

Lúcia Helena Bonalume Tácito

Doença Arterial Coronariana na Pós-Menopausa: Fatores
de Risco e Influência da Apolipoproteína E
no Metabolismo Lipídico

São José do Rio Preto

2004

Lúcia Helena Bonalume Tácito

Doença Arterial Coronariana na Pós-Menopausa: Fatores
de Risco e Influência da Apolipoproteína E
no Metabolismo Lipídico

Tese apresentada à Faculdade de
Medicina de São José do Rio Preto,
para obtenção do título de Doutor no
Programa de Pós-Graduação em
Ciências da Saúde – Eixo temático:
Medicina Interna.

Orientador: Profa. Dra. Dorotéia Rossi Silva Souza

São José do Rio Preto

2004

FICHA CATALOGRÁFICA

Tácito, Lúcia Helena Bonalume

Doença arterial coronariana na pós-menopausa: fatores de risco e influência da apolipoproteína E no metabolismo lipídico / Tácito, Lúcia Helena Bonalume

São José do Rio Preto, 2004

94 p.; 33 cm

Tese (Doutorado) - Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto

Eixo temático: Medicina Interna

Orientador: Profa. Dra. Dorotéia Rossi Silva Souza

1. Doença arterial coronariana 2. Menopausa 3. Apolipoproteína E
4. Perfil lipídico 5. Triglicérides 6. Pós-Prandial 7. Metabolismo lipídico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1 Considerações Gerais	1
1.2 Metabolismo Lipídico.....	5
1.2.1 Cinética Plasmática.....	9
1.3 Influência do Polimorfismo da Apolipoproteína E no Perfil Lipídico...	10
1.4 Isoformas da Apolipoproteína E e Aterosclerose.....	13
1.5 Objetivos.....	16
2. CASUÍSTICA E MÉTODO.....	17
2.1 Casuística.....	17
2.2 Método.....	17
2.2.1 Perfil lipídico e dieta teste.....	19
2.2.2 Polimorfismo da Apolipoproteína E.....	21
2.2.2.1 Extração de DNA.....	21
2.2.2.2 Amplificação de DNA.....	21
2.2.2.3 Isotipagem de restrição com <i>Hha</i> I.....	22
2.2.2.4 Análise de DNA.....	22
2.3 Estudo Estatístico.....	25
3. RESULTADOS.....	26
3.1 Fatores de Risco.....	26
3.2 Frequências Alélicas e Genótípicas.....	31
3.3 Perfil Lipídico.....	31
3.4 Perfil Lipídico e Apolipoproteína E.....	34
3.5 Cinética de Triglicérides na Fase Pós-Prandial.....	40
4. DISCUSSÃO.....	43
4.1 Fatores de Risco para Doença Arterial Coronariana.....	43
4.2 Perfil Lipídico.....	46
4.3 Polimorfismo da Apolipoproteína E na Doença Arterial Coronariana.....	48

4.4 Cinética de Triglicérides.....	52
5. CONCLUSÕES.....	59
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	60
APÊNDICES.....	77

Aos meus antepassados, pela luta por dias melhores, e às minhas filhas como exemplo de esforço e aprendizado contínuo.

AGRADECIMENTOS

Este trabalho pôde ser concluído graças a cooperação técnica e apoio de muitos. Sei que nunca conseguirei expressar toda minha gratidão.

À Fundação de Amparo a Pesquisa (FAPESP) pelo auxílio financeiro concedido para execução deste trabalho.

Aos participantes deste trabalho, que prontamente concordaram em participar do estudo, não se importando de retornar quando necessário para novas coletas.

À Profa. Dra. Dorotéia Rossi Silva Souza, minha orientadora e amiga, cujos exemplos de pesquisadora e ser humano permanecerão para sempre em meu coração e que sem dúvida, se por acaso, não fosse ela, eu com certeza não teria chegado ao fim. Com ela aprendi que se você pode sonhar, você pode realizar. A você Dorô, muito mais que obrigada. Conte comigo.

Ao Hospital de Base de S. J. do Rio Preto, que colaborou com a realização deste trabalho.

Aos funcionários do Laboratório Central, principalmente ao Sr. Milton Pires pela ajuda imprescindível na obtenção dos resultados laboratoriais.

Ao Laboratório Laborclin que gentilmente cedeu-me a funcionária Sueli Alfaiate para a coleta de material durante todo o estudo.

À auxiliar de laboratório Sueli Alfaiate, que sempre esteve pronta a me auxiliar na coleta e transporte do material, pois sem sua ajuda meu caminho teria sido ainda mais difícil. Muito obrigada.

À estagiária Marcela Pinhel meus agradecimentos pela dedicação, atenção e incansável boa vontade em colaborar sempre. Minha eterna gratidão.

Aos alunos Lilia Nakachima e Éderson Vale Lopes de Oliveira pela colaboração imprescindível no laboratório, pela gentileza e boa vontade que foram além da eficiência.

Às alunas Carolina Rodrigues Silva Arakawa e Roberta Correa Pascotto pela ajuda na coleta de dados.

Ao Prof. Dr. José Antônio Cordeiro pela sua atenção.

Ao Prof. Dr. Moacir Fernandes Godoy pela sua ajuda, gentileza e orientação ao atender-me nos momentos de dúvida.

Ao Prof. Dr. José Fernando Vilela Martin por seu incentivo constante.

Ao Prof. Dr. Antônio Francisco H. Fonseca pela amizade e colaboração no planejamento do projeto de pesquisa.

Ao Prof. Dr. Antônio Soares Souza pela paciência ao ser incomodado tantas vezes em sua residência nos finais de semana e altas horas da noite.

Aos Profs. Dr. Antônio Carlos Brandão e MSc. Sidney Pinheiro Júnior pelas palavras de apoio.

Ao Prof. Dr. Antônio Carlos Pires, meu incentivador, amigo e verdadeiro mestre desde o curso de graduação, que também é responsável por eu ter chegado até aqui.

Ao Prof. Dr. Heitor Moreno Jr. que sempre me incentivou e esteve pronto a ajudar no que fosse necessário.

Aos meus pais por terem me dado a chance de hoje estar realizando esse sonho.

Ao meu irmão Luis César e minha cunhada Maria Olívia pelo apoio ao cuidar da minha filha caçula nos finais de semana para que eu pudesse me dedicar ao trabalho.

Aos amigos Profs. Drs. Antônio Barbosa de Oliveira e Maria Tercília Azeredo de Oliveira pelo incentivo.

Às minhas filhas por suportarem os momentos mais estressantes e aceitarem a minha ausência.

Aos funcionários da pós-graduação pelo carinho, gentileza e atenção durante esses anos.

Finalmente, meus agradecimentos, se é que é possível exteriorizar minha admiração e gratidão ao meu marido, Juan Carlos, companheiro incondicional em todos os momentos da minha vida, que tenho a humildade de dizer que todos foram importantes, mas ele foi único em mais esta etapa da minha vida. Disse Shakespeare: Aquele que não sabe demonstrar o seu amor, não sabe amar. Para mim você foi o maior dos mestres.

“É uma de minhas mais importantes e bem verificadas máximas a de que a Natureza não dá saltos. A isso tenho chamado lei da Continuidade”. (G. W. Leibniz)

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1: Mapa de clivagem do segmento polimórfico da apolipoproteína E, incluindo as regiões 112 e 158 do DNA, mostrando fragmentos de diferentes tamanhos de acordo com o número de pares de bases (pb) nitrogenadas obtidos sob ação da enzima de restrição *Hha* I em regiões específicas GCGC, identificando os alelos ϵ_2 , ϵ_3 e ϵ_4 23
- Figura 2: Fotografia de gel de poliacrilamida submetido a eletroforese apresentando genótipos para apolipoproteína E de 16 amostras de DNA extraído de leucócitos. Notam-se genótipos ϵ_2/ϵ_2 na coluna 10, ϵ_3/ϵ_4 nas colunas 2, 7 e 12 e ϵ_3/ϵ_3 nas colunas 1, 3, 4, 5, 6, 8, 14, 15, 16, 17, 18. A coluna 9 apresenta uma amostra de DNA padrão (pBR 322)..... 24
- Figura 3: Distribuição percentual dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC- N = 90) e controles (N = 90) considerando hipertensão arterial (HA), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL<40) e genótipos com pelo menos um alelo ϵ_4 (ϵ_3/ϵ_4). P = nível de significância; * = P < 0,0001..... 27
- Figura 4: Distribuição percentual dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC- N = 13) e controles (N = 23) com níveis médios de colesterol total < 200 mg/dL, considerando hipertensão arterial (HAS), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL< 40) e genótipos com pelo menos um alelo ϵ_4 (ϵ_3/ϵ_4). P = nível de significância..... 28
- Figura 5: Distribuição percentual dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC – N = 23) e controles (N = 34) com níveis médios de colesterol total entre 201 e 239 mg/dL, considerando hipertensão arterial (HAS), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL< 40) e genótipos com pelo menos um alelo ϵ_4 (ϵ_3/ϵ_4). P = nível de significância..... 29

- Figura 6: Distribuição dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC - N= 23) e controles (N = 34) com níveis médios de colesterol total ≥ 240 mg/dL, considerando hipertensão arterial (HA), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL < 40) e genótipos com pelo menos um alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon_{-}/\epsilon 4$). * = $P \leq 0,01$; # $P < 0,05$. P = nível de significância..... 30
- Figura 7: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração de colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc), muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa. N = número de indivíduos; P = nível de significância..... 33
- Figura 8: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração do colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc) e muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa, considerando o polimorfismo da apolipoproteína E ($\epsilon 3/\epsilon 3$ versus $\epsilon_{-}/\epsilon 4$). N = número de indivíduos; P = nível de significância..... 36
- Figura 9: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração do colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc), muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em controles, considerando o polimorfismo da apolipoproteína E ($\epsilon 3/\epsilon 3$ versus $\epsilon_{-}/\epsilon 4$). N = número de indivíduos; P = nível de significância; * $P < 0,05$ 37
- Figura 10: Valores médios e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração de colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc) e muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) nos pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa e controles com genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ para apolipoproteína E. N = número de indivíduos; P = nível de significância; * $P < 0,05$ 38
- Figura 11: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração do colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc) e muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa e controles, considerando genótipos com pelo menos um alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon_{-}/\epsilon 4$) para apolipoproteína E. N = número de indivíduos; P = nível de significância; * $P = 0,024$; ** $P = 0,025$ 39

Figura 12: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de triglicérides (TG) nos tempos jejum (TG 0) e 3 (TG 3h) e 6 horas (TG 6h) após dieta-teste oferecida aos pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa e controles. N = número de indivíduos; * $P < 0,05$ 41

Figura 13: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de triglicérides (TG) nos tempos jejum (TG 0) e 3 (TG 3h) e 6 horas (TG 6h) após dieta-teste, considerando o polimorfismo da apolipoproteína E (genótipos ϵ_3/ϵ_3 e ϵ_3/ϵ_4) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e controles (C). a = b – $P < 0,01$; a' – $P > 0,05$; c – $P = 0,5663$; d – $P = 0,785$ 42

LISTA DE TABELAS E QUADROS

- Tabela 1: Características clínicas de mulheres em pós-menopausa, portadoras de doença arterial coronariana e controles..... 18
- Tabela 2: Distribuição das frequências alélicas e genóticas para apolipoproteína E na avaliação do polimorfismo genético por restrição enzimática com *Hha* I em pacientes com doença arterial coronariana e controles..... 32
- Quadro 1: Composição da dieta artificial, com os respectivos teores calóricos e quantidades, oferecida aos pacientes com doença arterial coronariana e controles na pós-menopausa, para avaliação da cinética do metabolismo de triglicérides..... 20
- Quadro 2: Características clínicas em pacientes na pós-menopausa portadoras de doença arterial coronariana..... 80
- Quadro 3: Características clínicas em controles em pós-menopausa..... 83
- Quadro 4: Perfil lipídico no jejum e concentrações plasmáticas de triglicérides no jejum (TG 0) e três (TG 1) e seis horas (TG3) após dieta hiperlipêmica em pacientes com doença arterial coronariana na pós-menopausa.....86
- Quadro 5: Perfil lipídico no jejum e níveis de triglicérides no jejum (TG 0) e três (TG 3) e seis horas (TG 6) após dieta hiperlipêmica em controles na pós-menopausa..... 89

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ABC-1	<i>adenosine-triphosphate-binding cassette transporter-1</i>
ANOVA	análise de variância
AST	aspartato transferase
ALT	alanina transferase
Apo	apolipoproteína
bpm	batimentos por minuto
C	citosina
CETP	<i>cholesterol ester transfer-protein</i>
CGC	trinca de bases nitrogenadas codificadora de arginina
cm	centímetros
Creat	creatinina
CT	colesterol total
DAC	doença arterial coronariana
DM	diabetes melito
dL	decilitro
DP	desvio padrão
EDTA	ácido etil-diamino-tetra-acético
FA	freqüência absoluta
FC	freqüência cardíaca
G	guanina
Glic	glicemia
HAS	hipertensão arterial sistêmica
HDL	lipoproteína de alta densidade

HDLc	fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade
HF	história familiar
HMG-CoA	hidroxi-3-metilglutaril-coenzima A redutase
IMC	índice de massa corporal
kcal	quilocalorias
kDa	quilodáltons
kg	quilogramas
kg/m ²	quilogramas por metro quadrado
LCAT	<i>lecitin cholesterol acyl transferase</i>
LDL	lipoproteína de baixa densidade
LDLc	fração de colesterol da lipoproteína de baixa densidade
LLP	lipase lipoprotéica
Lp (a)	lipoproteína (a)
LRP	<i>LDL-receptor-related protein</i>
mg	miligramas
mg/dL	miligramas por decilitro
mL	mililitros
mmHg	milímetros de mercúrio
mmol	milimol
mRNA	RNA mensageiro
m ²	metro quadrado
N	número de indivíduos
ng/dL	nanogramas por decilitro
OBES	obesidade
OMS	Organização Mundial de Saúde

P	nível de significância
PCR	<i>polimerase chain reaction</i>
PAD	pressão arterial diastólica
PAI-I	<i>plasminogen activator inhibitor I</i>
PAS	pressão arterial sistólica
pb	pares de bases nitrogenadas
Qm	quilomícrom
SR-BI	<i>scavenger receptor classB tipoI</i>
T	timina
TGC	cisteína
TAB	tabagismo
TG	triglicérides
TSH	hormônio estimulante da tireóide
T4L	tiroxina livre
UI	unidade internacional
VLDL	lipoproteína de muito baixa densidade
VLDLc	fração de colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade
VR	valores de referência
μL	microlitro
μU	microunidade
(...)	valor desconhecido.
%	porcentagem

RESUMO

A doença arterial coronariana (DAC) atinge mulheres, principalmente após a menopausa. Fatores de risco incluem idade, história familiar (HF), tabagismo, diabetes melito, hipertensão arterial (HAS), hiperlipidemia e obesidade. Na pós-menopausa, o perfil lipídico está sujeito a alterações. O nível de TG pós-prandial está associado a DAC, sendo mais importante que no jejum para a aterogênese. A apoE e suas isoformas têm papel etiológico no desenvolvimento da aterosclerose, estando o fenótipo E3/E4 associado com DAC em relação a E2/E3 e E3/E3. Os objetivos deste estudo foram identificar fatores de risco para DAC na pós-menopausa, analisar prevalência de alelos e genótipos para apoE e sua influência no perfil lipídico, e avaliar cinética do metabolismo de TG após dieta-teste rica em lipídios e sua associação com polimorfismo genético da apoE em mulheres com ou sem DAC. Foram estudadas 180 mulheres em pós-menopausa, distribuídas em dois grupos conforme presença ou ausência de DAC (idade = $60,7 \pm 5,8$ e $60,7 \pm 5,5$ anos, respectivamente). Foram coletadas amostras de sangue venoso para dosagens de CT, LDLc, HDLc e TG de jejum de 12 horas, 3 e 6 horas após ingestão de dose única de dieta lipídica, correspondente a 50g de gordura/m² de superfície corporal. Ambos os grupos foram subdivididos de acordo com os níveis de CT (≤ 200 mg/dL, = 201-239mg/dL e ≥ 240 mg/dL). O DNA foi extraído de leucócitos de sangue periférico coletado com EDTA e analisados por eletroforese em gel de poliacrilamida. Dentre os fatores de risco apenas HF (70%) e HAS (76%) associaram-se a DAC, enquanto controles mostraram 44,4 e 44,4%, de **freqüência** respectivamente; ($P < 0,0001$). O alelo $\epsilon 4$ mostrou freqüência significativamente mais elevada nas pacientes (0,15) em relação aos controles (0,07; $P = 0,0282$). Houve aumento significativo nos níveis de CT, LDLc e VLDLc nas pacientes ($259 \pm 65,7$; $170,6 \pm 60,1$;

38,6±21,1mg/dL, respectivamente) em relação aos controles (227,5±42,3; 136,0±36,9; 30,7±17,2mg/dL; P<0,0001; P<0,0001; P=0,025, respectivamente). A concentração média de HDLc, por outro lado, mostrou-se reduzida nas pacientes (50,2±12,0mg/dL) comparado aos controles (56,5±16,7mg/dL; P=0,0091). Os níveis de TG de jejum mantiveram-se aumentados em pacientes e controles (197±113,8; 168,0±93,0, respectivamente; P=0,056). No polimorfismo da apoE, considerando os genótipos ε3/ε3 e ε-/ε4, não houve diferença significativa em relação à CT, LDLc, HDLc, VLDLc e TG nas pacientes. Os controles portadores do genótipo ε-/ε4 apresentaram menor valor de TG relação aos ε3/ε3 (131,2±49,9; 174,6±98,6mg/dL, respectivamente), embora sem diferença significativa. Houve aumento nos níveis de HDLc nos controles em relação aos pacientes considerando-se genótipos ε-/ε4. Na fase pós-prandial os controles mostraram redução significativa nos valores de TG (246,0±162,8mg/dL) em relação ao grupo DAC (292,2±161,4mg/dL; P<0,05) após 6 horas, sendo essa redução associada ao genótipo ε-/ε4. Portanto, hipertensão e história familiar associam-se a DAC na pós-menopausa. O alelo ε4 da apoE, embora mais prevalente em pacientes com DAC nessa fase, não influencia seu perfil lipídico, entretanto, parece desempenhar efeito protetor ao associar-se a níveis elevados de HDLc apenas em mulheres sem a doença. A cinética de TG, semelhante em ambos os grupos, revela associação entre alelo ε4 e remoção acelerada de TG nos controles, sugerindo efeito protetor na fase pós-prandial de mulheres na pós-menopausa.

ABSTRACT

Coronary artery disease (CAD) affects women, especially after menopause. Risk factors include age, familial history (FH), smoking, diabetes mellitus, systemic arterial hypertension (SAH), hyperlipidemia and obesity, and postprandial triglycerides. Apolipoprotein E (apo E), represented by $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ and $\epsilon 4$, influences lipid serum levels. The aim was to evaluate risk factors for CAD, the prevalence of alleles and genotypes of apo E and their influence on the lipid profile, and the triglyceride metabolic kinetics after a lipid-rich diet considering their association with apo E polymorphisms in women with and without CAD. A total of 180 post-menopausal women, divided into CAD and control groups, with mean ages of 60.7 ± 5.8 and 60.7 ± 5.5 , respectively were evaluated. The weight, height, body mass index, systemic arterial pressure, FH, smoking and medicines taken of all the participants were evaluated. Venous blood samples were drawn to measure the total cholesterol (TC), low-density (LDLc), high-density (HDLc) and very low-density (VLDLc) lipoprotein cholesterol fractions and triglycerides during fasting at 3 to 6 hours after the ingestion of a single high-lipid meal. Both groups were subdivided according to levels of TC: ≤ 200 mg/dL; 201-239 mg/dL and ≥ 240 mg/dL. The genomic DNA was extracted from leukocytes and submitted to amplification by polymerase chain reaction, followed by polymorphism analysis using restriction fragment sizes. Comparing the CAD and control groups, there was significant association of the disease with FH (70% and 44.4% respectively; $p < 0.0001$) and with SAH (76% and 44.4% respectively; $p < 0.0001$). The $\epsilon 4$ allele presented with a higher frequency in patients (0.15) compared to controls (0.07; $p = 0.0282$). There were also increases in CT, LDLc and VLDLc serum levels in patients (259 ± 65.7 ; 170.6 ± 60.1 ; 38.6 ± 21.1 mg/dL, respectively) in respect to controls

227.5±42.3; 136.0±36.9; 30.7±17.2mg/dL; P<0.0001; P<0.0001; P=0.025 (respectively). The mean concentration of HDLc, on the other hand, was lower in patients (50.2±12.0 mg/dL) compared to controls (56.5±16.7 mg/dL; p=0.0091). The mean triglycerides level was higher in patients and controls compared to normal levels (197±113.8; 168.0±93.0, respectively; P=0.056). The lipid profile was not associated to apo E polymorphisms in patients. The control group with ϵ -/ ϵ 4 genotypes presented lower triglyceride serum levels in relation to ϵ 3/ ϵ 3 (131.2±49.9; 174.6±98.6 mg/dL, respectively; P=0.02). There was an increase in the HDLc serum levels of controls compared to patients, when considering the ϵ -/ ϵ 4 genotypes. The controls demonstrated significantly lower triglyceride levels (246.0±162.8 mg/dL) compared to patients (292.2±161.4 mg/dL; P<0.05), 3 to 6 hours after the lipid-rich diet, associated with the ϵ -/ ϵ 4 genotypes. In conclusion, FH and SAH are associated with CAD in post-menopausal women. The ϵ 4 allele is more prevalent in post-menopausal CAD patients than in control individuals, but it does not influence the lipid profile, however, it exerts a protector effect by its association with high HDLc levels in post-menopausal women without the disease. The triglyceride kinetics, although with similar profiles in both groups, reveal an association between the ϵ 4 allele and the accelerated removal of triglycerides only in the control group, suggesting a protector effect in the postprandial stage in post-menopausal women.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Considerações Gerais

A aterosclerose coronariana é a principal causa de óbito nos países ocidentais.⁽¹⁾ No Brasil, com destaque para o estado de São Paulo, cerca de 40% dos óbitos são por doenças cardiovasculares.⁽²⁾ Essa doença atinge também as mulheres na pós-menopausa, com aproximadamente 250.000 óbitos anualmente nos Estados Unidos da América, sendo a maioria devido a doença arterial coronariana (DAC).

Os fatores de risco clássicos para DAC incluem idade, história familiar de DAC tabagismo, diabetes, hipertensão arterial, hiperlipidemia, sedentarismo e obesidade. O sexo e a idade determinam a incidência de DAC, que é três a quatro vezes mais freqüente nos homens que em mulheres até os 55 anos, embora o risco aumente nas mulheres nessa faixa etária com advento da menopausa. Em torno dos 75 anos de idade a incidência se iguala em ambos os sexos, sendo a média de idade para ocorrência de infarto do miocárdio ou morte súbita aproximadamente 72 anos em mulheres e 62 em homens. Esta diferença pode ser explicada em parte, pelos efeitos protetores do estrógeno presente no período pré-menopausa.⁽³⁾

Em estudo prospectivo com 121.000 mulheres de meia idade, o aumento do risco de DAC pelo tabagismo foi seis vezes maior e o risco de morte súbita foi duas a quatro entre fumantes, quando comparada a não fumantes⁽⁴⁾. Quando associado a outros fatores de risco como hipertensão, diabetes ou dislipidemia, o tabagismo tem importância ainda maior.⁽⁵⁾

O diabetes melito é um fator independente para doença cardiovascular, aumentando em duas vezes o risco de DAC entre homens e três vezes para mulheres, com maior incidência de insuficiência cardíaca e alta mortalidade em mulheres.^(6, 7) Adultos diabéticos tipo II têm também níveis baixos da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade (HDLc), concentração alta da fração de colesterol da

lipoproteína de densidade muito baixa (VLDLc) e triglicérides (TG), além de níveis da fração de colesterol da lipoproteína de baixa densidade (LDLc) desejáveis ou discretamente aumentados. Também, a coexistência de hipertensão arterial e hiperinsulinemia endógena presente entre diabéticos do tipo II potencializa o risco de doença vascular aterosclerótica.⁽⁸⁻¹³⁾ Nesse contexto, a prevalência de hipertensão arterial aumenta com a idade, atingindo 61% das mulheres na faixa etária de 54 a 74 anos. Em mulheres acima de 75 anos essa prevalência atinge 77%. Tanto a hipertensão sistólica isolada quanto a combinada com a diastólica, constituem fator de risco para doença cardiovascular em homens e mulheres.⁽³⁾

Além disso, estudos epidemiológicos e clínicos atribuem a hiperinsulinemia e a resistência à insulina maior incidência de coronariopatia e acometimento grave e difuso das artérias coronarianas envolvidas.^(14 - 17) Ainda, é reconhecida, a relação positiva entre obesidade e risco aumentado de DAC confirmada pelo *Nurses Health Study (ref)* e *Framingham Study*. Esses estudos demonstraram aumento do risco de DAC, mesmo com pequenos incrementos do índice de massa corporal (IMC) acima do normal na vida adulta. Tratando-se de obesidade central, há íntima relação com alterações metabólicas importantes como intolerância a glicose, hiperlipidemia e hipertensão.⁽¹⁸⁾

O sedentarismo (inatividade física) é outro fator contribuinte para o desenvolvimento de aterosclerose, sendo atualmente considerado um fator de risco independente para DAC. Mas, nenhum fator de risco é tão específico para a mulher como a deficiência estrogênica na menopausa. Com o progressivo aumento da expectativa de vida, as mulheres passam um terço de suas vidas na menopausa e constituem a maioria da população idosa. Embora vivendo mais que os homens, elas não envelhecem melhor, passando maior período de tempo inválidas, em relação aos homens.⁽¹⁹⁾ O estudo longitudinal de *Framingham* em 2.873 mulheres monitoradas por

24 anos revelou ausência de infarto do miocárdio ou óbito por DAC antes da menopausa. Contudo, 40% das mulheres com idade abaixo de 55 anos e menopausa cirúrgica ou precoce apresentaram manifestações de DAC. ⁽²⁰⁾

Na pós-menopausa, as mulheres estão sujeitas a alterações no perfil lipídico e apresentam risco semelhante ao dos homens. Nessa fase observa-se elevação nos níveis de colesterol total (CT), TG e LDLc, enquanto o nível de HDLc permanece relativamente constante. Além dos efeitos negativos sobre o perfil lipídico, a deficiência estrogênica também afeta adversamente a coagulação, reatividade vascular e função endotelial.⁽³⁾ O estrogênio parece aumentar a resistência da LDL aos fenômenos oxidativos, dificultando a formação de LDL-oxidada. Além disso, diminui a formação da lipoproteína (a) [Lp (a)], fator de risco independente para doença aterosclerótica e também ligada a fenômenos trombogênicos. ⁽²¹⁻²³⁾

A partir da menopausa desenvolve-se na mulher um quadro de hipoestrogenismo. Essa condição tem sido considerada como responsável pela progressiva e rápida elevação na frequência de cardiopatias em mulheres pós-menopausa. Níveis baixos de estrógeno reduzem a síntese de HDLc e VLDLc e a degradação de LDLc. Valores elevados de LDLc e reduzidos de HDLc indicam maior probabilidade de acúmulo de LDLc na camada íntima das artérias, não só por sua maior concentração plasmática, mas também por diminuição do transporte reverso do colesterol. Além disso, na pós-menopausa (clínica ou cirúrgica) pode haver aumento de fatores que facilitam o estado pró-trombótico, sobretudo pela maior concentração de fator VII, fibrinogênio e inibidor do ativador do plasminogênio (PAI-1). ⁽²⁴⁻²⁸⁾

O nível de triglicérides pós-prandial também é associado a DAC, mostrando-se mais importante que no jejum para o mecanismo da aterogênese. Esse processo parece resultante do catabolismo de lipoproteínas ricas em triglicérides, como quilomícrons em

nível de endotélio vascular, tornando crítica a fase pós-prandial.^(29, 30) Isso é de particular importância, principalmente na mulher. Beek *et al.*⁽³¹⁾ demonstraram diferenças nos níveis de TG no jejum e também na resposta pós-prandial de TG e quilomícrons entre mulheres na pré e pós-menopausa, sugerindo que concomitante a perda dos estrógenos endógenos, a regulação plasmática de TG também é alterada. Isso pode potencialmente explicar a contribuição das alterações lipídicas que ocorrem na menopausa para o aumento do risco de DAC. Estudos prospectivos amplos de doença cardiovascular na mulher revelam que o nível de LDLc não é preditor tão importante de DAC quanto TG.^(32, 33) Há referência de resposta pós-prandial acentuada dos níveis de quilomícrons remanescentes em mulheres normolipidêmicas com DAC e progressão da doença.^(34, 35)

Embora a aterosclerose se inicie na infância e adolescência, seus efeitos clínicos serão observados em idades mais avançadas. A lesão aterosclerótica se desenvolve e evolui silenciosamente por 20 anos ou mais e pode se tornar sintomática apenas durante a ocorrência de uma complicação trombótica. A história familiar contribui para seu desenvolvimento, sendo a herdabilidade estimada entre 20 a 80% nos homens e 30 a 60% para as mulheres, com base nos parentes em primeiro grau. Estima-se que 60% da variabilidade nos níveis de lipídios no soro, é geneticamente determinada, sendo muitas dessas variações de base poligênica.⁽³⁶⁾

A identificação de genes polimórficos ou o nível do produto gênico tem permitido subdividir populações com previsões ou inferências etiológicas sobre riscos da manifestação de doenças. Nesse contexto, destacam-se variantes genéticas envolvidas no metabolismo lipídico incluindo genes para proteína de transferência do éster de colesterol (*cholesterol ester transfer-protein* - CETP), lipase lipoprotéica (LLP), *lecitin cholesterol acyl transferase* (LCAT), hidróxi-3-metilglutaril-coenzima A

redutase (HMG-CoA redutase), receptores de lipoproteínas, apolipoproteínas AI, AIV, B, CII, CIII, E e apo (a).

