

Estudio del componente genético de la cardiopatía isquémica: de los estudios de ligamiento al genotipado integral del genoma

Roberto Elosua^{a,b}, Carla Lluís^a y Gavin Lucas^a

^aGrupo de Epidemiología y Genética Cardiovascular. Programa de Investigación en Procesos Inflamatorios y Cardiovasculares. Instituto Municipal de Investigación Médica. Barcelona. España.

^bCIBER de Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP).

Desde hace siglos sabemos que muchas características de los seres vivos se heredan. En los últimos años se ha avanzado mucho en el conocimiento de muchas enfermedades mendelianas causadas por mutaciones en uno o en un reducido número de genes. Sin embargo, el conocimiento de las bases genéticas de las enfermedades complejas, entre ellas la cardiopatía isquémica, está siendo mucho más dificultoso. En esta revisión de carácter narrativo, tenemos como objetivo revisar algunos de los resultados más relevantes obtenidos hasta la fecha sobre el estudio del componente genético de la cardiopatía isquémica. Presentamos los resultados más importantes que han aportado los estudios de ligamiento y asociación, incluidos los estudios de asociación integral del genoma. Por último, revisamos la utilidad que estos resultados pueden tener en la práctica clínica diaria y la prevención, y los retos previsibles para el futuro inmediato.

Palabras clave: Cardiopatía isquémica. Genética. Variantes genéticas. Polimorfismos.

Research Into the Genetic Component of Heart Disease: From Linkage Studies to Genome-Wide Genotyping

It has been known for centuries that many of the characteristics of living creatures are inherited. In recent years, considerable progress has been made in our understanding of many mendelian diseases caused by mutations in one or a small number of genes. However, it is proving much more difficult to elucidate the genetic basis of complex diseases, including coronary heart disease (CHD). The objective of this paper was to review some of the most significant findings observed to date in studies into the genetic component of CHD. We report on the most important results from linkage and association studies, including genome-wide association studies. Finally, we summarize the potential usefulness of these findings for daily clinical practice and disease prevention, and look forward to the challenges we can expect to encounter in the near future.

Key words: Coronary heart disease. Genetics. Genetic variants. Polymorphisms.

INTRODUCCIÓN

Desde hace siglos sabemos que muchas características de los seres vivos se heredan. La genética es la parte de la ciencia que estudia la herencia y lo relacionado con ella. Aunque en 1866 Mendel ya describió las principales leyes de la genética, no fue posible avanzar en el estudio de las bases genéticas de las distintas enfermedades hasta que se desarrollaron métodos para secuenciar el ácido desoxirribonucleico (ADN)¹⁻³. Estas y otras técnicas han permitido que en los últimos años hayamos avan-

zado hasta la secuenciación completa del genoma humano⁴, el conocimiento del patrón de desequilibrio de ligamiento en el genoma⁵ y en el genotipado a gran escala. Todos estos métodos y hallazgos han permitido avanzar en el conocimiento de las bases genéticas de diferentes enfermedades.

Actualmente, se han establecido las bases genéticas de más de 2.000 enfermedades monogénicas y oligogénicas, que están causadas por variaciones genéticas en uno o en un reducido número de genes⁶. Entre ellas, se han identificado los genes y las mutaciones causales de enfermedades como la hipercolesterolemia familiar⁷, el síndrome de QT largo, el síndrome de Brugada⁸ y algunas miocardiopatías⁹. El problema, desde el punto de vista de la salud pública, es que estas enfermedades suelen afectar a pocas personas, por lo que el impacto en la salud de la población suele ser modesto.

La identificación del componente genético de las enfermedades crónicas más frecuentes está siendo

Esta revisión ha sido financiada en parte por el Ministerio de Ciencia e Innovación, Instituto de Salud Carlos III (Red HERACLES RD06/0009).

Correspondencia: Dr. R. Elosua.
Grupo de Epidemiología y Genética Cardiovascular. Programa de Investigación en Procesos Inflamatorios y Cardiovasculares. Institut Municipal d'Investigació Mèdica.
Dr. Aiguader, 88. 08003 Barcelona. España.
Correo electrónico: relousa@imim.es

ABREVIATURAS

CI: cardiopatía isquémica.
 GWA: *genome-wide association*.
 ROC: *receiver operating characteristics*.
 SNP: polimorfismo de base única.

mucho más dificultosa ya que su progresión y manifestación clínica están relacionadas no sólo con factores genéticos, sino también con factores ambientales y su interacción. La cardiopatía isquémica (CI) es una de estas enfermedades que se caracteriza por diferentes formas de presentación clínica, una etiopatogenia compleja, su relación con factores ambientales (dieta, tabaco, actividad física)¹⁰, en la que, desde el punto de vista genético, intervienen muchos genes, cuyo efecto muchas veces puede estar modificado por factores ambientales. La CI continúa siendo la principal causa individual de muerte y las estimaciones indican que será la principal causa de muerte en el mundo en el año 2020¹¹. En España, la CI produjo el 9,98% de las muertes en 2006¹² y causa, además, una gran morbilidad¹³. Determinar sus bases genéticas podría tener un impacto relevante en la prevención y el tratamiento de esta enfermedad.

En esta revisión de carácter narrativo, tenemos como objetivo poner al día y sintetizar algunos de los resultados más relevantes obtenidos hasta la fecha sobre el estudio del componente genético de la CI. Para ello analizaremos las siguientes cuestiones: *a)* ¿hay un componente genético en la enfermedad? ¿podemos cuantificarlo?; *b)* ¿cuál es la arquitectura genética de la enfermedad?, es decir ¿qué genes y qué variantes genéticas influyen en su aparición?, y *c)* ¿cuál es la utilidad de esa información genética en la prevención, el diagnóstico y el tratamiento de la CI?

