Pontifícia Universidade Católica de Goiás

Escola de Ciências Médicas e da Vida

Curso de Medicina

Trabalho de Conclusão de Curso

**Análise dos polimorfismos RS10750097 e RS 3741298 dos genes da APOA5 região ZNF 259 e as suas influências nos quadros de dislipidemia**

Acadêmicas: Fernanda Gabriel Aires Saad e Luiza Moreno Cunha Campos

Orientador: Prof. Dr. Sérgio Henrique Nascente Costa

Goiânia, Maio de 2022

**RESUMO**

A Dislipidemia é caracterizada por um distúrbio no metabolismo de lipídeos e surge devido a causas externas, ou distúrbios genéticos predisponentes. O presente estudo caso-controle teve como objetivo a análise da correlação entre os polimorfismos genéticos RS10750097 e RS3741298 associados a lipoproteína ApoA5-ZNF259 e o desenvolvimento de dislipidemias. Foi utilizada uma amostra de 200 policiais militares do estado de Goiás e a genotipagem dos polimorfismos foi feita utilizando o kit TaqMan Real Time PCR® (SNP Genotyping Kit, AppliedBiosystems, EUA). Dos indivíduos participantes 93% eram do sexo masculino e 7% do sexo feminino, sendo que o grupo de casos foi composto por 115 participantes que apresentaram perfil lipídico alterado, e o grupo controle 84 participantes com perfil lipídico dentro dos valores de referência. Os polimorfismos observados no grupo de casos e controles mostraram diferença significativa entre os dois grupos para todas as variáveis analisadas. Entretanto ao analisar 95% do Intervalo de Confiança e o Odds Ratio, foi evidenciado que a razão de chance de um caso apresentar alteração das variáveis colesterol total, triglicérides, HDL, não-HDL e LDL pela presença dos polimorfismos RS10750097 e RS3741298 não existe. Em conclusão, os polimorfismos estudados não influenciaram no desenvolvimento de dislipidemias dentro das variáveis envolvidas nesse estudo caso-controle.

**ABSTRACT**

Dyslipidemia is defined as a disturbance in lipid metabolism and appears due to external causes or predisposing genetic disorders. The present case-control study aimed to analyze the correlation between the genetic polymorphisms RS10750097 and RS3741298 associated with ApoA5-ZNF259 lipoprotein and the development of dyslipidemia. A sample of 200 military police officers from the state of Goiás was used and the genotyping of the polymorphisms was performed using the TaqMan Real Time PCR® kit (SNP Genotyping Kit, AppliedBiosystems, USA). From the participating individuals, 93% were male and 7% were female, the case group was composed of 115 participants who had na altered lipid profile and the control group 84 participants with a lipid profile within the reference values. The polymorphisms observed in the group of cases and controls showed a significant difference between the two groups for all the variables analyzed. However, When analyzing 95% of the Confidence Interval and the Odds Ratio, it was evidenced that the ratio of chance of a case presente changes in the variables total cholesterol, triglycerides, HDL, non-HDLand LDL by the presence of the polymorphisms RS10750097 and RS3741298 does not exist. In conclusion, the polymorphisms studied did not influence the development of dyslipidemias within the variables involved in this case-control study.

**INTRODUÇÃO**

A Dislipidemia é caracterizada por um distúrbio no metabolismo dos lipídeos que geralmente surge por causas externas como um estilo de vida associado a hábitos ruins. No entanto, também pode ser causada por distúrbios genéticos que causam predisposição. De acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia, as dislipidemias são classificadas em fenotípicas ou bioquímicas (hipercolesterolemia isolada, hipertrigliceridemia isolada, hiperlipidemia mista e HDL-c baixo e genotípicas (monogênicas e poligênicas). Nesse contexto, os lipídeos envolvidos na gênese das dislipidemias englobam principalmente, o colesterol e os triglicérides, os quais necessitam da ação de carreadores especializados para promover a sua distribuição corpórea. 1, 2, 3, 4

Os carreadores dos metabólitos lipídicos, mais conhecidos como lipoproteínas, são componentes químicos formados por lípides e estruturas protéicas conhecidas como apolipoproteínas. Assim sendo, podemos subdividir as apolipoproteínas em dois grupos. O primeiro, APOB, é a proteína responsável pela constituição das partículas de VLDL (lipoproteína de muita baixa densidade), IDL (lipoproteína de densidade intermediária) e LDL (lipoproteína de baixa densidade), sendo a principal apoproteína dessas estruturas aterogênicas. O segundo, é composto pela APOAI, a principal apoproteína do HDL (lipoproteína de alta densidade) conhecido popularmente como “colesterol bom”. 3, 5, 6, 7