1.2 Metabolismo Lipídico

Informações e conceitos relacionados a lipídios, lipoproteínas e suas vias metabólicas são amplamente referidos na literatura.^(37, 38) Os lipídios são fonte de energia e componentes estruturais das membranas. O colesterol e os fosfolipídios são essenciais para a estrutura das membranas celulares. Além disso, o colesterol é precursor de hormônios esteróides, ácidos biliares e vitamina D. Já os ácidos graxos esterificados na forma de triglicérides são um combustível metabólico importante e o mais eficiente estoque de energia. Os principais locais de metabolismo dos ácidos graxos são o fígado e os músculos, sendo o tecido adiposo o principal local de estocagem.^(39, 40)

Por sua propriedade hidrofóbica, os lipídios são impedidos de alcançar os tecidos na forma livre. Assim, para circularem no ambiente aquoso do plasma formam macro-agregados solúveis em água. O sistema mais simples constitui-se de ácido graxo ligado à albumina, proteína mais abundante no plasma. O outro sistema é representado pelas lipoproteínas, partículas esféricas de alto peso molecular, constituídas de um núcleo de ésteres de colesterol e triglicérides (hidrofóbico) e uma camada superficial de fosfolipídios, colesterol não esterificado e apolipoproteínas. As lipoproteínas são formadas principalmente no fígado e intestino e catabolizadas por tecidos hepático e extra-hepáticos.

Em função da densidade, determinada por ultracentrifugação, são reconhecidas, cinco classes de lipoproteínas que diferem entre si por sua composição lipídica e protéica. São elas: a) quilomícrom (Qm) - lipoproteína de maior diâmetro e menor

densidade, é rica em triglicérides e responsável pelo transporte de lipídios da dieta; b) VLDL (*very low density lipoprotein*) - é sintetizada no fígado e transporta principalmente triglicérides endógenos; c) lipoproteína de densidade intermediária (IDL = *intermediate density lipoprotein*) - é derivada de VLDL e rica em colesterol; d) LDL (*low density lipoprotein*) - derivada de IDL, é rica em colesterol e responsável por seu transporte na circulação; e) HDL (*high density lipoprotein*) formada no fígado e intestino é rica em proteínas e responsável pelo transporte reverso de colesterol. Quando os elementos protéicos das lipoproteínas são separados por eletroforese, são reconhecidas as frações denominadas alfa lipoproteína, pré-beta lipoproteína e beta lipoproteína que correspondem, respectivamente, às formas ultracentrifugadas HDL, VLDL e LDL.

As apolipoproteínas, além de componentes estruturais das membranas celulares, exercem a função de cofatores enzimáticos e controlam o metabolismo das lipoproteínas por se ligarem a receptores específicos de membranas. A apo AI é sintetizada no intestino e fígado e constituinte de HDL e Qm. Em adição ao seu papel estrutural a apo AI é ativadora da enzima LCAT, a qual esterifica moléculas de colesterol livre da HDL. O mesmo papel é atribuído às apo A II e IV, sendo que a apo AI pode ter também papel como ativadora da lipase hepática de triglicérides. As apos CI e CII são ativadoras da LCAT e lipase lipoprotéica (LPL), respectivamente, enquanto a apo CIII inibe a LPL e lipase hepática de triglicérides. ⁽⁴¹⁻⁴²⁾

A apo E é elemento de ligação das lipoproteínas contendo apoE com os receptores de LDL ou apo B/E e com os receptores de remanescentes de Qm, provavelmente a proteína relacionada ao receptor de LDL (LRP = *LDL receptor-related protein*). Além disso, parece estar envolvida na reparação celular, mecanismos

imunológicos e proliferação de células musculares lisas. É constituinte estrutural também da VLDL e IDL, sendo sintetizada principalmente no fígado. ref

As apo B-100 e B-48 são sintetizadas no fígado e intestino, respectivamente, sendo que a apo-B100 está presente na LDL, VLDL e IDL e a apo-B48 apenas nos Qm.. Na LDL a apo B-100 interage com o receptor de LDL, embora não tenha papel importante como ligante de VLDL e IDL a esse receptor.

O metabolismo lipídico é classicamente dividido nas fases exógena, endógena e transporte reverso do colesterol. ⁽⁴¹⁾ A fase exógena corresponde ao conjunto de eventos que inclui a absorção de gorduras da dieta e síntese de Qm no intestino até o seu desaparecimento da circulação. Enquanto a fase endógena compreende a síntese de lipoproteínas no fígado e sua transformação sucessiva na circulação até sua captação por receptores periféricos. O transporte reverso, realizado pela HDL, tem função de remover o colesterol livre dos tecidos periféricos e transporta-lo para o fígado, onde será catabolizado.

A fase exógena inicia-se pela absorção intestinal de gorduras da dieta, em que partículas de triglicérides são hidrolisadas pela lipase pancreática a monoglicerídios e ácidos graxos. No retículo endoplasmático rugoso das células da mucosa intestinal ocorre a síntese de apolipoproteínas, fosfolipídios, colesterol e ressíntese de triglicérides, a partir de ácidos graxos, monoacilglicerol e diacilglicerol dando origem aos Qm. Uma parte do colesterol absorvido é esterificado e outra parte permanece como colesterol livre na superfície dos quilomícrons. No complexo de Golgi os QM são armazenados sob a forma de vesícula secretora que, após lançada na linfa por exocitose, atinge a corrente sanguínea através do ducto torácico. Essas partículas, mais especificamente TG, são hidrolisadas pela ação da lipase lipoprotéica, cujo cofator é a apo CII, doada para os Qm pela HDL. Os Qm transferem então apo AI e AII para a

HDL e recebem apo C e E. Como consequência há liberação de ácidos graxos e monoglicerídeos e glicerol.

Partículas de monoacilglicerol atingirão os tecidos-alvo, onde serão utilizados como fonte de energia, enquanto o glicerol será utilizado em sua maior parte pelo fígado para produzir glicerol-3-fosfato, TG e fosfolípidos via gliceril quinase oxidado para a formação de energia (ciclo de Krebs) ou usado na gliconeogênese ou, ainda, reutilizado na lipogênese. As moléculas de Qm hidrolisadas são menores e denominadas Qm remanescentes. Essas moléculas na circulação são, então, captadas pelo fígado por receptores específicos (receptores de LDL ou apoB/E e LRP) e por endocitose interiorizadas nos hepatócitos, onde são hidrolisadas liberando aminoácidos, ácidos graxos e colesterol livre. ref

A fase endógena caracteriza-se pela síntese hepática de partículas lipídicas representadas pela VLDL. Na circulação a VLDL também sofre ação da LPL localizada no endotélio capilar e se transforma em IDL reconhecida por receptores específicos (receptores de LDL ou apoB/E), e então removida da circulação (70%). As partículas de IDL restantes são hidrolisadas pela lipase hepática presente na superfície dos hepatócitos, dando origem às partículas de LDL. Essa nova partícula, rica em colesterol, é também reconhecida por receptores específicos (receptores de LDL ou apo B/E) em células hepáticas e extra-hepáticas. As partículas de LDL ligam-se a eles e por endocitose são interiorizadas na célula, sendo digeridas em lisossomos. O colesterol liberado é utilizado para a síntese de membranas celulares, VLDL e ácidos biliares é utilizado como precursor de hormônios esteróides.

O transporte reverso do colesterol, realizado pela HDL, caracteriza-se pela remoção de colesterol dos tecidos extra-hepáticos via receptor SR-BI (*scavenger receptor classB, tipoI*) e proteína ABC-1 (*adenosine-triphosphate-binding cassette*

transporter-1). Nesse caso, o colesterol livre é transferido a HDL e esterificado pela ação da LCAT. Seu destino pode ser diretamente o fígado ou tecidos esteroidogênicos, devido à alta afinidade dos receptores SR-BI nestes tecidos, ou então, por ação da CETP, o colesterol esterificado é transferido para outras lipoproteínas que são captadas pelo fígado. ⁽⁴³⁻⁴⁵⁾

1.2.1 Cinética Plasmática

Apesar de sua importância, o metabolismo lipídico ainda não é suficientemente esclarecido devido a problemas técnicos. Isso ocorre principalmente para os Qm, cuja meia vida plasmática é curta, além disso, é semelhante a VLDL e há dificuldade de sua obtenção na linfa intestinal. ref

A dinâmica do metabolismo lipídico tem sido estudada com emulsões artificiais de tamanho, densidade e composição química semelhantes a lipoproteínas. Apresentam comportamento de quilomícrons naturais, auxiliando na investigação de condições patológicas diversas. ^(46, 51) Nesse caso, são utilizados isótopos radioativos, carbono¹⁴ (¹⁴C) e hidrogênio³ (³H) para marcar colesterol esterificado (¹⁴C-CE) e triglicérides (³H-TG), respectivamente. A emulsão artificial é injetada na circulação e adquire apolipoproteínas pela troca de componentes de sua superfície com as lipoproteínas plasmáticas. Esse procedimento permite informações da dinâmica do metabolismo lipídico, pela coleta seqüencial de amostras de sangue venoso. ⁽⁴⁸⁾

Os estudos cinéticos são controlados pela comissão Internacional de Proteção Radiológica (*Internacional Commission of Radiological Protection – ICRP, RADIATION PROTECTION*, 1984). Para efeito de comparação, 3 mg de emulsão cinética equivalem a um décimo da radiação obtida em radiograma de tórax. São relatadas investigações de processos metabólicos de lipoproteínas associados principalmente a DAC, mas também têm sido utilizados em diversas condições patológicas como leucemia mielóide aguda, hipertensão arterial maligna e mieloma múltiplo. ^(46, 47, 51)

Vários estudos ⁽⁵²⁾ utilizam também testes orais de tolerância a gordura. Segundo os autores, seguindo uma dieta ocidental passa-se três quartos do dia no estado pós-prandial e o maior fluxo de TG ocorre nesse período. Sendo assim, a concentração de

TG no período pós-prandial fornece um melhor índice do transporte de TG que a concentração de jejum.

1.3 Influência do Polimorfismo da Apolipoproteína E no Perfil

Lipídico

A apoE e suas isoformas têm papel etiológico no desenvolvimento da aterosclerose, sendo seu polimorfismo genético determinante importante nos níveis de lipídios. Em populações humanas, o polimorfismo da apoE explica de 4 a 47% da variação nos níveis plasmáticos de LDL. ⁽⁵³⁻⁵⁵⁾

A apo E, identificada no início da década de 70 ⁽⁵⁶⁾, tem funções estrutural e funcional em lipoproteínas plasmáticas incluindo HDL, VLDL e Qm e também em produtos de degradação lipolítica (remanescentes de Qm e IDL). Essa apolipoproteína tem sido extensivamente estudada, principalmente por sua função no metabolismo de lipídios e envolvimento no transporte de colesterol em vários tecidos. A apo E atua como ligante para no mínimo dois receptores específicos de lipoproteínas, o receptor de LDL ou apo B/E e o receptor hepático (LRP) permitindo a remoção de partículas portadoras de apo E pelo fígado. ⁽⁵⁷⁻⁶²⁾ Há evidências também de sua associação com doenças neurodegenerativas como a doença de Alzheimer tipo tardia. ⁽⁶³⁻⁶⁴⁾ Além disso, é reconhecido seu papel na recuperação em lesões do sistema nervoso central e o possível efeito na doença arterial periférica. ⁽⁶⁵⁾

A apo E é reconhecida em vários órgãos e glândulas de seres humanos, ratos e coelhos. ⁽⁶⁶⁾ Entretanto, a concentração mais alta de seu mRNA encontra-se no fígado, que consiste na fonte primária dessa proteína no plasma, sendo o cérebro o segundo em nível de mRNA, secretando a apo E no fluido cérebro-espinhal. ⁽⁶³⁾ Essa proteína é identificada como um polipeptídeo de 34 kDa com 299 aminoácidos, codificado por um

gene (APOE) com 3.597 nucleotídeos organizados em quatro exons e três íntrons. Esse gene localiza-se no cromossomo 19q13.2 humano em , próximo aos genes das apolipoproteínas CI e CII.⁽⁶⁷⁾ O polimorfismo da apoE foi referido inicialmente por Utermann *et al.*⁽⁶⁸⁾ e observado por Zannis *et al.*⁽⁶⁹⁾ e Utermann *et al.*⁽⁷⁰⁾ sob a forma de três alelos principais $\epsilon 2$, $\epsilon 3$, $\epsilon 4$, que codificam as isoformas da apo E designadas apo E2, E3 e E4, distintas entre si pelo conteúdo de cisteína e arginina nas posições dos códons 112 e 158 do exon 4. Além da variação genética, modificações pós-tradução podem ocorrer nas principais isoformas da apo E.⁽⁶⁹⁾

A isoforma apo E3 é a mais comum em todas as raças, com prevalência de 55 a 91%, apresenta uma cisteína na posição 112 e uma arginina na posição 158. A apo E4, a segunda mais freqüente (12 a 37%), com exceção dos orientais, cuja freqüência do alelo $\epsilon 2$ é levemente maior que a do alelo $\epsilon 4$, tem arginina em ambas as posições. A apo E2, em geral a menos comum (3 a 13%), tem cisteína nas duas posições.⁽⁷¹⁻⁷⁷⁾ O fenótipo E3/E3, o mais comum, é representado em 60 % da população, seguido de E3/E4 (22%), E2/E3 (12%), E4/E4 (3%), E2/E4 (2%) e E2/E2 (1%). O sexo não influencia a freqüência dos alelos para apo E.⁽⁷⁸⁾

As várias isoformas diferem em sua afinidade por receptores específicos. A apo E4 parece apresentar maior facilidade de ligação pelo receptor que a apo E3, enquanto a apo E2 tem dificuldade em sua ligação, com menos que 2% em relação a apo E3^(55, 79). Isso influencia a concentração de lipídios e lipoproteínas em populações humanas. Utermann *et al.* (1979)⁽⁸⁰⁾ foram os primeiros a observar em portadores do alelo $\epsilon 2$ níveis mais baixos de LDL e CT plasmático, que em homozigotos para o alelo $\epsilon 3$. A apo E4 está associada a concentrações levemente mais elevadas de CT e LDL. Ainda, o alelo $\epsilon 2$ em homozigose ou heterozigose é associado a níveis elevados de VLDL e TG, comparado ao genótipo $\epsilon 3/3$ que se associa a concentrações mais baixas de TG,

enquanto os genótipos $\epsilon 4/\epsilon 4$ e $\epsilon 2/\epsilon 4$ e principalmente $\epsilon 2/\epsilon 2$, são relacionados a níveis mais elevados.⁽⁸¹⁾ O genótipo $\epsilon 2/\epsilon 2$ também é correlacionado à redução nos níveis plasmáticos de apo B comparado ao genótipo $\epsilon 3/\epsilon 4$.⁽⁶⁹⁾ Além disso, a associação entre alelo $\epsilon 2$ e hipertrigliceridemia pode ser mais acentuada em pacientes diabéticos que na população em geral.^(55, 81)

Por outro lado, Lehtmaki *et al.* (1991)⁽⁸²⁾ detectaram em jovens normolipidêmicos associação entre apo E4 e níveis elevados de CT e LDL e valores de apo E2 reduzidos, mas níveis lipídicos reduzidos nos homozigotos para o alelo $\epsilon 2$. Nesse caso, os valores para LDLc e CT elevam-se com o fenótipo da apo E na ordem E2/E3, E3/E3, E3/E4, E4/E4, concordantes com outros estudos^(71, 83, 84). Entretanto, os valores médios de HDL foram semelhantes para todos os fenótipos da apo E, resultando apenas em redução da relação HDL/CT para fenótipos contendo E4. Há associação, ainda, entre alelo $\epsilon 4$, níveis elevados de triglicérides e aumento de peso⁽⁸⁵⁻⁸⁶⁾. Além disso, os fenótipos E4/E4 e E3/E4 também parecem associados à elevação da pressão sanguínea sistólica, em relação aos fenótipos E3/E3, E2/E3 ou E2/E4.⁽⁸¹⁾

A variabilidade lipídica associada aos alelos para apo E parece maior nas mulheres.⁽⁷⁹⁾ Além disso, é possível a associação entre efeito do fenótipo para apo E e idade. Wu *et al.* (1997)⁽⁵⁵⁾ detectaram em indivíduos jovens (abaixo de 50 anos) e do sexo masculino e portadores do alelo $\epsilon 2$, redução mais acentuada nos níveis de LDL em relação aos idosos (acima de 50 anos).

1.4 Isoformas da Apolipoproteína E e Aterosclerose

A associação entre polimorfismo da apoE e aterosclerose foi inicialmente estabelecida por Utermann *et al.*⁽⁸⁷⁾ em estudos de pacientes com hiperlipoproteinemia tipo III, com fenótipo E2/E2 e DAC prematura. O fenótipo E3/4 tem sido associado

com infarto agudo do miocárdio em idade precoce em relação a E2/E3 e E3/E3.⁽⁸⁸⁻⁹⁰⁾ O alelo ε4 relaciona-se também a risco aumentado para isquemia silenciosa do miocárdio induzida por exercício em homens idosos normocolesterolêmicos saudáveis.⁽⁸¹⁾ O estudo de possíveis marcadores genéticos em mulheres brasileiras mostrou associação de polimorfismos para apo E, além de apo B e do gene para receptor de LDL, com DAC.⁽⁹¹⁾ Há relato também de que genótipos com alelos ε4 ou ε2 são mais frequentes em clínicas para tratamento de dislipidemias, que portadores de ε3.⁽⁹²⁾

A alta frequência de E4 e baixa de E2 na população finlandesa e a alta prevalência de DAC, excepcionalmente elevada no país, apoiam a associação entre DAC e fenótipo de apo E. Nesse país, 34 % dos indivíduos têm fenótipo apo E4/E4 ou apo E3/E4. Assim, os fenótipos expressando apo E4, associados à tradicional dieta finlandesa rica em gordura saturada e colesterol, podem induzir a hipercolesterolemia, especialmente nas áreas rurais onde a proporção de gordura saturada na dieta é particularmente mais elevada.^(82, 93)

Estudos epidemiológicos, embora escassos, têm demonstrado efeitos do fenótipo da apoE sobre os níveis de LDL e apo B, consideravelmente maior em mulheres na pós-menopausa que em pré-menopausa.⁽⁹⁴⁾ Estudo recente,⁽⁹⁵⁾ demonstrou associação entre polimorfismo da apo E e modulação da resposta de LDL sérico à terapia de reposição hormonal em mulheres finlandesas na pós-menopausa. Essa fase é associada com aumento de risco devido a mudanças desfavoráveis no metabolismo do colesterol, secundárias a deprivação de estrogênio. A terapia de reposição estrogênica tem efeitos favoráveis sobre as concentrações de lipídios séricos. Uma grande variação na resposta do perfil lipídico é atribuída a adição de progesterona no tratamento. Entretanto, parece que os efeitos positivos da terapia de reposição hormonal sobre o perfil lipídico podem diminuir com a duração do tratamento.

A apo E, cujo polimorfismo genético tem sido associado à doença cardiovascular, foi detectada também na vasculatura cerebral e na periferia dos infartos. Essa proteína é secretada localmente por macrófagos após injúria de nervos periféricos e por astrócitos e oligodendrócitos em lesões do sistema nervoso central, sugerindo papel na resposta ao comprometimento neural ou no seu reparo.^(96, 98) Vários estudos mostram frequência significativamente maior do alelo ε4 em pacientes com história familiar de acidente vascular cerebral comparado a um grupo controle.^(77, 99, 101) O papel etiológico do alelo ε4 no desenvolvimento da doença vascular pode ser confirmado por sua associação com a aterosclerose, entretanto, alguns estudos negam a relação entre apo E4 e risco de doença cerebrovascular.^(102, 103)

A hipótese, de que o alelo ε4 favorece e o alelo ε2 protege contra o desenvolvimento da aterosclerose, tem sido mantida pelos resultados de estudos clínicos de sobreviventes de infarto do miocárdio,⁽¹⁰⁴⁾ de pacientes com DAC angiograficamente documentada^(89, 90) e octogenários.⁽⁷¹⁾ Entretanto, ainda é conflitante o efeito dos alelos para apo E nos níveis de lipídios plasmáticos.⁽¹⁰⁵⁾ Há referência em população idosa multiétnica de correlação importante entre o alelo ε2 e os níveis de lipídios plasmáticos, enquanto o alelo ε4 manteve-se sem expressão⁽¹⁰⁶⁾ e não se associou com perfil lipídico alterado em população norte-americana rural.⁽¹⁰⁷⁾ Além disso, em chineses detectou-se semelhança na frequência dos alelos para apo E entre pacientes com DAC e controles.⁽¹⁰⁸⁾ Em italianos o alelo ε4 não aumentou o risco de infarto agudo do miocárdio naqueles com DAC.⁽¹⁰⁹⁾ A extensão de lesões ateroscleróticas nas artérias coronárias e aorta e os níveis de lipídios plasmáticos também se mostraram indiferentes aos genótipos para apo E entre norte americanos.⁽¹¹⁰⁾

A apo E apresenta papel importante no metabolismo de lipoproteínas aterogênicas. Como ligante a receptores de membrana, influencia na velocidade da

remoção de gordura da dieta no plasma, explicando a presença de níveis elevados de LDLc e triglicérides. Estudos em genética molecular têm esclarecido os mecanismos de ação do seu polimorfismo na doença cardiovascular. Entretanto, permanece polêmica a participação da apo E em situações específicas incluindo DAC na pós-menopausa e sua relação com perfil lipídico no período pós-prandial, cujos resultados são escassos ou inexistentes em casuísticas brasileiras. Nesse contexto sua investigação, associada a cinética do metabolismo lipídico, pode revelar fatores de risco para DAC em mulheres no período pós-menopausa. Considerando o aumento da expectativa de vida é imprescindível ampliar os estudos sobre os fatores de risco para doenças cardiovasculares, causas crescentes de morbidade e mortalidade associadas à idade, com vistas à intervenção precoce e controle da doença.

1.5 Objetivos

Este estudo teve como objetivos:

- 1) identificar fatores de risco para DAC em mulheres com a doença na pós-menopausa comparado àquelas sem a doença;
- 2) analisar a prevalência de alelos e genótipos para apoE e sua influência no perfil lipídico em mulheres com ou sem DAC na pós-menopausa;
- 3) avaliar a cinética do metabolismo de triglicérides após dieta-teste rica em lipídios e sua associação com o polimorfismo genético da apoE em mulheres com ou sem DAC na pós-menopausa.

2.

