mmHg e/ou pressão arterial diastólica maior ou igual a 90 mmHg e ainda os que se encontravam sob terapêutica hipotensora.

Obesidade

O IMC foi calculado, como habitualmente, através do quociente peso/altura ao quadrado. O perímetro abdominal determinou-se a nível do umbigo acompanhando as cristas ilíacas.

Foram classificados como obesos os participantes com IMC igual ou superior a 30 kg/m² ou perímetro abdominal ≥ 96 cm para o sexo masculino e ≥ 87 cm para o sexo feminino, (valores discriminatórios correspondentes ao percentil 75 das respectivas distribuições).

Hábitos Tabágicos

A existência de hábitos tabágicos foi afirmada, para cada participante, sempre que havia resposta positiva à pergunta, *em média quantos cigarros fuma por dia actualmente?*

Análise Estatística

As distribuições de frequências foram comparadas pelo teste do χ^2 e, quando necessário, pelo teste exacto de Fisher.

Na comparação da distribuição dos valores médios dos factores de risco considerados, de acordo com os génotipos da *APOE*, utilizámos a análise da variância (ANOVA) para as variáveis quantitativas contínuas com distribuição normal e o teste de Kruskal-Wallis para as restantes variáveis.

Para o tratamento estatístico dos dados, utilizou-se o programa SPSS para Windows versão 12.0 (Chicago, Illinois, EUA). Foi considerado como estatisticamente significativo um valor $p < 0.05$.

RESULTADOS

Em linha de base observámos que o sexo e sobretudo a idade (inferior e superior ou igual a 30 anos) influenciaram as prevalências, em percentagem, dos vários factores de risco quase sempre mais altas nos grupos etários mais elevados, elevação que foi estatisticamente significativa na maior parte dos casos (Quadro 1).

Curiosamente os hábitos tabágicos diminuíram com a idade de forma significativa em ambos os sexos.

O Quadro 2 refere a prevalência dos génotipos da *APOE* e a frequência relativa dos alelos em equilíbrio de Hardy-Weinberg.

O Quadro 3 menciona, segundo os génotipos mais prevalentes, os valores médios (SD±) dos factores de risco considerados: pressão arterial sistólica e diastólica, IMC, perímetro abdominal, hábitos tabágicos e idade permitindo concluir, através dos índices estatístico usados, pela sua não associação.

Esta não associação continuou a verificar-se para os valores médios da pressão areterial sistólica e diastólica nos hipertensos e, para os valores médios do IMC e perímetro abdominal nos indivíduos obesos (Quadro 4).

Já com os parâmetros lipídicos determinados a associação dos génotipos mais prevalentes foi sempre estatisticamente significativa e especialmente consistente, quando o alelo $\epsilon 4$ considerado o mais patogénico, estava presente (Quadro 5).

Quadro 1 – Prevalência (em %), de alguns factores de risco para a doença aterosclerótica, de acordo com o sexo e idade, inferior e igual ou superior a 30 anos

Factores de risco	Masculino		Feminino	
	< 30 anos N=47	≥ 30 anos N = 217	< 30 anos N = 67	≥ 30 anos N = 341
Colesterol ≥ 4.9 mmol/L	25.5	66.4***	31.3	63.3***
HDL-C ≤ 1.16 mmol/L	55.3	53.0	14.9	23.8
LDL-C ≥ 2.97 mmol/L	45.7	73.8***	28.4	64.8***
Trigliceridos ≥ 2.05 mmol/L	10.6	22.1	4.5	10.9
Colesterol/HDL-c ≥ 5	17.0	38.2**	3.0	16.7**
Trigliceridos/HDL-c > 3	17.0	38.2**	7.5	17.6*
IMC ≥ 30 Kg/m ²	6.4	12.9	3.0	12.6*
Perímetro abdominal ≥ percentil 75	27.7	28.6	23.9	27.3
Hábitos tabágicos	51.1	26.3***	25.4	14.4*
Hipertensão arterial	25.5	44.7*	3.0	34.3***