Próximo ao grupo de genes APOA1/C3/A4 foi identificada a apolipoproteína APOA5-ZNF259, o quarto membro do agrupamento de genes no cromossomo 11, localizada no lócus 11q23. A APOA5-ZNF259 codifica uma proteína de 369 aminoácidos, sendo expressa no fígado e secretada no plasma. A lipoproteína HDL, assim como partículas de VLDL e quilomícrons agrupam a APOA5-ZNF 259, a qual não foi identificada nas LDL. Ademais, o aumento de triglicerídeos e colesterol total pode estar diretamente relacionado a APOA5-ZNF259, o que suscitou o interesse em novos estudos acerca da relação dessa apolipoproteína com as alterações lipídicas corporais. 1, 2, 6, 8, 9

Nesse contexto, a apolipoproteína APOA5-ZNF259 está relacionada a uma série de polimorfismos de nucleotídeos únicos (SNPs), nos quais são estudados os genes e suas regiões relacionados à possível gênese das dislipidemias. Os polimorfismos são mudanças genéticas que podem ocorrer em sequências não codificadoras ou codificadoras e levar a variações das proteínas analisadas. Sendo assim, os polimorfismos destacados nesse estudo são RS10750097 e RS3741298 dos genes da APOA5 região ZNF259, os quais já foram relatados em um ensaio clínico norte-americano que investigou a maior propensão à dislipidemia, o que envolve principalmente o aumento de triglicérides e frações do colesterol, além de uma maior capacidade de desenvolver doença arterial coronariana. No entanto, esses eventos são passíveis de normalização após o uso de medicações específicas. 2, 9, 10, 11, 12

Uma das principais consequências das dislipidemias é a formação de placas ateroscleróticas, as quais são formadas por processos inflamatórios crônicos. Nesse sentido, um fator determinante para o início da aterogênese é o depósito de lipoproteínas plasmáticas no espaço subendotelial, criando placas capazes de obstruir o fluxo sanguíneo e prejudicar o funcionamento cardiopulmonar, e consequentemente sistêmico. 3,4

No contexto dos Policiais Militares, os possíveis polimorfismos dos genes da APOA5 e a carga horária pesada de trabalho podem refletir no estilo de vida e por conseguinte no desenvolvimento de dislipidemias. 13

Nesse ínterim, o objetivo da presente pesquisa foi relacionar os polimorfismos RS10750097 e RS3741298 com o desenvolvimento de dislipidemias em Policiais Militares no Estado de Goiás, uma vez que a associação do ambiente no qual estão expostos a uma alta e pesada carga de trabalho, associada com hábitos alimentares inadequados, com os possíveis polimorfismos dos genes da APOA5, podem levar a uma maior propensão ao desenvolvimento de dislipidemia, relacionada a fatores externos e internos. 13

**METODOLOGIA**

A presente pesquisa refere-se a análise da associação entre os polimorfismos gênicos das regiões RS10750097 e RS3741298 da lipoproteína ApoA5 região ZNF259 e o desenvolvimento de dislipidemias em Policiais Militares do Estado de Goiás por meio de um estudo observacional transversal do tipo caso-controle.

O laboratório envolvido nesse estudo é responsável por atender um público que consiste, em especial, nos policiais militares e seus familiares que passam por atendimento de saúde no Hospital do Policial Militar de Goiás, sendo, a maior parte, usuários do plano de saúde IPASGO. Assim, os dados recolhidos serão representativos da maioria das regiões de Goiânia.

 1. População em estudo:

Foi utilizada na pesquisa uma amostragem de 200 policiais militares da ativa, dentro de um universo de 861 indivíduos que compõem a amostragem completa.

 Para a seleção, foram convidados a participar da pesquisa os militares que compareceram ao Centro de Saúde Integral do Policial Militar (CSIPM) para realização de avaliação anual, os quais foram informados a respeito do objetivo do projeto por meio de entrevistas para informação sobre a natureza do trabalho, bem como a garantia total do anonimato e sigilo em relação aos resultados obtidos.

Foram incluídos Policiais militares que atenderam aos seguintes requisitos:

 . Aceitaram voluntariamente participar neste estudo.

. Participaram da avaliação anual de saúde proposta pelo Centro de Saúde Integral do Policial Militar (CSIPM).

. Maiores de 18 anos de ambos os sexos.

Por outro lado, não participaram deste estudo os policiais que manifestaram o seu desconforto em responder o questionário ASSIST que contém informações relevantes para este projeto como para o cálculo do IMC (índice de massa corpórea), ou na coleta das amostras biológicas.

2- Categorização dos grupos de estudo:

2.1: Grupo de casos: indivíduos que apresentarem nos resultados do perfil lipídico os seguintes perfis: hipercolesterolemia isolada (LDL-C ≥ 160 mg/dL); hipertrigliceridemia isolada (triglicérides ≥ 150 mg/dl); hiperlipidemia mista (LDL-C ≥ 160mg/dL e triglicérides ≥ 150 mg/dl, se tg ≥ 400 mg/dL, considera-se colesterol total >200mg/dL, ao invés de LDLC); e HDL <40 mg/dL em homens e menor que 50 mg/dl em mulheres. (Atualização da V Diretriz Brasileira de Dislipidemia e Prevenção da Aterosclerose, 2017).