CASUÍSTICA E MÉTODO

2.1 Casuística

Foram estudadas 180 mulheres em pós-menopausa, atendidas no serviço ambulatorial do Hospital de Base da Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto, SP-FAMERP, distribuídas em dois grupos de acordo com presença ou ausência de doença arterial coronariana. O grupo de mulheres portadoras de DAC comprovada angiograficamente e com manifestação clínica até 65 anos foi constituído de 90 pacientes com idade entre 47 e 73 anos (média e desvio padrão $60,7 \pm 5,8$ anos). O grupo controle constituiu-se também de 90 mulheres com idade entre 50 e 71 anos (média e desvio padrão $60,7 \pm 5,5$ anos), sem sinais angiográficos ou sintomas de DAC.

Participaram deste estudo apenas mulheres não expostas a medicamentos que pudessem interferir no perfil lipídico, incluindo a terapia de reposição hormonal no momento do diagnóstico. Foram excluídas pacientes com doenças renal, hepática e hipotireoidismo, confirmados por exames bioquímicos e hormonais.

O projeto referente a este estudo foi submetido e aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP – FAMERP – Processo N° 5998/2001 - aprovado em 12/11/2001 - parecer 111/2001). Todas as participantes receberam esclarecimentos sobre este estudo e dele concordaram em participar sob assinatura do Termo de Consentimento Livre Autorizado (Apêndice 1).

2.2 Método

Os indivíduos foram cadastrados com registro de idade, peso, altura, índice de massa corporal (IMC), pressão arterial sistêmica (PAS), história familiar de DAC, tabagismo, exames bioquímicos e medicamentos usados. As características clínicas e epidemiológicas são apresentadas na Tabela 1 e individualmente nos Quadros 2 e 3 (Apêndices 2 e 3)

Tabela 1: Características clínicas de mulheres em pós-menopausa, portadoras de doença arterial coronariana e controles.

	Pacientes		Controles	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Idade (anos)	60,7	5,8	60,7	5,5
Peso (kg)	65,4	14,0	60,0	10,4
Altura (cm)	151,3	17,0	156,0	5,4
Creatinina (mg/dL)	0,86	0,32	0,5	0,05
AST (UI/L)	16,6	7,7	21,4	7,0
ALT (UI/L)	15,2	8,0	20,9	6,2
T4 livre (ng/dL)	1,2	0,2	1,3	0,4
TSH (μ U/dL)	2,3	1,4	2,2	1,8
Glicemia (mg/dL)	118,7	49,8	113,0	43,6

AST = Aspartato transferase; ALT = Alanina transferase; Glic = Glicemia; Creat. = Creatinina; TSH = Hôrmônio estimulante da tireóide; T4L = Tiroxina livre.

Para as mulheres diabéticas foram referência os critérios da *American Diabetes Association* ⁽¹¹¹⁾ (glicemia de jejum maior ou igual a 126 mg/dL) ou a vigência de tratamento para diabetes. Foram consideradas obesas as pacientes com IMC maior ou igual a 30 kg/m² segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS). A hipertensão arterial sistêmica foi caracterizada segundo os critérios do III Consenso Brasileiro de Hipertensão Arterial ⁽¹¹²⁾ (pressão arterial sistólica e diastólica acima de 140/90, respectivamente) ou na vigência de tratamento.

Os valores de referência (VR) considerados normais para os parâmetros bioquímicos foram: ALT = < 20 UI/L, AST = < 25 UI/L, Creatinina = 0,2 a 1,4 mg/dL, TSH = 0,1 a 5 µU/mL e T 4 livre < 0,9 ng/dL.

2.2.1 Perfil lipídico e dieta teste

As pacientes foram submetidas a dosagens séricas de CT, LDLc, HDLc, VLDLc e TG em jejum de 12 horas. Ambos os grupos estudados foram subdivididos de acordo com os níveis de colesterol total em CT < 200mg/dL, CT = 201-239 mg/dL e CT ≥ 240 mg/dL. Nesse caso, verificou-se a prevalência dos fatores de risco em cada grupo, comparando-se pacientes com controles.

Os níveis séricos de TG foram avaliados em jejum e após três e seis horas da ingestão de dose única de uma dieta lipídica preparada com ingredientes listados no Quadro 1. Os valores das variáveis para perfil lipídico foram analisados considerando-se o III Consenso sobre Dislipidemias da Sociedade Brasileira de Cardiologia (2001).⁽¹¹³⁾

A dieta rica em lipídios oferecida em dose única aos participantes correspondeu a 698 mg de colesterol / 1.000 kcal. Em uma dieta normal, a ingestão de lipídios corresponde a 25-30 %, de carboidratos a 50-60 % e de proteínas a 10-15%, enquanto na dieta teste os valores corresponderam a 69, 18 e 13%, respectivamente. A dose oferecida correspondeu a 50g de gordura/m² de superfície corporal de acordo com orientação do Departamento de Lípidos da Universidade Federal do Estado de São Paulo (UNIFESP). A dieta, sob forma líquida, foi preparada sempre com os mesmos produtos e uma hora antes do teste, realizado no período da manhã. As pacientes foram estratificadas de acordo com a superfície corporal, recebendo doses da dieta proporcionais a esse valor. Para o cálculo da superfície corporal foram considerados peso e altura aplicada à fórmula de du Bois⁽¹¹⁴⁾ representados abaixo:

$$SC = \text{altura}^{0,725} (\text{cm}) \times \text{peso}^{0,425} (\text{Kg}) \times 10^{-4} (\text{m}^2)$$

Quadro 1: Composição da dieta artificial, com os respectivos teores calóricos e quantidades, oferecida aos pacientes com doença arterial coronariana e controles na pós-menopausa.

Composição	Quantidade	Calorias (kcal)	Carboidratos (g)	Proteínas (g)	Lipídios (g)	Colesterol (mg)
Chocolate em pó	100 g	362	6	12	8	20
Ovo desidratado	50 g	246	0	23	17	1475
Leite integral	1000 mL	630	50	31	35	136
Leite de coco	200 mL	460	11	5	48	0
Creme de leite	300 g	586	11	8	58	199
Manteiga	20 g	144	0	0,2	16	44
Castanha do Pará	6 unidades	118	2	3	1	0
Banana nanica	150 g	138	35	2	1	0
Total		2684	115	84,2	195,0	1874
% de nutrientes			18	13	69	

2.2.2 Polimorfismo da apo E

2.2.2.1 Extração de DNA

O DNA genômico foi extraído de leucócitos de sangue periférico (5 mL) coletado com EDTA. A extração foi realizada em três etapas de acordo com a técnica descrita por Gustincich *et al.*⁽¹¹⁵⁾ compreendendo: 1) lise das células sangüíneas e desnaturação com solução de brometo dodeciltrimetilamonio (DTAB); 2) desproteinização com clorofórmio; 3) precipitação do DNA e re-suspensão via brometo cetilmetrimetilamonio (CTAB).

2.2.2.2 Amplificação do DNA

O segmento do gene para apo E, contendo as regiões polimórficas estudadas, foi amplificado pela técnica de PCR (*polymerase chain reaction*). Cada reação

foi realizada com 2 mL de dNTP (0,8mM); 2,5 µL de tampão PCR 10 X; 2,5µL de dimetil sulfóxido 10 %; 2,5 µL de cada primer; 0,2 µL de *Taq* polimerase (5U/mL); 7 µL de água Milli Q; 5 µL de DNA genômico diluído, com solução final de 25 µL. Foram utilizados os primers P1: 5'-ACAGAATTGCGCCCGGCCTGGTACAC-3' e P2: 5'-TAAGCTTGGCACGGCTGTCCAAGCA-3' complementares às regiões próximas aos códons polimórficos 112 e 158, localizados no exon 4 do gene para apo E ⁽¹¹⁶⁾. A amplificação do DNA consistiu em sua desnaturação inicial a 94°C por 5 minutos, seguido de 40 ciclos de 94°C por 30 segundos e 65° C por 2 minutos, com ciclo final a 72° C, por 7 minutos.

2.2.2.3 Isotipagem de restrição com *Hha* I

O polimorfismo de tamanho do fragmento de restrição (RFLP = *restriction fragment length polymorphism*) foi analisado com a exposição do produto de amplificação à enzima de restrição *Hha* I (5U por tubo de reação). O material permaneceu *overnight* em banho maria à 37°C para clivagem em regiões específicas (GCGC) das seqüências amplificadas, identificando os alelos ε2, ε3 e ε4. O alelo ε4 é reconhecido pela clivagem nas posições 112 e 158, cujos códons CGC (arginina) são precedidos pelo nucleotídeo G (guanina). Além deles, existem mais quatro regiões com seqüências semelhantes, também reconhecidas pela enzima, gerando, portanto seis regiões de clivagem e sete fragmentos. O alelo ε3, cujas regiões 112 e 158 apresentam os códons TGC (cisteína) e CGC (arginina), respectivamente, além de outras quatro regiões CGC, é identificado com cinco regiões de clivagem e seis fragmentos. O alelo ε2, por outro lado, com códon TGC (cisteína) em ambas as posições polimórficas permanece isento da clivagem por *Hha* I, porém mantém a seqüência GCGC em quatro regiões revelando cinco fragmentos gerados pela ação da enzima de restrição. O tamanho dos fragmentos que contém as regiões polimórficas é equivalente ao número de pares de bases nitrogenadas (pb) do segmento obtido pela clivagem enzimática (Figura 1).

2.2.2.4 Análise do DNA

Os fragmentos de DNA, referentes aos alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$, obtidos pela ação da enzima de restrição *Hha* I foram separados por eletroforese em gel de poliacrilamida 6% não desnaturado, sob corrente constante de 200 V. Como controle foi utilizada uma amostra de DNA padrão (pBR 322-GIBCO) digerido pela enzima de restrição *Msp*I, que gera fragmentos de até 110, 90, 76 e 67 pb. Após a eletroforese, o gel foi corado com brometo de etídeo (0,2 mg/L) por 5 minutos e os fragmentos de DNA visibilizados sob iluminação ultravioleta (Figura 2). A análise do DNA permitiu a identificação dos genótipos $\epsilon 2/\epsilon 2$, $\epsilon 2/\epsilon 3$, $\epsilon 2/\epsilon 4$, $\epsilon 3/\epsilon 3$, $\epsilon 3/\epsilon 4$ e $\epsilon 4/\epsilon 4$.

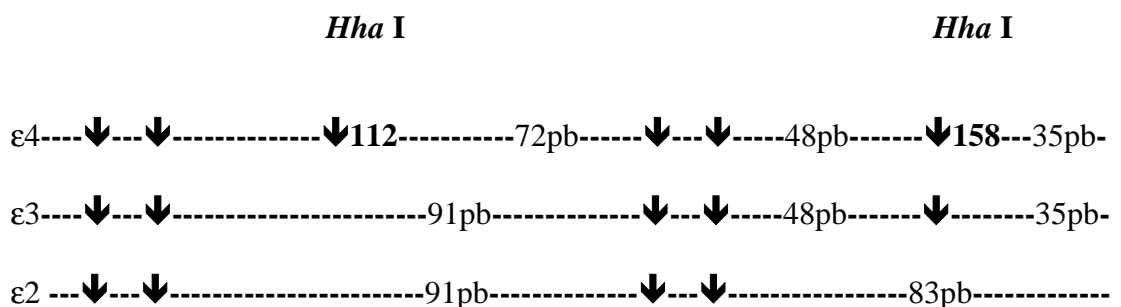


Figura 1: Mapa de clivagem do segmento polimórfico da apolipoproteína E, incluindo as regiões 112 e 158 do DNA, mostrando fragmentos de diferentes tamanhos de acordo com o número de pares de bases (pb) nitrogenadas obtidos sob ação da enzima de restrição *Hha* I em regiões específicas GCGC, identificando os alelos $\epsilon 2$, $\epsilon 3$ e $\epsilon 4$.

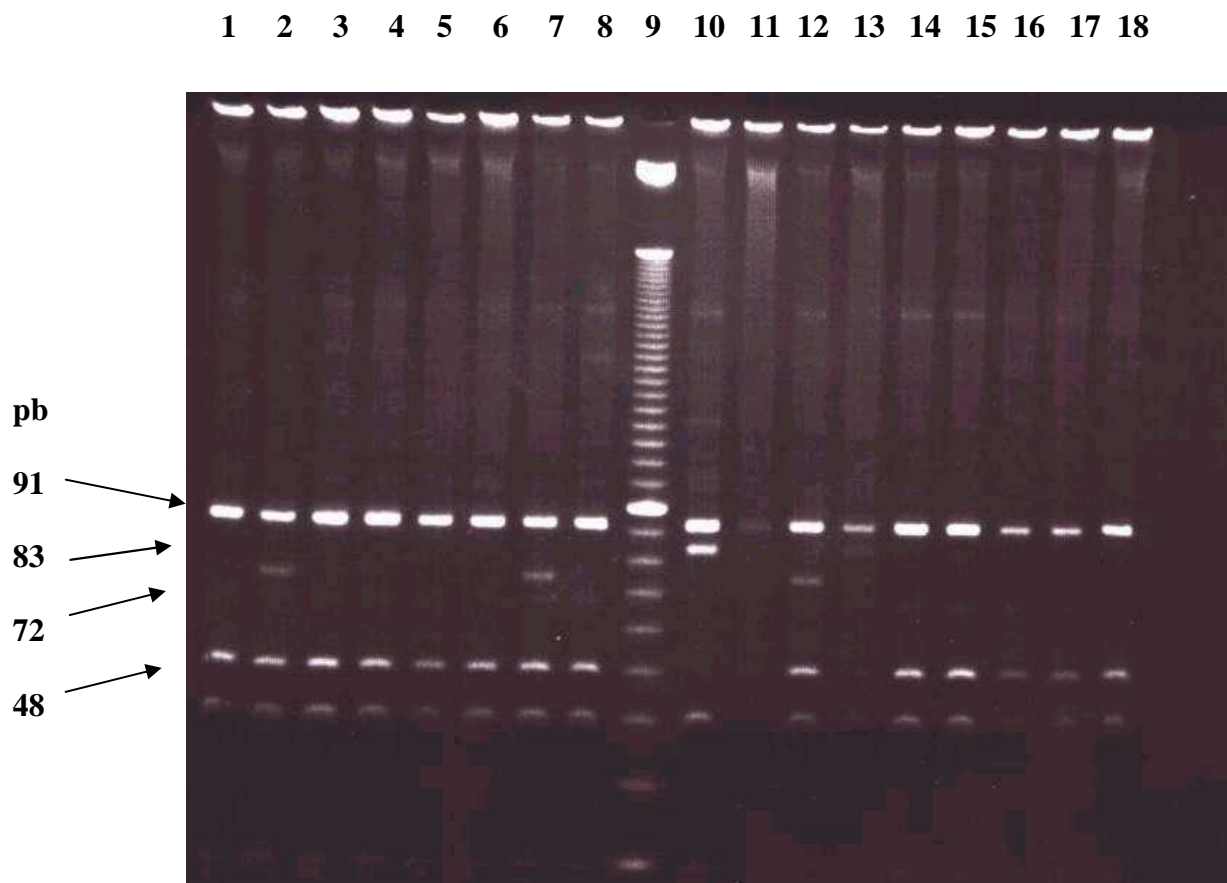


Figura 2: Fotografia de gel de poliacrilamida submetido a eletroforese apresentando genótipos para apolipoproteína E de 16 amostras de DNA extraído de leucócitos. Notam-se genótipos $\epsilon 2/\epsilon 2$ na coluna 10, $\epsilon 3/\epsilon 4$ nas colunas 2, 7 e 12 e $\epsilon 3/\epsilon 3$ nas colunas 1, 3, 4, 5, 6, 8, 14, 15, 16, 17, 18. A coluna 9 apresenta uma amostra de DNA padrão (pBR 322-GIBCO). pb = pares de base.

2.3 Estudo Estatístico

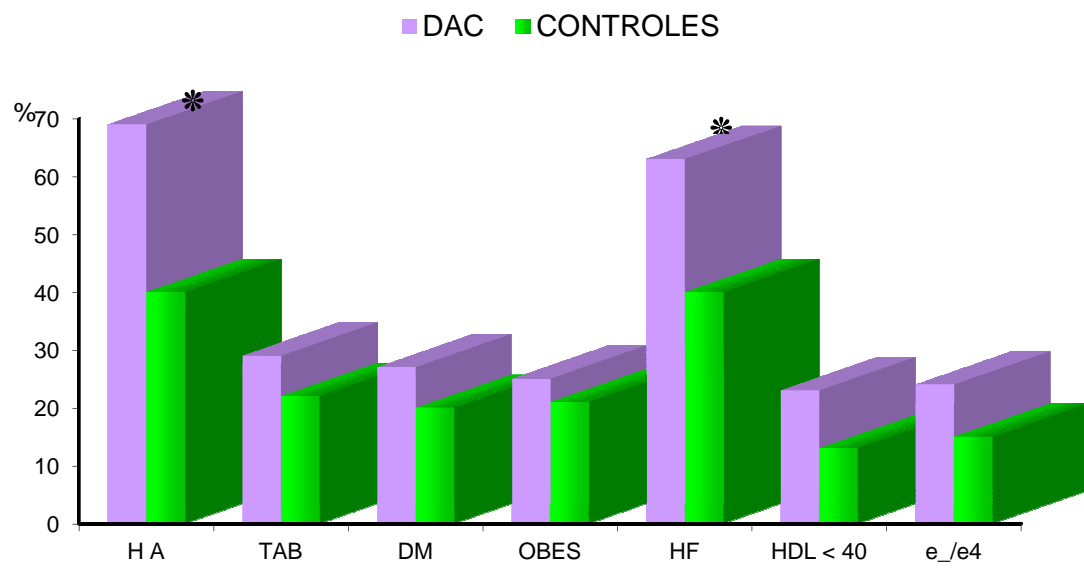
O estudo comparativo de frequências alélicas e genóticas para apo E e demais variáveis incluindo diabetes melito, hipertensão arterial, obesidade e tabagismo foi realizado com o teste exato de Fisher e análise de variância. A análise exploratória do perfil lipídico incluiu cálculos de média e desvio padrão da média, cujas diferenças entre os grupos foram obtidas com o teste t de Student, aplicando-se correção de Welch para desvios padrões ou teste de Mann Whitney na ausência de distribuição gaussiana. Esses testes foram empregados também para avaliar a associação entre perfil lipídico e polimorfismo da apo E, considerando-se o genótipo ϵ_3/ϵ_3 em comparação aos genótipos com pelo menos um alelo ϵ_4 , incluindo, nesse caso, os genótipos ϵ_2/ϵ_4 , ϵ_3/ϵ_4 e ϵ_4/ϵ_4 , com estudos comparativos isoladamente para pacientes e controles e entre eles. Para análise da cinética do metabolismo de TG na fase pós-prandial, utilizou-se ANOVA em amostras pareadas identificadas como jejum, três e seis horas após única dose da dieta teste. Admitiu-se erro α de 5%, com nível de significância para $P \leq 0,05$.

3. RESULTADOS

3.1 Fatores de Risco

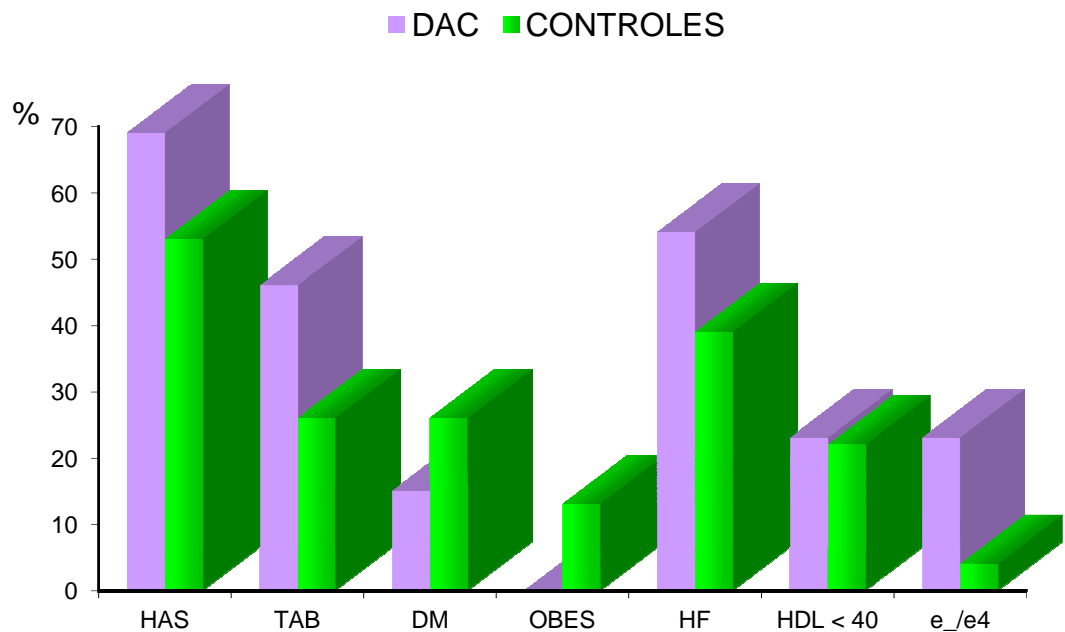
A prevalência dos fatores de risco em pacientes com DAC na pós-menopausa e controles, considerando hipertensão arterial, tabagismo, diabetes melito, história familiar de DAC e obesidade é mostrada na Figura 3. Nota-se, no grupo de mulheres com DAC na pós-menopausa maior prevalência de HAS (76,6%) e HF da doença (70%), comparado aos controles (44,4 e 44,4%, respectivamente; $P < 0,0001$). Para os demais fatores de risco não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos. Os valores médios para IMC, em pacientes ($28,4 \pm 5,3 \text{ Kg/m}^2$) e controles ($27,1 \pm 4,4 \text{ Kg/m}^2$), encontram-se dentro do padrão de sobrepeso.

A análise dos subgrupos, de acordo com os níveis de CT e a prevalência dos fatores de risco, mostra para concentrações abaixo de 200 mg/dL semelhança entre pacientes e controles considerando a frequência de HA, tabagismo, diabetes melito, HF de DAC, níveis de HDL abaixo de 40 mg/dL e genótipos ϵ_1/ϵ_4 (Figura 4). Por outro lado, em pacientes com níveis de CT entre 201 e 239 mg/dL a frequência de HAS mostrou-se significativamente mais elevada (78%) em relação aos controles (41%; $P = 0,007$; Figura 5). Pacientes com níveis de CT igual ou acima de 240 mg/dL apresentaram prevalência significativamente maior de HF (74%) comparado aos controles (36%; $P = 0,007$), além de HAS (78%; 42%, respectivamente; $P = 0,01$). Em contrapartida, os controles apresentaram frequência significativamente maior de obesidade (55%) em relação aos pacientes (51%; $P = 0,04$; Figura 6).



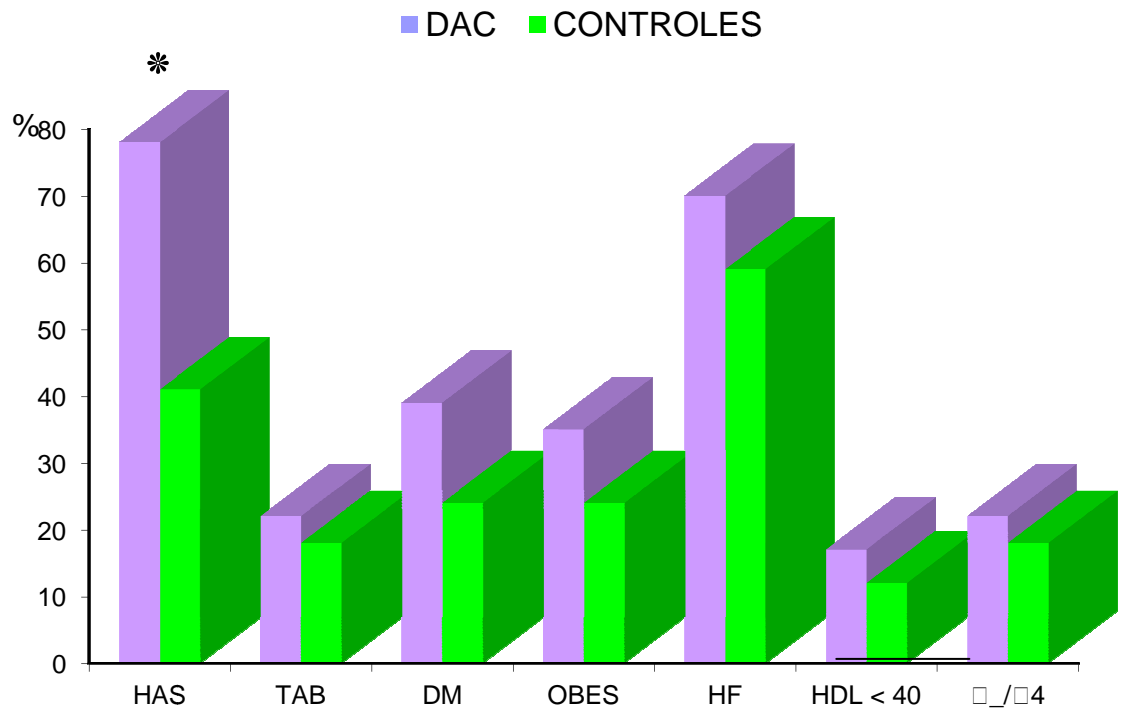
DAC	6	2	2				
(N)	9	9	7	25	63	23	24
Contr	4	2	2				
oles (N)	0	2	0	21	40	13	15
P	0,0001	0,32	0,30	0,61	0,0001	0,09	ε_/ε4

Figura 3: Distribuição percentual dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC- N = 90) e controles (N = 90) considerando hipertensão arterial (HA), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL<40) e genótipos com pelo menos um alelo ε4 (ε_/ε4). P = nível de significância; * = P < 0,0001.



