



ARTIGO | ARTICLE

Detecção do polimorfismo gln604glu no Gene Abcg5 em um grupo de indivíduos de São Roque (São Paulo/Brasil) e correlação com parâmetros do perfil lipídico

Detection of the gln604glu polymorphism in the gene Abcg5 in a group of individuals from the city of São Roque (São Paulo/Brazil) and the correlation with lipid profile parameters

Diego Baratelli¹
Suely Capps Fernandes¹
Sidney Fernandes²
Edilma Maria de Albuquerque Vasconcelos¹
Renata de Lima^{1,3}

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo estudar o polimorfismo Gln604Glu do gene ABCG5 e a sua correlação com os parâmetros lipídicos, em uma população de voluntários residentes na cidade de São Roque (SP), em 2009. Foram determinados os perfis lipídicos de 150 voluntários por meio de métodos enzimáticos colorimétricos (Advia-1650-Bayer) e em seguida a realização de análise do polimorfismo Gln604Glu do gene ABCG5 pela técnica de reação em cadeia da polimerase seguida de análise de enzima de restrição. Os resultados mostraram que 45% dos indivíduos apresentaram hipercolesterolemia, 31% exibiram hipertriacilglicerolemia e 11% hipotalipoproteinemia. A análise do polimorfismo Gln604Glu do gene ABCG5 demonstrou que 55% dos indivíduos eram heterozigotos, 37% homozigotos normais e 8% homozigotos mutantes. Não foi

¹ Universidade de Sorocaba, Curso de Biotecnologia, Departamento de Biotecnologia. Rod. Raposo Tavares km 92,5, 18023-000, Sorocaba, SP, Brasil. Correspondência para/Correspondence to: R. LIMA. E-mail: <renata.lima@prof.uniso.br>.

² Centro de Extensão Universitária, Curso de Medicina, Departamento de Cardiologia. São Paulo, SP, Brasil.

³ Universidade de São Carlos, Curso de Pós-Graduação em Biotecnologia e Monitoramento Ambiental. Sorocaba, SP, Brasil.

observada diferença significativa entre os perfis lipídicos dos homozigotos selvagens, homozigotos mutantes e heterozigotos, não existindo correlação entre os perfis lipídicos e o polimorfismo. Os resultados sugerem que na população estudada, a presença do polimorfismo não pode ser considerada como um biomarcador para dislipidemia. Sendo necessários estudos mais amplos que avaliem a relação entre o perfil genético do indivíduo e a resposta ao tratamento preconizado.

Palavras-chave: ABCG5/G8. Dislipidemia. Farmacogenética. Hipercolesterolemia. Polimorfismo. Sitosterolemia.

ABSTRACT

The aim of the present work is to study the Gln604Glu polymorphism of the ABCG5 gene and its correlation with the lipid profile in a volunteer population resident in the city of São Roque in the state of São Paulo (2009). For the analysis of the lipid profile and the Gln604Glu polymorphism, we used the techniques of colorimetric analysis, Polymerase Chain Reaction (PCR) and Restriction Fragment Length Polymorphism (RFLP), respectively. The results showed that 45% of the individuals presented with hypercholesterolemia, 31% with hypertriacilglycerolemia and 11% with hypoalphalipoproteinemia. The analysis of the Gln604Glu polymorphism showed that 55% of the individuals were heterozygous, 37% normal heterozygous and 8% mutant heterozygous. No significant difference was observed between the lipid profiles of the wild homozygous, mutant homozygous and heterozygous, there being no correlation between the lipid profile and polymorphisms. The results suggest that the presence of polymorphism cannot be used as a dyslipidemia biomarker, in the studied population. Broader studies are required that can evaluate the relationship between the genetic profile of the individual and the response to the advocated treatment.

Key words: ABCG5/G8. Dyslipidemia. Pharmacogenetics. Hypercholesterolemia. Polymorphism. Sitosterolemia.

INTRODUÇÃO

Segundo a Organização Mundial da Saúde (OMS), as desordens cardiovasculares são principal causa de mortalidade no mundo, responsáveis por um em cada três óbitos (World Health Organization, 2000; 2007).