* $p < 0.05$; ** $p < 0.01$; *** $p < 0.001$

Quadro 2 – Prevalência dos genótipos da APOE e frequência relativa dos alelos

Genótipos	Homens N = 264	Mulheres N = 408	Total N = 672
ε2/ε2	1 (0.4%)	1 (0.2%)	2 (0.3%)
ε2/ε3	33 (12.5%)	41 (10.0%)	74 (11.0%)
ε2/ε4	3 (1.1%)	5 (1.2%)	8 (1.2%)
ε3/ε3	176 (66.7%)	295 (72.4%)	471 (70.1%)
ε3/ε4	50 (18.9%)	58 (14.2%)	108 (16.1%)
ε4/ε4	1 (0.4%)	8 (2.0%)	9 (1.3%)
χ ²	2.19	5.88	1.26
p	0.335	0.053	0.533
Frequência relativa dos alelos			
Alelos	Homens	Mulheres	Total
ε2	0.072	0.059	0.064
ε3	0.824	0.844	0.836
ε4	0.104	0.097	0.100

Quadro 3 – Valores médios (±DP) da pressão arterial sistólica e diastólica, IMC, perímetro abdominal, nº de cigarros/dia e idade, de acordo com os genótipos da APOE

	ε2/ε3 N = 74	ε3/ε3 N = 471	ε3/ε4 N = 108	p
Pressão arterial sistólica, mmHg	130.6 ± 20.6	130.6 ± 19.8	130.7 ± 19.7	NS
Pressão arterial diastólica, mmHg	82.6 ± 13.1	81.4 ± 11.9	81.4 ± 12.0	NS
IMC, Kg/m ²	25.1 ± 4.16	25.3 ± 4.36	25.5 ± 4.46	NS
Perímetro abdominal, cm	83.4 ± 11.1	82.8 ± 11.6	83.9 ± 12.8	NS
Nº Cigarros/dia	18.0 ± 10.3	19.4 ± 12.5	19.2 ± 14.8	NS
Idade, anos	43.8 ± 12.2	42.3 ± 11.9	41.4 ± 11.7	NS

IMC = Índice de massa corporal; NS = Não significativo

Os genótipos ε2/ε2 e ε4/ε4 não foram considerados neste estudo devido ao facto das respectivas prevalências serem baixas.

Quadro 4 – Valores médios (±DP) da pressão arterial sistólica e diastólica, IMC e perímetro abdominal, nos indivíduos hipertensos e obesos, de acordo com os genótipos da APOE

	ε2/ε3	ε3/ε3	ε3/ε4	p
HIPERTENSÃO				
Pressão arterial sistólica, mmHg	151.5 ± 20.1	151.1 ± 16.5	152.8 ± 15.9	NS
Pressão arterial diastólica, mmHg	96.8 ± 9.0	93.1 ± 9.2	93.7 ± 9.3	NS
OBESIDADE				
IMC ≥ 30 Kg/m ²	33.0 ± 4.8	34.3 ± 4.0	32.7 ± 2.5	NS
Perímetro abdominal ≥ percentil 75, cm	91.9 ± 8.2	92.1 ± 9.2	93.4 ± 9.9	NS

IMC = Índice de massa corporal; NS = Não significativo

Os genótipos ε2/ε2 e ε4/ε4 não foram considerados neste estudo devido ao facto das respectivas prevalências serem baixas.

Quadro 5 – Valores médios (\pm DP) de parâmetros lipídicos, de acordo com os genótipos da APOE

	$\epsilon 2/\epsilon 3$ N = 74	$\epsilon 3/\epsilon 3$ N = 471	$\epsilon 3/\epsilon 4$ N = 108	p
Colesterol total, mmol/L	4.66 \pm 0.96	5.25 \pm 1.13	5.47 \pm 1.12	< 0.001
HDL-c, mmol/L	1.45 \pm 0.45	1.36 \pm 0.39	1.26 \pm 0.39	< 0.01
LDL-c, mmol/L	2.63 \pm 0.87	3.34 \pm 1.00	3.49 \pm 1.02	< 0.001
Trigliceridos, mmol/L	1.36 \pm 0.84	1.26 \pm 0.75	1.60 \pm 1.01	< 0.01
Colesterol/HDL-c	3.54 \pm 1.32	4.15 \pm 1.40	5.07 \pm 4.08	< 0.001
Trigliceridos/HDL-c	2.51 \pm 2.28	2.34 \pm 2.09	3.99 \pm 7.56	< 0.01

Os génotipos $\epsilon 2/\epsilon 2$ e $\epsilon 4/\epsilon 4$ não foram considerados neste estudo devido ao facto das respectivas prevalências serem baixas.