CUANTIFICACIÓN DEL COMPONENTE GENÉTICO DE LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

Desde hace años existe el convencimiento de que los genes inflúan en el riesgo de presentar enfermedades del corazón^{14,15}. Esta evidencia proviene de estudios epidemiológicos clásicos en los que se observaba que la aparición de diferentes formas clínicas de CI eran más frecuentes en individuos con antecedentes familiares de la enfermedad, lo que indicaba una agregación familiar^{14,16}. Estudios más recientes indican que el antecedente de enfermedad isquémica en padres¹⁷ o hermanos^{18,19} es un factor de riesgo de aparición de CI independiente de los factores de riesgo clásicos. Esta agregación familiar apunta a un componente genético en la enfermedad, aunque también podría estar relacionada con factores ambientales y comportamientos que son comunes y también «se heredan» en el contexto familiar²⁰.

La heredabilidad se define como la proporción de la variabilidad fenotípica existente en una población que puede ser atribuible al componente genético. Se han publicado varios estudios que han determinado la heredabilidad de distintos fenotipos relacionados con la arteriosclerosis²¹⁻³⁰, que indican, en su mayoría, que la heredabilidad es del 40-55%, lo cual apoya la influencia genética sustancial en estos fenotipos (tabla 1). De todos modos, hay que tener en cuenta que la interpretación del resultado de la heredabilidad se tiene que realizar con precaución³¹: los componentes genético y ambiental de la variabilidad de una característica poblacional no suelen ser independientes, y su efecto muchas veces depende de la interacción entre ellos. Esta interacción no suele ser tenida en cuenta cuando se calcula este estimador. La heredabilidad depende de la población en la que se estudia; por ejemplo, en una población con un estilo de vida muy similar el componente ambiental tendrá un impacto más pequeño

TABLA 1. Estudios que han analizado la heredabilidad de distintos fenotipos relacionados con la arteriosclerosis

Estudio	Fenotipo	Heredabilidad
Nora et al ²¹	Infarto agudo de miocardio	0,56
Zdravkovic et al ²²	Mortalidad por cardiopatía isquémica	0,57 (varones), 0,38 (mujeres)
Wienke et al ²³	Mortalidad por cardiopatía isquémica	0,53 (varones), 0,58 (mujeres)
Peyser et al ²⁴	Calcio intracoronario	0,42
Xiang et al ²⁵	Arteriosclerosis carotídea	0,64
Fox et al ²⁶	Arteriosclerosis carotídea	0,34
Juo et al ²⁷	Arteriosclerosis carotídea	0,09-0,4
Swan et al ²⁸	Arteriosclerosis carotídea	0,31
North et al ²⁹	Arteriosclerosis carotídea	0,21-0,44
Hunt et al ³⁰	Arteriosclerosis carotídea	0,23

TABLA 2. Resultados de los estudios de ligamiento realizados en familias con casos de cardiopatía isquémica (CI)

Estudio	Población	Fenotipo	Locus identificado	Gen candidato en el locus
Pajukanta et al ³⁵	Finlandia	156 pacientes que tenían al menos 2 hermanos con CI (demostrada angiográficamente) prematura	Xq25	<i>AGTR2</i>
Francke et al ³⁶	Isla Mauricio	99 casos índice con CI antes de los 52 años y algún hermano con infarto de miocardio o diabetes	16p13.3	<i>SOCS1, ACSM3</i>
Broeckel et al ³⁷	Alemania	513 casos índice con al menos 2 hermanos con CI antes de los 60 años	14q32	(?)
Wang et al ³⁸	Estados Unidos (origen europeo)	1 familia de 25 miembros con 13 afectos de CI	15q26	<i>MEF2A</i>
Wang et al ³⁹	Estados Unidos (origen europeo)	428 familias con al menos 2 hermanos con CI	1p36	<i>GJA4</i>
Hauser et al ⁴⁰	Estados Unidos (origen europeo)	438 casos índice con al menos un hermano con CI	3q13	(?)
Helgadottir et al ⁴¹	Islandia	296 familias con varios casos de infarto de miocardio	13q12-13	<i>ALOX5AP</i>
BHF Family ⁴²	Gran Bretaña	1.933 casos índice con al menos 2 hermanos con CI	2q14.3-21.2	<i>IL1A, IL1B, PROC</i>

BHF: British Heart Foundation.

en la variabilidad existente en la población que estará más relacionada con variabilidad genética y viceversa.

ARQUITECTURA GENÉTICA DE LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

Uno de los grandes retos de la investigación actual es determinar qué genes, y dentro de estos genes, qué variantes genéticas son las que causan las enfermedades complejas en general, y entre ellas, la CI en particular: en esto consiste la definición de la arquitectura genética. Para responder a este objetivo, principalmente, hay dos aproximaciones metodológicas: los estudios de ligamiento y los estudios de asociación. Dentro de estos últimos hay varios tipos de estudios que explicaremos a continuación.

Estudios de ligamiento

Los estudios de ligamiento permiten identificar zonas del genoma en las que se encuentra algún gen o genes que están asociados con la enfermedad en estudio. Este tipo de estudios requieren la participación de varias familias integradas por individuos afectos y no afectos de la enfermedad. Clásicamente se han utilizado unos 400 marcadores distribuidos de forma uniforme a lo largo del genoma³², y se ha analizado si alguno de estos marcadores se observaba más frecuentemente en los individuos afectos, es decir si su transmisión de generación en generación se relaciona con la aparición de la enfermedad (segregación). En la figura 1A se presenta un ejemplo en el que se observa que el alelo A1 de la variante A cosegrega con la enfermedad de forma autosómica dominante, es decir la presencia de un

único alelo A1 ya implica la aparición de la enfermedad. Estos resultados no indican que el alelo A1 sea la variante genética que cause la enfermedad, sino que está asociada (en ligamiento) con la variante causal. El siguiente paso es analizar con mayor detalle la zona del genoma alrededor de ese alelo A1 con otra serie de marcadores genéticos para identificar el gen y la variante causal. Esta aproximación permitió identificar el gen causal de la enfermedad de Huntington en 1983³³ y ha sido muy útil para identificar los genes causales de muchas enfermedades monogénicas.