As dislipidemias são um dos fatores de riscos mais importantes para o surgimento de eventos cardiovasculares. São modificações nas concentrações de lípidos e/ou lipoproteínas e/ou apoproteínas. Podem ser primárias quando apresentam causas genéticas, ou secundárias a várias doenças e ao uso de algumas drogas. Muitas vezes são mistas

(primárias e secundárias). Quando a causa não é identificada são denominadas de esporádicas ou poligênicas. As dislipidemias classificam-se em hipertriacilglicerolemias isoladas, hipercolesterolemias isoladas, hiperlipidemias mista e Lipoproteína de Alta Densidade-colesterol (HDL-c) baixo (De Faria & Castilho, 2006).

As estatinas são recomendadas para o controle da hipercolesterolemia isolada e podem ser administradas em associação à ezetimiba, colestiramina e eventualmente a fibratos ou ácido nicotínico. No tratamento da hipertrigliceridemia isolada são indicados, primeiramente, os fibratos e, em segundo lugar, o ácido nicotínico ou a associação de ambos. O ácido nicotínico e os fibratos são indicados para o

tratamento da hipoalfalipoproteinemia (Sociedade Brasileira de Cardiologia, 2007).

Em consequência da alta incidência dessas co-morbidades, existe a necessidade de desenvolvimento de novas terapias farmacológicas. Contudo, as respostas aos tratamentos hipolipemiantes exibem distinções interindividuais, sendo que, enquanto em alguns apresentam respostas efetivas, outros apresentam ausência de resposta ou mesmo toxicidade inesperada (Metzger *et al.*, 2006). A busca de ferramentas terapêuticas mais eficazes e seguras, que possam predizer quais pacientes responderão ou não a uma terapia é extremamente válida. Atualmente, aliada aos avanços da genética, biologia molecular e o sequenciamento do genoma humano, tem sido muito destacada a influência de variações genéticas nas respostas às drogas (Nebert, 1999; Sandrim *et al.*, 2006).

Estes novos avanços deram início à farmacogenética, uma nova área que utiliza a genética para auxiliar na previsão da eficácia farmacológica da monoterapia ou da associação de um ou mais fármacos, podendo trazer vantagens ao tratamento das dislipidemias, devido a maior adesão do paciente ao tratamento em resposta a diminuição das reações adversas e maior eficácia do mesmo, o que leva a uma diminuição no tempo de tratamento e no número de internações, fator de importante impacto na saúde pública (Fiegenbaum & Hutz, 2006; Hirata *et al.*, 2006; Metzger *et al.*, 2006).

Recentemente, foi caracterizado um grupo de proteínas transmembranares conhecidas como cassete ATP-ligante (ABC), formadoras da família que medeia o transporte unidirecional, dependente de ATP, de uma gama seletiva de moléculas, como íons, açúcares, proteínas, compostos hidrofílicos, xenobióticos, esteróis e lipídios (Dean & Hamon, 2001; Vaisman *et al.*, 2001). Pelo menos 5 sub-famílias dos transportadores ABC medeiam o efluxo de esteróis em mamíferos, são eles o ABCA1, ABCG1, ABCG4, ABCG5 e ABCG8. O ABCG5 e ABCG8 (*ATP-Binding Cassette, Subfamily G, Member 5 e 8*) são heterodímeros altamente expressos no fígado, intestino delgado, vesícula biliar e em menor quanti-

dade nos cólons intestinais (Graf *et al.*, 2002). Essas proteínas desempenham papel crucial na homeostase do colesterol, pois produzem transportadores com uma grande especificidade para a eliminação dos esteróis de origem animal e vegetal e, em casos de mutações, há acúmulo de fitoesteróis na circulação sanguínea, fato conhecido como sitoesterolemia (Bhattacharyya & Connor, 1974).

A sitoesterolemia é uma doença de herança autossômica recessiva caracterizada pela hiperfitoesterolemia e hipercolesterolemia (Bhattacharyya & Connor, 1974; Hubáček *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2001; Heimerl *et al.*, 2002).