2.2: Grupo de controles: indivíduos do mesmo público-alvo do estudo, que atendiam aos seguintes critérios em todos os resultados do perfil lipídico: LDL colesterol < 130 mg/dL, triglicerídeos <150 mg/dl e HDL > 60 mg/dl

3. Coleta de amostras e testes:

Foram coletadas amostras de sangue dos participantes da pesquisa para que, posteriormente, fossem utilizados para genotipagem dos SNPs da APOA5- -ZNF259 RS10750097 e RS3741298.

Foram genotipados os sítios polimórficos descritos acima utilizando o kit TaqMan Real Time PCR® (SNP Genotyping Kit, AppliedBiosystems, EUA). O Kit contém as sequências senso e antisenso dos oligonucleotídeos iniciadores (primers) que amplificaram a sequência polimórfica de interesse e uma Sonda TaqMan® alelo MGB específica que hibridiza uma sequência de complementaridade do primers antisenso. Os fluoróforos 12 utilizados foram o FAM e o HEX. A genotipagem foi realizada mediante a análise do padrão de fluorescência de cada amostra no termocicladorStepOnePlus™ systems (AppliedBiosystems, EUA). As reações de PCR foram realizadas para um volume final de 15 µL contendo 20 ng de DNA genômico, 2,5 µL de TaqMan® Universal Master Mix(R) (concentração 2X), 0,25 µL de CustomTaqMan® Assay SNP Genotyping (concentração de 20X) contendo ambos os primers e sondas. O protocolo de amplificação que foi utilizado segue as instruções do fabricante que são: anelamento de 60°C por 30s, seguido de 95°C por 10 min e em seguida 40 ciclos contendo desnaturação de 95°C por 15s e anelamento de 60°C por 1 min (AppliedBiosystems, EUA).

As amostras de soro para realização do perfil lipídico, foram analisadas pelas metodologias, enzimática e direta, em equipamento automatizado (A15, marca biosystems®) do Laboratório do Hospital do Policial Militar do Estado de Goiás, atendendo todas as normas de controle e garantia da qualidade. O perfil lipídico faz parte dos exames de controle periódico realizados anualmente pelos membros da força militar de Goiás. Os resultados das concentrações de colesterol total, de LDLc, de HDLc e de Triglicerídeos foram coletados juntamente com os dados antropométricos no sistema de armazenamento de dados Multilab®.

4. Análise de dados:

 Foi realizada estatística descritiva e determinação das frequências absolutas e relativas das variáveis estudadas, que envolviam presença ou não de polimorfismo genético, com alterações nos índices do colesterol total, triglicerídeos, LDL colesterol, HDL colesterol.

 A distribuição das frequências e cálculo das prevalências foram realizadas no software GraphPad Prism versão 9, utilizando o teste de Mann Whitney, com nível de significância para análise de 5%.

 5. Aspectos éticos:

 A pesquisa em questão faz parte do Projeto de Pesquisa “Detecção de Polimorfismos Genéticos para Alterações Lipêmicas e Uso de Álcool na Força Militar do Estado de Goiás “, submetido ao Comitê de Ética em Pesquisa pela Universidade Federal de Goiás indicado pela Plataforma Brasil, seguindo o disposto na Resolução MS 466/2012 e complementares, com o parecer nº 608.207.

**RESULTADOS**

Nesse estudo caso-controle, foi avaliada uma amostra de 200 participantes, sendo prevalente indivíduos do sexo masculino, os quais somaram 186 indivíduos, ou seja, 93% do total avaliado. A maioria dos participantes do grupo de casos apresentou idade acima de 40 anos, o que corresponde a 68% do total de casos. Já no grupo de controles, 50% da população encontra-se abaixo de 40 anos, enquanto os outros 50% acima de 40 anos. O colesterol total mostrou-se significativamente diferente entre os grupos, com 68,1% dos casos apresentando colesterol total acima de 190 mg/dl enquanto apenas 23% dos controles apresentaram colesterol total acima de 190 mg/dl. As outras duas variáveis discrepantes entre os grupos foram os triglicérides e o LDL, com o grupo caso apresentando frações mais elevadas nos dois parâmetros bioquímicos. Em relação ao contingente de bases no polimorfismo RS10750097**,** tanto casos como controles apresentaram maioria A/A e A/G e no polimorfismo RS3741298 maioria T/T e C/T. Todos os dados estão apresentados nas tabelas 1 e 2.