Sin embargo, la utilización de este tipo de estudios en enfermedades complejas como la CI no ha tenido tanto éxito³⁴. En la tabla 2 se presentan los resultados de diferentes estudios de ligamiento realizados en familias con CI³⁵⁻⁴²; se observa que el solapamiento o la concordancia de los locus identificados en los diferentes estudios han sido nulos. Esta falta de replicabilidad puede indicar una heterogeneidad genética en la enfermedad (muchos genes involucrados), aunque también puede estar relacionada con los diferentes fenotipos relacionados con la CI utilizados en los diferentes estudios. De los locus identificados en estos estudios, en únicamente dos se ha podido identificar el hipotético gen causal.

En el estudio de Wang et al³⁹ se identificó, mediante el estudio de una familia, una mutación (deleción de 21 bases) en el gen *MEF2A* que segregaba de forma dominante con la enfermedad y los hallazgos se replicaban en una muestra de unos 200 casos y controles. Sin embargo, aunque hay un estudio en una serie española que ha replicado estos resultados⁴³, la mayoría de los estudios no han confirmado esta asociación^{44,45} y el papel de este gen sigue siendo motivo de debate⁴⁶.

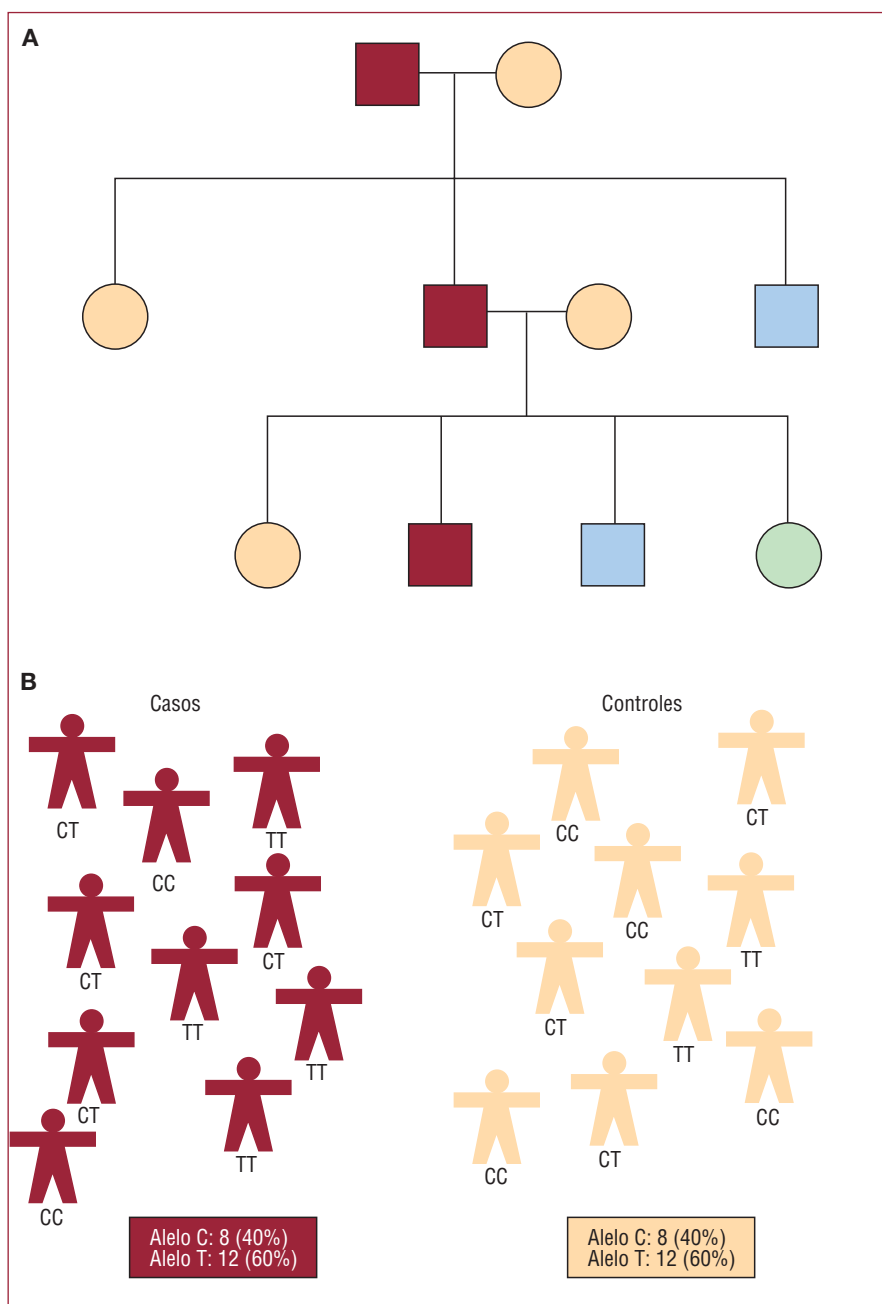


Fig. 1. A: representación gráfica del fundamento de los estudios de ligamiento en la que se observa que la presencia del alelo A1 de la variante A cosegrega con la enfermedad de forma autosómica dominante (cuadrados representan sexo masculino; círculos representan sexo femenino; color marrón oscuro representa personas que presentan enfermedad). B: representación del fundamento de los estudios de asociación en un estudio de caso-control que compara la frecuencia de alelos entre casos y controles.