Quadro 6 – Prevalência do alelo $\epsilon 4$ na população estudada, de acordo com a presença e ausência dos factores de risco considerados

Factores de risco	$\epsilon 4$		p
	Frequência (%)	n	
Hipertensão	16.3%	(37/227)	NS
Normotensão	18.3%	(80/437)	
IMC \geq 30 Kg/m ²	26.3%	(20/76)	< 0.05
IMC < 30 Kg/m ²	16.5%	(97/588)	
Perímetro abdominal \geq percentil 75	18.5%	(48/260)	NS
Perímetro abdominal < percentil 75	17.1%	(69/404)	
Hábitos tabágicos (sim)	15.3%	(22/144)	NS
Hábitos tabágicos (não)	18.4%	(93/506)	
Colesterol \geq 4.9 mmol/L	20.4%	(79/388)	< 0.05
Colesterol < 4.9 mmol/L	13.8%	(38/276)	
HDL-c < 1.16 mmol/L	19.0%	(44/231)	NS
HDL-c \geq 1.16 mmol/L	16.9%	(73/433)	
LDL-c \geq 2.97 mmol/L	20.5%	(85/415)	< 0.05
LDL-c < 2.97 mmol/L	13.1%	(32/245)	
Trigliceridos \geq 2.05 mmol/L	31.5%	(29/92)	< 0.001
Trigliceridos < 2.05 mmol/L	15.4%	(88/572)	
Colesterol/HDL-c \geq 5	22.7%	(35/154)	NS
Colesterol/HDL-c < 5	16.1%	(82/510)	
Trigliceridos/HDL-c > 3	24.2%	(38/154)	< 0.01
Trigliceridos/HDL-c \leq 3	15.6%	(79/510)	

NS = Não significativo

O Quadro 6 menciona a significância estatística entre a diferença das prevalências do alelo $\epsilon 4$ nos indivíduos que, na população estudada, tinham os factores de risco considerados e aqueles que, na mesma população, os não tinham.

Interessante notar que, pelo que se refere aos factores de risco hipertensão, obesidade, hábitos tabágicos apenas há significância estatística entre as prevalências de $\epsilon 4$

entre obesos e não obesos quando se usa o IMC como indicador definidor da obesidade o que não sucede quando o índice é o perímetro abdominal.

Já para os lípidos analisados há sempre significância estatística entre as prevalências de $\epsilon 4$ nos dislipidémicos e não dislipidémicos qualquer que seja o parâmetro lipídico considerado, com a única excepção, do HDL-c e do quociente colesterol total/HDL-c.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos, com as frequências alélicas referidas e que tivemos oportunidade de comprovar em seis diferentes regiões do país⁸, com altas frequências de $\epsilon 3$ e relativamente baixas de $\epsilon 2$ e $\epsilon 4$ são sobreponíveis aos que usualmente se referem no sul de Europa⁹, em Marrocos¹⁰ e em alguns países do Extremo Oriente¹¹.

Na verdade as frequências alélicas da *APOE* diferem nas várias regiões do globo. Na Europa o $\epsilon 4$ apresenta, em gradiente, uma diminuição da respectiva prevalência desde os países do norte para os do sul, verificando-se o oposto para o $\epsilon 2$. A acompanhar o aumento da prevalência de $\epsilon 4$ nos países do norte da Europa estão as altas frequências de doenças cardíacas ateroscleróticas e aumento das concentrações séricas de colesterol e triglicéridos. A população finlandesa, segundo o estudo referido em 9, tem a mais alta prevalência de $\epsilon 4$ 17,8%, enquanto a Grécia (Creta) tem 8,5%, a mais baixa, e a população portuguesa 9,7%. Como usualmente o genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ foi o mais frequente 70.1% e o alelo $\epsilon 3$ correspondente, enquanto o $\epsilon 4$ se encontrou em 10% dos analisados e o $\epsilon 2$ em apenas 6.4%. Graças a estas baixas frequências de $\epsilon 4$ e $\epsilon 2$ os genótipos $\epsilon 4/\epsilon 4$, $\epsilon 2/\epsilon 4$ e $\epsilon 2/\epsilon 2$ foram relativamente raros (Quadro 2).