Recentemente, o polimorfismo C1950G (Gln604→Glu) do gene ABCG5 foi caracterizado como causa de erros inatos de metabolismo que culminam em dislipidemias (Weggemans *et al.*, 2002; Herron *et al.*, 2006, Caamaño *et al.*, 2008). O objetivo deste estudo foi determinar os perfis lipídicos e genéticos e verificar a existência de correlação entre o polimorfismo de uma única base (C1950G) do gene ABCG5 com as dislipidemias, em indivíduos da cidade de São Roque (SP).

MATERIAL E METÓDOS

Casuística

Este foi um estudo randomizado, realizado em 2009, com 150 indivíduos voluntários que residem na cidade de São Roque (SP). Como critérios de inclusão, foram considerados o não uso de medicamentos que pudessem vir a interferir no metabolismo lipídico ou de carboidratos e o não tratamento de doenças metabólicas. Os dados de cada um dos indivíduos como peso e altura foram medidos em momento anterior a coleta e o restantes dos dados pessoais foi obtidos através de questionário, os testes bioquímicos e genéticos foram realizados a partir de amostras biológicas sanguíneas. O questionário e a coleta foram realizados após assinatura do termo de consentimento livre esclarecido. Este tipo de estudo é considerado de risco mínimo para os voluntários,

conforme definição da resolução 01/88 do Conselho Nacional de Saúde e recebeu parecer favorável do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP - Universidade de Sorocaba (processo nº026/06).

Determinação do perfil lipídico

A determinação das concentrações séricas do Colesterol Total (CT), HDL-c e Triacilglicerol (TG) foram realizados por métodos enzimáticos colorimétricos (*Sera Pak Plus*) em sistema de automação Advia-1650 (*Bayer*). As frações Lipoproteína de Baixa Densidade e Lipoproteína de Muito Baixa Densidade e do colesterol (LDL-c e VLDL-c) foram estimadas pela equação de Friedewald (Friedewald & Frederickson, 1972), para TG < 400 mg/dL. O sangue foi coletado com o paciente respeitando jejum de 12 horas.

Para avaliação dos perfis lipídico e lipoprotéico foram utilizados os valores de referência baseados nas recomendações do *National Cholesterol Education Program* (NCEP, 1993) que considera hipercolesterolemia a elevação do LDL-c ($e''160$ mg/dL), hipertriacilglicerolemia a elevação do TG ($e''150$ mg/dL), hipoalfalipoproteinemia a redução do HDL-c ($d''40$ mg/dL) e hiperlipidemia mista valores aumentados de ambos, LDL-c ($e''160$ mg/dL) e TG ($e''150$ mg/dL). Nos casos em que os TG eram $e''400$ mg/dL, o cálculo do LDL-c pela fórmula de Friedewald era inadequado, sendo considerado a hiperlipidemia o colesterol $e''200$ mg/dL (*National Cholesterol Education Program*, 1993).

Determinação do perfil genético

A extração do DNA genômico foi baseada em Sambrook et al. (1989). Os ensaios de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) foram modificados a partir de Hubáček et al. (2004). Para realização da PCR as concentrações utilizadas foram aproximadamente 5 ng de DNA genômico, 400 nM de cada primer, 5x Tampão de reação, 2 mM de MgCl₂

0,2 mM de deoxinucleotídeos (dNTP) e 2,5 U de Taq DNA polimerase, sob as seguintes condições: 95°C por 5 minutos, 35 ciclos de 95°C por 5 minutos, 60°C por 1 minuto, 72°C por 4 minutos e 72°C por 5 minutos.

Os fragmentos obtidos pela PCR foram de 117 pb. Estes seguidamente foram expostos à restrição enzimática com a enzima *Xho-I* (Fermentas) por 16 h a 37°C. Os alelos mutantes não possuem sítio de restrição da enzima, logo permaneceram inalterados, enquanto que os alelos normais foram divididos em 2 fragmentos (31 pb + 86 pb).

As bandas foram visualizadas em gel de agarose 1000 *Low melting* a 2 e 4%, utilizando-se *Blue Green Loading Dye I* (LCG) sobre luz UV, seguida de fotodocumentação.