**Tabela 1.**Frequências percentuais absolutas e relativas das variáveis estabelecidas.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |
| Variáveis  |  Caso (N = 116) |  | Controle (N = 84) |  |  Total (N = 200) |  |
| **Idade (anos)** | n | f (%) | n | f (%) | n | f (%) |
| Até 40 | 36 | 31.1 | 42 | 50 | 78 | 39 |
| Acima de 40 | 80 | 68.9 | 42 | 50 | 122 | 61 |
| **Sexo**  |  |  |  |  |  |  |
| Masculino  | 109 | 93.9 | 77 | 91.7 | 186 | 93 |
| Feminino  | 7 | 6.1 | 7 | 8.3 | 14 | 7 |
| **Colesterol total (mg/dL)** |  |  |  |  |  |  |
| < 190 | 37 | 31.9 | 61 | 72.6 | 98 |  |
| > 190 | 79 | 68.1 | 23 | 27.4 | 102 |  |
| **Triglicérides (mg/dL)** |  |  |  |  |  |  |
| < 150 | 21 | 18.1 | 84 | 100 | 105 | 52.5 |
| > 150 | 95 | 81.9 | 0 | 0 | 95 | 47.5 |
| **HDL (mg/dL)** |  |  |  |  |  |  |
| < 40 (H) < 50 (M) | 51 | 43.9 | 2 | 2.4 | 53 | 26.5 |
| > 40 (H) > 50 (M) | 65 | 56.1 | 82 | 97.6 | 147 | 73.5 |
| **N-HDL (mg/dL)** |  |  |  |  |  |  |
| < 190 | 69 | 59.5 | 84 | 100 | 153 | 76.5 |
| > 190 | 47 | 40.5 | 0 | 0 | 47 | 23.5 |
| **LDL** |  |  |  |  |  |  |
| < 160 | 26 | 22.5 | 84 | 100 | 110 | 55 |
| > 160 | 86 | 74.1 | 0 | 0 | 86 | 43 |
| Indeterminado | 4 | 3.4 | 0 | 0 | 4 | 2 |
|  |  |  |  |  |  |  |

HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; n-LDL: Frações lipoproteicas de não baixa densidade.

**Tabela 2.** Frequências percentuais absolutas e relativas dos alelos dos polimorfismos.

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |
| Variáveis  |  Caso (N = 116) |  | Controle (N = 84) |  |  Total (N = 200) |  |
| **RS10750097** | n | f(%) | n | f(%) | n | f(%) |
| A/A | 55 | 47.4 | 40 | 47.7 | 95 | 47.5 |
| A/G | 44 | 38 | 37 | 44 | 81 | 40.5 |
| G/G | 17 | 14.6 | 6 | 7.1 | 23 | 11.5 |
| Sem informação  | 0 | 0 | 1 | 1.2 | 1 | 0.5 |
| **RS3741298** |  |  |  |  |  |  |
| C/C | 12 | 10.3 | 6 | 7.1 | 18 | 9 |
| T/T | 58 | 50 | 47 | 56 | 105 | 52.5 |
| C/T | 46 | 39.7 | 30 | 35.7 | 76 | 38 |
| Sem informação  | 0 | 0 | 1 | 1.2 | 1 | 0.5 |
|  |  |  |  |  |  |  |

A média de idade dos participantes no grupo de casos gira em torno de 43,4 anos (desvio-padrão: 5,5 e min-max: 29-55), enquanto no grupo controle 39,8 anos (desvio padrão: 8,4 e min-max: 23-56). A única variável que não apresentou diferença significativa entre o grupo de casos e controles foi a altura (p=0,07). As variáveis idade, colesterol total, triglicérides, HDL, n-HDL, LDL e peso apresentaram significância estatística (Tabela 3).

**Tabela 3.** Média, desvio padrão, amplitude, e valor de p das variáveis estabelecidas.

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |
| Variáveis  | Caso (n=116) |  |  | Controle (n=84)  |  |  |  |
|  | Average | DP | Min-Max | Average | DP | Min-Max | P value |
| **Idade (anos)** | 43,4 | 5,5 | 29-55 | 39,8 | 8,4 | 23-56 | 0,0054 |
| **Colesterol total (mg/dL)** | 214,6 | 44,6 | 118-337 | 169,2 | 27,4 | 107-227 | <0,0001 |
| **Triglicérides (mg/dL)** | 270,2 | 192,2 | 63-1242 | 85,3 | 32,3 | 25-149 | <0,0001 |
| **HDL (mg/dL)** | 42,3 | 8,2 | 25-66 | 51,3 | 9,3 | 40-102 | <0,0001 |
| **N-HDL (mg/dL)** | 172,2 | 40,7 | 79-281 | 117,9 | 27,6 | 59-183 | <0,0001 |
| **LDL** | 123,4 | 43,8 | 38,2-235,4 | 100,8 | 26,5 | 40,4-157,6 | 0,0002 |
| **Peso** | 87,6 | 13,2 | 60-155 | 77,9 | 10,2 | 51-101 | <0,0001 |
| **Altura** | 1,75 | 0,06 | 1,65-1,93 | 1,73 | 0,06 | 1,58-1,88 | 0,07 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |

n: número; HDL: lipoproteína de alta densidade; N-HDL: frações lipoproteicas de não alta densidade; LDL: lipoproteína de baixa densidade; DP: desvio padrão; Min: mínimo; Max: máxima; P value< 0,05: valor de p considerando nível de significância de 5%.