Para os restantes genótipos $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 3$ e $\epsilon 3/\epsilon 4$ (Quadro 5) pudemos mais uma vez comprovar que aos alelos $\epsilon 2$ e $\epsilon 4$ correspondem respectivamente a mais baixos e mais altos níveis séricos de colesterol quando comparados com o genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$. O genótipo associado a mais altos valores de triglicéridos e baixas concentrações de HDL-c foi o $\epsilon 3/\epsilon 4$ que corresponde ao tipo de dislipidemia característico da síndrome metabólica, que, tal como a diabetes tipo 2, têm prevalências crescentes entre nós. Aliás, a este genótipo Dallongeville et al¹² atribuem risco cardiovascular superior ao representado pelo alelo $\epsilon 4$, isoladamente considerado e Assman et al acham que pode ser responsável por enfarte de miocárdio em idades jovens, quando em comparação com os detentores da heterozigotia $\epsilon 3/\epsilon 2$ e de homozigotia $\epsilon 3/\epsilon 3$ ¹³.

Numerosos estudos têm demonstrado que o alelo $\epsilon 4$ está associado a um aumento do risco de doença cardíaca isquémica mas não é claro, para alguns, se tal se deve a uma actuação dos polimorfismos da *APOE* nos lípidos¹⁴⁻¹⁷ ou se outros mecanismos genéticos e ambientais estão também envolvidos.

Seja como for, a importância do alelo $\epsilon 4$ no desenvolvimento das dislipidémias é inquestionável e os respectivos mecanismos são conhecidos¹. Neste nosso estudo (Quadro 6) comprova-se a sua inter-relação, de forma esta-

tisticamente significativa com as diversas, mais importantes e frequentes dislipidémias entre nós pois só nas caracterizadas por valores baixos de HDL-c essa significância se não verificou, circunstância que, como para outros, é inexplicável.

Sendo as dislipidémias muito prevalentes entre nós, mais de 60% em ambos os sexos⁸ é evidente o risco acrescentado que a presença de $\epsilon 4$, em dado indivíduo, representa para o seu controlo.

Não observámos neste estudo associação entre os genótipos da *APOE* e os valores médios das pressões arteriais sistólica e diastólica, o IMC, o perímetro abdominal e o tabagismo e esta não associação continuou a ocorrer para os valores médios destes factores de risco nos indivíduos hipertensos e obesos (Quadro 4).

Esta não associação, foi por outros igualmente reconhecida^{18,19}. Todavia existe alguma controvérsia no que respeita à inter-relação dos polimorfismos da *APOE* com a obesidade. Sendo certo que a obesidade é complexa, nas suas bases genéticas e de efeitos diversos segundo o sexo, parece contudo aceite, por estudos efectuados em obesos de diferentes idades, crianças²⁰, jovens²¹, mulheres²² e homens²³ adultos por oposição a indivíduos não obesos de idades semelhantes, que os polimorfismos da *APOE* influenciam não só os níveis de certas lipoproteínas como modulam a associação obesidade/dislipidémias. Assim as hipertriglicéridémias sem LDL-c alto aumentam significativamente segundo a presença dos vários alelos de $\epsilon 2 > \epsilon 3 > \epsilon 4$, com os obesos contendo $\epsilon 2$ a apresentarem os mais altos valores. Já a incidência e prevalência de dislipidémias ricas em LDL-c estão significativamente mais elevadas nos detentores dos diversos alelos segundo $\epsilon 4 > \epsilon 3 > \epsilon 2$ com os mais altos valores nos obesos portadores de $\epsilon 4$ relativamente aos não obesos. A justificação para tais ocorrências e conforme explicitado em¹ tem a ver com a produção exagerada de VLDL nos indivíduos obesos e alterações subsequentes nas concentrações séricas de triglicéridos, LDL e HDL colesterol, diferentemente verificadas nos portadores de $\epsilon 2$ e $\epsilon 4$.

Nas crianças e jovens obesos as anomalias lipídicas verificadas não acarretariam insulino-resistência de forma evidente^{20,21} mas já nos adultos a inter-relação obesidade/insulino-resistência/polimorfismos da *APOE* vem sendo aceite. Assim os detentores de genótipos com o alelo $\epsilon 2$ seriam menos susceptíveis ao desenvolvimento dessa insulino-resistência do que os que têm o alelo $\epsilon 4$ (mulheres obesas com genótipos $\epsilon 2/\epsilon 3$ menos susceptíveis à insulino-resistência relativamente às que detêm os $\epsilon 3/\epsilon 4$ e $\epsilon 4/\epsilon 4$, homens obesos com o alelo $\epsilon 4$ revelam insulina e glicemia em jejum mais altas que os obesos com $\epsilon 2$ ou mesmo $\epsilon 3$)^{22,23}.