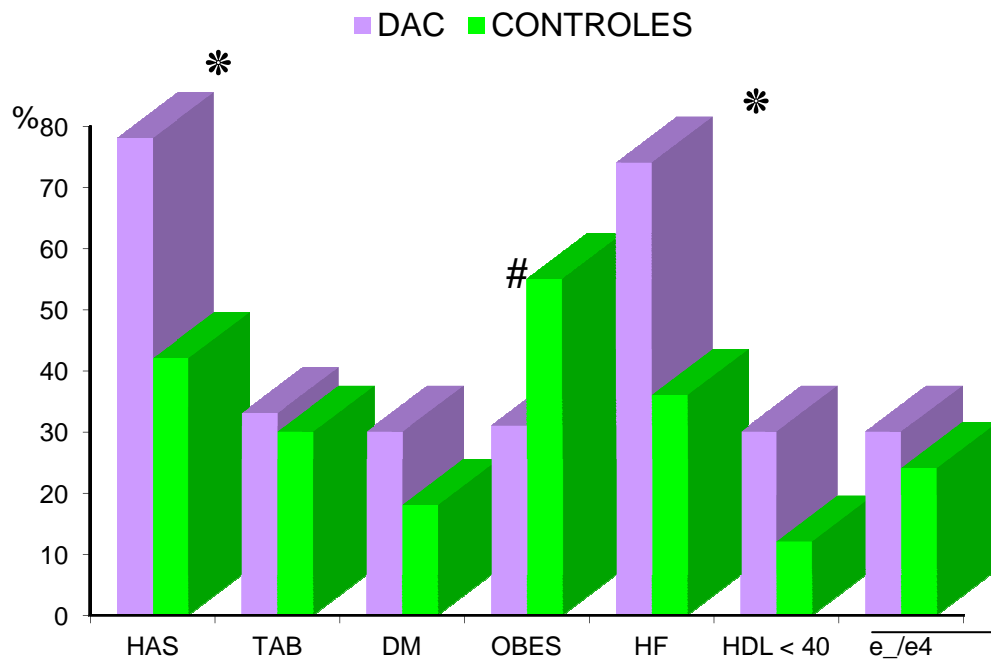
DAC		6	0		3
(N)				3	
Cont		6	3		1
roles (N)	2			5	$\epsilon_/\epsilon 4$
P					0,12
	,48	0,28	,68	0,29	,49
				1,0	

Figura 4: Distribuição percentual dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC- N = 13) e controles (N = 23) com níveis médios de colesterol total < 200 mg/dL, considerando hipertensão arterial (HAS), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL< 40) e genótipos com pelo menos um alelo $\epsilon 4$ ($\epsilon_/\epsilon 4$). P = nível de significância.



DAC									
(N)	8*	5	9	8	16	4	5		
Contr								ε_/ε4	
oles (N)	4	6	8	8	20	4	6		
P								0	
	,007	0,74	,24	0,38	,58	0,70	0,74		

Figura 5: Distribuição percentual dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC – N = 23) e controles (N = 34) com níveis médios de colesterol total entre 201 e 239 mg/dL, considerando hipertensão arterial (HAS), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL < 40) e genótipos com pelo menos um alelo ε4 (ε_/ε4). P = nível de significância.



DAC		18		17		16	ε_/ε4
(N)	42*		16		40*		16
Control	1	10				4	
es (N)	4		6	18#	12		8
P	0	0,8		0,0		0,07	0
	,01	2	0,31	4	0,007		,63

Figura 6: Distribuição dos indivíduos (N) com doença arterial coronariana (DAC - N= 23) e controles (N = 34) com níveis médios de colesterol ≥ 240 mg/dL, considerando hipertensão arterial (HA), tabagismo (TAB), diabetes melito (DM), obesidade (OBES), história familiar (HF), nível da fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade abaixo de 40 mg/dL (HDL < 40) e genótipos com pelo menos um alelo ϵ_4 (ϵ_1/ϵ_4). * = $P \leq 0,01$; # $P < 0,05$. P = nível de significância.

3.2 Frequências Alélicas e Genotípicas

A distribuição de alelos e genótipos para apo E em pacientes e controles é apresentada na Tabela 2. Nota-se frequência significativamente mais elevada para o alelo $\epsilon 3$ nos controles em relação aos pacientes (0,91 versus 0,81, respectivamente; $P = 0,0091$) e prevalência significativamente aumentada de $\epsilon 4$ nos pacientes em relação aos controles (0,15 versus 0,07, respectivamente; $P = 0,0282$). O alelo $\epsilon 2$ foi menos representado em ambos os grupos sem diferença estatisticamente significativa entre eles. O genótipo $\epsilon 3/\epsilon 3$ foi mais freqüente nos pacientes e controles, com diferença estatisticamente significativa entre os grupos (69% versus 83,3%, respectivamente; $P = 0,0352$). Os genótipos $\epsilon -/\epsilon 4$, embora mais representados nos pacientes (25,5%) em relação aos controles (12,3%), não mostram diferença estatística na sua distribuição ($P = 0,06$). O registro individual para genotipagem da apolipoproteína E é apresentado nos Quadros 2 a 5 (Apêndices 2,3,4 e 5).

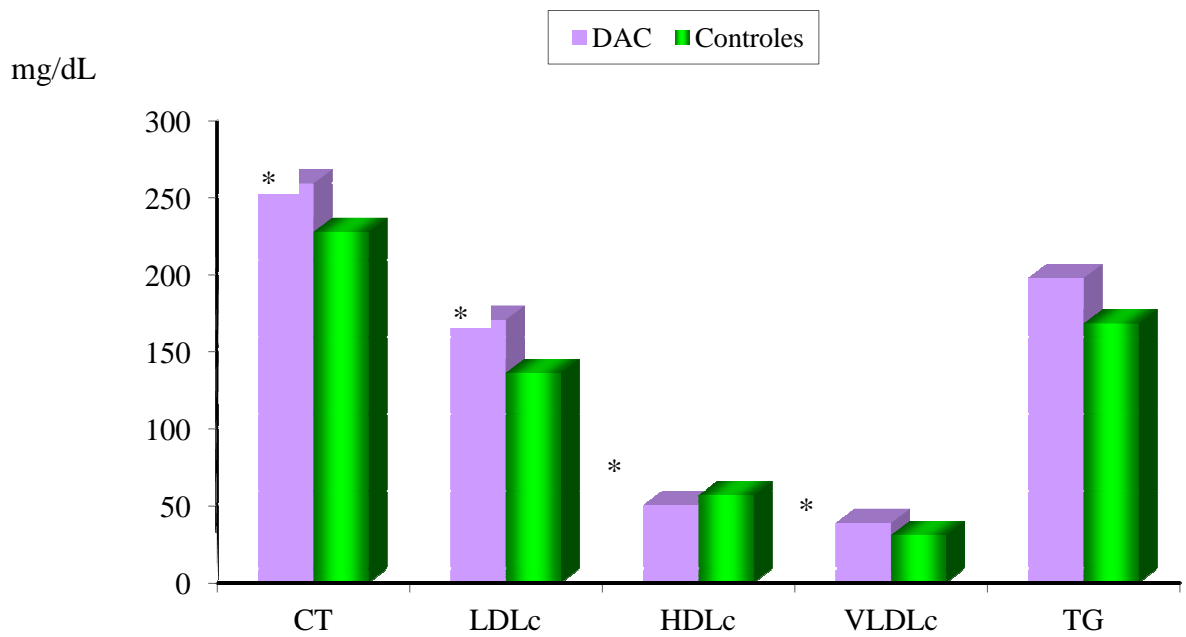
3.3 Perfil Lipídico

A Figura 7 apresenta valores médios para o perfil lipídico em pacientes e controles. Houve aumento significativo nos níveis séricos de CT, LDLc e VLDLc nos pacientes ($259,0 \pm 65,7$; $170,6 \pm 60,1$; $38,6 \pm 21,1$ mg/dL, respectivamente) em relação aos controles ($227,5 \pm 42,3$; $136,0 \pm 36,9$; $30,7 \pm 17,2$ mg/dL; $P < 0,0001$; $P < 0,0001$; $P = 0,025$, respectivamente). A concentração média de HDLc, por outro lado, mostrou-se reduzida nos pacientes ($50,2 \pm 12,0$ mg/dL) comparado aos controles ($56,5 \pm 16,7$ mg/dL; $P = 0,0091$), embora os valores permaneceram no limite de referência desejável. Os níveis médios de TG observados em pacientes ($197,7 \pm 113,8$) e controles ($168,0 \pm 93$) mantiveram-se aumentados em ambos os grupos ($P = 0,0567$). O registro individual para perfil lipídico em ambos os grupos é mostrado nos Quadros 4 e 5 (Apêndices 4 e 5).

Tabela 2: Distribuição das frequências alélicas e genotípicas para apolipoproteína E na avaliação do polimorfismo genético por restrição enzimática com *Hha* I em pacientes com doença arterial coronariana e controles.

Alelos	Pacientes		Controles		P
	N	FA	N	FA	
ε2	7	0,04	3	0,02	0,3360
ε3	46	0,81	64	0,91	0,0091*
ε4	27	0,15	13	0,07	0,0282*
Total	80	1,0	80	1,0	
Genótipos	N	%	N	%	P
ε2/ε2		1,1	0	0	
ε2/ε3		4,4	3	3,4	1
ε2/ε4		1,1	0	0	
ε3/ε3	2	69,0	5	83,3	0,0352*
ε3/ε4	8	20,0	1	12,2	0,2238
ε4/ε4		4,4	1	1,1	0,3642
Total	0	100,0	0	100,0	

N = número de indivíduos; FA = frequência absoluta; P = nível de significância.



	CT		LDLc		HDLc		VLDLc		TG	
N	90	90	84	6	90	90	84	6	90	90
M	259,0		227,5		170,6		36,0		50,2	
édia	259,0		227,5		170,6		36,0		50,2	
D	5,7		42,3		60,1		6,9		12,0	
P	5,7		42,3		60,1		6,9		12,0	
			1							
P			<0,0		0,009		0,024		0,0567	
	<0,0001		001		1		6			

Figura 7: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração de colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc), muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa. N = número de indivíduos; P = nível de significância.

3.4 Perfil Lipídico e Apolipoproteína E

A Figura 8 apresenta os valores médios e desvios padrões para o perfil lipídico em relação ao polimorfismo da apo E, considerando os genótipos ϵ_3/ϵ_3 e ϵ_-/ϵ_4 . Nos pacientes não houve diferença estatisticamente significativa entre os genótipos ϵ_3/ϵ_3 e ϵ_-/ϵ_4 em relação a CT, LDLc, HDLc, VLDLc e TG; mantendo-se os níveis de CT e LDLc alterados independente do genótipo ϵ_3/ϵ_3 e ϵ_-/ϵ_4 , enquanto os níveis de HDLc e TG permaneceram dentro dos valores de referência para ambos os genótipos.

Os valores médios e desvios padrões para o perfil lipídico nos controles em relação ao polimorfismo da apo E são mostrados na Figura 9. Portadores de genótipos ϵ_-/ϵ_4 apresentaram valores séricos reduzidos de TG em relação ao genótipo ϵ_3/ϵ_3 ($131,2\pm 49,9$; $174,6\pm 98,6$ mg/dL, respectivamente), embora sem diferença significativa entre eles ($P < 0,02$). Entretanto, o valor médio de HDLc foi significativamente mais elevado em indivíduos com genótipos ϵ_-/ϵ_4 em relação a ϵ_3/ϵ_3 ($70,8\pm 20,6$; $56,5\pm 20,1$ mg/dL, respectivamente; $P = 0,02$).

A Figura 10 apresenta valores médios e desvios padrões para perfil lipídico em pacientes com DAC na pós-menopausa e controles, considerando o genótipo ϵ_3/ϵ_3 para apoE. Ambos os grupos mostraram níveis alterados para CT e LDLc com aumento significativo nos níveis séricos de CT, LDLc e TG nos pacientes em relação aos controles. Os níveis médios de TG mostraram-se desejáveis em ambos os grupos, mas com valores significativamente mais elevados nos pacientes em relação aos controles ($185,7\pm 95,5$ mg/dL vs $174,6\pm 98,6$ mg/dL $P = 0,38$). Por outro lado, não houve aumento significativo nos níveis de HDLc dos controles ($56,5\pm 20,1$ mg/dL) quando comparado aos pacientes ($50,7\pm 11,8$ mg/dL; $P=0,09$).

A associação entre genótipos ϵ_-/ϵ_4 e perfil lipídico em pacientes e controles é mostrada na Figura 11. Houve aumento nos níveis séricos de HDLc nos controles em relação aos pacientes com DAC ($70,8\pm 20,6$; $48,7\pm 13,2$ mg/dL, respectivamente; $P = 0,024$). Além disso, os níveis séricos de TG mostraram-se reduzidos nos controles ($131,2\pm 49,9$ mg/dL) em relação aos pacientes com DAC ($207,8\pm 129,6$ mg/dL, $P = 0,05$).

A relação CT/HDLc não mostrou diferença significativa quando comparados os genótipos ϵ_3/ϵ_3 e ϵ_-/ϵ_4 isoladamente entre os grupos com DAC e controle. A relação CT /HDLc comparando ϵ_3/ϵ_3 e ϵ_-/ϵ_4 no grupo DAC ($5,37$; $5,8$ respectivamente)

também não mostrou significância estatística ($P=0,8$) e para o grupo controle (4,1; 3,7, respectivamente; $P=0,1$). Ainda a relação LDLc/HDLc não apresentou associação com os genótipos comparados os grupos com DAC e controle. A relação LDLc/HDLc no grupo com DAC para os genótipos $\epsilon 3/\epsilon 3$ e $\epsilon -/\epsilon 4$ (3,5; 3,6, respectivamente) não apresentou diferença significativa ($P= 0,88$). No grupo controle a relação LDLc/HDLc para $\epsilon 3/\epsilon 3$ e $\epsilon -/\epsilon 4$ (2,7; 2,28, respectivamente), também não apresentou diferença significativa ($P= 0,27$).

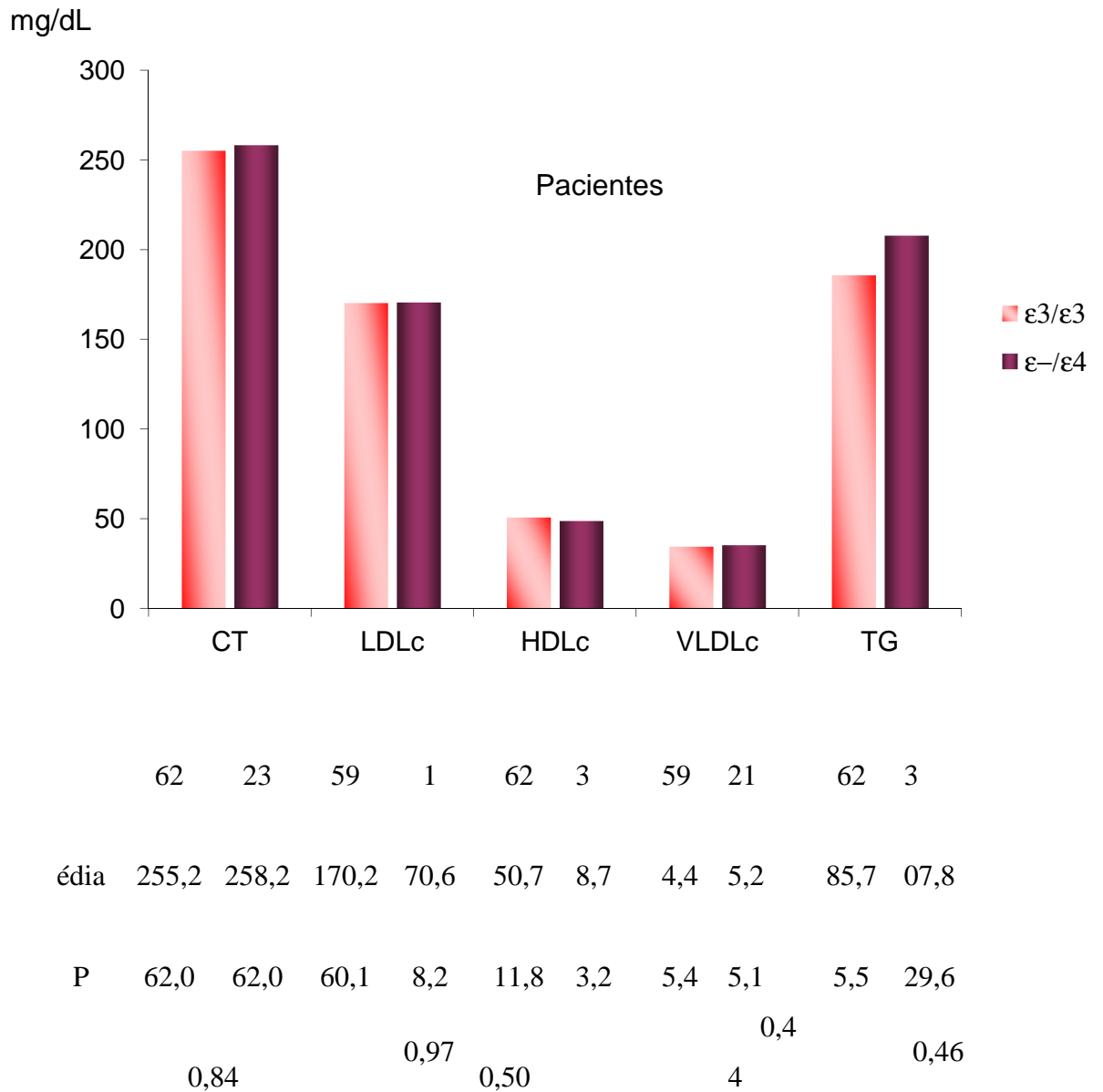


Figura 8: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração do colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc) e muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa, considerando o polimorfismo da apolipoproteína E ($\epsilon 3/\epsilon 3$ versus $\epsilon -/\epsilon 4$). N = número de indivíduos; P = nível de significância.

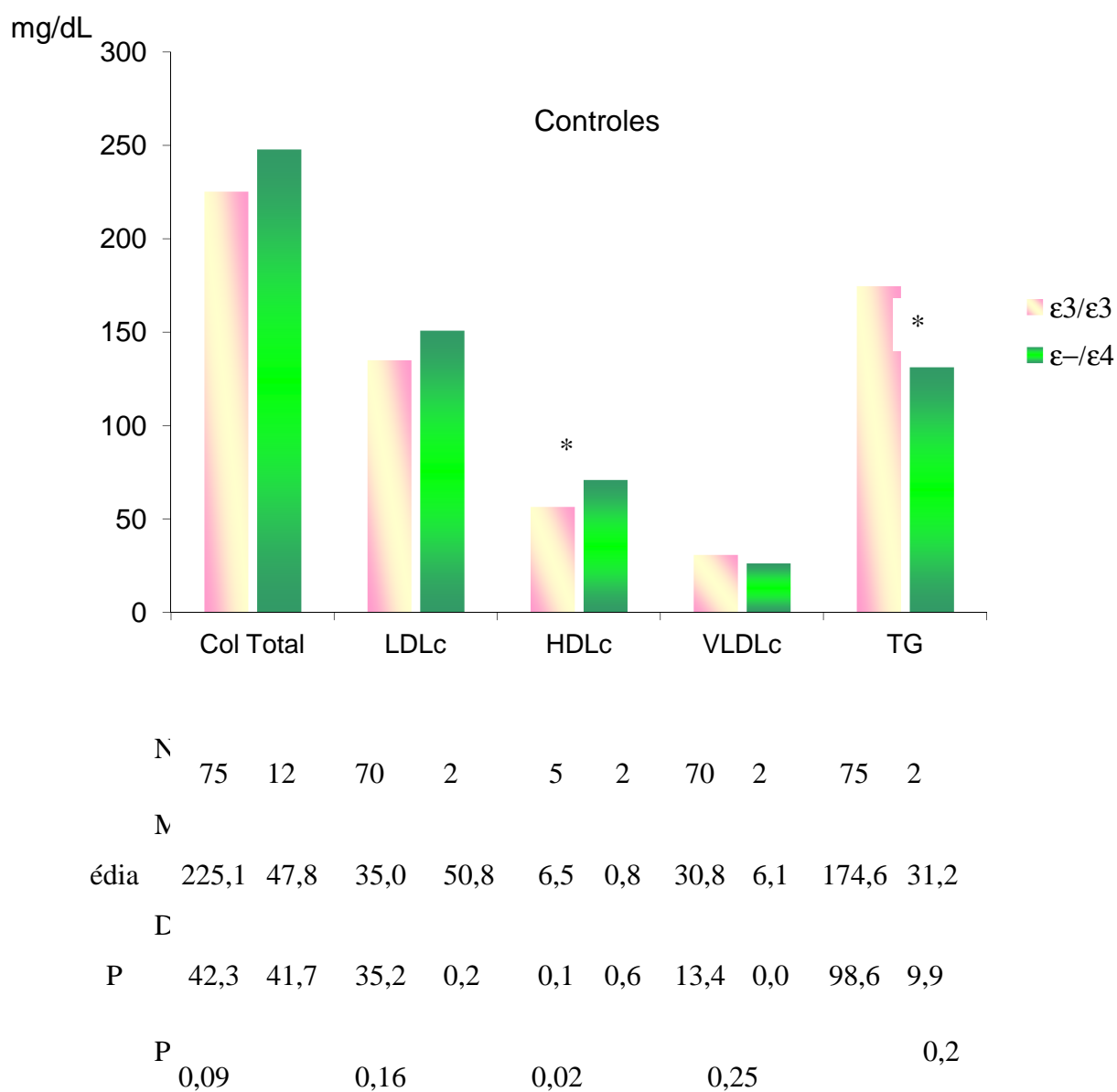
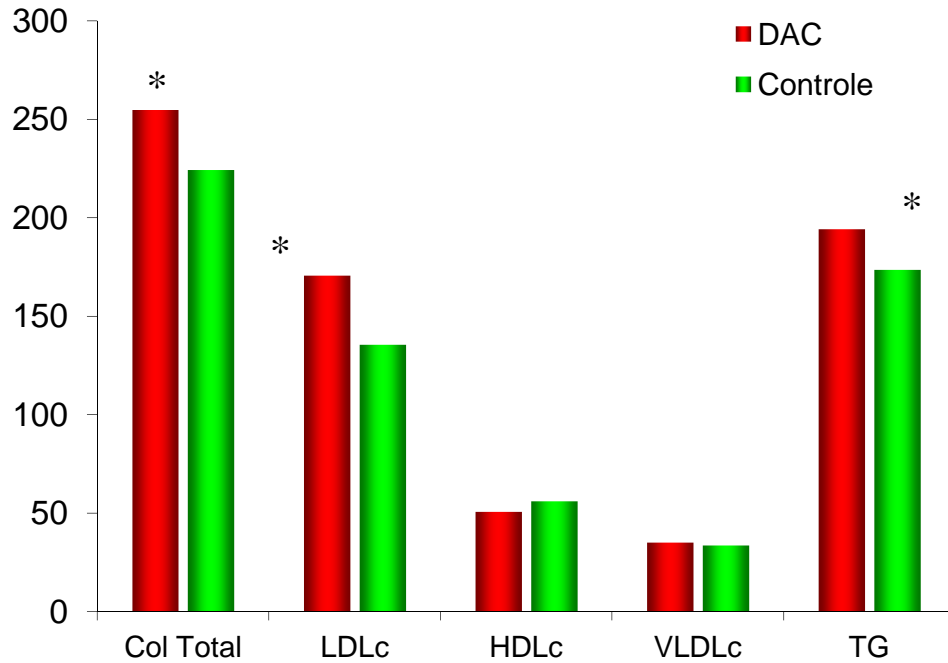


Figura 9: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração do colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc), muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em controles, considerando o polimorfismo da apolipoproteína E ($\epsilon 3/\epsilon 3$ versus $\epsilon -/\epsilon 4$). N = número de indivíduos; P = nível de significância; *P < 0,05.

Genótipos ε3/ε3

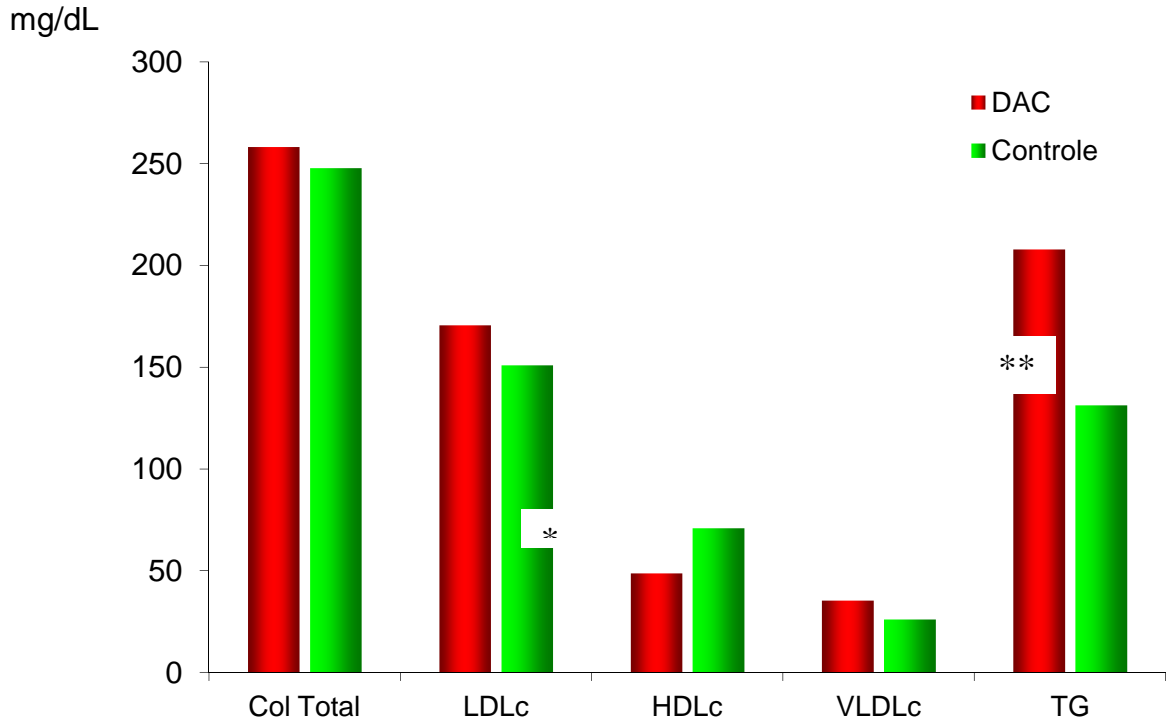
mg/dL



	2	5	59	70	62	5	59	0	62	5
édia	255,2	25,1	170,2	35,0	50,7	6,5	34,4	0,8	185,7	74,6
P	62,0	2,3	60,1	35,2	11,8	0,1	15,4	3,4	95,5	8,6
				<0,00						0,38
	<0,001		01		0,09		0,21			

Figura 10: Valores médios e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração de colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc) e muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) nos pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa e controles com genótipo ε3/ε3 para apolipoproteína E. N = número de indivíduos; P = nível de significância; * = P<0,05.