Em relação ao Índice de Massa Corpórea (IMC) observa-se que tanto casos como controles apresentaram maioria dos participantes na faixa de sobrepeso, com 52% e 53% respectivamente (Gráfico 1).



Gráfico 1: IMC no grupo de casos e controles

O polimorfismo RS10750097 observado no grupo de casos e controles revela diferença significativa entre os dois grupos para todas as variáveis analisadas: Colesterol total (p< 0,001), Triglicérides (p<0,0001), HDL (p 0,002), não-HDL (p 0,001) e LDL (p 0,006). O mesmo efeito também pode ser observado ao se analisar o polimorfismo RS3741298 para as mesmas variáveis, correspondentes aos mesmos valores de p. (tabela 3 e 4)

No entanto, ao analisar 95% do Intervalo de Confiança e o Odds Ratio, foi evidenciado que a razão de chance de um caso apresentar alteração das variáveis colesterol total, triglicérides, HDL, não-HDL e LDL pela presença dos polimorfismos RS10750097 e RS3741298 não existe, uma vez que ambos os parâmetros estatísticos se encontram abaixo dos níveis superiores calculados. O valor de p realçou uma alternância significativa uma vez que no seu cálculo não é avaliado apenas o polimorfismo, também é analisada a comparação do que está normal e do que está alterado. Os dados estão apresentados nas tabelas 4 e 5.

**Tabela 4.** Frequências percentuais absolutas e relativas do polimorfismo RS10750097

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| Variáveis  | Caso  |  |  | Controle  |  |  |  |  |  |  |
|  | A/G(n=44) | A/A(n=55) | G/G(n=17) | A/G(n=37) | A/A (n=40) | G/G (n=6) | OR | 95% IC Inf | Sup | Valor de p |
|  | n | f% | n | f% | n | f% | n | f% | n | f% | n | f% |  |  |  |  |
| **Colesterol Total**  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <190 | 18 | 48,7 | 11 | 29,7 | 8 | 21,6 | 25 | 41,7 | 30 | 50 | 5 | 8,3 |  |  |  |  |
| >190 | 26 | 32,9 | 44 | 55,7 | 9 | 11,4 | 12 | 52,2 | 10 | 43,5 | 1 | 4,3 | 0,17 | 0,08 | 0,31 | p<0001 |
| **Triglicérides** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <150 | 4 | 19 | 14 | 66,7 | 3 | 14,3 | 37 | 44,6 | 40 | 48,2 | 6 | 7,2 |  |  |  |  |
| >150 | 40 | 42,1 | 41 | 43,2 | 14 | 14,7 | 0  |  | 0 |  | 0 |  | 0,0015 | 0,0001 | 0,02 | p<0001 |
| **HDL** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <40 (M) <50 (F) | 22 | 43,1  | 20 | 39,2 | 9 | 17,7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 100 |  |  |  |  |
| >40 (M) >50 (F) | 22 |  | 35 |  | 8 |  | 37 | 45,7 | 40 | 49,4 | 4 | 4,9 | 0,01 | 0,0007 | 0,19 | 0,002 |
| **Não-HDL** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <190 | 29 | 41,4 | 29 | 41,4 | 12 | 17,2 | 37 | 44,6 | 40 | 48,2 | 6 | 7,2 |  |  |  |  |
| >190 | 15 | 32,6 | 26 | 56,5 | 5 | 10,9 | 0 |  | 0 |  | 0 |  | 0,009 | 0,0005 | 0,15 | 0,001 |
| **LDL** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <160 | 38 | 44,2 | 34 | 39,5 | 14 | 16,3 | 37 | 44,6 | 40 | 48,2 | 6 | 7,2 |  |  |  |  |
| >160 | 5 | 19,2 | 19 | 73 | 2 | 7,7 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,02 | 0,001 | 0,32 | 0,006 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

n: número A: Alanina; G: guanina ;HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL: Frações lipoproteicas de não alta densidade; 95% IC: Intervalo de confiança com margem de 5% de erro; OR: OddsRatio; P< 0,05: Valor de p considerando nível de significância de 5%; Sup: limite superior. Foi considerado para efeito de comparação e cálculo estatístico dos valores do gene dominante A/G + A/A com recessivo G/G.