Helgadottir et al⁴¹ utilizaron 1.068 marcadores genéticos, en 713 individuos de 296 familias y encontraron un locus que segregaba con infarto agudo de miocardio en el cromosoma 13, especialmente en mujeres⁴¹. Se analizó con mayor detalle ese locus mediante 120 marcadores en un grupo de unos 800 casos y 800 controles y se encontró, finalmente, un haplotipo en el gen *ALOX5AP* que conllevaba un exceso de riesgo de infarto de miocardio e ictus⁴¹. Estos resultados se han replicado en otras poblaciones y estudios^{47,48}, pero no en todos⁴⁹. Este gen codifica una proteína activadora de la lipooxigenasa 5, que interviene en la producción de leuco-

trienos, y que en modelos animales se ha relacionado con la arteriosclerosis⁵⁰. Actualmente, se ha convertido en una nueva diana terapéutica en la vía inflamatoria de la arteriosclerosis⁵¹.

Estudios de asociación

Los estudios de asociación permiten identificar variantes genéticas relacionadas con la enfermedad en estudio. Este tipo de estudios utilizan diseños clásicos en la investigación biomédica: caso-control o de cohorte, aunque también hay algún tipo de diseño específico para estudios genéticos que incluyen

tríos definidos por un caso índice y sus padres⁵². Estos estudios ya se utilizaron en los años cincuenta para analizar la relación entre los grupos sanguíneos y el riesgo de úlcera péptica⁵³. En los años noventa se hicieron muy populares y se ha publicado gran cantidad de estudios que analizan la relación entre variantes genéticas y distintos fenotipos. En la figura 1B se presenta el fundamento de estos estudios que se basa en determinar las diferencias en la frecuencia de genotipos o de alelos entre casos y controles. Recientemente se han publicado unas excelentes y extensas revisiones sobre cómo interpretar un estudio de asociación aplicado a la genética⁵⁴⁻⁵⁶.

Estudios clásicos de asociación

Estos estudios se fundamentan en una hipótesis a priori y el conocimiento de la etiopatogenia de la enfermedad y seleccionan uno o varios genes candidatos y, dentro de este gen, una o varias características genéticas, y analizan su asociación con el fenotipo de interés. A pesar de la gran cantidad de estudios que han utilizado este abordaje para determinar la arquitectura genética de las enfermedades complejas, los resultados han sido decepcionantes. En una revisión publicada en 2002, que analizaba varias enfermedades complejas, se concluyó que había un reducido número de genes que hubieran demostrado tener una asociación sólida⁵⁷. En el caso de la CI, en esta revisión⁵⁷, se identificaron diferentes estudios que habían analizado la asociación entre marcadores genéticos de 35 genes y el riesgo de presentar CI. En estos estudios se había analizado 21 variantes genéticas estudiadas en tres o más ocasiones y ninguna de estas variantes se replicaba en más del 75% de los estudios⁵⁷. La asociación entre la CI y el gen *APOE* es la que presenta resultados más consistentes⁵⁸; se observa que, en comparación con los individuos con el genotipo E3/E3, los portadores del alelo E2 tienen un menor riesgo de CI, mientras que los portadores del alelo E4 tienen un exceso de riesgo [alelo ApoE2 = rs429358(T) + rs7412(T); alelo ApoE3 = rs429358(T) + rs7412(C); alelo ApoE4 = rs429358(C) + rs7412(C)].

Las razones del poco éxito que ha tenido este tipo de estudios son varias y se han discutido en varias revisiones^{57,59,60}: a) la magnitud de la asociación entre los marcadores genéticos y las enfermedades complejas es pequeña (generalmente, *odds ratio* [OR] < 1,3); b) los estudios tienen poco poder estadístico debido al pequeño tamaño muestral; c) en los estudios con poder estadístico reducido las posibilidades de encontrar un resultado falso positivo aumentan; d) sesgo por estratificación de poblaciones, cuando se incluyen en un estudio casos y controles de distintas poblaciones en las que la pre-

valencia de la enfermedad y del alelo de riesgo en estudio son diferentes, se puede encontrar asociaciones espurias; e) normalmente la variante genética analizada no suele ser la causal, sino que suele estar en desequilibrio de ligamiento (asociada) con la variante genética causal, por este motivo la magnitud de la asociación de la variante analizada suele ser menor y, por lo tanto, también es menor el poder estadístico para detectarla como estadísticamente asociada; f) hay interacciones con otros marcadores genéticos y con el ambiente que modulan la magnitud de la asociación con el fenotipo de interés, y g) en muchas ocasiones la definición de la enfermedad es compleja y puede introducir heterogeneidad, por ejemplo y en el caso de la CI, la angina y el infarto agudo de miocardio son dos manifestaciones clínicas que pueden tener una arquitectura genética diferente.

Toda esta controversia sobre los estudios de asociación se ha traducido en la reciente publicación de unas recomendaciones sobre los aspectos a tener en cuenta cuando se realiza un estudio de asociación genética⁶¹ y cómo evaluar las pruebas que este tipo de estudios proporciona⁶², teniendo en cuenta el tamaño de muestra de los estudios, la replicación de los resultados en muestras independientes y los posibles sesgos.

Estudios de asociación con fenotipos extremos

Estos estudios también se fundamentan en una hipótesis a priori y el conocimiento de la etiopatogenia de la enfermedad y generalmente se basan en la selección de un gen candidato y la secuenciación de este gen en personas que presentan características extremas de la distribución del fenotipo de interés. Por ejemplo, se podría seleccionar a individuos con concentraciones de colesterol > 280 y < 170 mg/dl o presión arterial sistólica > 180 y < 110 mmHg, o con infarto agudo de miocardio antes de los 45 años y sin infarto después de los 85 años. Teóricamente, estos individuos tan distintos presentarán características genéticas también diferentes. Se selecciona un gen candidato y se secuencia para identificar variantes genéticas en los individuos con el fenotipo de riesgo extremo y ausentes en los individuos con fenotipo de protección extrema. Si se identifican estas variantes, se pueden realizar estudios en modelos animales y celulares para demostrar su impacto funcional, y además se pueden realizar estudios en poblaciones para determinar la frecuencia de estas variantes y su asociación con el fenotipo en estudio.