Em termos de prevenção do desenvolvimento de doenças ateroscleróticas será pois de aconselhar nos indivíduos obesos, detentores do alelo $\epsilon 4$, que se combatam, de forma eficaz, os factores de risco modificáveis que possam existir em simultâneo.

Usámos neste trabalho dois indicadores de obesidade: IMC e perímetro abdominal. Aparentemente o IMC foi mais eficaz que o perímetro abdominal, pois só ele nos permitiu identificar, de forma estatisticamente significativa, diferenças entre as prevalências do alelo $\epsilon 4$ nos indivíduos obesos e não obesos.

Usualmente o IMC está fortemente associado ao tecido adiposo e embora não permita inferir o padrão da sua distribuição, estudos há e são referidos em²¹ que, a propósito da inter-acção dos polimorfismos da *APOE* e gordura corporal encontram resultados semelhantes com o IMC, relação cintura/anca e determinações de gordura total e intra-abdominal efectuadas por tomografia computadorizada, considerada mais exacta.

Admitimos também que o nosso valor discriminatório entre indivíduos obesos e não obesos definido para o perímetro abdominal através do percentil 75 das respectivas distribuições, seja alto e traduza problemas de excesso de peso que a população em estudo possua.

Também autores vários se têm debruçado sobre a inter relação génotipos da *APOE*/hábitos tabágicos mas os resultados não são coincidentes pois enquanto uns concluem pela existência de certa sinergia entre o alelo $\epsilon 4$ e os malefícios do tabaco²⁴ outros não conseguem provar inequivocamente que essa sinergia exista²⁵.

Neste estudo não verificámos qualquer aumento do alelo $\epsilon 4$ nos indivíduos com hábitos tabágicos.

CONCLUSÃO

Quando presente, em dado indivíduo, o alelo $\epsilon 4$, concluímos que devem as medidas preventivas de aterosclerose incluir, nesse indivíduo, um ênfase maior no combate aos seus factores de risco modificáveis, dentre os quais a obesidade em primeiro plano, quer por via de alterações convenientes nos regimens dietético e de hábitos de vida, quer por via terapêutica.

Conflito de interesses:

Os autores declaram não ter nenhum conflito de interesses relativamente ao presente artigo.

Fontes de financiamento:

Não existiram fontes externas de financiamento para a realização deste artigo.