Genótipos ϵ -/ ϵ 4



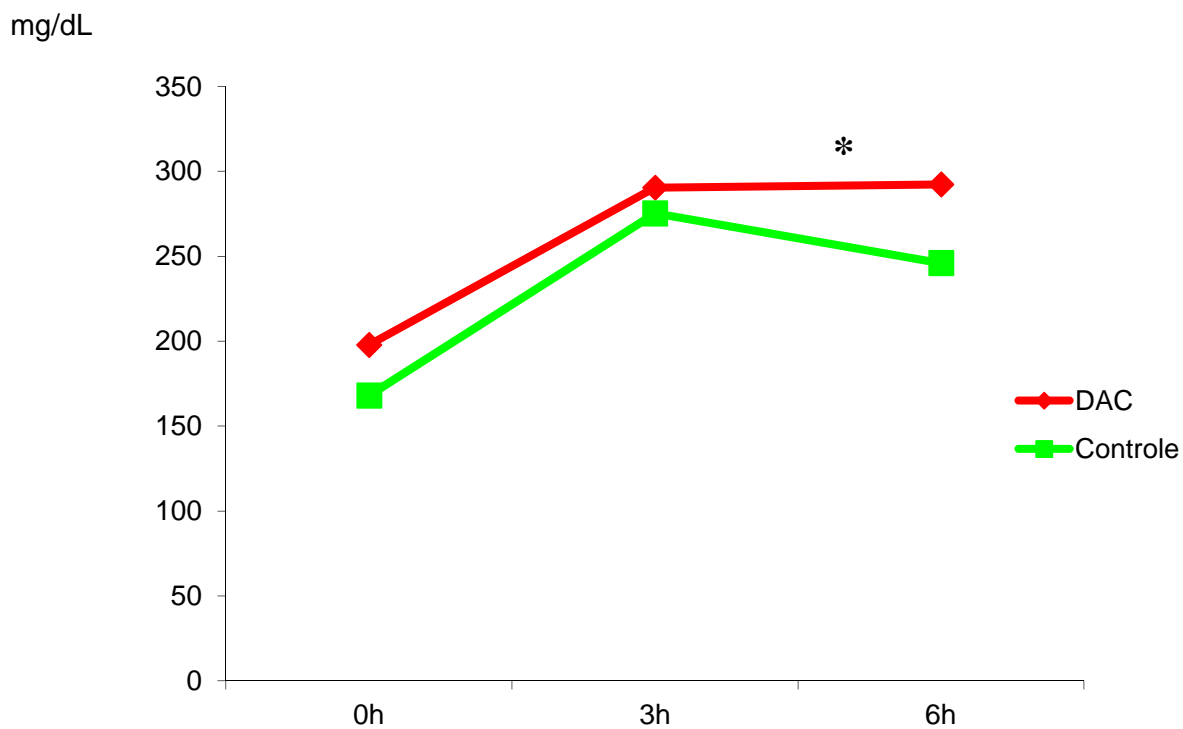
	3	2	21	12	23	2	21	12	23	12	
édia	58,2	47,8	170,6	50,8	8,7	0,8	35,2	26,1	207,8	31,2	1
P	2,0	1,7	58,2	0,2	3,2	0,6	15,1	10,1	129,6	9,9	4
P	0,065				0,306		0,02		0,07	0,05	

Figura 11: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de colesterol total (CT) e fração do colesterol das lipoproteínas de baixa (LDLc), alta (HDLc) e muito baixa densidade (VLDLc) e triglicérides (TG) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa e controles, considerando genótipos com pelo menos um alelo ϵ 4 (ϵ -/ ϵ 4) para apolipoproteína E. N = número de indivíduos; P= nível de significância; *P= 0,024;**P= 0,05.

3.5 Cinética de Triglicérides Pós-Prandial

Valores médios de TG, considerando os períodos de jejum (0 hora) e 3 e 6 horas após a ingestão da dieta-teste, são apresentados na Figura 12. A média dos níveis séricos de TG no jejum em pacientes ($197,7 \pm 113,8$ mg/dL) foi mais elevada em relação ao grupo controle ($168,0 \pm 93,0$ mg/dL, mas sem significância estatística ($P = 0,056$)). O grupo controle mostrou na fase pós-prandial (6 horas) redução significativa nos valores de TG ($246,0 \pm 162,8$ mg/dL) em relação ao grupo com DAC ($292,2 \pm 161,4$ mg/dL; $P < 0,05$), o que não ocorreu às 3 horas após a ingestão da dieta ($275,2 \pm 132,4$; $290,3 \pm 155,9$ mg/dL respectivamente; $P > 0,05$).

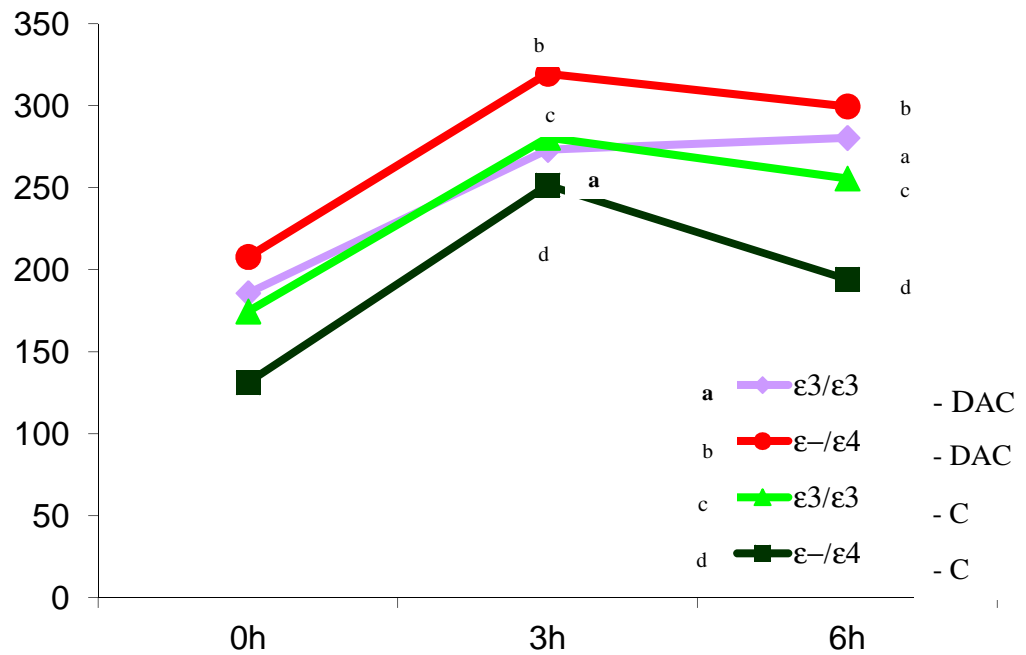
A Figura 13 mostra a média dos valores de TG no período pós-prandial e sua associação com o polimorfismo da apo E em ambos os grupos. Nos controles os genótipos $\epsilon/\epsilon4$ foram associados com remoção mais rápida de TG na fase pós-prandial (3h = $251 \pm 91,8$; 6h = $194,2 \pm 111,7$ mg/dL; $P < 0,01$) comparado ao genótipo $\epsilon3/\epsilon3$ (3h = $280,6 \pm 140,1$; 6h = $255,7 \pm 171,4$ mg/dL; $P > 0,05$). Por outro lado, nos pacientes os portadores de genótipos $\epsilon/\epsilon4$ mostraram variação no nível pós-prandial de TG (3h = $319,5 \pm 192,2$; 6h = $299,6 \pm 194,0$ mg/dL) semelhante ao observado naqueles com genótipo $\epsilon3/\epsilon3$ (3h = $273,1 \pm 134,2$; 6h = $280,3 \pm 114,7$ mg/dL; $P = 0,5663$ e $P = 0,785$, respectivamente).



	Contr		Contr		AC	Controles
	DAC	oles	DAC	oles		
N	90	90	90	90	90	90
édia	197,7	168,0	290,3	275,2	92,2	246,0
DP	113,8	93,0	155,9	132,4	61,4	162,8

Figura 12: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de triglicérides (TG) nos tempos jejum (TG 0) e 3 (TG 3h) e 6 horas (TG 6h) após dieta-teste oferecida aos pacientes com doença arterial coronariana (DAC) na pós-menopausa e controles. N = número de indivíduos; * P<0,05.

TG mg/dL



DAC	ϵ_-	ϵ_3/ϵ_3	ϵ_-	ϵ_3/ϵ_3	ϵ_-
	$3/\epsilon_3$	$1/\epsilon_4$	$2/\epsilon_4$	$3/\epsilon_3$	$2/\epsilon_4$
Média	2	273,1	3	280,3	2
	85,7	07,8	19,5		99,6
DP	1	134,2	1	144,7	1
	5,6	29,6	92,2		94,0
Controle					
Média	1	280,6	2	255,7	1
	74,7	31,2	51,5		94,2
DP	4	140,1	9	171,4	1
	8,6	9,9	1,8		11,7

Figura 13: Valores médios (mg/dL) e desvios padrões (DP) de triglicérides (TG) nos tempos jejum (TG 0) e 3 (TG 3h) e 6 horas (TG 6h) após dieta-teste, considerando o polimorfismo da apolipoproteína E (genótipos ϵ_3/ϵ_3 e ϵ_-/ϵ_4) em pacientes com doença arterial coronariana (DAC) e controles (C). a \neq b – P < 0,01; a' – P > 0,05; c – P = 0,5663; d – P = 0,785.

4. DISCUSSÃO

Este estudo confirma a associação de fatores de risco para DAC incluindo hipertensão arterial, história familiar da doença e polimorfismo da apo E, mais especificamente o alelo $\epsilon 4$, com a doença coronariana em mulheres na pós-menopausa. O perfil lipídico incluindo níveis de CT e LDLc, embora alterados em ambos os grupos, destacam-se nos pacientes com DAC em relação aos controles. Os níveis pós-prandiais de TG mostram o mesmo comportamento entre os grupos. Entretanto, sua redução acentuada nos controles portadores do alelo $\epsilon 4$ após 6 horas da dieta confere proteção a esse grupo na fase pós-prandial em relação aos pacientes. O alelo $\epsilon 4$, embora associado a DAC, não influencia os níveis séricos para o perfil lipídico em ambos os grupos, exceto para HDLc no jejum e TG na fase pós-prandial em mulheres sem a doença.

4.1 Fatores de Risco para Doença Arterial Coronariana

A obesidade, fator de risco importante para DAC, foi observada em 28% das mulheres do grupo com DAC, no entanto não se evidenciou associação estatisticamente significativa com a doença. Neste estudo foi considerado o IMC como critério para obesidade, não sendo avaliada a distribuição de gordura corporal ou a relação cintura quadril, componente da síndrome metabólica associada a DAC,⁽¹¹⁷⁾ o que pode ter interferido na análise deste fator de risco. Nesse contexto, o *Nurses Health Study* mostrou valores acima de 88 cm para circunferência da cintura associada a aumento do risco de DAC. O excesso de gordura visceral associa-se a alterações metabólicas relacionadas a resistência insulínica influenciando a fibrinólise, os fatores de coagulação e marcadores inflamatórios. Há ainda, aumento da atividade simpática e do angiotensinogênio, além de hipertensão arterial e alteração no perfil lipídico, com níveis reduzidos de HDLc, presença de partículas de LDL pequenas e densas e aumento de TG.⁽¹¹⁷⁻¹¹⁸⁾

Neste estudo, embora considerado ponto de corte para obesidade $IMC \geq 30 kg/m^2$, mesmo aquelas mulheres com sobrepeso já estariam sob risco, tendo em vista que para cada 1% de aumento no IMC desejável o risco de DAC aumenta 3,3% em mulheres e 3,6% em homens.⁽¹¹⁹⁾ A história de obesidade também é importante, pois é freqüente o aumento de peso em mulheres numa faixa etária mais tardia, diminuindo assim o tempo de exposição aos fatores prejudiciais ligados à obesidade e sua

distribuição corporal, levando-se em conta que a distribuição de gordura na mulher é mais periférica, enquanto no homem é preferencialmente central.⁽¹²⁰⁾

A hipertensão arterial, detectada em 76,6% das pacientes ora estudadas, aumenta o risco de morbidade e desenvolvimento de DAC em homens e mulheres promovendo elevação de 20% a 30% o risco de DAC e acidente vascular cerebral a cada 10mmHg de incremento na pressão sistólica.⁽³⁾ A hipertensão arterial também é associada à hipertrofia do ventrículo esquerdo em ambos os sexos, com conseqüente aumento da prevalência de eventos cardiovasculares especialmente nas mulheres. Nas pacientes estudadas, hipertensão arterial relacionou-se a DAC para níveis de CT >200mg/dL. Isso evidencia a importância da associação de fatores de risco como preditor de DAC. A hipertensão arterial é considerada o maior fator de risco independente relacionado à doença cardiovascular.⁽¹²¹⁾

Estudos da prevalência de antecedentes familiares de DAC, evidenciaram que mulheres, parentes em primeiro grau de indivíduos com DAC apresentam aumento de sete vezes no risco cardiovascular, enquanto para homens o risco é cinco vezes maior. Nesse caso, considerou-se similarmente morte pela doença em homens com menos de 55 anos e mulheres com menos de 65 anos. Ainda, estudos em gêmeos monozigóticos apresentaram maior índice de concordância para DAC que gêmeos dizigóticos (70 e 30%, respectivamente).⁽¹²²⁾ No presente estudo, história familiar foi associada a DAC, com prevalência de 70% nos pacientes, embora, referida também por 40% dos indivíduos do grupo controle. Todavia, história familiar destacou-se como fator de risco neste estudo apenas em associação com níveis elevados de colesterol (CT >240mg/dL). Nesse contexto, ressalta-se que a predisposição a DAC na presença de história familiar reflete tanto transmissão de condições herdadas quanto influências do estilo de vida transmitidas pela família, aspectos a serem considerados na investigação de antecedentes familiares.

O tabagismo, neste estudo, embora com prevalência de 32,2% nas pacientes contra 24,4% do grupo controle, não se associou a DAC. Entretanto, no *Framingham Heart Study*⁽¹²³⁾ o risco relativo de morte súbita por DAC foi 4,5 vezes maior em mulheres tabagistas. Além disso, em estudo de metanálise demonstrou-se forte associação do tabagismo com DAC e nível reduzido de HDLc relacionado ao número de cigarros consumidos, além de elevação nos níveis de LDLc e TG, aumento da pressão arterial, alterações na hemostasia e função endotelial.

No presente estudo, detectou-se, ainda, diabetes em 30% das pacientes e 22,2% dos controles. Segundo o *Hoorn Study*, o risco de mortalidade cardiovascular é 4 vezes maior em pacientes diabéticos tipo 2. Nesse caso, há risco de doença coronariana fatal em diabéticos que nunca apresentaram evento coronariano semelhante ao de pacientes que tiveram um evento coronariano, com risco maior em mulheres.⁽¹²⁴⁾ A associação de DAC e diabetes persiste mesmo quando a insulina de jejum e a hemoglobina glicada encontram-se nos limites superiores da normalidade.⁽¹²⁵⁾ Essa propensão ao risco de doença cardiovascular deve-se ao menor diâmetro arterial (aterosclerose difusa), disfunção endotelial, hipertensão arterial e exagerada resposta inflamatória e proliferativa à injúria.⁽¹²⁴⁾ Neste estudo, portanto, a avaliação com apenas uma medida de glicemia no jejum e hemoglobina glicada e o tamanho reduzido da amostra podem ter interferido com a definição de diabetes melito, subestimando os casos de intolerância a glicose com os mesmos riscos inerentes a resistência à insulina.

Embora citado por alguns autores, que 50% dos pacientes com DAC não apresentam fator de risco convencional, neste estudo todas as pacientes relataram pelo menos um fator de risco, o que também foi evidenciado por Khot *et al.* em recente metanálise com 122.458 pacientes.⁽¹²⁶⁾

4.2 Perfil Lipídico

Neste estudo, com mulheres na menopausa, as pacientes apresentaram níveis elevados de LDLc e TG. Estudos de prevenção primária e secundária também mostraram níveis elevados de LDLc⁽³⁾. A associação entre hipercolesterolemia e DAC foi observada pela primeira vez em 1930 por Muller *et al.* que relataram DAC prematura em pacientes com xantomatose.⁽¹²⁷⁾ Desde então, estudos epidemiológicos têm confirmado a relação entre colesterol elevado e DAC em homens e mulheres. Segundo estatísticas da *American Heart Association*⁽³⁾ 49% das mulheres brancas, não hispânicas, maiores de 20 anos apresentam níveis de CT acima de 200mg/dL.

Após a menopausa, os níveis de CT e partículas de LDL pequenas e densas aumentam, acompanhadas de elevação de TG, Lp(a) e redução de HDLc. O aumento nos níveis de TG é particularmente importante, por ser maior preditor de DAC em mulheres que em homens.⁽³⁾ Estudos de prevenção primária em mulheres, embora em pequeno número, têm revelado o mesmo benefício que em homens, como demonstrado

no *Air Force Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study* (AFCAPS/TexCAPS),⁽¹²⁸⁾ com 997 mulheres menopausadas em tratamento com hipolipemiante. O *Scandinavian Simvastatin Survival Study*,⁽¹²⁹⁾ um estudo de prevenção secundária, também mostrou importante redução do risco de mortalidade (34%) nas 827 mulheres tratadas com hipolipemiante com níveis de CT entre 213 e 310mg/dL.

Por outro lado, neste estudo, níveis de HDLc das pacientes embora reduzidos ($50,2 \pm 12\text{mg/dL}$) comparado aos controles ($56,5 \pm 16,7\text{mg/dL}$), mantiveram-se nos limites de referência. Níveis mais elevados de HDLc podem conferir proteção uma vez que a HDL está envolvida no transporte reverso de colesterol, manutenção da função endotelial e apresenta importante papel antioxidante e protetor contra trombose.⁽³⁾ O *Framingham Heart Study* demonstrou que níveis baixos de HDLc constituem fator de risco independente para DAC. O relatório do *National Heart, Lung and Blood Institute*, com dados de 86.000 mulheres referentes a vários estudos de coorte, demonstrou que em mulheres com idade abaixo de 65 anos, os níveis reduzidos de HDLc e elevados de LDLc foram associados com maior risco de DAC.⁽¹¹⁷⁾

Evidências acumuladas nos últimos anos sugerem que níveis elevados de TG também constituem importante fator de risco independente para DAC em mulheres entre 59 e 69 anos. Nesse caso, há aumento do risco de mortalidade por DAC de 37% ajustado para outros fatores de risco.⁽³⁾ Isso reflete a aterogenicidade de uma partícula rica em TG, que chega a transportar 5 vezes mais colesterol esterificado do que uma de LDL. Além disso, a hipertrigliceridemia associa-se a níveis reduzidos de HDLc e tem relação com níveis elevados de LDL pequenas e densas, altamente aterogênicas. Ainda, seu efeito associa-se a hipercoagulabilidade sanguínea, hiperagregabilidade plaquetária e alteração da fibrinólise por elevação do fator inibidor do ativador tecidual do plasminogênio.⁽¹¹⁷⁾

Neste estudo, ambos os grupos mostraram níveis elevados de TG. Embora sem significância estatística entre eles, as concentrações de TG foram mantidas mais elevadas nas pacientes ($197,7 \pm 113,8 \text{ mg/dL}$) comparado aos controles ($168,0 \pm 93,0 \text{ mg/dL}$; $P = 0,0567$).

4.3 Polimorfismo da Apolipoproteína E na Doença Arterial Coronariana

A associação de marcadores genéticos e doença cardiovascular, tem sido relatada em vários estudos, incluindo, como no presente trabalho, o alelo $\epsilon 4$ para apo E.⁽¹³⁰⁻¹³²⁾ A apo E é referida também no desenvolvimento de doença aterosclerótica prematura juntamente com apolipoproteína (a).⁽¹³³⁾ A frequência elevada do alelo $\epsilon 4$ (23%) é associada a risco aumentado de DAC em população finlandesa⁽⁸²⁻⁸³⁾ e morte pela doença.⁽⁸⁴⁾ Cummnings e Roberstson⁽⁸⁸⁾ relatam frequência de 0,233 para alelo $\epsilon 4$ em DAC, mas apenas nas mulheres, cujo valor é significativamente mais elevado em relação aos controles (0,147).

Nesse contexto, o presente estudo, embora com prevalência baixa do alelo $\epsilon 4$ (0,15) em mulheres com DAC na pós-menopausa comparado a outros estudos, é concordante com a literatura, considerando a distribuição significativamente reduzida nos controles (0,07). Corroborar, particularmente, com o estudo de Salazar *et al.*⁽⁹¹⁾ em casuística de mulheres brasileiras na pós-menopausa (48±9 anos) com DAC diagnosticada angiograficamente, com frequência do alelo $\epsilon 4$ de 0,23, e genótipo $\epsilon 3/\epsilon 4$ mais frequente nas pacientes (40%) em relação aos controles (14%). Por outro lado, outros estudos sustentam a ausência de associação entre polimorfismo da apo E e DAC, incluindo sobreviventes de infarto do miocárdio,⁽¹⁰⁴⁾ além de diferentes populações como chinesa,⁽⁷⁹⁾ brasileira⁽¹³⁷⁾ e grega.⁽¹³⁴⁾

O polimorfismo da apo E tem sido associado a diversidade do perfil lipídico, sendo o alelo $\epsilon 4$ um fator de risco.^(71, 135, 136) Vários autores concordam sobre a influência do polimorfismo da apo E no metabolismo de lipídios.^(31, 99) Entretanto, no presente estudo não houve associação entre polimorfismo da apo E e níveis séricos aumentados de CT e LDLc e reduzidos de HDLc, mesmo diante da frequência significativamente mais elevada do alelo $\epsilon 4$ nas pacientes. No entanto, o *Framingham Offspring Study*, embora com menor prevalência do alelo $\epsilon 4$ em mulheres na menopausa em relação à pré-menopausa, mostrou associação com níveis séricos mais elevados de LDLc, conferindo maior risco de mortalidade por DAC.⁽⁹⁴⁾ Níveis mais elevados de LDLc e CT para o genótipo $\epsilon 3/\epsilon 4$ foram evidenciados em indivíduos sobreviventes de infarto do miocárdio, assim como em irlandeses saudáveis.⁽¹³⁰⁾ Todavia, no presente estudo, embora aumentados os níveis de CT e LDLc em portadores de genótipos $\epsilon _/\epsilon 4$, principalmente nas pacientes, não houve diferença significativa entre os genótipos $\epsilon 3/\epsilon 3$ e $\epsilon _/\epsilon 4$ para ambos os grupos.

Estudo prospectivo em 14.916 homens saudáveis não identificou o alelo $\epsilon 4$ como preditor independente de risco para DAC, mas foi encontrada associação com níveis reduzidos de HDLc e elevados de LDLc e TG.⁽¹³¹⁾ Guerra *et al.*,⁽¹³²⁾ estudando fatores de risco em crianças obesas, não encontraram associação entre resistência insulínica e polimorfismo da apo E. No entanto, a relação CT/HDLc e LDLc/HDLc foi mais elevadas nos portadores do alelo $\epsilon 4$ comparado aos portadores do alelo $\epsilon 3$. Entretanto, neste estudo a relação CT/HDLc e LDLc/HDLc não se associou aos genótipos para apo E.

Vias exógenas e endógenas do metabolismo de lipídios plasmáticos evidenciam a influência da apo E no perfil lipídico. Estudos sugerem que a apoE2 determina menor grau de absorção de colesterol intestinal, enquanto a apoE4 possibilita maior absorção em relação ao fenótipo apoE3/E3. Para Weintraub *et al.*,⁽¹³⁶⁾ a remoção mais rápida de gordura da dieta do plasma em indivíduos com apoE4 pode ser um mecanismo possível para explicar níveis elevados de LDL. Nesse caso a maior captação de partículas remanescentes levaria a uma saturação dos receptores hepáticos e conseqüentemente aumento plasmático dessas partículas.

Além disso, a maior concentração de remanescentes de VLDL convertidos em LDL resulta em aumento da produção de LDLc. Isso justifica, em parte, a maior freqüência do alelo $\epsilon 4$ entre pacientes hipercolesterolêmicos, enquanto o alelo $\epsilon 2$ é mais prevalente em pacientes hipertrigliceridêmicos quando comparados à população em geral^(71, 104). A apoE2 possui baixa afinidade pelos receptores de LDL e de apo E, ligando-se fracamente a eles. Isso resulta em supra-regulação pelo receptor e subseqüente decréscimo de LDLc. Desempenhando, dessa forma, papel protetor ao reduzir a participação de um dos fatores do desenvolvimento da aterosclerose. No presente estudo, devido à baixa freqüência do alelo $\epsilon 2$ em pacientes (0,04) e controles (0,02), não foi possível avaliar sua associação com DAC e perfil lipídico.

Entretanto, a relação entre polimorfismo da apo E e DAC nem sempre é associada a alteração do perfil lipídico. Neste estudo e em outra casuística brasileira, incluindo homens e mulheres com média de idade de 60,8 anos, Essa associação não ocorreu mesmo quando selecionados apenas níveis lipídicos e de lipoproteínas acima do nível limítrofe de referência em portadores do alelo $\epsilon 4$.⁽¹³⁷⁾ Embora leve, a alteração no perfil lipídico detectada em portadores de $\epsilon 4$ pode representar evolução clínica menos favorável em relação aos pacientes com níveis mais baixos de colesterol e sem

$\epsilon 4$, o que merece investigação. Estudos epidemiológicos em prevenção secundária têm alertado para o benefício da redução do nível de colesterol plasmático.⁽¹²⁹⁾

No presente estudo, valores significativamente alterados para perfil lipídico foram encontrados nas pacientes em relação ao grupo controle, independentemente da presença do alelo $\epsilon 4$. No entanto, os controles mostraram elevados níveis séricos de HDLc, diferindo significativamente das pacientes. Nesse caso, o estudo de subgrupos, considerando os genótipos $\epsilon 3/\epsilon 3$ e $\epsilon 3/\epsilon 4$, mostrou que o alelo $\epsilon 4$, se não implica em variação no perfil lipídico de pacientes, determinou, por outro lado, aumento nos níveis de produção de HDLc e redução de TG, beneficiando surpreendentemente o grupo controle, cujos valores médios foram $70,8 \pm 20,6$ mg/dL e $131,2 \pm 49,9$ mg/dL, respectivamente, na presença de $\epsilon 4$, em comparação à $56,5 \pm 20,1$ mg/dL e $174,6 \pm 98,6$ mg/dL, respectivamente, para os genótipos $\epsilon 3/\epsilon 3$.