Utilizando este tipo de aproximación, Cohen et al⁶³ seleccionaron el gen *PCSK9* y lo secuenciaron en 128 individuos con concentraciones muy bajas

de lipoproteínas de baja densidad (LDL). Este gen codifica una proteasa que modula el número de receptores para la LDL hepáticos, un aumento de la actividad de esta proteasa reduce el número de receptores hepáticos y produce hipercolesterolemia en ratones. Se identificaron dos mutaciones (Y142X y rs28362286/C679X) que se asociaban con un importante descenso de los valores de LDL. Se han identificado más variantes genéticas en este gen, presentes entre el 0,2 y el 32% de la población que también se asocian con las concentraciones de LDL⁶⁴. Posteriormente, el mismo grupo de investigadores demostró que estas variantes también se asociaban con un menor riesgo de acontecimientos coronarios⁶⁵; estos resultados se han replicado en otros estudios^{66,67}.

Nuestro grupo, mediante una aproximación similar, analizó la relación entre variantes genéticas en el gen *KCNMB1* y el control de la presión arterial. Este gen codifica la subunidad $\beta 1$ que regula la actividad de un canal de potasio que regula el tono vascular. Se secuenció este gen en 11 individuos con hipertensión severa y en 12 sujetos normotensos y se identificó una mutación (rs11739136/E65K) que aumentaba la funcionalidad del canal de potasio y conllevaba cifras más bajas de presión arterial diastólica⁶⁸; esta variante genética también se asociaba con un menor riesgo de acontecimientos cardiovasculares⁶⁹. Estos resultados se han replicado en otros estudios^{70,71} y también se ha observado que esta variante genética modula la respuesta a antagonistas del calcio⁷² y bloqueadores beta⁷³.

Estudios de asociación integral del genoma (*genome-wide association; GWA*)

Este tipo de estudios se propusieron a mediados de los años noventa⁷⁴, no están basados en una hipótesis previa y se fundamentan en dos supuestos: a) hay un número de variantes genéticas que capturan gran parte de la variabilidad genética común conocida en el genoma, y b) las enfermedades raras o mendelianas están relacionadas con variantes genéticas poco frecuentes, mientras que las enfermedades crónicas están relacionadas con variantes genéticas frecuentes (hipótesis de enfermedad común en relación con variante genética común).

Durante la siguiente década se desarrollaron los instrumentos para poder realizar este tipo de estudios. Se constituyó un consorcio que fue recogiendo en una base de datos las variantes genéticas por cambio de secuencia del ADN (polimorfismos de base única o *single nucleotide polymorphisms*, SNP) identificadas (SNP Consortium)⁷⁵, donde actualmente se han registrado más de diez millones de polimorfismos. Pero ¿es necesario genotipar los diez millones de polimorfismos para estudiar la genética

de las enfermedades complejas? Para responder a esta pregunta el estudio HapMap ha genotipado más de tres millones de estos polimorfismos y ha determinado el patrón de desequilibrio de ligamiento existente en el genoma en distintas poblaciones^{4,5}. Este estudio concluyó que al genotipar unos 500.000 polimorfismos se captura gran parte de la variabilidad existente en el genoma. En paralelo, diferentes compañías pusieron en marcha plataformas para el genotipado masivo y chips que permitían el genotipado de este número de variantes genéticas. En 2006 todo estaba listo para poner en marcha este tipo de estudios y responder a la pregunta de si variantes genéticas comunes explican una parte de la variabilidad de las enfermedades comunes⁷⁶.

En los últimos 3 años se han publicado varios estudios de GWA que han analizado variantes genéticas asociadas con cardiopatía isquémica⁷⁷⁻⁸⁴ y sus factores de riesgo: variables lipídicas⁸⁵⁻⁹⁴, hipertensión⁹⁵, diabetes o glucemia en ayunas⁹⁴⁻¹⁰⁴, dependencia a la nicotina¹⁰⁵⁻¹⁰⁶, obesidad o índice de masa corporal¹⁰⁷⁻¹¹². Los resultados más importantes de estos estudios se presentan en la tabla 3. Actualmente hay más estudios en marcha e iniciativas para realizar metaanálisis de los estudios previos que, sin duda, contribuirán a incrementar el conocimiento de las variantes genéticas relacionadas con estos fenotipos de interés. El National Human Genome Research Institute mantiene activa una página *web* donde van actualizando los resultados de este tipo de estudios (<http://www.genome.gov/gwastudies/>).

En el caso de la CI, los resultados iniciales procedentes de 2 estudios publicados en junio de 2007, en el mismo número de la revista *Science*, sorprendieron al presentar el hallazgo común de una asociación de unos marcadores genéticos localizados en una zona intergénica del cromosoma 9 (próximos a los genes *CDKN2A* y *CDKN2B*) con el riesgo de CI^{77,78}. Estos resultados fueron replicados a los pocos meses por el estudio del Wellcome Trust⁷⁹ y, recientemente, en un estudio con participación española, esta zona también se observa como la más firmemente relacionada con el riesgo de infarto de miocardio⁸⁰. El mecanismo funcional de esta asociación actualmente está siendo estudiado por varios grupos.