Quanto a análise estatística, as características clínicas, bioquímicas e genéticas do grupo foram feitas através de análise descritiva. O teste de *t* Student foi utilizado para a comparação de dados como média e desvio padrão e o teste de Fischer na comparação de porcentagens, além de uma análise de variância com comparações múltiplas de uma via *One Away Anova*, sendo a significância estatística assumida para um $p < 0,05$. Para a análise dos dados foram utilizados os programas *GraphPadInStat* da *Graphpad Software Inc.*, San Diego, (CA) e *Minitab 14*.

RESULTADOS

O grupo em estudo foi constituído de 150 indivíduos, sendo 87% brancos e 13% negros; 58% do sexo feminino e 42% do sexo masculino, com idade média de 38 anos e Índice de Massa Corporal (IMC) médio de 25,1 kg/m².

Em média, os voluntários eram normolipídêmicos (Tabela 1), entretanto, alterações importantes nas concentrações dos lipídeos plasmáticos foram observadas, como hipercolesterolemia (45%), hipertriacilglicerolemia (31%) e hipoalfalipoproteinemia (11%). Entre os hipoalfalipoproteinêmicos, 56,25% apresentaram também hipertriacilglicerolemia, de acordo com a Sociedade Brasileira de Cardiologia (2007).

A análise do perfil genético foi realizada em 147 indivíduos, sendo observado que 55% eram heterozigotos, 37% homozigotos normais e 8% de homozigotos mutantes (Figura 1).

Os indivíduos foram subdivididos em homozigotos selvagens, heterozigotos e homozigotos mutantes, e as médias dos perfis lipídicos mostraram a não ocorrência de diferenças significativas entre os resultados (Tabela 2).

O estudo da correlação dos parâmetros das frações lipídicas e IMC com a mutação Gln604Glu não mostrou correlação estatisticamente significativa (Tabela 3).

DISCUSSÃO

No presente trabalho foi possível observar que a maioria dos voluntários era portador de

Tabela 1. Caracterização do perfil lipídico e lipoproteico dos pacientes. São Roque (SP), 2009.

Perfil lipídico	Média	Desvio-Padrão
Colesterol Total (mg/dL)	198,44	40,81
VLDL-colesterol (mg/dL)	25,67	14,75
LDL-colesterol (mg/dL)	121,22	33,60
HDL-colesterol (mg/dL)	51,12	9,01
Triacilglicerol (mg/dL)	131,12	77,85

n:150; VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade; LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade; HDL: Lipoproteína de Alta Densidade.

Tabela 2. Distribuição dos lípides de acordo com o perfil genético e comparação dos subgrupos. São Roque (SP), 2009.

Variável	Homozigoto Mutante n=12 (8%)		Heterozigoto n=81 (55%)		Homozigoto Selvagem n=54 (37%)	
	M	DP	M	DP	M	DP
Colesterol total (mg/dL)	*183,2	36,2	*196,7	43,4	*206,8	35,8
VLDL-colesterol (mg/dL)	*19,8	8,2	*24,8	15,4	*26,9	14,8
LDL-colesterol (mg/dL)	*112,3	32,4	*122,3	34,2	*126,8	31,1
HDL-colesterol (mg/dL)	*51,1	8,3	*50,9	8,5	*51,6	10,3
Triacilglicerol (mg/dL)	*98,8	41,0	*125,0	76,6	*134,4	74,2

Análise estatística realizada por ANOVA "one way". * $p > 0,05$; VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade; LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade; HDL: Lipoproteína de Alta Densidade; M: Média; DP: Desvio-Padrão.

Tabela 3. Perfil genético mutante em relação as frações lipídicas e ao IMC. São Roque (SP), 2009.

Perfil genético	<i>p</i> (valor)
Colesterol Total vs Genótipo	0,317
Índice de massa corporal vs Genótipo	0,744
Triacilglicerol vs Genótipo	0,809
HDL-colesterol vs Genótipo	0,744
VLDL-colesterol vs Genótipo	0,373
LDL-colesterol vs Genótipo	0,744

* $p > 0,05$; HDL: Lipoproteína de Alta Densidade; VLDL: Lipoproteína de Muito Baixa Densidade; LDL: Lipoproteína de Baixa Densidade; IMC: Índice de Massa Corporal.