Por outro lado, no presente estudo, é possível que nos controles a redução de alguns fatores de risco incluindo HAS e HF, tenham contribuído particularmente para a manutenção de níveis desejáveis de HDLc e TG, mesmo diante do alelo $\epsilon 4$. No entanto, diferenças estruturais das isoformas de apoE podem influenciar o metabolismo e síntese de lipoproteínas, alterando inclusive sua habilidade em interagir com a lipase lipoprotéica durante a conversão de VLDL em LDL, Steimmetz, 1991.⁽⁵³⁾ Isso resulta em hidrólise intensa de TG presente em VLDL, reduzindo, portanto, os níveis séricos de TG. Perfil este observado apenas nos controles ora estudados portadores de genótipos $\epsilon -/\epsilon 4$, quando comparados àqueles com $\epsilon 3/\epsilon 3$. Esse processo resulta em aumento na síntese de LDLc,⁽⁵³⁾ observado também neste estudo principalmente nos controles, cujos níveis médios de CT e LDLc mostraram-se levemente alterados em presença de $\epsilon -/\epsilon 4$ ($247,8 \pm 41,7$; $150,8 \pm 40,2$ mg/dL, respectivamente) comparado a $\epsilon 3/\epsilon 3$ ($225,1 \pm 42,3$; $135,0 \pm 35,2$ mg/dL, respectivamente) o que não ocorreu nas pacientes.

Alterações nos lipídios plasmáticos mediadas pela apo E determinam pequenas variações nos níveis de TG.⁽⁷¹⁾ Nesse contexto, é possível que a transferência de partículas incluindo TG, fosfolípidos, proteínas e éster de colesterol que ocorre no processo de metabolismo e síntese de lipoproteínas, mediada por enzimas, seja acelerada na presença de apoE4, o que contribuiria para aumento nos níveis séricos de HDLc. No entanto, estudos mais amplos são necessários para esclarecer estes aspectos do metabolismo lipídico. É evidente que a predisposição para uma doença complexa

como a DAC é determinada por múltiplos fatores genéticos e ambientais. Assim, o efeito sinérgico entre polimorfismos genéticos, associados a fatores ambientais, poderia explicar variações no perfil lipídico.

4.4 Cinética de Triglicérides

O metabolismo lipídico compreende processos complexos. Alterações importantes ocorrem após uma refeição lipídica, conforme constatado neste estudo para os níveis de TG em ambos os grupos. Variações acentuadas no nível plasmático de TG são relatadas após uma dieta lipídica oferecida a indivíduos saudáveis, cujos valores foram obtidos em períodos de três a nove horas após sua ingestão.^(52, 138) Pacientes com DAC apresentaram elevação significativa de TG às três horas da fase pós-prandial em relação ao jejum, mantendo-se ainda entre três e seis horas, revelando remoção lenta dessas partículas.⁽¹³⁸⁾

Esses dados foram confirmados no presente estudo, com destaque para DAC. O grupo controle, embora com aumento de TG semelhante ao do grupo com DAC no tempo três horas, mostrou no tempo seis horas, diferente das pacientes, redução significativa no nível médio de TG. O grupo com DAC apresentou aumento nos níveis de TG (31,8%) no início da fase pós prandial (tempo 3 horas), permanecendo elevados no tempo 6 horas (30,9%), comparado ao grupo controle que apresentou maior incremento (39,7%) no tempo 3 horas, mas no intervalo 3-6 h houve redução nos níveis de TG (22,8%). Isso confirma concentrações de TG mais elevadas por tempo mais prolongado no grupo com DAC, sugerindo retardo na remoção de TG pós-prandial, enquanto no grupo controle sua remoção foi mais rápida. Nesse caso a diferença poderia ser também atribuída a valores de TG mais baixos no jejum em controles, uma vez que níveis elevados de TG já no jejum refletiriam em prejuízo na resposta pós-prandial.

Cohn *et al.*⁽⁵²⁾ destacam a heterogeneidade de respostas após uma dieta lipídica oferecida a indivíduos saudáveis. Observaram-se comportamentos diferentes para TG entre os indivíduos, com conseqüente variação no perfil dos níveis de TG. Entre eles, 23% mostraram apenas um pico para o valor máximo de TG, 50% deles tiveram dois picos e 27% três picos sem associação com sexo ou idade. Os picos foram identificados em diferentes períodos durante o estudo, incluindo 3, 4, 5, 6, 8, e 9 horas, sem que houvesse correlação com o grau de alteração nos níveis de TG no jejum. Notou-se

trigliceridemia mais alta em homens e indivíduos mais idosos. Esse tipo de variação é provavelmente controlada por fatores como taxa de produção de triglicérides no intestino, taxa de secreção de triglicérides no fígado, atividade da lipase lipoprotéica, e taxa de remoção pelo receptor de lipoproteínas ricas em triglicérides, além de processos não mediados pelo receptor⁽⁵²⁾. Estudo brasileiro em homens com DAC e controles revelou também heterogeneidade de resposta pós-prandial nos níveis de TG, com alguns pacientes apresentando níveis mais acentuado no tempo 3 horas, com redução às 6 horas, enquanto outros porém, apresentaram pico máximo às 6 horas, principalmente no grupo com DAC.⁽³⁷⁾

Um fator que poderia afetar as respostas pós-prandiais é a diferença na eficiência de absorção após excesso de dose lipídica. Independente da proporcionalidade, os níveis de TG observados no jejum são amplificados no estado pós-prandial, motivo de preocupação, visto que os seres humanos vivem quase que permanentemente nessa condição.⁽⁴⁶⁾

Atualmente, há acúmulo de evidências mostrando o papel importante da lipemia pós-prandial no processo aterogênico. Nesse contexto, tanto Qm derivados do intestino, assim como VLDL sintetizada no fígado, contribuem para trigliceridemia após ingestão de gorduras. Porém, o aumento pós-prandial no número de partículas ricas em TG ocorre principalmente às custas do aumento no nível de VLDL de grande tamanho.⁽¹³⁹⁾ Essas partículas acumulam-se após a lipemia alimentar, secundariamente à lipólise preferencial de Qm pela lipase lipoprotéica. Elas representam 90% do acúmulo de colesterol presente em lipoproteínas ricas em TG observadas durante a lipemia alimentar. Enquanto, Qm e seus remanescentes não excedem a 10% do número de partículas de VLDL. Todavia, lipoproteínas ricas em TG representam 80% do aumento da concentração plasmática no estado pós-prandial.⁽¹⁴⁰⁾ Assim, no presente estudo, a elevação nos níveis de TG pós-prandial e sua permanência na circulação por até 6 horas sugere aumento nos níveis de VLDL.

As diferenças estruturais entre as isoformas da apoE determinam sua afinidade por várias partículas de lipoproteínas. Isso pode caracterizar sua habilidade em interagir com as lipases hepática e lipoprotéica durante a hidrólise das partículas ricas em triglicérides, como VLDL e Qm, ou interferir com a síntese e remoção de TG, resultando em atraso da lipólise e ou *clearance* de TG plasmático.⁽⁸¹⁾ Anormalidades no metabolismo pós-prandial têm sido associadas à etiologia da doença aterosclerótica.

Estudos têm mostrado distúrbios na resposta pós-prandial em indivíduos diabéticos e saudáveis, caracterizada por acúmulo de partículas remanescentes e alteração na sua composição.^(141, 142)

Neste estudo os controles com alelo $\epsilon 4$ revelaram associação com níveis mais elevados de HDLc e baixos de TG, o que pode conferir proteção cardiovascular, já que a HDL está envolvida no transporte reverso de colesterol. O metabolismo de HDL está intimamente relacionado ao catabolismo de lipoproteínas ricas em TG, representadas por Qm e VLDL. Há evidências da transferência de componentes da superfície dessas partículas para HDL durante a hidrólise de TG pela lipase lipoprotéica. Isso gera um excesso dos componentes de superfície representados por proteínas, colesterol livre e fosfolipídios, formando então novas partículas de HDL.⁽⁴⁰⁾ Uma vez que a apoE estimula a ação da lipase lipoprotéica e o alelo $\epsilon 4$ associa-se a um catabolismo mais rápido de TG,⁽¹³⁶⁾ justificam-se os níveis mais elevados de HDLc e reduzidos de TG detectados no grupo controle no jejum.

Recentemente, o estudo EARS II ⁽¹⁴²⁾ permitiu analisar se um defeito no metabolismo pós-prandial poderia constituir-se em um fator de risco herdado geneticamente. Os resultados mostraram um atraso permanente na remoção de lipoproteínas ricas em TG nos pacientes com DAC e história familiar da doença em relação aos controles, embora não tenha sido excluída a produção aumentada de partículas de VLDLc. Assim, como no presente estudo, não houve diferença em relação aos fenótipos da apo E, embora as dosagens tenham se estendido por um período de apenas seis horas, eventualmente demasiado curto para demonstrar a diferença no metabolismo de TG em pacientes com DAC. Acredita-se que partículas aterogênicas ricas em TG sejam enriquecidas também com colesterol. Portanto, os resultados ora apresentados não excluem a possibilidade de associação entre modificações no metabolismo de partículas remanescentes ricas em TG e apo E com maior risco de DAC em pacientes com história familiar da doença.⁽¹⁴²⁾

Discute-se amplamente sobre a composição das lipoproteínas ricas em TG no período pós-prandial e qual sua importância na patogênese da aterosclerose, uma vez que sua composição lipídica e apolipoprotéica encontra-se alterada. Nesse contexto, Björkegreen *et al.*⁽¹⁴⁰⁾ verificaram em pacientes com DAC aumento de partículas remanescentes de VLDL grandes e pequenas, ricas em apoC-I. Interessantemente, o mesmo não ocorreu com as concentrações de apoC-II e C-III, embora seja de

conhecimento que elas também influenciam o metabolismo lipídico. Suspeita-se que o enriquecimento com apo C-I causa atraso no *clearance* de VLDL, a despeito da grande quantidade de apo E nelas contida.

Essa idéia tem sido sustentada por estudos *in vitro*, nos quais o enriquecimento das lipoproteínas ricas em TG com apo C-I inibe sua captação. Por outro lado, este modelo inibitório não afeta a capacidade dessas partículas de se ligarem a proteoglicanos na parede arterial e também não interferem com a hidrólise de triglicérides pela LLP. Portanto, o maior tempo de permanência das VLDL grandes na circulação, permite maior geração de VLDL pequenas ricas em colesterol por hidrólise de TG e enriquecimento com colesterol via HDL, assim como, maior formação de LDL pequenas e densas.⁽¹⁴⁰⁾ Da mesma forma, o estudo MARS⁽¹⁴³⁾ demonstrou que partículas de VLDL, IDL e lipoproteínas B contendo partículas LP-B, LP-B:E e LP-A-II:B::D:E contendo apo CIII, se associam à progressão de lesões ateroscleróticas.

As diferentes isoformas de apo E interferem na atividade da lipase lipoprotéica durante a conversão de VLDL a LDL.⁽⁵³⁾ Estudos de cinética mostram catabolização mais rápida de apo E4 em relação à apo E2, com velocidade mais lenta que a apo E3.⁽¹⁴⁶⁻¹⁴⁸⁾

Assim, níveis elevados de TG plasmáticos e atraso na remoção de lipoproteínas ricas em TG podem revelar um estado de intolerância à gordura, associado a risco elevado de DAC submetido ao controle genético, que não pode ser detectado por dosagens de TG no jejum. Isso foi confirmado no presente estudo cujos níveis de TG em jejum foram semelhantes entre os grupos, embora no grupo com DAC ($197,7 \pm 113,8$ mg/dL) os valores mostraram-se elevados em relação aos controles ($168,0 \pm 93,0$ mg/dL), em análise independente da apo E. Por outro lado, a diferença entre os grupos se estabeleceu quando estudada a cinética de TG após dieta-teste, revelando o grupo controle remoção mais rápida de TG, principalmente na presença do alelo $\epsilon 4$, enquanto o grupo com DAC apresentou níveis elevados ainda no tempo 6 horas após a dieta independente do polimorfismo da apoE. Além disso, é provável que a redistribuição do colesterol, resultante de repetidos aumentos da lipemia alimentar, modificaria desfavoravelmente as lipoproteínas plasmáticas, de tal forma, que possibilitaria o aumento na geração de LDL pequenas e densas e TG aterogênico.⁽¹⁴⁴⁾

A hipertensão arterial, que neste estudo se destacou como fator de risco importante para DAC, parece também associada a alterações na lipemia pós prandial,

conforme mostrado recentemente em pacientes hipertensos e controles, ambos com TG no jejum em níveis normais.⁽¹⁴⁵⁾ Nesse caso, em hipertensos os níveis de TG apresentaram elevação contínua no período de 0 a 6 horas pós-prandial, enquanto os controles saudáveis apresentaram *clearance* mais rápido, mostrando menor tempo de permanência na circulação.

Neste estudo, as pacientes não mostraram influência do alelo $\epsilon 4$ na remoção de TG, como ocorreu nos controles. Isso talvez se deva a interação dos fatores de risco individuais. Também não foi avaliada a massa de gordura visceral, componente da síndrome metabólica associada a aumento de fatores inflamatórios, alteração no sistema fibrinolítico e com influência no metabolismo das lipoproteínas ricas em TG no jejum e pós-prandial.^(126, 149-150) Além disso, considerando que hipertensão arterial e história familiar de DAC associaram-se a presença da doença, talvez outros fatores genéticos, que não a apo E, sejam determinantes ou de risco para a doença, pois as pacientes homozigóticas para o alelo $\epsilon 3$ ou apresentando pelo menos um alelo $\epsilon 4$ mostraram comportamento semelhante para a curva de lipemia pós-prandial, sem diferença ao longo do tempo.

5. CONCLUSÕES

1. Hipertensão arterial e história familiar para DAC associam-se a doença na pós-menopausa, preferencialmente diante de níveis limítrofes e aumentados de CT, respectivamente.

2. O alelo $\epsilon 4$ da apo E, embora mais prevalente em pacientes com DAC na pós-menopausa, em relação aos controles, não influencia seu perfil lipídico, entretanto, parece desempenhar efeito protetor ao associar-se a níveis elevados de HDLc apenas em mulheres na pós-menopausa sem a doença.

3. A cinética de TG, embora com perfil semelhante em ambos os grupos, revela associação entre alelo $\epsilon 4$ e remoção acelerada de TG apenas nos controles, sugerindo seu efeito protetor na fase pós-prandial de mulheres na pós-menopausa.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Davies MJ, Woolf N. Atherosclerosis: what is it and why does it occur? *Br Heart J* 1993;69(1 Suppl):S3-11.
2. Lolio CA, De Santo AH, Laurenti R. Importância da aterosclerose como causa de morte no estado de São Paulo. *Arq Bras Cardiol* 1988;51:437-9.
3. Tsang TSM, Barnes ME, Gersh BJ, Hayes SN. Risks of coronary heart disease in women: current understanding and evolving concepts. *Mayo Clin Proc* 2000;75:1289-303.
4. Willet WC, Green A, Stampfer MJ, Speizer FE, Colditz GA, Rosner B, *et al.* Relative and absolute excess risks of coronary heart disease among women who smoke cigarettes. *N Engl J Med* 1987;317:1303-9.
5. Nyboe J, Jensen G, Appleyard M, Schnohr P. Smoking and the risk of first acute myocardial infarction. *Am Heart J* 1991;122:438-47.
6. Barret-Connor E. Does hyperglycemia really cause coronary heart disease? *Diabetes Care* 1997;20:1620-3.
7. Stern M. Natural history of macrovascular disease in type 2 diabetes. role of insulin resistance. *Diabetes Care* 1999;3:2-5.
8. Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease: the Framingham study. *JAMA* 1979;241:2035-8.
9. Eastman RC, Keen H. The impact of cardiovascular disease on people with diabetes: the potential for prevention. *Lancet* 1997;350:29-32.
10. Turner RC, Millns H, Neil HAW, Stratton M, Manley SE, Matthews R, *et al.* Risk factor for coronary artery disease in non-insulin dependent diabetes mellitus: United Kingdom prospective diabetes. *Br Med J* 1998;316:823-8.

11. Estacio RO, Jeffers BW, Gifford N, Schrier RW. Effect of blood pressure control on diabetic microvascular complications in patients with hypertension and type 2 diabetes. *Diabetes Care* 2000, 23:B54-B64.
12. Steiner G. Risk factors for macrovascular disease in type 2. *Diabetes Care* 1999;22:6-9.
13. Sowers JR, Lester MA. Diabetes and cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1999;22:14-9.
14. Reaven GM. Role of insulin resistance in human disease: banting lecture. *Diabetes* 1988;37:1595-606.
15. Desprès JP, Lamarche B, Maurièce P, Cantin B, Dagenais Gr, Moorjani S, *et al.* Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996;334:952-7.
16. Coutinho M, Gerstein HC, Wang Y, Yusuf S. The relationship between glucose and incident cardiovascular events. *Diabetes Care* 1999;22:233-8.
17. Brunzell JD, Hokanson JE. Dyslipidemia of central obesity and insulin resistance. *Diabetes Care* 1999;22:10-3.
18. Kannel WB, Wilson PW, Nam BH, D'Agostino RB. Risk stratification of obesity as a coronary risk factor. *Am J Cardiol* 2002;90:697-701.
19. La Croix AZ, Newton KM, Wallace J. Healthy aging: a women's issue. *West J Med* 1997;167:220-32.
20. Gordon T, Kannel WB, Hjortland MC, McNamara PM. Menopause and coronary heart disease: the Framingham study. *Ann Intern Med* 1978;89(Pt 2):157-61.

21. Falco C, Tormog, Estelles A., Espana F, Espana F, Tromo E, Gilabert J, *et al.* Fibrinolysis and lipoprotein(a) in women with coronary arterial disease: influence of hormone replacement therapy. *Haematologica* 2001;86(Pt 1):92-8.
22. Brussaard HE, Leuven JA, Krans HM, Klufft C. The effect of 17 beta-oestradiol on variables of coagulation and fibrinolysis in postmenopausal women with type 2 diabetes mellitus. *Vascul Pharmacol* 2002;39(Pt 3):141-7.
23. Braunstein JB, Kershner DW, Bray P, Gerstenblith G, Schulman SP, Post WS, *et al.* Interaction of hemostatic genetics with hormone therapy: new insights to explain arterial thrombosis in postmenopausal women. *Chest* 2002;121(Pt 3):906-20.
24. Rosenberg L, Hennekens CH, Rosner B, Belanger C, Rothman KJ, Speizer FE. Early menopause and the risk of myocardial infarction. *Am J Obstet Gynecol* 1981;139(Pt 1):47-51.
25. Centerwall BS. Premenopausal hysterectomy and cardiovascular disease. *Am J Obstet Gynecol* 1981;139(Pt 1):58-61.
26. Gebara OCR, Mittleman MA, Sutherland P, Lipinska I, Matheny Bs, Xu P, *et al.* Association between increased estrogen status and increased fibrinolytic potential in the Framingham offspring study. *Circulation* 1995;91:1952-8.
27. Meilahn EN, Cauley JA, Tracy RP, Macy EO, Gutai JP, Kuler LH. Association of sex hormones and adiposity with plasma levels fibrinogen and PAI-1 in postmenopausal women. *Am J Epidemiol* 1996;143(Pt 2):159-66.
28. Falkeborn M, Schairer C, Naessen T, Persson I. Risk of myocardial infarction after oophorectomy and hysterectomy. *J Clin Epidemiol* 2000;53(Pt 8):832-7.

29. Zilversmit DB. A proposal linking atherogenesis to the interaction of endothelial lipoprotein lipase with triglyceride-rich lipoproteins. *Circ Res* 1973;33(Pt 6):633-8.
30. Zilversmit DB. Atherogenesis: a postprandial phenomenon. *Circulation* 1979;60:463.
31. van Beek AP, Ruijter-Heitstek FC, Erkelens DW, de Bruin TW. Menopause is associated with reduced protection from postprandial lipemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2737-41.
32. Kannel WB. Metabolic risk factors for coronary heart disease in women: perspective from the Framingham study. *Am Heart J* 1987;114:413-419.
33. Bass KM, Newschaffer CJ, Klag MJ, Bush TL. Plasma lipoprotein levels and predictors of cardiovascular death in women. *Arch Intern Med* 1993;153: 2209-2216.
34. Karpe F, Steiner G, Uffelman K, Postprandial lipoproteins and progression of coronary sclerosis. *Atherosclerosis* 1994;106:83-97.
35. Meyer E, Westerveld HE, Ruijter-Heijstek JC, van Greevenbroek MM, Rienks R, van Rijn HJ, *et al.* Abnormal postprandial apolipoprotein B-48 and triglyceride responses in normolipidemic women with greater than 70% stenotic coronary artery disease: a case-control study. *Atherosclerosis* 1996;124:221-235.
36. Giannini SD. Aterosclerose dislipidemias clínica e terapêutica: fundamentos práticos. São Paulo: BG Cultural; 1998.
37. Souza DRS. Lipídios e apolipoproteína (a) no jejum e estado pós-prandial em indivíduos com ou sem coronariopatia [tese]. São José do Rio Preto (SP): Universidade Estadual Paulista; 1994.

38. Isselbacher KJ. The hyperlipoproteinemias and other disorders of lipid metabolism. In: Isselbacher KJ, Braunwald E, editores. Harrison's principles of internal medicine. 13th ed. New York: McGraw-Hill; 1995.
39. Dominiczak MH. Bimonthly update: lipidology: hyperlipidaemia and cardiovascular disease. *Curr Opin Lipidol* 1997;8(Pt 6):84-5.
40. Gotto AM. In: editor. Contemporary Diagnosis and Management of Lipid Disorders. Handbooks in Health Care Co., Newtown, Pennsylvania, USA. 2001.
41. Garcia RC, Oliveira HCF. Fisiologia das lipoproteínas. In: Quintão ECR, editor. Colesterol e Aterosclerose. Rio de Janeiro Qualitymark Editora; 1992.
42. Dominiczak MH. Apolipoproteins and lipoproteins in human plasma. In: Dominiczak MH Handbook of Lipoprotein Testing. Washington: AACC Press, 1997.
43. Acton SL, Kozarsky KF, Rigotti A. The HDL receptor SR-BI: a new therapeutic target for atherosclerosis? *Mol Med Today* 1999;5(Pt 12):518-24.
44. Fruchart JC. Peroxisome proliferator-activated receptor-alpha activation and high-density lipoprotein metabolism. *Am J Cardiol* 2001;88(Pt 12A):24-29.
45. Tailleux A, Duriez P, Fruchart JC, Clavey V. Apolipoprotein A-II, HDL metabolism and atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2002;164(Pt 1):1-13.
46. Maranhão RC, Garicochea B, Silva EL, Llacer PD, Pileggi FJC, Chamone DAF. Increased plasma removal of microemulsion resembling the lipid phase of low density lipoproteins (LDL) in patients with acute myeloid leukemia. *Braz J Med Biol Res* 1992;25:1003-7.
47. Maranhão RC, Garicochea B, Silva EL, Llacer PD, Cadena MS, Coelho IJC. Plasma kinetics and biodistribution of a lipid emulsion resembling low density lipoprotein in patients with acute leukemia. *Cancer Res* 1994;54:4660-4.

48. Hungria VTM. Cinética plasmática de quilomícrons artificiais em pacientes portadores de mieloma múltiplo [dissertação]. São Paulo (SP): Universidade de São Paulo; 1997.
49. Lima JGG, Latrilha MCM, Taffoletto O, Ianhez LE, Krieger EM, Maranhão RC. Plasma kinetics of chylomicron like emulsion in renal transplant patients receiving cyclosporim based immussupression. *Clin Cardiol* 1998;21:411-3.
50. De Marchi MA. Efeito do tratamento com isotretinoína sobre lipoproteínas, apolipoproteínas e cinética plasmática dos quilomícrons em pacientes com acne. [dissertação]. São José do Rio Preto (SP) Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto; 1999.
51. Maranhão RC, Feres MC, Martins MT, Mesquita CH, Toffoletto O, Vinagre CGC. Plasma kinetics of a chilomicron-like emulsion in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1996;126:15-25.
52. Cohn JS, Mcnamara JR, Cohn SD, Ordovas SM, Schaefer EJ. Postprandial plasma lipoprotein changes in human subjects of different ages. *J Lipid Res* 1988;29:469-79.
53. Steinmetz A. Clinical implications of the apolipoprotein E polymorphism and genetic variants: current methods for apo E phenotyping. *Ann Biol Clin* 1991;49:1-8.
54. Gylling H, Kontula K, Miettinen TA. Cholesterol absorption and metabolism and LDL cinetics in healthy men with different apolipoprotein E phenotypes and apolipoprotein B Xba I and LDL receptor Pvu II genotypes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1995;15:208-13.

55. Wu LH, Wu JT, Hopkins P. Apolipoprotein E: laboratory determinations and clinical significance. In: Rifai N, Warnick GH, Dominiczak MH, editors. Handbook of lipoprotein testing. Washington: AACCC Press; 1997. p. 598.
56. Shore VG, Shore B. Heterogeneity of human plasma very low density lipoproteins: separation of species differing in protein components. *Biochemistry* 1973;12:502-7.
57. Mahley RW, Innerarity TL, Rall Jr SC, Weisgraber KH. Plasma lipoproteins: apolipoprotein structure and function. *J Lipid Res* 1984;25:1277-94.
58. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
59. Mahley RW. Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science* 1988;240:622-30.
60. Kowal RC, Herz J, Goldstein JL, Esser V, Brown M.S. Low density lipoprotein receptor-related proteins mediates uptake of cholesteryl esters derived from apolipoprotein E- enriched lipoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989;86:5810-4.
61. Beisiegel U, Weber W, Ihrke G, Herz J, Stanley KK. The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. *Nature* 1989;341:162-4.
62. Mahley RW, Weisgraber KH, Innerarity TL, Rall SC Jr. Genetic defects in lipoprotein metabolism. Elevation of atherogenic lipoproteins caused by impaired catabolism. *JAMA* 1991;265(1):78-83
63. Strittmatter WJ. Apolipoprotein E and Alzheimer's disease. *Ann N Y Acad Sci.* 2000;924:91-2.
64. Nathan BP, Bellosta S, Sanan DA. Differential effects of apolipoprotein E3 and E4 on neuronal growth in vivo. *Science* 1994;264:850-2.