Los marcadores genéticos y genes identificados en relación con el riesgo de CI en los diferentes estudios de GWA pueden encontrarse en la tabla 3. La magnitud de la asociación entre las variantes genéticas identificadas y el riesgo de presentar CI es pequeña, con OR que oscilan entre 1,1 y 1,3. Otro de los resultados más sorprendentes de estos estudios es que la mayoría de los genes identificados no hubieran sido clasificados como genes candidatos a

TABLA 3. Genes asociados con cardiopatía isquémica y sus factores de riesgo identificados en estudios de asociación integral del genoma

Referencia	Genes identificados	Referencia	Genes identificados
Colesterol de las lipoproteínas de baja densidad			
94	<i>ABCG5</i>	92,94	<i>FADS1-FADS2</i>
93	<i>ABCG8</i>	87	<i>GCKR</i>
87,94	<i>APOA1-C3-A5</i>	89,91,93,94	<i>HMGCR</i>
88,90-94	<i>APOB</i>	93	<i>HNFA</i>
88-93	<i>APOE-APOC1-C2-C4</i>	90-94	<i>LDLR</i>
92	<i>AR</i>	93	<i>MAFB</i>
90	<i>B3GALT4</i>	90,93,94	<i>NCAN-CILP2-PBX4</i>
87,88,90-94	<i>CELSR2-PSRC1-SORT1</i>	90,91,93	<i>PCSK9</i>
91	<i>CILP2-PBX4</i>	93	<i>TIMD4-HAVCR1</i>
92	<i>CR1L</i>	94	<i>TOMM40</i>
94	<i>DNAH11</i>	95	<i>TRIB1</i>
94	<i>DOCK7</i>		
Colesterol de las lipoproteínas de alta densidad			
90,91,93,94	<i>ABCA1</i>	90,92,93	<i>LCAT</i>
93	<i>ANGPTL4</i>	90-94	<i>LIPC</i>
93	<i>APOA1-C3-A5</i>	90,93,94	<i>LIPG</i>
94	<i>APOB</i>	90,91,93,94	<i>LPL</i>
90-94	<i>CETP</i>	94	<i>MADD, FOLH1</i>
94	<i>CTCF-MRMT8</i>	90,93	<i>MMAB, MVK</i>
93,94	<i>FADS1, FADS2, FADS3</i>	92	<i>NR1H3</i>
90,91,93	<i>GALNT2</i>	93	<i>PLTP</i>
93	<i>HNF4A</i>	93	<i>TTC39B</i>
Triglicéridos			
90,91,93	<i>ANGPTL3</i>	90	<i>LIPC</i>
85,86,90,91,93,94	<i>APOA1, APOC3, APOA4, APOA5</i>	85	<i>LOC440069, MGC13125</i>
91,93,94	<i>APOB</i>	85,90,91,93,94	<i>LPL</i>
91	<i>BCL7B, TBL2, MLXIPL</i>	85,90,93,94	<i>MLXIPL</i>
91	<i>CILP2, PBX4</i>	90,93,94	<i>NCAN, CILP2, PBX4</i>
94	<i>DOCK7</i>	93	<i>PLTP</i>
93	<i>FADS1, FADS2, FADS3</i>	94	<i>TOMM40, APOE</i>
90,91	<i>GALNT2</i>	90,91,93	<i>TRIB1</i>
90,91,93,94	<i>GCKR</i>	93	<i>XKR6, AMAC1L2</i>
Diabetes-glucemia en ayunas			
97	<i>ADAMTS9</i>	98	<i>Intergenic 2q12.1</i>
97	<i>CDC123, CAMK1D</i>	97	<i>JAZF1</i>
94,97,99-101,103,104	<i>CDKAL1</i>	97,99,101,103,104	<i>KCNJ11</i>
97,99,101,103,104	<i>CDKN2A, CDKN2B</i>	97	<i>NOTCH2, ADAM30</i>
96	<i>CPVL</i>	99,101,104	<i>PPARG</i>
97	<i>DCD</i>	99-104	<i>SLC30A8</i>
95,97,103,104	<i>FTO</i>	97	<i>SYN2, PPARG</i>
97,99,101,102,104	<i>HHEX</i>	95,97-104	<i>TCF7L2</i>
97,99,101,104	<i>IGF2BP2</i>	97	<i>THADA</i>
96	<i>Intergenic 13q21.33</i>	97	<i>TSPAN8, LGL5</i>
96	<i>Intergenic 11p12</i>	97	<i>VEGFA</i>
Dependencia a la nicotina			
106	<i>CHRNA2, CHRN</i>	105	<i>CTNNA3</i>
105	<i>21q22.2</i>		
Obesidad-índice de masa corporal			
112	<i>BCDIN3D</i>	111	<i>MTCH2</i>
112	<i>BDNF</i>	111,112	<i>NEGR1</i>
111	<i>BMP2</i>	111	<i>RKHD3</i>
108-112	<i>FTO</i>	112	<i>SEC16B, RASAL2</i>
111	<i>GNPDA2</i>	112	<i>SFRS10, ETV5, DGKG</i>
107	<i>Intergenic 7q21.32</i>	111,112	<i>SH2B1, ATP2A1</i>
107	<i>Intergenic 13q21.33</i>	111	<i>STK33</i>
111,112	<i>KCTD15, CHST8</i>	111,112	<i>TMEM18</i>
110-112	<i>MC4R</i>		

Continúa en pág. siguiente

TABLA 3. Genes asociados con cardiopatía isquémica y sus factores de riesgo identificados en estudios de asociación integral del genoma (Continuación)

Referencia	Genes identificados	Referencia	Genes identificados
Cardiopatía isquémica			
82	<i>BRAP</i>	79	<i>MTHFD1L</i>
77-80	<i>CDKN2A, CDKN2B</i>	80	<i>PCSK9</i>
79,80	<i>CELSR2, PSRC1, SORT1</i>	80	<i>PHACTR1</i>
79,80	<i>CXCL12</i>	79	Seudogén 2q36.3
80	<i>LDLR</i>	83	<i>SH2B3</i>
80	<i>MIA3</i>	84	<i>SLC22A3</i>
81	<i>MRAS</i>	80	<i>SLC5A3, MRPS6, KCNE2</i>
		79	<i>SMAD3</i>

priori. Únicamente se habría incluido el *LDLR* y el *PCSK9* en la lista de genes candidatos debido a su relevancia en el metabolismo lipídico. Los genes *PSRC1*, *MIA3*, *SMAD3* y *MRAS* tienen como función regular el crecimiento celular⁷⁹. El gen *CXCL12* sintetiza unas citocinas que activan el proceso inflamatorio y se ha relacionado con angiogénesis y función endotelial¹¹³. El gen *MTHFD1L* codifica una sintetasa mitocondrial que regula la síntesis de la purina y la metionina y puede contribuir a las concentraciones de homocisteína plasmáticas. En conjunto, estos resultados apuntan a mecanismos conocidos (metabolismo lipídico, inflamación), pero también a nuevas vías para explorar relacionadas con la aparición y la progresión de la arteriosclerosis.