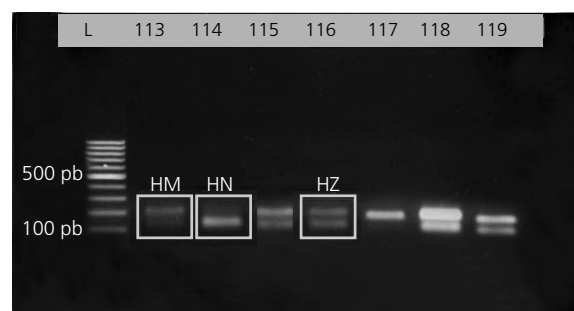


Figura 1. Figura ilustrativa para identificação dos homozigotos mutantes (HM), heterozigotos (HZ) e homozigotos normais (HN).

hiperlipidemias (hipercolesterolemia ou hipertrigliceremia), além disso, mais da metade desses indivíduos apresentaram também dislipidemia mista (hipertriacilglicerolemia associada a hipoal-falipoproteinemia), corroborando com o que já está descrito na literatura a respeito de quão frequente é a associação entre esses diferentes tipos de dislipidemias (Law et al., 1994).

Recentemente foram realizados estudos, referente a genes importantes do metabolismo lipídico como os genes ABCG5/G8, buscando caracterizar e definir qual o seu verdadeiro papel molecular e fisiopatológico (Lida et al., 2002; Fitzgerald et al., 2010).

No presente estudo detectou-se que mais da metade dos voluntários eram portadores do polimorfismo (Gln604Glu) do gene ABCG5 (heterozigotos e homozigotos), havendo notoriamente um número maior de indivíduos heterozigotos (G/C). Dados referentes ao polimorfismo do gene ABCG5 na população brasileira são inexistentes. Embora existam estudos na população brasileira referente a outras mutações diretamente relacionadas com o metabolismo de lipoproteínas, entre elas estão mutações que interferem no Metilenotetrahidrofolato Redutase (MTHFR), Apo (AI-II), Apo (C-III), Apo (B), Apo E, receptores de LDL-c (LDLr), e casos de hipercolesterolemia familiar (Bydlowsky et al., 1996; Cavalli et al., 2000; Salazar et al., 2002; Santos & Zago, 2003; Fiegenbaum et al., 2007; Sabino et al., 2009).

Pesquisas que correlacionaram à dislipidemia e a mutação do gene ABCG5, apesar de terem algumas distinções de delineamento, são controversas em relação às mutações estarem ou não associadas às dislipidemias. No presente trabalho, não foi encontrada correlação entre os parâmetros do perfil lipídico e o polimorfismo Gln604Glu do gene ABCG5. Resultados semelhantes foram encontrados por Hubáček et al. (2004), ao estudarem 285 voluntários tchecos (70,0% homozigotos normais, 27,0% heterozigotos e 2,8% homozigotos mutantes) visto que não encontraram correlação ente o polimorfismo e a colesterolemia. Entretanto, Weggemans

et al. (2002) ao estudarem uma população holandesa identificaram uma relevante significância dos homozigotos mutantes do gene ABCG5 (Gln604Glu) com os níveis séricos dos lipídios. Estudo realizado na população chilena, Caamaño et al. (2008) constataram que dentre os 222 voluntários 118 eram hipercolesterêmicos, sendo aproximadamente 49 destes homozigotos mutantes (42,0%), sugerindo que a mutação no gene ABCG5 (Gln604Glu) estava altamente correlacionada com a hipercolesterolemia. Além disso, Acalovschi et al. (2006) constataram, em 68 indivíduos com cálculos renais, que a mesma mutação no ABCG5 estava associada a hipertriacilglicerolemia e que o polimorfismo pode contribuir com variações nos níveis dos lipídios plasmáticos e na saturação do colesterol biliar.

Segundo Weggemans et al. (2002), são necessários novos estudos epidemiológicos para verificar a real atuação do polimorfismo supra citado sobre as dislipidemias e as suas consequentes comorbidades e complicações, tais como as Doenças Arteriais Coronarianas (DAC).