BIBLIOGRAFIA

1. GREGG RE, BREWER HB Jr: The role of apolipoprotein E and lipoprotein receptors in modulating the *in vivo* metabolism of apolipoprotein B containing lipoproteins in humans. *Clin Chem* 1988;34:B28-B32
2. KWIJTT P, MAAGDENBERG AM, FRANTS RR, HAWEKES LM: Genetic heterogeneity of apolipoprotein E and its influence on plasma lipid and lipoprotein levels. *Human Mut* 1994;4:178-94
3. MILLER SA, DYKES DD, POLESKY HF: A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells. *Nucleic Acids Res* 1988;6:1215.
4. HIXSON JE, VERNIER DT: Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with *HhaI*. *J Lipid Res* 1990;31:545-8
5. Sociedade Portuguesa de Aterosclerose: Recomendações Portuguesas para a prevenção primária e secundária da aterosclerose. Lisboa SPA 2000
6. World Health Organization: International Society of Hypertension Guidelines for the management of hypertension. *J Hypertens* 1999;17:151-183
7. European Society of Hypertension – European Society of Cardiology: Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens* 2003;21:1011-53
8. RODRIGUES MO, FONSECA A, DIAS CM, ALBERGARIA I, MARTINS G, MARTINS MC: *APOE* genotypes na d dyslipidemias in a sample of the Portuguese population. *Clin Chem Lab Med* 2005;43(9):907-912
9. SCHIELE F, DE BACQUER D, VINCENT-VIRY M et al: Apolipoprotein E serum concentration and polymorphism in six European countries: the ApoEurope Project. *Atherosclerosis* 2000;152:475-488
10. LAHLALI-KACEMI N, BAMON Y, GUEDIRA A et al: Polymorphism de l'apolipoprotein E dans une population Marocaine: fréquence allélique et relation avec les paramètres lipidiques plasmatiques. *Ann Biol Clin* 2002;60:73-8
11. MAHLEY RW, RALL SC JR: Type III hyperlipoproteinemia (dysbetalipoproteinemia): the role of apolipoprotein E in normal and abnormal lipoprotein metabolism. In: Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS, Valle D, editors. *The metabolic and molecular bases of inherited diseases*. New York: McGraw-Hill 1995:1953-80
12. DALLONGEVILLE J, LUSSIER-CACAN S, DAVIGNON J: Modulation of plasma triglycerides levels by apoE phenotype: a meta-analysis. *J Lipid Res* 1992;33:447-454
13. LENZEN HJ, ASSMANN G, BUCHWAISKY R, SCHULTE H. Association of apolipoprotein E polymorphism, low-density lipoprotein cholesterol, and coronary artery disease. *Clin Chem* 1986;32:778-781
14. STENGARD JH, ZERBE KE, PEKKANEN J, EHNHOLM C. NISSINEN A, SING CF: Apolipoprotein E polymorphism predicts death from Coronary Heart Disease in a longitudinal study of elderly Finnish men. *Circulation* 1995;91:265-9
15. STENGARD JH, PEKKANEN J, EHNHOLM C. NISSINEN A, SING CF: Genotypes with the apolipoprotein $\epsilon 4$ allele are predictors of coronary heart disease mortality in a longitudinal study of elderly Finnish men aged 65-84 years. *Hum Genet* 1996;97:677-684

16. WILSON PWF, MYERS RH, LARSON MG, ORDOVAS JM, WOLF PA, SCHAEFER EJ: Apolipoprotein E alleles, dyslipidemia, and coronary heart disease. The Framingham Offspring Study. *JAMA* 1994;272:1666-71
17. SONG Y, STAMPFER MJ, LIN S: Meta-analysis: Apolipoprotein E genotypes and risk for Coronary Heart Disease. *Ann Inter Med* 2004;141:137-147
18. SASS C, HERBETH B, ZANNAD F, SIEST G, VISVIKIS S: Blood pressure and apolipoprotein E genotypes in the Stanislas family study. In *Biologie Prospective, IXe Colloque de Pont à Mousson*. Eurobiologie, 29 Septembre-3 Octobre 1996. Galteau MM, Delwaide P, Siest G, Henny J. Eds. John Libbey Eurotext Publ 1997,171-4
19. DE KNIJFF P, BOOMSMA DI, FESKENS EJM et al: Apolipoprotein E phenotype and blood pressure. *Lancet* 1994; 343:1234-5
20. GUERRA A, REGO C, CASTRO EMB, SEIXAS S, ROCHA J: Influence of apolipoprotein E polymorphism on cardiovascular risk factors in obese children. *Ann Nutr Metab* 2003;47:49-54
21. SRINIVASAN SR, EHNHOLM C, ELKASABANY A, BERENSON GS: Apolipoprotein E polymorphism modulates the association between obesity and dyslipidemias during young adulthood: The Bogalusa Hearth Study. *Metabolism* 2001;50:696-702.
22. UUSITUPA MIJ, KARHUNEN L, RISSANEN A et al: Apolipoprotein E phenotype modifies metabolic and hemodynamic abnormalities related to central obesity in women. *Am J Clin Nutr* 1996;64:131-6
23. ELOSNA R, DEMISSIE S, CUPPLES LA et al : Obesity modulates the association among ApoE genotype, insulin and glucose in men. *Obes Res* 2003;11:1502-8
24. DJOUSSÉ L, MEYERS RH, PROVINCE MA et al : Influence of apolipoprotein E, smoking and alcohol intake in carotid atherosclerosis: National Heart, Lung and Blood Institute Family Heart Study. *Stroke* 2002;33:1357-61
25. KEAVNEY B, PARISH S, PALMER A et al: Large-scale evidence that the cardiotoxicity of smoking is not significantly modified by the apolipoprotein E $\epsilon 2/\epsilon 3/\epsilon 4$ genotype. *The Lancet* 2003;361:396-8