**Tabela 5.** Frequências percentuais absolutas e relativas do polimorfismo RS3741298.

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
|  Variáveis  | Caso  |  |  | Controle  |  |  |  |  |  |  |
|  | C/T(n=46) | T/T (n=58) | C/C(n=12) | C/T(n=30) | T/T (n=47) | C/C (n=6) | OR | 95% ICInf | Sup | Valor de p |
|  | n | f% | n | f% | n | f% | n | f% | n | f% | n | f% |  |  |  |  |
| **ColesterolTotal** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <190 | 13 | 35,2 | 17 | 45,9 | 7 | 18,9 | 24 | 40 | 32 | 53,3 | 4 | 6,7 |  |  |  |  |
| >190 | 33 | 41,8 | 41 | 51,9 | 5 | 6,3 | 6 | 26,1 | 15 | 65,2 | 2 | 8,7 | 0,15 | 0,08 | 0,29 | p<0,0001 |
| **Triglicérides** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <150 | 7 | 33,4 | 14 | 66,6 | 0 |  | 30 | 36,2 | 47 | 56,6 | 6 | 7,2 |  |  |  |  |
| >150 | 39 | 41 | 44 | 46,3 | 12 | 12,7 | 0 |  | 0 |  | 0 |  | 0,0017 | 0,0001 | 0,03 | p<0,0001 |
| **HDL** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <40 (M) <50 (F) | 18 | 36 | 25 | 50 | 7 | 14 | 1 | 50 | 1 | 50 | 0 |  |  |  |  |  |
| >40 (M) >50 (F) | 28 | 42,4 | 33 | 50 | 5 | 7,6 | 29 | 35,8 | 46 | 56,8 | 6 | 7,4 | 0,04 | 0,009 | 0,16 | p<0,0001 |
| **Não- HDL** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <190 | 25 | 31,3 | 46 | 57,5 | 9 | 11,2 | 30 | 36,2 | 47 | 56,6 | 6 | 7,2 |  |  |  |  |
| >190 | 21 | 45,7 | 22 | 47,8 | 3 | 6,5 | 0 |  | 0 |  | 0 |  | 0,01 | 0,0006 | 0,18 | 0,002 |
| **LDL** |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| <160 | 36 | 41,8 | 40 | 46,5 | 10 | 11,6 | 30 | 36,1 | 47 | 56,6 | 6 | 7,2 |  |  |  |  |
| >160 | 9 | 34,6 | 16 | 61,5 | 1 | 3,8 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0,02 | 0,001 | 0,32 | 0,006 |
|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |

n: número; C: citosina; G: guanina; HDL: Lipoproteína de alta densidade; LDL: Lipoproteína de baixa densidade; Não-HDL: Frações lipoproteicas de não alta densidade; 95% IC: Intervalo de confiança com margem de 5% de erro; OR: OddsRatio; P< 0,05: Valor de p considerando nível de significância de 5%; Sup: limite superior. Foi considerado para efeito de comparação e cálculo estatístico dos valores do gene dominante C/T + T/T com o recessivo C/C.

**DISCUSSÃO**

Ao longo dos anos, alguns estudos demonstraram a associação dos altos níveis de triglicérides e LDL com risco aumentado de doença aterosclerótica e cardiovascular na população afetada. No presente estudo, o LDL acima de 160 mg/dl foi observado em 74,1% do grupo de casos, enquanto a hipertrigliceridemia em 81,9% de casos, totalizando mais de 50% de amostras de casos alteradas e propensas a desenvolvimento de processos ateroscleróticos. Yan Shi et. al (2016) em um ensaio clínico realizado com 353 pacientes na China encontrou a associação de hipertrigliceridemia com maiores chances de infarto isquêmico relacionado ao processo aterosclerótico de pequenos vasos (OR = 2.519, 95% CI = 1.174-5.405, p = 0.018).14,15,16

Um estudo Espanhol demonstrou que o sobrepeso e a obesidade praticamente duplicaram a sua prevalência desde a década de 1980, tipificando um problema de saúde pública de primeira ordem. Além disso, foi constatado a associação direta e significativa do sobrepeso e da obesidade com a dislipidemia e a síndrome metabólica. Na presente pesquisa, 52% do grupo de casos e 53% do grupo de controles apresentaram sobrepeso. 17

A influência de mecanismos genéticos no metabolismo do colesterol é constantemente elucidada. A APOA5 é uma lipoproteína que possui papel fundamental no metabolismo de triglicérides e colesterol. A deficiência dessa lipoproteína ou alguma alteração em sua conformação geram hipertrigliceridemia e aumento de LDL. [Brautbar](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Brautbar+A&cauthor_id=21889769) A. et al.(2011); [Forte](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Forte+TM&cauthor_id=26028042) TM &[Ryan](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=Ryan+RO&cauthor_id=26028042) RO. (2015) mostraram que os polimorfismos de nucleotídeo único se correlacionam com a alteração metabólica que interfere na secreção de APOa5 e no metabolismo de triglicérides e LDL. Do R. et al. (2015) em um estudo envolvendo 9600 participantes mostrou que os SNPs da APOA5 estão correlacionados com infarto precoce agudo do miocárdio.9, 18,19

Os polimorfismos RS10750097 e RS3741298 estão envolvidos no grupo de SNPs da APOA5 na região ZNF-259. Essas variantes genéticas são consideradas comuns no gene da APOA5 e estão associadas a frequência aumentada na população que tem triglicérides elevados. Estudo Americano realizado no Texas foi constatou 26% da população de 2228 participantes com esses polimorfismos e elevação de triglicérides. 9