É sabido que a prescrição dos hipolipemiantes se dá de modo empírico onde não é levada em conta a chamada "individualização bioquímica e terapêutica". A variabilidade de fármacos ilustra a heterogeneidade de resposta às drogas entre pacientes, e isso é parcialmente devido à composição genética única que cada indivíduo apresenta (Metzger et al., 2006).

É importante salientar que, apesar de não termos realizados testes que avaliassem o papel dos polimorfismos na eficácia do tratamento, a relevância do presente trabalho também reside no fato da identificação de mutações em genes específicos que podem ajudar numa predição farmacológica mais adequada visto que no presente trabalho foi detectada a presença de polimorfismo de uma única base (Gln604Glu) no gene ABCG5 com frequência genotípica de 63% de mutações. A terapia farmacológica comumente utilizada para o tratamento da hipercolesterolemia é, principalmente, a base de estatinas que atuam no metabolismo do colesterol,

enquanto que estudos demonstram que no caso de indivíduos com mutações no gene ABCG5 e ABCG8 a ezetimiba, que atua na absorção intestinal do colesterol, possui maior eficiência (Tunstall-Pedoe et al., 2000; Mansur et al., 2001; Graf et al., 2002; Freeman et al., 2004; Neal & Jones, 2006). Uma maior especificidade de repostas aos medicamentos trará melhoras à atenção médica e farmacêutica (Hirata et al., 2006; Metzger et al., 2006)

CONCLUSÃO

A análise do perfil genético do grupo detectou na população a presença de polimorfismo Gln604Glu no gene ABCG5 com frequência genotípica de 63% de mutação (55% - heterozigotos e 8% - homozigotos mutantes). Não houve diferença significativa entre o perfil lipídico dos indivíduos homozigotos mutantes e heterozigotos quando comparados aos homozigotos selvagens, nem correlação significativa entre a presença do polimorfismo e as concentrações séricas dos lipídeos. Desta forma, não é possível afirmar que a mutação a Gln604Glu do gene ABCG5 pode ser considerada como um biomarcador associado às dislipidemias. Os resultados sugerem que na população estudada, a presença do polimorfismo não pode ser usada como um biomarcador para dislipidemia. São necessários estudos mais amplos que avaliem a relação entre o perfil genético do indivíduo e a resposta ao tratamento preconizado.

AGRADECIMENTOS

Em especial aos Professor Doutor Leonardo F. Fraceto, Luis Carlos de Almeida e Daniele Ribeiro Araujo pelos apontamentos, sugestões e críticas cujo, o apoio deles culminou nessa pesquisa de alta qualidade.

REFERÊNCIAS

Acalovschi, M.; Ciocan, A.; Mostean, O.; Tirziu, S.; Chiorean, E.; Keppeler, H. et al. (2006). Are plasma lipid

levels related to ABCG5/ABCG8 polymorphisms?: a preliminary study in siblings with gallstones. *European Journal of Internal Medicine*, 17(7):490-4.

Bhattacharyya, A.K. & Connor, W.E. (1974). Beta-sitosterolemia and xanthomatosis: a newly described lipid storage disease in two sisters. *Journal of Clinical Investigation*, 53(4):1033-3.

Bydlowsky, S.P.; Novak, E.M.; Issa, J.S.; Forti, N.; Giannini, S.D. & Diament, J. (1996). DNA polymorphisms of apolipoprotein B and A I - C III - A IV genes in a Brazilian population: a preliminary report. *Brazilian Journal of Medical and Biological Research*, 29(10):1269-74.

Caamaño, J.M.; Pacheco, A.; Lanás, F. & Salazar, L.A. (2008). Single nucleotide polymorphisms in ABCG5 and ABCG8 genes in Chilean subjects with polygenic hypercholesterolemia and controls. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, 46(11):1581-5.

Cavalli, S.A.; Hirata, M.H.; Salazar, L.A.; Diament, J.; Forti, N.; Giannini, S.D. et al. (2000). Apolipoprotein B gene polymorphisms: prevalence and impact on serum lipid concentrations in hypercholesterolemic individuals from Brazil. *Clinica Chimica Acta*, 302(1-2):189-203.