UTILIZACIÓN DE LA INFORMACIÓN GENÉTICA PARA PREVENCIÓN, DIAGNÓSTICO Y TRATAMIENTO DE LA CARDIOPATÍA ISQUÉMICA

Clásicamente, se ha afirmado que la identificación de marcadores genéticos asociados con la CI puede ser útil para mejorar su prevención, el tratamiento y el conocimiento sobre el mecanismo etiológico de la arteriosclerosis.

Información genética y prevención de la cardiopatía isquémica

Una de las utilidades de los marcadores genéticos podría incluir la identificación de personas con un mayor riesgo de presentar CI y que serían susceptibles de estrategias de prevención más agresivas. La hipótesis es que la inclusión de variantes genéticas relacionadas con la CI en las funciones de riesgo mejoraría su validez, es decir, la capacidad de diferenciar a los individuos que presentarán la enfermedad de los que no (discriminación) y/o la reclasificación de los individuos en estratos de riesgo que

incluya la información genética que se ajustaría más al riesgo observado.

La discriminación es la capacidad de un modelo predictivo de diferenciar a los individuos que sufren un episodio de enfermedad coronaria de los que no lo sufren. Generalmente, se cuantifica con el parámetro estadístico *c*, que es análogo al área bajo la curva ROC (*receiver operative characteristics*); este valor es una estimación de la probabilidad de que un modelo asigne un riesgo más alto a los individuos que presentan una enfermedad coronaria en un período de seguimiento de 5 años que a los que no la presentan¹¹⁴.

Hasta la actualidad se han publicado 3 estudios que han analizado si la incorporación de información genética en las funciones de riesgo clásicas mejora la capacidad predictiva y discriminatoria de estas funciones¹¹⁵⁻¹¹⁷. Morrison et al, con un seguimiento de más de 15.000 participantes del estudio ARIC, construyeron en esta cohorte una escala de riesgo genético que incluía 11 polimorfismos y que se basaba en el número de alelos de riesgo de cada individuo¹¹⁵. Aunque esta escala de riesgo genético se relacionaba de forma independiente con el riesgo de presentar CI en el seguimiento (en blancos el RR para presentar CI por cada incremento de 1 unidad de la puntuación genética fue 1,10, con un intervalo de confianza de 1,06-1,14), esta puntuación no mejoraba la capacidad de discriminación de los factores de riesgo clásicos (el área bajo la curva ROC pasaba de 0,764 a 0,766)¹¹⁵.

Kathiresan et al también utilizaron una puntuación de riesgo genético que incluía 9 polimorfismos relacionados con variables lipídicas, también basados en el número de alelos de riesgo de cada individuo¹¹⁶. Esta puntuación de riesgo genético se relacionaba de forma independiente con la aparición de acontecimientos cardiovasculares en la cohorte de Malmo. Aunque esta puntuación no mejoraba la capacidad de discriminación de los factores de riesgo clásicos (área bajo la curva ROC, 0,8 con y

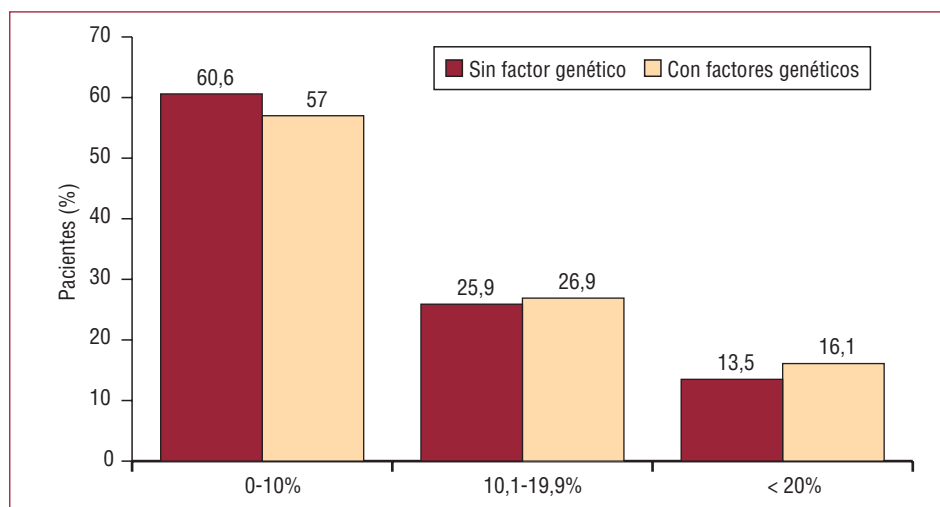


Fig. 2. Porcentaje de participantes que presentan un acontecimiento cardiovascular en el seguimiento, clasificados como de riesgo bajo, intermedio o alto según los criterios de la ATP-III (sin factores genéticos), e incorporando la información genética al cálculo del riesgo. Adaptado de Kathiresan et al¹¹⁶.

sin puntuación genética), sí que mejoraba la reclasificación de individuos de forma significativa. Al analizar a los participantes que presentaban acontecimientos cardiovasculares en el seguimiento, observaron que cuando se tenía en cuenta la información genética aumentaba el número de participantes clasificados de riesgo intermedio o alto respecto a las funciones de riesgo clásicas (fig. 2).