O presente estudo determinou que os polimorfismos RS10750097 e RS3741298 não aumentaram a razão de chance de casos apresentarem dislipidemia. (OR e 95% IC<1). De acordo com Brautbar A. et.al (2011), esses dois polimorfismos somente apresentaram associação com a melhora dos níveis de HDL-c após a implementação de tratamento da dislipidemia com ácido fenofíbrico e estatinas. No entanto, não foi observada nenhuma associação significativa de níveis de HDL relacionados aos SNPs anteriormente citados. Somente o RS 3741298 apresentou associação aos níveis basais elevados de triglicérides. Apesar disso, outros polimorfismos da APOA5 como o rs964184 já se mostraram associados ao aumento de triglicérides e outros parâmetros dislipidemicos. Xu C. et al. em 2013 já evidenciou a influência dos polimorfismos da APOA5 no desenvolvimento de síndrome metabólica com OD de 1,33 na população geral 2, 9, 20, 21

Os genótipos dos SNP também são capazes de influenciar nos parâmetros dislipidemicos. Mirhafez SR. et. al (2016) comprovou que a presença dos genótipos C/G e G/G nos polimorfismos da APOA5-ZNF259 ou a simples presença do alelo G em algum genótipo aumenta em 2,5% o risco de o paciente apresentar síndrome metabólica futuramente. Parra EJ. et. al (2017), demonstrou que a presença do alelo G no polimorfismo RS964184 está associada a altas concentrações de triglicérides, sendo que na população americana do estudo foi observada a frequência de 50% do alelo G no SNP descrito. No entanto, não foi observada a mesma associação em outros polimorfismos. 22,23

No presente estudo, a predominância do alelo G não foi observada em nenhum dos polimorfismos analisados, com frequência G/G de 14.6% no grupo de casos e 7.1% no grupo de controles para o SNP RS10750097, já que o RS3741298 não apresentou o alelo G em nenhum de seus genótipos, o que corrobora com a ausência de associação entre a propensão a dislipidemia e os polimorfismos RS10750097 e RS3741298. 22, 23

**CONCLUSÃO**

Assim sendo, os polimorfismos RS10750097 e RS3741298 não influenciaram, então, no desenvolvimento de dislipidemias dentro das variáveis envolvidas nesse estudo caso-controle, apesar de fazerem parte do espectro de SNPs da APOA5 região ZNF 259. Poucas pesquisas anteriores abordaram esses dois polimorfismos no estudo das dislipidemias, o que deixa o campo amplo para novos estudos.

Dessa forma, devem ser estimuladas outras pesquisas com o objetivo de estudar outras populações que possam apresentar perfil genético dos polimorfismos RS10750097 e RS3741298 da APOA5 associados aos quadros de dislipidemia, o que pode suscitar novas metodologias terapêuticas e condutas médicas no futuro.

**REFERÊNCIAS**

 1. The T-allele of the SMARCA4 gene has an apparent protective effect against high levels of total and LDL cholesterol. Genet Mol Res [Internet]. 2020;19(1). Available from: http://www.funpecrp.com.br/gmr/articles/year2020/vol19-1/pdf/gmr18479\_-\_t-allele-smarca4-gene-has-apparent-protective-effect-against-high-levels-total-and-ldl.pdf

2. Silva R dos RF, Nascimento TL de, Silva AMTC, Costa SHN, Castro FS, Silva MAC, et al. APOA5 gene polymorphism assessment and association with hypertriglyceridemia in the military force of the State of Goiás. Res Soc Dev [Internet]. 2021 Jun 14;10(7):e8410716229. Available from: https://rsdjournal.org/index.php/rsd/article/view/16229

3. Xavier HT, Izar MC, Faria Neto JR, Assad MH, Rocha VZ, Sposito AC, et al. [V Brazilian Guidelines on Dyslipidemias and Prevention of Atherosclerosis]. Arq Bras Cardiol [Internet]. 2013;101(4 Suppl 1):1–20. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24217493

4. Liu Y, Zhou D, Zhang Z, Song Y, Zhang D, Zhao T, et al. Effects of genetic variants on lipid parameters and dyslipidemia in a Chinese population. J Lipid Res [Internet]. 2011 Feb;52(2):354–60. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21149302

5. Diabetes Canada Clinical Practice Guidelines Expert Committee, Mancini GBJ, Hegele RA, Leiter LA. Dyslipidemia. Can J diabetes [Internet]. 2018 Apr;42 Suppl 1:S178–85. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29650093

6. Lazzaretti R.K. Marcadores genéticos associados a dislipidemia e redistribuição de gordura corporal em indivíduos infectados pelo HIV em Terapia Antirretroviral. Available from: http://hdl.handle.net/10183/76190

7. Karásek D. Biologic therapy for dyslipidemia. Vnitr Lek [Internet]. 2021;67(4):206–11. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/34275305