65. Vauhkonen I, Niskanen L, Ryyanen M, Vouilainen R, Pertanen J, Toyry J, *et al.* Divergent association of apolipoprotein E polymorphism with vascular disease in patients with NIDDM and control subjects. *Diabet Med* 1997;14:748-56.
66. Zannis VI. Molecular biology of human apolipoprotein B and E and associated diseases of lipoprotein metabolism. *Adv Lip Res* 1989;23:2-64.
67. Rall Jr SC, Weisgraber KH, Mahley RW. Human apolipoprotein E: the complete amino acid sequence. *J Biol Chem* 1982;257:4171-8.
68. Utermann G, Hees M, Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nature* 1977;269:604-7.
69. Zannis VI, Just PW, Breslow JL. Human apolipoprotein E isoprotein subclasses are genetically determined. *Am J Hum Genet* 1981;33:11-24.
70. Utermann G, Steinmetz A, Weber W. Genetic control of human apolipoprotein E polymorphism: comparison of one- and two-dimensional techniques of isoprotein analysis. *Hum Genet* 1982;60:344-51.
71. Davignon J, Gregg RE, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis* 1988;8:1-21.
72. Kamboh MI, Ferrell RE, Kottke BA. Expressed hypervariable polymorphism of apolipoprotein (a). *Am J Hum Genet* 1991;49:1063-74.
73. Kamboh MI, Weiss KM, Ferrel RE. Genetic studies of human apolipoproteins: XVI. Apoe polymorphism and cholesterol levels in Mayans of Yucatan Peninsula, Mexico. *Clin Gen* 1991;39:26-32.
74. Goedert M, Strittmatter WJ, Roses AD. Alzheimer Disease: Risky apolipoprotein in brain. *Nature* 1994;372:45-6.

75. Mak YT, Chiu H, Wood J, Kay R, Chan YS, Hui E, *et al.* Apolipoprotein E genotype and Alzheimer's disease in Hong Kong elderly Chinese. *Neurology* 1996;46:146-9.
76. Laskowitz DT, Sheng H, Bart RD, Joyner KA, Roses AD, Warner DS. Apolipoprotein E: deficient mice have increased susceptibility to focal cerebral ischemia. *J Cereb Blood Flow Metab* 1997;17:753-8.
77. Margaglione M, Seripa D, Gravina C, Grandone E, Vecchione G, Cappucci G. Prevalence of apolipoprotein E in healthy subjects and survivors of ischemic stroke. *Stroke* 1998;29:399-403.
78. Zerba KE, Ferrell RE, Sing CF. Genotype-environment interaction: apolipoprotein E (apo E) gene effects and age as an index of time and spatial context in the human. *Genetics* 1996;143:463-78.
79. Xhignesse M, Lussier-Cacan S, Sing CF, Kessling AM, Davignon J. Influences of common variants of apolipoprotein E on measures of lipid metabolism in a sample selected for health. *Arterioscler Thromb* 1991;11:1100-10.
80. Utermann G, Pruin N, Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E: III. effect of a single polymorphic gene locus on plasma lipid levels in man. *Clin Genet* 1979;15:63-72.
81. Siest G, Pillot T, Régis-Bailly A, Leininger-Muller B, Steinmetz J, Galteau MM, *et al.* Apolipoprotein E: an important gene and protein to follow in laboratory medicine. *Clin Chem* 1995;41(Pt 8):1068-86.
82. Lehtimäki T, Moilanen T, Nikkari T, Solakivi T, Porkka K, Ehnholm C, *et al.* Regional differences in apolipoprotein E polymorphism in Finland. *Ann Med* 1991;23:61-66.

83. Ehnholm C, Lukka T, Kuusi E, Nikkila E, Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *J Lipid Res* 1986;27:227-35.
84. Boerwinkle E, Visvikis S, Welch D, Steinmetz J, Hanash S, Sing CF. The use of measured genotype information in the analysis of quantitative phenotypes in man. II: the role of apolipoprotein E polymorphism in determining levels, variability, and covariability of cholesterol, beta-lipoprotein and triglyceride levels in a sample of unrelated individuals. *Am J Med Genet* 1987;27:567-82.
85. Fumeron F, Rigaud D, Bertiere MC, Bardon S, Dely C, Alpelbaum M. Association of apolipoprotein 4 allele with hypertriglyceridemia in obesity. *Clin Genet* 1988;34:258-64.
86. Gueguen R, Visvikis S, Steinmetz J, Siest G, Boerwinkle E. An analysis of genotype effect and their interactions by using the apolipoprotein E polymorphism and longitudinal data. *Am J Hum Genet* 1989;45:793-802.
87. Utermann G, Jaeschke M, Menzel J. Familial hyperlipoproteinemia type III: deficiency of a specific apolipoprotein (apo E III) in the very low density lipoproteins. *FEBS* 1975;56:352-5.
88. Cumming AM, Robertson FW. Polymorphism at the apoprotein-E locus in relation to risk of coronary disease. *Clin Genet* 1984;25:310-3.
89. Lenzen HJ, Assmann G, Buchwalsky R, Schulte H. Association of apolipoprotein E polymorphism, low density lipoprotein, and coronary artery disease. *Clin Chem* 1986;32:778-81.
90. Kuusi T, Nieminen MS, Ehnholm C, Yki-Jarvinen H, Valle M, Nikkila EA, *et al.* Apolipoprotein E polymorphism and coronary artery disease: angiographically verified coronary patients. *Arteriosclerosis* 1989;(9)237-41.

91. Salazar LA, Hirata MH, Giannini SD. Seven DNA polymorphism at the candidate genes of atherosclerosis in Brazilian women with angiographically documented coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 2000;300:139-49.
92. Frikke-Schmidt R, Wittrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Meinertz H, Scnober P, Nordestgaard BG. Apolipoprotein E genotypes predict attendance rates at lipid clinic. *Atherosclerosis* 2000;153(Pt 2):461-8.
93. Lehtimaki T, Moilanen T, Viikari J, Akerblom HK, Ehnholm C, Ronnema T, *et al.* Apolipoprotein E phenotypes in finnish youths: a cross sectional and 6-year follow-up study. *J Lipid Res* 1990;31:487-95.
94. Schaefer EJ, Lamon-Fava S, Johnson S, Ordovas JM, Schaefer M, Castelli WP, *et al.* Effects of gender and menopausal status on the association of apolipoprotein e phenotype with plasma lipoprotein levels: results from the Framingham offspring study. *Arterioscler Thromb* 1994;14:1105-13.
95. Heikkinen AM, Niskanen L, Ryyanen M, Komulainen MH, Tuppurainen MT, Parviainen M, *et al.* Is the response of serum lipids and lipoproteins to postmenopausal hormone replacement therapy modified by apo E genotype? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19(Pt 2):402-7.
96. Skene JHP, Shooter EM. Denervated sheath cells secrete a new protein after nerve injury. *Proc Nat Acad Sci USA* 1983;80:4169-73.
97. Stoll G, Mueller HW. Macrophages in the peripheral nervous system and astroglia in the central nervous system of rat commonly express apolipoprotein E during development but differ in their response to injury. *Neurosci Lett* 1986;72:233-8.

98. Stoll G, Mueller HW, Trapp BD, Griffin JW. Oligodendrocytes but not astrocytes express apolipoprotein E after injury of rat optic nerve. *Glia* 1989;2:170-6.
99. Pedro-Botet J, Senti M, Nogues X, Rubiès-Prat J, Roquer J, D'olhaberriague L. Lipoprotein and apolipoprotein profile in men with ischemic stroke: role of lipoprotein(a), triglyceride-rich lipoproteins and apolipoprotein E polymorphism. *Stroke* 1992;23:1556-62.
100. Peng DK, Zhao SP, Wang JL. Lipoprotein (a) and apolipoprotein E epsilon 4 as independent risk factors for ischemic stroke. *J Cardiovasc Risk* 1999;6:1-6.
101. McCarron MO, DeLong D, Alberts MJ. ApoE genotype as a risk factor for ischemic cerebrovascular disease: a meta-analysis. *Neurology* 1999;53:1308-11.
102. Ferruci L, Guralnik JM, Pahor M, Harris T, Corti MC, Hyman BT. Apolipoprotein E ϵ 2 allele and risk of stroke in the older population. *Stroke* 1997;28:2410-6.
103. Nakata Y, Katsuya T, Rakugi H, Takami S, Noriyuki S, Kamide K. Polymorphism of angiotensin converting enzyme, angiotensinogen, and apolipoprotein E genes in a japanese population with cerebrovascular disease. *Am J Hypertens* 1997;10:1391-5.
104. Utermann G, Hardewig A, Zimmer F. Apolipoprotein E phenotypes in patients with myocardial infarction. *Hum Genet* 1984;65:237-41.
105. Utermann G, Kindermann I, Kaffarnik H, Steinmetz A. Apolipoprotein E phenotypes and hyperlipidemia. *Hum Genet* 1984;65:232-236.
106. Pablo-Mendez A, Mayeux R, Ngai C, Berglund L. Association of Apo E polymorphism with plasma levels in multiethnic elderly population. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:3534-41.

107. Aguilar CA, Talavera G, Ordovas JM. The apolipoprotein E4 allele is not associated with an abnormal lipid profile in a native american population following its traditional lifestyle. *Atherosclerosis* 1999;142(Pt 2):409-14.
108. Shen X, Xia Y, Sass C. Association of apolipoprotein E polymorphism and concentration with serum lipids and apolipoprotein level in the chinese from Shanghai. *Clin Chem Lab Med* 1998;36(Pt 8):615-9.
109. Scaglione L, Bergerone S, Gambino R. Role of lipid, apolipoprotein levels and apolipoprotein E genotype in young italian patients with myocardial infarction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1999;9(Pt 3):118-24.
110. Boudreau DA, Scheer WD, Malcom GT. Apolipoprotein E and atherosclerosis in Greenland unit. *Atherosclerosis* 1999;145(Pt 1):207-19.
111. American Diabetes Association: consensus development conference on the diagnosis of coronary heart disease in people with diabetes. *Diabetes Care* 1998;21:1551-9.
112. IV Consenso Brasileiro de Hipertensão Arterial. *Arq Brás Cardiol* 2004;Suppl 4 :7-22.
113. III Diretrizes Brasileiras sobre Dislipidemias e Diretriz de Prevenção da Aterosclerose do Departamento de Aterosclerose. Consenso Brasileiro sobre Dislipidemias da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arq Brás Cardiol* 2001;77:Supl III.
114. du Bois D, du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. *Arch Int Med* 1916;17:863-71. Franco GVE. *Nutrição: texto básico e tabela de composição química dos alimentos*. 6ª ed. Ateneu: Rio de Janeiro; 1982.

115. Gustincich S, Manfioletti G, Del San G, Schnider C. A fast method for high-quality genomic DNA extraction from whole human blood. *Biotechniques* 1991;11:298-301.
116. Hixson JP, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with *Hha* I. *J Lip Res* 1990;31:545-8.
117. Nguyen VHD, McLaughlin MA. Coronary artery disease in women: a review of emerging cardiovascular risk factors. *Mount-Sinai J Med* 2002;69:338-49.
118. Arad Y, Newstein D, Cadet F, Roth M, Guerci AD. Association of multiple risk factors and insulin resistance with increased prevalence of asymptomatic coronary artery disease by an electron-beam computed tomographic study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:2051-8.
119. Anderson JW, Konz EC. Obesity and disease management: effects of weight loss on comorbid conditions. *Obes Res* 2001;9:326-34.
120. Jousilahti P, Tuomilehto J, Vartiainen E, Pekkanen J, Puska P. Body weight, cardiovascular risk factors, and coronary mortality. *Circulation* 1996;93:1372-9.
121. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group: Mortality rates after 10.5 years for participants in the multiple risk factor interventional trial: findings related to a priory hypothesis of the trial. *JAMA* 1990;263:1795-801.
122. Levy D, Wilson PWF. Atherosclerotic cardiovascular disease: an epidemiologic perspective. In: Topol EJ, editor. *Textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia: Lippincott-Raven; 1998.
123. Milei J, Grana DR. Mortality and morbidity from smoking-induced cardiovascular disease: the necessity of the cardiologist's involvement and commitment. *Int J Cardiol* 1998;67:95-109.

124. Becker A, Bos G, De Vegt F, Kostense PJ, Dekker JM, Nijpels G, *et al.* Cardiovascular events in type 2 diabetes: comparison with nondiabetic individuals without and with prior cardiovascular disease. 10-year follow-up of the Hoorn study. *Eur Heart J* 2003;24:1406-13.
125. Muhlestein JB, Anderson JL, Horne BD, Lavasani F, Allen Maycock CA, Bair TL, *et al.* Intermountain Heart Collaborative Study Group. Effect of fasting glucose levels on mortality rate in patients with and without diabetes mellitus and coronary artery disease undergoing percutaneous coronary intervention. *Am Heart J* 2003;146:315-8
126. Khot UN, Khot MB, Bajzer CT, Sapp SK, Ohman EM, Brener SJ, *et al.* Prevalence of conventional risk factors in patients with coronary heart disease. *JAMA* 2003;290:898-904.
127. Muller C. Xanthomata, hypercholesterolemia, angina pectoris. *Acta Med Scand* 1938;89:48-84.
128. Downs AE, Clearfield M, Weis S, Whitney E, Shapiro DR, Beere PA, *et al.* Primary prevention of acute coronary events with lovastatin in men and women with average cholesterol levels: results of AFCAPS/Tex-CAPS Air Force/Texas Coronary Atherosclerosis Prevention Study. *JAMA* 1998;2789:1615-22.
129. Kjekshus J, Pedersen TR. Reducing the risk of coronary events: Evidence from the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Am J Cardiol* 1995;76:64-8.
130. Sheehan D, Bennett T, Cashman K. Apolipoprotein E gene polymorphisms and serum cholesterol in healthy Irish adults: a proposed genetic marker for coronary artery disease risk. *Ir J Med Sci* 2000;169(Pt 1):50-54.

131. Liu S, Ma J, Ridker PM, Breslow JL, Stampfer MJ. A prospective study of the association between APOE genotype and the risk of myocardial infarction among apparently health men. *Atherosclerosis* 2003;166:323-9.
132. Guerra A, Rego C, Castro EM, Seixas S, Rocha J. Influence of apolipoprotein e polymorphism on cardiovascular risk factors in obese children. *Ann Nutr Metab* 2003;37:49-54.
133. Horejsi B, Ceska R. Apolipoproteins and atherosclerosis: apolipoprotein E and apolipoprotein(a) as candidate genes of premature development of atherosclerosis. *Physiol Res* 2000;49(Supl 1):63-9.
134. Kolovou G, Yiannakouris N, Hatzivassiliou M, Malakos J, Daskalova D, Hatzigeorgiou G, *et al.* Association of apolipoprotein E polymorphism with myocardial infarction in Greek patients with coronary artery disease. *Curr Med Res Opin* 2002;18(Pt 3):118-24.
135. Kobayashi J, Saito Y, Taira K, Hikita M, Takahashi K, Bujo H, *et al.* Effect of apolipoprotein E3/4 phenotype on postprandial triglycerides and retinyl palmitate metabolism in plasma from hyperlipidemic subjects in Japan. *Atherosclerosis* 2001; 154(3):539-546.
136. Weintraub MS, Eisenberg S, Breslow JL. Dietary fat clearance in normal subjects is regulated by genetic variation in apolipoprotein E *J Clin Invest* 1987;80:1571-5.
137. Nakachima L, Biagioni RB, Mafra VT, Brandão AC, Tácito LHB, Trindade DM, *et al.* Relevância do alelo ε4 para apolipoproteína E em perfil lipídico e doença arterial coronária. *Rev HC FMRP USP* 2001;34:20.

138. Souza DRS, Maranhão RC, Varella-Garcia M, Vilafanha D, Santos AB, Pileggi F, et al. Postprandial levels of lipoprotein(a) in subjects with or without coronary artery disease. *Int J Cardiol* 1996;53:94-6.
139. Bjorkegren J, Hamsten A, Milne RW, Karpe F. Alterations of VLDL composition during alimentary lipemia. *J Lipid Res* 1997;38(Pt 2):301-14.
140. Bjorkegren J, Karpe F, Milne RW, Hamsten A. Differences in apolipoprotein and lipid composition between human chylomicron remnants and very low density lipoproteins isolated from fasting and postprandial plasma. *J Lipid Res* 1998;39(Pt 7):1414-20.
141. Mekki N, Christofilis MA, Charbonnier M, Atlan-Gepner, Defoort C, Juhel C, *et al.* Influence of obesity and body fat distribution on postprandial lipemia and triglyceride-rich lipoprotein in adult women. *J Clin Endocrinol Metab* 1999;84:184-91.
142. Dallongeville J, Tiret L, Visvikis S, O'Reilly DS, Saava M, Tsitouris G, *et al.* Effect of apo E phenotype on plasma postprandial triglyceride levels in young male adults with and without a familial history of myocardial infarction: the EARS II study. *Atherosclerosis* 1999;145:381-8.
143. Hodis NH, Mack WJ. Triglyceride-rich lipoproteins and progression of atherosclerosis. *Eur Heart J* 1998;19:40-4.
144. Karpe F, Hellenius ML, Hamsten A. Differences in postprandial concentrations of very low density lipoprotein and chylomicron remnants between normotriglyceridemic and hypertriglyceridemic men with and without coronary heart disease. *Metabolism* 1999;48(Pt 3):301-7.

145. Kolovou GD, Daskalova DCH, Iraklianiou AS, Adamopoulou EN, Pilatis ND, Hatzigeorgiou GC, *et al.* Postprandial lipemia in hypertension. *J Am Coll Nutr* 2003;22:80-7.
146. Gregg RE, Zech LA, Schaefer EL, Brewer HBJr. Apolipoprotein E metabolism in normolipoproteinaemic human subjects. *J Lipid Res* 1984;24:1167-1170.
147. Gregg RE, Zech LA, Schaefer EL, Stark D, Wilson D, Brewer HBJr. Abnormal in vivo metabolism of apolipoprotein E in humans. *J Clin Invest* 1986;78:815-20.
148. Bergeron N, Havel RJ. Prolonged postprandial responses of lipids and apolipoproteins in triglyceride-rich lipoproteins of individuals expressing an apolipoprotein epsilon 4 allele. *J Clin Invest* 1996;97(1):65-72.
149. Blackburn P, Cote M, Lamarche B, Couillard C, Pascot A, Tremblay A, Bergeron J, Lemieux I, Despres JP. Impact of postprandial variation in triglyceridemia on low-density lipoprotein particle size. *Metabolism* 2003;52(11):1379-86
150. Wagner Fahlin AM, Sanchez Quesada JL, Pérez Pérez A. Diabetes mellitus y lipemia posprandial. *Endocrinol Nutr* 2000;47(10):311-21.

APÊNDICES

APÊNDICE 2

Quadro 2: Características clínicas em pacientes em pós-menopausa portadoras de doença arterial coronariana.

Nº	Idade (anos)	IMC kg/m ²	AST U/mL	ALT U/mL	Glic mg/dL	Creat. mg/dL	TSH µU/dL	T4L ng/dL	Fenótipo Apo E
1	52	25,1	18,0	22,0	128	0,5	0,3	1,9	E3/E4
2	65	30,6	6,0	7,0	88	0,5	1,1	1,4	E3/E3
3	58	29,9	18,0	20,0	140	0,9	2,1	1,1	E3/E4
4	50	29,5	7,0	6,0	89	0,9	1,4	1,2	E3/E3
5	65	30,8	17,0	18,0	107	1,1	1,8	1,1	E3/E3
6	61	45,9	15,0	13,0	198	0,8	2,5	1,0	E3/E3
7	54	28,8	18,0	16,0	87	0,8	1,2	1,1	E4/E4
8	62	29,7	7,0	13,0	114	0,9	1,6	1,4	E3/E3
9	56	30,3	16,0	21,0	105	0,9	1,2	1,1	E3/E4
10	64	31,3	16,0	13,0	89	0,9	0,7	1,4	E3/E3
11	57	30,9	15,0	15,0	98	0,8	4,5	1,3	E3/E3
12	50	26,8	15,0	9,0	83	0,8	6,5	0,9	E4/E4
13	62	32,0	9,0	8,0	375	1,3	4,4	1,0	E2/E2
14	65	27,6	10,0	7,0	100	0,4	2,4	1,0	E3/E3
15	65	28,1	7,0	7,0	293	0,8	1,2	1,4	E3/E4
16	64	22,0	8,0	12,0	108	1,0	3,0	0,9	E3/E4
17	65	30,3	12,0	5,0	100	0,7	2,3	1,0	E3/E3
18	62	30,1	15,0	17,0	98	0,8	1,9	1,2	E2/E4
19	65	26,6	10,0	8,0	128	1,3	2,7	1,2	E3/E3
20	65	34,4	12,0	11,0	134	0,8	0,3	1,3	E3/E3
21	57	25,0	8,0	6,0	109	0,5	3,5	1,2	E4/E4
22	62	19,3	10,0	13,0	113	0,9	0,3	1,3	E3/E4
23	64	28,6	15,0	13,0	99	0,7	2,2	1,1	E3/E3
24	63	30,3	7,0	6,0	140	0,7	5,7	0,9	E3/E3
25	65	20,7	10,0	6,0	90	0,7	1,0	2,1	E3/E3
26	64	27,3	10,0	21,0	128	0,7	2,3	1,1	E3/E3
27	59	28,6	10,0	8,0	79	0,6	1,0	0,9	E3/E3
28	65	28,7	9,0	10,0	132	0,7	1,1	0,8	E3/E3
29	65	22,4	10,0	7,0	75	0,5	2,3	0,9	E3/E3
30	63	21,0	12,0	10,0	89	0,5	1,3	1,0	E3/E3

Continua

Nº	Idade (anos)	IMC kg/m ²	AST U/mL	ALT U/mL	Glic mg/dL	Creat. mg/dL	TSH µU/dL	T4L ng/dL	Fenótipo Apo E
31	53	26,0	7,0	5,0	88	0,4	1,8	0,9	E2/E3
32	63	29,0	7,0	8,0	132	0,3	4,7	1,1	E3/E3
33	64	24,7	10,0	9,0	145	1,1	1,2	1,4	E3/E3
34	50	23,2	18,0	20,0	111	1,0	0,2	1,5	E3/E3
35	65	29,0	12,0	9,0	69	0,8	3,5	0,9	E3/E3
36	65	26,6	7,0	21,0	87	0,8	1,7	0,9	E3/E4
37	64	29,5	7,0	7,0	85	1,1	1,9	1,0	E3/E3
38	55	24,7	13,0	13,0	82	0,9	0,7	1,3	E3/E3
39	57	24,2	13,0	13,0	82	0,9	0,7	1,2	E2/E3
40	49	25,4	12,0	10,0	97	1,1	5,0	0,2	E3/E4
41	61	25,3	15,0	17,0	111	0,9	1,5	1,4	E3/E4
42	65	23,5	5,0	13,0	104	0,9	1,5	1,1	E3/E3
43	62	38,0	8,0	6,0	227	1,0	1,1	1,6	E3/E3
44	68	30,8	11,0	4,0	219	0,8	1,3	1,2	E3/E3
45	49	46,2	38,0	39,0	173	1,1	3,4	1,1	E3/E4
46	59	26,0	17,0	22,0	114	0,8	3,4	1,1	E3/E4
47	65	24,9	24,0	20,0	178	0,5	0,7	1,1	E3/E3
48	65	33,8	14,0	5,0	89	0,8	1,9	1,2	E3/E3
49	50	27,3	13,0	12,0	88	0,4	1,6	1,1	E3/E3
50	57	34,7	8,0	3,0	124	0,6	0,8	1,4	E3/E4
51	65	33,2	8,0	11,0	103	0,9	1,5	1,2	E3/E4
52	47	25,7	28,0	15,0	102	0,3	3,4	1,1	E2/E3
53	65	24,3	34,0	31,0	95	0,5	5,0	1,1	E3/E3
54	52	28,1	34,0	31,0	95	0,5	5,0	1,1	E3/E4
55	61	29,8	16,0	12,0	147	0,4	2,5	0,9	E3/E3
56	65	25,3	8,0	25,0	127	0,7	3,7	0,9	E3/E3
57	61	31,7	23,0	8,0	214	1,2	1,5	1,2	E3/E3
58	64	24,1	17,0	8,0	100	0,5	4,5	1,1	E3/E3
58	57	25,3	15,0	32,0	103	0,5	4,3	1,3	E3/E4
60	64	20,4	15,0	17,0	111	0,5	1,4	1,2	E3/E3
61	59	25,7	25,0	6,0	89	0,5	2,4	1,1	E3/E3
62	59	24,2	24,0	20,0	113	0,4	2,0	0,9	E3/E3

Continua

Nº	Idade (anos)	IMC kg/m ²	AST U/mL	ALT U/mL	Glic mg/dL	Creat. mg/dL	TSH µU/dL	T4L ng/dL	Fenótipo Apo E
63	65	27,9	24,0	12,0	114	0,9	2,4	1,0	E3/E3
64	59	43,1	20,0	18,0	173	1,3	3,1	0,9	E3/E3
65	65	33,2	17,0	17,0	159	1,1	3,4	0,9	E3/E4
66	57	37,5	20,0	27,0	217	1,1	3,2	1,4	E3/E3
67	64	27,9	23,0	24,0	97	2,5	0,7	1,1	E3/E3
68	62	27,3	22,0	15,0	83	1,1	5,5	1,0	E3/E3
69	56	46,9	19,0	22,0	84	1,1	2,8	1,4	E3/E4
70	64	28,5	24,0	25,0	99	1,1	2,8	1,0	E3/E3
71	63	32,4	18,0	11,0	84	1,3	1,8	1,0	E3/E3
72	55	33,3	15,0	10,0	76	0,7	2,0	1,2	E3/E3
73	52	23,9	13,0	13,0	150	0,6	1,1	1,1	E3/E3
74	70	29,5	18,0	16,0	86	1,0	5,3	1,3	E3/E3
75	52	32,1	32,0	22,0	80	1,0	3,6	1,4	E3/E4
76	67	30,7	32,0	25,0	100	1,4	3,2	1,3	E3/E3
77	71	33,6	28,0	24,0	96	1,4	3,0	1,3	E3/E3
78	70	26,3	25,0	28,0	90	1,0	2,1	1,2	E3/E3
79	61	26,8	29,0	23,0	105	1,2	1,3	1,2	E3/E3
80	51	23,3	19,0	16,0	215	1,0	0,8	1,2	E4/E4
81	58	27,6	31,0	42,0	92	1,0	2,2	1,1	E3/E3
82	67	23,2	20,0	17,0	95	1,0	1,3	0,9	E3/E3
83	66	23,1	29,0	16,0	92	1,1	0,6	1,8	E3/E3
84	73	26,2	25,0	18,0	100	1,1	3,2	1,4	E3/E3
85	56	24,5	27,0	23,0	88	1,0	1,5	1,3	E3/E3
86	56	25,0	20,0	17,0	95	1,0	2,1	1,1	E3/E3
87	60	23,9	21,0	9,0	85	0,9	2,2	1,6	E2/E3
88	60	23,8	16,0	26,0	215	0,9	2,9	1,5	E3/E3
89	50	20,0	27,0	13,0	103	1,0	1,6	1,3	E3/E3
90	70	28,9	21,0	18,0	93	1,2	3,6	1,3	E3/E3

IMC = Índice de massa corpórea; AST = Aspartato transferase; ALT = Alanina transferase; Glic = Glicemia; Creat. = Creatinina; TSH = Hôrmonio estimulante da tireóide; T4L = T4 livre.