Dean, M.Y. & Hamon, G.C. (2001). The human ATP-binding cassette (ABC) transporter superfamily. *Journal of Lipid Research*, 42(7):1007-7.

De Faria, E.C. & Castilho, L.N. (2006). Dislipidemias. In: Lopes, A.C.; Ward, L.S. & Guariento, M.E. *Medicina ambulatorial*. São Paulo: Atheneu.

Fiengenbaum, M. & Hutz, M.H. (2006). Farmacogenética de fármacos hipolipemiantes. *Medicina*, 39(4):543-3.

Fiengenbaum, M.; Andrade, F.M. & Hutz, M.H. (2007). Association between plasma lipid parameters and APOC3 genotypes in Brazilian subjects: effect of gender, smoking and APOE genotypes. *Clinica Chimica Acta*, 380(1-2):175-81.

Fitzgerald, M.L.; Mujawar, Z. & Tamehiro, N. (2010). ABC transporters, atherosclerosis and inflammation. *Atherosclerosis*, 211(2):361-70.

Freeman, L.A.; Kennedy, A.; Wu, J.; Bark, S.; Remaley, A.T.; Santamarina-Fojo, S. et al. (2004). The orphan nuclear receptor LRH-1 activates the ABCG5/ABCG8 intergenic promoter. *Journal of Lipid Research*, 45(7):1197-6.

Friedewald, W.T., Levy, R.I. & Frederickson, D.S. (1972). Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clinical Chemistry*, 18(6):499-502.

Graf, G.A.; Li, W.P.; Gerard, R.D.; Gelissen, I.; White, A.; Cohen, J.C. et al. (2002). Coexpression of ATP-binding cassette proteins ABCG5 and ABCG8 permits their transport to the apical surface. *Journal of Clinical Investigation*, 110(5):659-9.

Heimerl, S.; Langmann, T.; Moehle, C.; Mauerer, R.; Dean, M.; Beil, F.U., et al. (2002). Mutations in the human ATP-

binding cassette transporters ABCG5 and ABCG8 in sitosterolemia. *Human Mutation*, 20(2):151-5.

Herron, K.L.; McGrane, M.M.; Waters, D.; Lofgren, I.E.; Clark, R.M.; Ordovas, J.M. et al. (2006). The ABCG5 polymorphism contributes to individual responses to dietary cholesterol and carotenoids in eggs. *Journal of Nutrition*, 136(5):1161-5.

Hirata, M.H.; Tavares, V. & Hirata, R.D.C. (2006). Da biologia molecular à medicina: métodos comumente utilizados em farmacogenética. *Medicina*, 39(4):522-4.

Hubáček, J.A.; Berge, K.E. & Cohen, H.H.H. (2001). Mutations in ATP-cassette binding proteins G5 (ABCG5) and G8 (ABCG8) causing sitosterolemia. *Human Mutation*, 18(4):359-60.

Hubáček, J.A.; Berge, K.E.; Stefková, J.; Pitha, J.; Skodová, Z.; Lánská, V. et al. (2004). Polymorphisms in ABCG5 and ABCG8 transporters and plasma cholesterol levels. *Physiological Research*, 53(4):395-1.

Sociedade Brasileira de Cardiologia. Departamento de Aterosclerose. (2007). IV Diretriz Brasileira Sobre Dislipidemias e Prevenção da Aterosclerose Departamento de Aterosclerose da Sociedade Brasileira de Cardiologia. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 88 (Supl. 1). Disponível em: <http://www.apah.org.br/imagens%5Cpdf_diretrizes%5Cdiretriz_de_aterosclerose.pdf>. (acesso: 7 nov. 2009).

Law, M.R.; Wald, N.J. & Thompson, S.G. (1998). Serum cholesterol reduction and health: by how much and how quickly is the risk of ischemic heart disease lowered? *British Medical Journal*, 308(6925):367-2.

Lee, M.H.; Lu, K.; Hazard, S.; Yu, H.; Shulenin, S.; Hidaka, H. et al. (2001). Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nature Genetics*, 27(1):79-3.