8. Chen YQ, Pottanat TG, Zhen EY, Siegel RW, Ehsani M, Qian Y-W, et al. ApoA5 lowers triglyceride levels via suppression of ANGPTL3/8-mediated LPL inhibition. J Lipid Res [Internet]. 2021;62:100068. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/33762177

9. Brautbar A, Covarrubias D, Belmont J, Lara-Garduno F, Virani SS, Jones PH, et al. Variants in the APOA5 gene region and the response to combination therapy with statins and fenofibric acid in a randomized clinical trial of individuals with mixed dyslipidemia. Atherosclerosis [Internet]. 2011 Dec;219(2):737–42. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21889769

10. Fu Q, Tang X, Chen J, Su L, Zhang M, Wang L, et al. Effects of Polymorphisms in APOA4-APOA5-ZNF259-BUD13 Gene Cluster on Plasma Levels of Triglycerides and Risk of Coronary Heart Disease in a Chinese Han Population. PLoS One [Internet]. 2015;10(9):e0138652. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26397108

11. Xu X, Li Y, Huang Y, Ye H, Han L, Ji H, et al. Impact of gender and age on the association of the BUD13-ZNF259 rs964184 polymorphism with coronary heart disease. Anatol J Cardiol [Internet]. 2018 Jan;19(1):42–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/29339699

12. Perez-Martinez P, Corella D, Shen J, Arnett DK, Yiannakouris N, Tai ES, et al. Association between glucokinase regulatory protein (GCKR) and apolipoprotein A5 (APOA5) gene polymorphisms and triacylglycerol concentrations in fasting, postprandial, and fenofibrate-treated states. Am J Clin Nutr [Internet]. 2009 Jan;89(1):391–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19056598

13. Chen X, Leng L, Yu H, Yang X, Dong G, Yue S, et al. Psychological distress and dyslipidemia in chinese police officers: a 4-year follow-up study in Tianjin, China. J Occup Environ Med [Internet]. 2015 Apr;57(4):400–5. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25629802

14. Packard CJ, Boren J, Taskinen M-R. Causes and Consequences of Hypertriglyceridemia. Front Endocrinol (Lausanne) [Internet]. 2020;11:252. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/32477261

15. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. Eur Heart J [Internet]. 2020 Jan 1;41(1):111–88. Available from: https://academic.oup.com/eurheartj/article/41/1/111/5556353

16. Shi Y, Guo L, Chen Y, Xie Q, Yan Z, Liu Y, et al. Risk factors for ischemic stroke: differences between cerebral small vessel and large artery atherosclerosis aetiologies. Folia Neuropathol [Internet]. 2021;59(4):378–85. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/35114778

17. Ramón-Arbués E, Martínez-Abadía B, Gracia-Tabuenca T, Yuste-Gran C, Pellicer-García B, Juárez-Vela R, et al. [Prevalence of overweight/obesity and its association with diabetes, hypertension, dyslipidemia and metabolic syndrome: a cross-sectional study of a sample of workers in Aragón, Spain]. Nutr Hosp [Internet]. 2019 Mar 7;36(1):51–9. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/30834762

18. Forte TM, Ryan RO. Apolipoprotein A5: Extracellular and Intracellular Roles in Triglyceride Metabolism. Curr Drug Targets [Internet]. 2015;16(12):1274–80. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26028042

19. Do R, Stitziel NO, Won H-H, Jørgensen AB, Duga S, Angelica Merlini P, et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. Nature [Internet]. 2015 Feb 5;518(7537):102–6. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25487149

20. Xu C, Bai R, Zhang D, Li Z, Zhu H, Lai M, et al. Effects of APOA5 −1131T&gt;C (rs662799) on Fasting Plasma Lipids and Risk of Metabolic Syndrome: Evidence from a Case-Control Study in China and a Meta-Analysis. Crawford DC, editor. PLoS One [Internet]. 2013 Feb 28;8(2):e56216. Available from: https://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0056216

21. Novotny D, Vaverkova H, Karasek D, Malina P. Genetic variants of apolipoprotein A5 T-1131C and apolipoprotein E common polymorphisms and their relationship to features of metabolic syndrome in adult dyslipidemic patients. Clin Biochem [Internet]. 2014 Aug;47(12):1015–21. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24709297

22. Parra EJ, Mazurek A, Gignoux CR, Sockell A, Agostino M, Morris AP, et al. Admixture mapping in two Mexican samples identifies significant associations of locus ancestry with triglyceride levels in the BUD13/ZNF259/APOA5 region and fine mapping points to rs964184 as the main driver of the association signal. PLoS One [Internet]. 2017;12(2):e0172880. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28245265

23. Mirhafez SR, Avan A, Pasdar A, Khatamianfar S, Hosseinzadeh L, Ganjali S, et al. Zinc Finger 259 Gene Polymorphism rs964184 is Associated with Serum Triglyceride Levels and Metabolic Syndrome. Int J Mol Cell Med [Internet]. 2016;5(1):8–18. Available from: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27386434