APÊNDICE 3

Quadro 3: Características clínicas em controles em pós-menopausa.

Nº	Idade (anos)	IMC kg/m ²	AST U/mL	ALT U/mL	Glic mg/dL	Creat. mg/dL	TSH μU/dL	T4L ng/dL	Fenótipo Apo E
1	51	24,8	17,0	15,0	73	0,9	3,0	1,0	E3/E3
2	65	24,0	18,0	15,0	81	1,3	1,9	1,3	E3/E3
3	64	27,0	17,0	23,0	153	0,9	1,2	1,2	E3/E3
4	58	24,0	21,0	19,0	132	0,8	2,1	1,1	E3/E4
5	54	23,3	23,0	21,0	96	1,1	1,3	1,4	E3/E3
6	55	22,0	21,0	18,0	129	0,9	0,9	2,3	E2/E3
7	71	25,6	20,0	22,0	92	1,4	1,3	1,5	E3/E3
8	61	32,9	16,0	17,0	86	0,8	2,6	1,0	E3/E4
9	58	28,9	18,0	24,0	214	0,9	2,4	1,4	E3/E3
10	51	28,8	23,0	24,0	90	0,9	2,1	1,8	E3/E3
11	58	26,7	22,0	18,0	101	1,0	1,7	1,4	E3/E3
12	66	26,6	21,0	23,0	122	1,2	0,1	1,3	E3/E3
13	64	25,6	21,0	19,0	80	1,2	4,7	0,9	E3/E4
14	66	23,8	21,0	17,0	247	1,0	0,8	1,5	E3/E3
15	52	25,7	21,0	21,0	87	1,0	1,0	1,5	E3/E3
16	55	31,2	21,0	20,0	98	1,0	0,7	1,2	E3/E4
17	62	29,6	17,0	22,0	92	1,1	0,6	1,9	E2/E3
18	64	24,1	25,0	21,0	93	0,9	1,1	1,7	E3/E4
19	60	25,0	26,0	15,0	93	0,1	1,8	1,0	E3/E4
20	66	26,6	25,0	18,0	107	0,7	0,0	3,4	E3/E3
21	53	27,1	20,0	19,0	85	0,8	2,1	1,1	E3/E3
22	69	34,6	23,0	18,0	102	1,0	1,4	1,2	E3/E3
23	54	28,9	15,0	16,0	81	0,9	4,1	1,0	E3/E3
24	50	41,8	22,0	23,0	98	0,7	6,3	1,1	E3/E3
25	61	31,7	20,0	18,0	92	1,0	1,2	1,3	E3/E3
26	61	25,0	23,0	20,0	83	1,0	2,0	1,2	E3/E4
27	63	26,0	24,0	30,0	146	0,9	1,7	1,2	E2/E3
28	60	26,1	28,0	24,0	114	1,0	2,4	1,3	E3/E3
29	62	21,9	22,0	20,0	80	1,0	1,5	1,1	E3/E3
30	56	26,4	21,0	18,0	104	0,9	5,1	1,1	E3/E3

Continua

Nº	Idade (anos)	IMC kg/m ²	AST U/mL	ALT U/mL	Glic mg/dL	Creat. mg/dL	TSH µU/dL	T4L ng/dL	Fenótipo Apo E
31	66	29,0	13,0	12,0	209	0,8	3,2	0,8	E3/E3
32	69	27,0	32,0	31,0	115	1,1	4,8	1,1	E3/E3
33	69	28,0	17,0	18,0	201	0,9	3,8	1,1	E3/E3
34	67	31,7	33,0	30,0	212	1,0	1,4	1,4	E3/E3
35	68	23,6	20,0	20,0	145	1,0	0,5	1,1	E3/E3
36	68	26,1	15,0	10,0	76	5,3	2,8	1,3	E3/E3
37	64	25,0	19,0	12,0	94	0,8	1,2	1,1	E3/E4
38	57	30,1	18,0	15,0	91	0,6	1,3	1,1	E3/E4
39	67	23,3	17,0	18,0	103	1,1	0,5	1,6	E3/E3
40	67	31,6	25,0	26,0	103	1,0	0,7	1,1	E3/E4
41	70	26,7	20,0	18,0	93	1,0	1,7	1,0	E3/E3
42	55	25,3	22,0	25,0	105	1,0	1,4	1,3	E3/E3
43	70	28,9	19,0	22,0	208	0,8	2,2	1,5	E3/E3
44	56	24,3	25,0	13,0	92	1,1	0,1	1,6	E4/E4
45	60	25,3	31,0	24,0	91	1,2	0,8	1,3	E3/E3
46	56	23,4	21,0	23,0	88	0,9	1,1	1,2	E3/E3
47	63	31,2	25,0	29,0	86	1,0	1,1	1,3	E3/E3
48	70	18,6	34,0	26,0	89	0,9	0,0	1,6	E3/E3
49	63	32,0	16,0	23,0	152	1,6	0,3	1,2	E3/E3
50	53	29,6	16,0	17,0	168	1,0	6,0	0,9	E3/E3
51	51	25,0	21,0	18,0	78	0,9	2,1	1,2	E3/E3
52	65	26,2	20,0	18,0	93	1,1	4,7	1,8	E3/E3
53	63	26,0	20,0	15,0	86	0,8	1,2	1,3	E3/E3
54	54	27,2	23,0	28,0	128	0,8	3,8	1,3	E3/E3
55	63	30,4	20,0	14,0	94	1,0	1,4	2,3	E3/E3
56	63	25,7	16,0	17,0	90	1,1	3,8	1,5	E3/E3
57	66	27,6	31,0	33,0	120	0,6	2,1	1,5	E3/E4
58	64	38,0	26,0	24,0	120	0,9	4,4	1,1	E3/E3
58	63	23,0	21,0	23,0	95	1,0	1,6	1,4	E3/E3
60	52	21,4	19,0	20,0	162	0,8	1,6	1,2	E3/E3
61	64	25,0	67,0	50,0	91	1,2	5,2	0,9	E3/E3
62	60	26,4	17,0	18,0	93	0,9	2,9	1,1	E3/E3

Continua

Nº	Idade (anos)	IMC kg/m ²	AST U/mL	ALT U/mL	Glic mg/dL	Creat. mg/dL	TSH µU/dL	T4L ng/dL	Fenótipo Apo E
63	64	24,2	25,0	23,0	82	1,0	7,8	1,3	E3/E3
64	61	27,2	22,0	24,0	83	1,0	1,2	1,3	E3/E3
65	50	20,7	16,0	16,0	273	1,0	1,2	1,5	E3/E3
66	53	21,9	13,0	29,0	109	1,0	0,2	1,5	E3/E3
67	67	24,3	15,0	24,0	105	0,8	1,2	1,0	E3/E3
68	56	25,3	20,0	24,0	96	0,9	2,1	0,9	E3/E3
69	61	17,7	22,0	18,0	106	1,0	2,3	1,2	E3/E3
70	62	30,0	12,0	18,0	129	2,8	0,1	1,3	E3/E3
71	58	22,7	12,0	20,0	103	1,1	1,4	0,9	E3/E3
72	64	25,6	13,0	18,0	100	1,2	5,1	1,2	E3/E3
73	50	42,9	18,0	17,0	98	1,0	2,3	1,3	E3/E3
74	60	29,2	32,0	30,0	108	1,2	3,1	1,3	E3/E3
75	59	23,0	22,0	13,0	84	1,0	10,1	1,2	E3/E3
76	64	30,5	27,0	28,0	94	1,0	0,4	1,6	E3/E3
77	54	25,6	20,0	19,0	224	0,7	0,1	1,6	E3/E3
78	57	38,3	14,0	14,0	252	0,9	1,5	1,2	E3/E3
79	64	33,5	11,0	18,0	74	0,8	3,0	0,9	E3/E3
80	56	25,0	15,0	21,0	76	1,0	5,4	1,0	E3/E3
81	57	30,7	21,0	19,0	109	1,1	1,0	0,7	E3/E3
82	59	25,6	22,0	18,0	79	0,9	0,0	2,3	E3/E3
83	66	25,0	19,0	39,0	115	1,6	4,6	0,9	E3/E3
84	58	33,2	35,0	36,0	100	1,5	1,3	1,5	E3/E3
85	58	21,6	18,0	25,0	89	1,1	2,6	1,0	E3/E3
86	63	21,6	17,0	16,0	98	1,0	2,0	2,0	E3/E3
87	61	33,3	26,0	15,0	132	1,2	1,8	1,1	E3/E3
88	65	24,0	23,0	20,0	76	0,9	4,0	1,4	E3/E3
89	65	28,8	26,0	17,0	82	1,0	1,5	1,3	E3/E3
90	58	27,7	22,0	18,0	80	0,9	0,1	2,0	E3/E3

IMC = Índice de massa corpórea; AST = Aspartato transferase; ALT = Alanina transferase; Glic = Glicemia; Creat. = Creatinina; TSH = Hôrmonio estimulante da tireóide; T4L = T4 livre.

APÊNDICE 4

Quadro 4: Perfil lipídico no jejum e concentrações plasmáticas de triglicérides no jejum (TG 0) e três (TG 1) e seis horas (TG3) após dieta hiperlipêmica em pacientes com doença arterial coronariana na pós-menopausa.

	CT mg/dL	LDLc mg/dL	HDLc mg/dL	VLDLc mg/dL	TG 0 mg/dL	TG 2 mg/dL	Fenótipo Apo E	
1	185	103	30	52	270	535	400	E3/E4
2	331	241	49	41	207	320	222	E3/E3
3	324	247	60	64	83	122	68	E3/E4
4	270	172	53	45	227	339	408	E3/E3
5	247	...	37	...	413	667	401	E3/E3
6	267	163	49	55	271	402	335	E3/E3
7	290	210	58	22	87	111	105	E4/E4
8	190	106	67	17	87	96	94	E3/E3
9	266	185	50	31	155	191	185	E3/E4
10	313	224	65	24	120	186	121	E3/E3
11	249	139	56	54	270	359	469	E3/E3
12	253	134	67	52	262	321	295	E4/E4
13	459	...	41	...	650	655	723	E2/E2
14	322	231	61	30	150	390	132	E3/E3
15	280	...	35	...	506	794	691	E3/E4
16	253	172	30	51	254	530	534	E3/E4
17	361	265	33	63	316	585	583	E3/E3
18	215	132	62	21	107	150	194	E2/E4
19	295	206	36	49	247	372	317	E3/E3

20	226	137	73	16	82	102	113	E3/E3
21	327	232	54	41	207	226	197	E4/E4
22	165	107	42	16	80	87	69	E3/E4
23	221	153	46	22	111	138	90	E3/E3
24	253	159	46	48	238	317	265	E3/E3
25	268	169	39	60	302	259	317	E3/E3
26	224	150	36	38	190	325	210	E3/E3
27	295	218	56	21	101	120	142	E3/E3
28	223	140	37	46	230	366	345	E3/E3

Continua

	CT mg/dL	LDLc mg/dL	HDLc mg/dL	VLDLc mg/dL	TG 0 mg/dL		TG 2 mg/dL	Fenótipo Apo E
						mg/dL		
29	275	197	47	31	157	284	205	E3/E3
30	242	182	37	23	115	188	200	E3/E3
31	348	254	49	45	225	382	284	E2/E3
32	300	252	37	61	306	424	513	E3/E3
33	193	123	50	20	100	155	190	E3/E3
34	167	91	58	18	90	229	168	E3/E3
35	194	130	39	25	127	321	383	E3/E3
36	207	113	61	33	165	356	378	E3/E4
37	217	70	48	99	493	575	575	E3/E3
38	284	181	45	58	289	420	138	E3/E3
39	240	147	47	46	230	488	300	E2/E3
40	366	268	50	48	239	358	472	E3/E4
41	405	299	37	69	344	529	567	E3/E4
42	233	163	46	24	121	200	357	E3/E3

43	325	234	51	40	198	271	429	E3/E3
44	277	171	65	41	204	251	267	E3/E3
45	267	...	20	...	581	698	703	E3/E4
46	250	167	56	27	137	163	186	E3/E4
47	241	150	46	45	224	93	315	E3/E3
48	255	170	61	24	119	147	181	E3/E3
49	261	179	47	35	173	225	249	E3/E3
50	267	165	61	41	207	397	252	E3/E4
51	282	185	37	60	302	462	488	E3/E4
52	340	239	48	53	265	189	417	E2/E3
53	239	155	66	18	92	132	178	E3/E3
54	227	134	72	21	103	210	70	E3/E4
55	317	218	44	55	275	125	606	E3/E3
56	345	243	76	26	131	176	183	E3/E3
57	275	194	38	43	214	411	312	E3/E3
58	264	...	38	...	424	494	684	E3/E3
58	273	203	44	26	129	178	240	E3/E4
60	204	141	45	18	88	166	239	E3/E3

Continua

	CT mg/dL	LDLc mg/dL	HDLc mg/dL	VLDLc mg/dL	TG 0 mg/dL	TG 2 mg/dL	Fenótipo Apo E	
						mg/dL		
61	588	495	70	23	116	142	177	E3/E3
62	229	155	62	12	62	104	75	E3/E3
63	213	104	39	34	168	217	221	E3/E3
64	247	132	39	76	386	528	499	E3/E3

65	209	135	44	30	150	206	277	E3/E4
66	224	157	38	29	144	264	212	E3/E3
67	205	131	52	22	112	188	134	E3/E3
68	220	120	49	51	254	541	525	E3/E3
69	202	128	49	25	125	256	121	E3/E4
70	278	189	50	39	193	299	345	E3/E3
71	217	125	49	43	217	375	410	E3/E3
72	217	142	56	19	94	166	77	E3/E3
73	199	151	33	15	75	149	139	E3/E3
74	300	215	56	26	130	196	210	E3/E3
75	285	190	58	34	172	263	213	E3/E4
76	237	127	74	36	178	290	268	E3/E3
77	276	181	38	57	287	338	513	E3/E3
78	189	123	44	22	109	170	268	E3/E3
79	301	195	39	67	333	435	399	E3/E3
80	140	73	44	23	114	205	185	E4/E4
81	287	186	69	32	160	237	231	E3/E3
82	258	155	75	28	141	179	94	E3/E3
83	157	75	61	21	103	252	244	E3/E3
84	183	107	50	26	128	192	268	E3/E3
85	247	178	48	21	106	215	223	E3/E3
86	209	123	59	25	137	166	210	E3/E3
87	162	68	67	27	136	137	309	E2/E3
88	225	129	72	24	123	229	222	E3/E3
89	252	172	53	23	118	181	246	E3/E3
90	200	127	46	27	135	249	233	E3/E3

CT = colesterol total; LDLc = fração de colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDLc = fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade; VLDLc = fração de colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade; (...) = valor desconhecido.

APÊNDICE 5

Quadro 5: Perfil lipídico no jejum e concentrações plasmáticas de triglicérides no jejum (TG 0) e três (TG 1) e seis horas (TG3) após dieta hiperlipêmica em controles na pós-menopausa.

	CT mg/dL	LDLc mg/dL	HDLc mg/dL	VLDLc mg/dL	TG 0 mg/dL	mg/dL		Fenótipo Apo E
						TG 1	TG 2	
1	253	170	59	24	121	155	136	E3/E3
2	197	102	73	22	112	161	149	E3/E3
3	190	114	36	40	198	264	197	E3/E3
4	183	90	61	32	158	363	382	E3/E4
5	249	115	72	62	313	470	266	E3/E3
6	200	135	35	30	150	210	180	E2/E3
7	223	134	56	33	167	244	307	E3/E3
8	203	104	73	26	134	212	220	E3/E4
9	252	144	67	41	205	448	732	E3/E3
10	156	77	70	9	47	54	123	E3/E3
11	215	111	62	42	211	360	405	E3/E3
12	120	59	49	12	59	87	92	E3/E3
13	202	113	46	43	215	240	271	E3/E4
14	276	143	78	55	274	309	214	E3/E3
15	256	136	73	47	238	545	466	E3/E3
16	219	134	64	21	106	197	120	E3/E4
17	235	142	60	33	165	247	205	E2/E3
18	295	175	101	19	96	263	130	E3/E4
19	293	182	89	22	112	206	112	E3/E4

20	186	94	65	27	139	238	183	E3/E3
21	207	123	46	38	191	244	257	E3/E3
22	306	203	55	48	240	364	375	E3/E3
23	192	114	57	21	109	275	212	E3/E3
24	151	66	40	45	229	266	162	E3/E3
25	218	124	51	43	218	329	233	E3/E3
26	234	117	104	13	64	137	79	E3/E4
27	183	116	41	26	130	250	246	E2/E3

Continua

	CT mg/dL	LDLc mg/dL	HDLc mg/dL	VLDLc mg/dL	TG 0 mg/dL	TG 2 mg/dL	Fenótipo Apo E	
mg/dL								
28	348	...	55	...	428	690	517	E3/E3
29	219	123	78	18	91	105	79	E3/E3
30	225	130	48	47	237	420	282	E3/E3
31	298	194	53	55	275	482	420	E3/E3
32	153	41	28	88	440	580	572	E3/E3
33	253	153	58	42	210	392	288	E3/E3
34	234	...	41	...	422	580	639	E3/E3
35	202	110	40	52	262	490	344	E3/E3
36	210	87	98	25	127	169	208	E3/E3
37	291	187	90	14	70	255	124	E3/E4
38	271	181	69	21	107	173	100	E3/E4
39	218	127	54	42	211	532	398	E3/E3
40	266	177	51	38	192	476	228	E3/E4
41	271	179	57	35	177	296	231	E3/E3

42	240	...	32	...	448	511	748	E3/E3
43	164	104	46	14	70	131	74	E3/E3
44	294	216	54	24	120	205	149	E4/E4
45	285	202	46	37	186	232	193	E3/E3
46	164	104	46	14	70	131	74	E3/E3
47	218	146	31	41	205	394	371	E3/E3
48	164	104	46	14	70	131	74	E3/E3
49	303		21		512	627	600	E3/E3
50	199	106	49	44	220	214	365	E3/E3
51	284	174	75	35	176	195	206	E3/E3
52	264	183	61	20	103	247	155	E3/E3
53	187	89	81	17	87	153	89	E3/E3
54	213	139	56	18	94	147	122	E3/E3
55	223	145	53	25	127	246	147	E3/E3
56	295	199	52	44	224	329	475	E3/E3
57	222	134	48	40	200	291	415	E3/E4
58	251	151	57	43	216	435	327	E3/E3
59	265	167	77	21	105	154	90	E3/E3

Continua

	CT mg/dL	LDLc mg/dL	HDLc mg/dL	VLDLc mg/dL	TG 0 mg/dL	TG 2 mg/dL	FenótipoA po E	
60	211	126	57	28	140	339	854	E3/E3
61	189	107	66	16	84	193	143	E3/E3
62	241	159	48	34	170	258	294	E3/E3
63	233	147	71	15	78	185	243	E3/E3

64	253	67	66	20	102	243	161	E3/E3
65	201	126	62	13	67	129	116	E3/E3
66	239	141	77	21	106	229	128	E3/E3
67	224	146	55	23	118	229	147	E3/E3
68	164	103	27	34	171	234	291	E3/E3
69	290	216	61	13	65	110	74	E3/E3
70	250	178	46	26	133	175	156	E3/E3
71	212	134	59	19	97	204	109	E3/E3
72	247	161	48	38	192	295	257	E3/E3
73	206	123	59	24	119	318	124	E3/E3
74	203	135	37	31	154	388	207	E3/E3
75	205	116	71	18	92	115	108	E3/E3
76	271	192	38	41	204	297	351	E3/E3
77	203	99	90	14	70	159	63	E3/E3
78	176	109	39	28	142	212	199	E3/E3
79	272	187	56	29	145	295	293	E3/E3
80	239	171	38	30	148	217	157	E3/E3
81	232	147	34	51	257	365	344	E3/E3
82	191	126	40	25	123	171	178	E3/E3
83	261	177	50	34	170	220	285	E3/E3
84	245	145	31	69	344	406	404	E3/E3
85	209	122	61	26	132	258	169	E3/E3
86	217	145	48	24	118	236	186	E3/E3
87	186	99	61	26	129	153	112	E3/E3
88	200	127	57	16	82	83	59	E3/E3
89	237	169	43	35	177	260	256	E3/E3
90	182	103	59	20	102	238	109	E3/E3

CT = colesterol total; LDLc = fração de colesterol da lipoproteína de baixa densidade; HDLc = fração de colesterol da lipoproteína de alta densidade; VLDLc = fração de colesterol da lipoproteína de muito baixa densidade; (...) = valor desconhecido.

APÊNDICE 6

FAMERP – FACULDADE DE MEDICINA DE SÃO JOSÉ DO RIO PRETO
AUTARQUIA ESTADUAL
TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIMENTO
(Obrigatório para Pesquisas Científicas em Seres Humanos – Resolução n.º 196/96
– CNS)

I – Dados de identificação do paciente ou responsável legal

1. Nome do paciente:.....

Documento de identidade n.º:.....**Sexo:**.....

Data nascimento:...../...../.....

Endereço:.....n.º.....apto:.....

Bairro:.....**Cidade:**.....**CEP:**.....

Telefone: DDD (.....).....

2. Responsável legal:

natureza (grau de parentesco, tutor, curador, etc).....

Documento **de** **identidade**

N.º**Sexo:**.....

Data Nascimento:...../...../.....

Endereço:.....**N.º**.....**Apto:**.....

Bairro:.....**Cidade:**.....**CEP:**.....

Telefone: DDD (.....).....

II – DADOS SOBRE A PESQUISA CIENTÍFICA

1. Título do projeto. Polimorfismo da ApoE e doença arterial coronariana em mulheres pós menopausa.

2. Pesquisadora: Dra. Lúcia Helena Bonalume Tácito

Inscrição no Conselho Regional crm 55054

Cargo/Função: Médica **Instituição:** FAMERP

Endereço: Av Brigadeiro Faria Lima 5416 **Bairro**

CEP 15090-000 **-Fone:** (0xx17) 227 57 33 R 164 **-FAX:**(0xx17) 227 57 33 R 135

3. Avaliação do risco da pesquisa: Sem risco**Risco mínimo** Sim

Risco médio.....**Risco maior**

(probabilidade de que o indivíduo sofra algum dano como consequência imediata ou tardia do estudo)

Explique: Os pacientes serão submetidos a coleta de amostras de sangue para estudo molecular do DNA e análise do perfil lipídico

4. Aprovação do Protocolo de Pesquisa pela Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa em/...../.....

5. Duração da pesquisa: Doze meses.

III – EXPLICAÇÕES DO PESQUISADOR AO PACIENTE OU SEU REPRESENTANTE LEGAL (INFORMAÇÕES SOBRE O PROJETO)

1. Justificativa e os objetivos da pesquisa (explicar)

O estudo do polimorfismo da ApoE é importante na avaliação do risco e sua caracterização para doença arterial coronariana.

2. Método empregado para colheita de material biológico (sangue)

Coleta de amostras de sangue por punção venosa periférica.

3. Desconfortos e riscos esperados (explicar)

A picada necessária na punção venosa pode causar certo desconforto com ardência e dor, com possibilidade de pequeno hematoma no local da picada.

4. Métodos alternativos existentes; Não existem

5. Benefícios que poderão ser obtidos (explicar)

Identificar fatores de risco e verificar sua associação com doença arterial coronariana

6. Consentimento ao pesquisador para utilizar os resultados advindo da pesquisa para divulgação em reuniões de caráter científico e publicações em meios especializados.

() Sim () Não Explique

Há possibilidade da divulgação dos resultados da pesquisa com sua publicação e apresentação em eventos científicos, em caráter sigiloso.

7. Compromisso de proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar o consentimento do indivíduo em continuar participando da pesquisa.

() Sim () Não Explique:

Compromisso em informar ao paciente resultados não satisfatórios que possam ocorrer durante a pesquisa, com objetivo de beneficiá-lo.

8. Observações complementares

9. Garantia de receber esclarecimentos às dúvidas, durante o decorrer da pesquisa, acerca da metodologia, riscos, benefícios, ou outros assuntos relacionados com a pesquisa.

O paciente, sempre que solicitar ou for necessário deverá receber esclarecimentos sobre a pesquisa independente da fase de seu desenvolvimento.

10. Esclarecimento sobre a liberdade de retirar seu consentimento a qualquer momento e deixar de participar da pesquisa.

Ao paciente será esclarecido que sua participação no estudo dependerá apenas de sua concordância.

11. Compromisso de sigilo que assegure a privacidade do indivíduo.

O estudo será apresentado em eventos científicos de forma confidencial.

IV – CONSENTIMENTO PÓS-ESCLARECIMENTO:

Declaro que, após ter sido convenientemente esclarecido pelo pesquisador, conforme registro nos ítems 1 a 11, do inciso iii, consinto em participar na amostragem do projeto de pesquisa em questão, por livre vontade sem ter sido submetido a qualquer tipo de pressão.

SÃO JOSÉ DO RIO PRETO,

DE

DE 2000 .

Assinatura do paciente ou responsável legal

Assinatura do pesquisador
(Carimbo ou nome legível)

Testemunha

NOTA: Este termo deverá ser elaborado em duas vias, ficando uma via em poder do paciente ou seu representante legal e outra com o pesquisador responsável pelo projeto.