Lida, A.; Saito, S.; Sekine, A.; Mishima, C.; Kitamura, Y.; Kondo, K. et al. (2002). Catalog of 605 single-nucleotide polymorphisms (SNPs) among 13 genes encoding human ATP-binding cassette transporters: ABCA4, ABCA7, ABCA8, ABCD1, ABCD3, ABCD4, ABCE1, ABCF1, ABCG1, ABCG2, ABCG4, ABCG5, and ABCG8. *Journal Human Genetic*, 47(6):285-310.

Mansur, A.P.; Favarato, D.; Souza, M.F.; Avakian, S.D.; Aldrighi, J.M.; César, L.A. et al. (2001). Trends in death from circulatory diseases in Brazil between 1979 and 1996. *Arquivos Brasileiros de Cardiologia*, 76(6):504-10.

Metzger, I.F.; Costa, D.C.S. & Tanus-Santos, J.E. (2006). Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. *Medicina*, 39(4):515-1.

National Cholesterol Education Program. (1993). Summary of the second report of the National Cholesterol Education Program. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II). *Journal of the American Medical Association*, 269(23):3015-23.

Neal, R.C. & Jones, P.H. (2006). Complementary therapy to target LDL cholesterol: the role of the ezetimibe/simvastatin combination. *Vascular Health Risk Management*, 2(1):31-8.

Nebert, D.W. (1999). Pharmacogenetics and pharmacogenomics: why is this relevant to the clinical geneticist? *Clinical Genetics*, 56(4):247-8.

Sabino, A.; Fernandes, A.P.; Lima, L.M.; Ribeiro, D.D.; Sousa, M.O.; Castro Santos, M.E. et al. (2009). Polymorphism in the methylenetetrahydrofolate reductase (C677T) gene and homocysteine levels: a comparison in Brazilian patients with coronary arterial disease, ischemic stroke and peripheral arterial obstructive disease. *Journal of Thrombosis and Thrombolysis*, 27(1):82-7.

Salazar, L.A.; Hirata, M.H.; Cavalli, S.A.; Nakandakare, E.R.; Forti, N.; Diament, J. et al. (2002). Molecular basis of familial hypercholesterolemia in Brazil: identification of seven novel LDL-R gene mutations. *Human Mutation*, 19(4):462-3.

Sambrook, J.; Fritsch, E.F. & Maniatis, T.E. (1989). *Molecular cloning: a laboratory manual*. 2nd ed. New York: Cold Spring Harbor.

Sandrim, V.C.; Rezende, V.B. & Tanus-Santos, J.E. (2006). Farmacogenética cardiovascular. *Medicina*, 39(4):535-2.

Santos, J.E. & Zago, M.A. (2003). Familiar hypercholesterolemia in Brazil. *Atherosclerosis*, 4(3):1-2.

Tunstall-Pedoe, H.; Vanuzzo, D.; Hobbs, M.; Mähönen, M.; Cepaitis, Z.; Kuulasmaa, K. et al. (2000). Estimation of contribution of changes in coronary care to improving survival, event rates, and coronary heart disease mortality across the WHO, MONICA project populations. *Lancet*, 355(9205):688-700.

Vaisman, B.L.; Lambert, G.; Amar, M.; Joyce, C.; Ito, T.; Shamburek, R.D., et al. (2001). ABCA1 overexpression leads to hyperalphalipoproteinemia and increased biliary cholesterol excretion in transgenic mice. *Journal Clinical Investigation*, 108(2):303-9.

Weggemans, R.M.; Zock, P.L.; Tai, E.S.; Ordovas, J.M.; Molhuizen, H.O. & Katan, M.B. (2002). ATP binding cassette G5 C1950G polymorphism may affect blood cholesterol concentrations in humans. *Clinical Genetics*, 62(3):226-9.

World Health Organization. (2007). Cardiovascular diseases. Available from: <http://www.who.int/topics/cardiovascular_diseases/en/>. (cited: 22 Oct. 2007).

World Health Organization. (2000). Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. Technical reports series: 894. Available from: <http://www.who.int/nutrition/publications/obesity/WHO_TRS_894/en/index.html>. (cited: 20 Feb. 2010).

Recebido em: 21/11/2011

Versão final reapresentada em: 16/2/2011

Aprovado: 9/3/2011