Recientemente, en el estudio de la cohorte de enfermeras americana, la incorporación de la variabilidad genética en el cromosoma 9p21.3 no mejoraba la capacidad de discriminación (área bajo la curva ROC de 0,807 a 0,809) ni la reclasificación de individuos respecto a los obtenidos con los factores de riesgo clásicos¹¹⁷.

Es necesario realizar nuevos estudios que incorporen todas las pruebas disponibles consolidadas hasta el momento, que provienen fundamentalmente de los estudios de GWA, para analizar si con este conjunto de información sobre las funciones de riesgo puede mejorar nuestra capacidad de identificar a los individuos con mayor riesgo.

Información genética y tratamiento de la cardiopatía isquémica

Los estudios genéticos pueden ayudar a identificar nuevas dianas terapéuticas al identificar nuevas vías relacionadas con la etiopatogenia de la CI.

Como ejemplo, tras la identificación de la asociación entre el gen *ALOX5AP* y la CI, se han desarrollado fármacos que inhiben la proteína que activa la lipooxigenasa 5⁵¹, que han demostrado reducir el valor de algunos biomarcadores de mal pronóstico en pacientes con infarto agudo de miocardio portadores de variantes genéticas de riesgo en este gen.

Otro ejemplo claro es la identificación del gen *PCSK9* y su relación no sólo con la hipercolesterolemia familiar, sino también con las concentraciones de LDL en la población general⁶⁴ y con el riesgo de infarto agudo de miocardio^{65,66,80}. Actualmente se están diseñando fármacos con esta diana terapéutica para el control de las concentraciones de colesterol y, quizá, la prevención de la CI¹¹⁸.

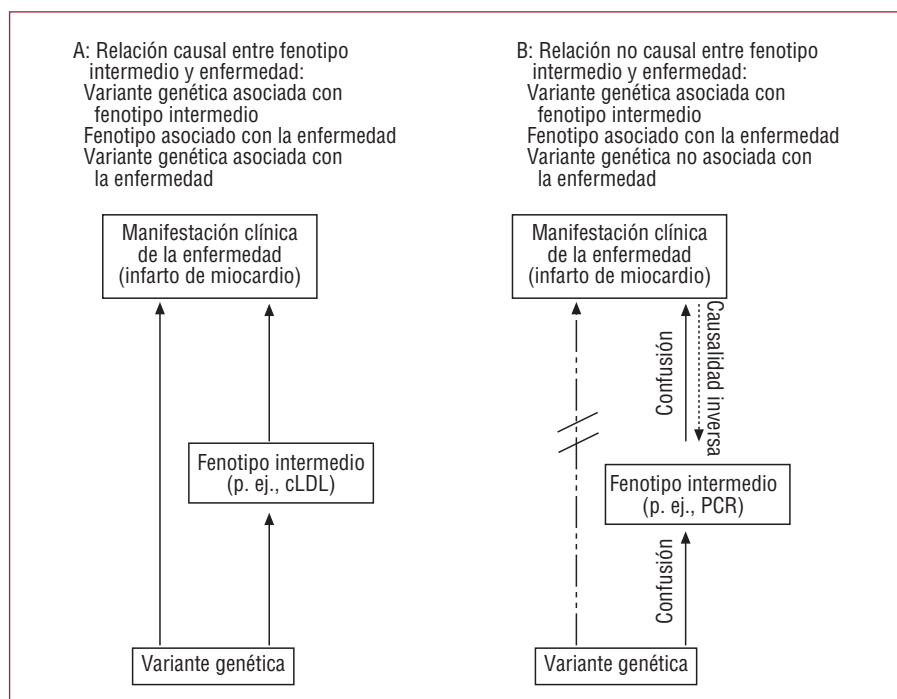
Otra área de investigación y desarrollo es la farmacogenómica, que tiene como objetivo identificar variantes genéticas que modulan la respuesta a fármacos. La Food and Drug Administration aprobó en 2007 una prueba genética para determinar la sensibilidad al tratamiento oral anticoagulante y ajustar la dosis inicial y de mantenimiento y la periodicidad de los controles analíticos¹¹⁹. En esta prueba se determinan variantes genéticas en dos genes: *CYP2C9*^{120,121} y *VKORC1*^{122,123}, relacionados con la dosis de anticoagulante requerida y la aparición de complicaciones.

Recientemente, se han publicado 2 estudios en los que se analiza si las variantes genéticas en unos genes determinados modulan la eficacia del clopidogrel en pacientes con infarto agudo de miocardio^{124,125}. La conclusión de estos estudios es que los portadores de determinadas variantes genéticas en el gen *CYP2C19* tienen menores concentraciones del metabolito activo del clopidogrel, una menor inhibición de la actividad plaquetaria y una mayor tasa de acontecimientos cardiovasculares (muerte, reinfarcto, ictus) al año de seguimiento, especialmente en el subgrupo de pacientes a los que se ha implantado un *stent*.

Información genética y etiopatogenia de la cardiopatía isquémica

Como hemos comentado anteriormente, los resultados disponibles sobre la arquitectura genética

Fig. 3. Representación gráfica del razonamiento de la aleatorización mendeliana para analizar si un fenotipo intermedio se asocia de forma causal con la manifestación clínica de una enfermedad.



de la CI apuntan a mecanismos causales conocidos (metabolismo lipídico, inflamación), pero también a nuevas vías relacionadas especialmente con el control del crecimiento celular, que merecen ser exploradas.

El estudio de las asociaciones entre características genéticas y enfermedad puede ayudarnos a inferir las causas ambientales y genéticas de la enfermedad en estudio mediante lo que se ha llamado «aleatorización mendeliana»¹²⁶. La aleatorización mendeliana se fundamenta en el hecho de que la información genética de un individuo se determina al azar en el momento de la formación de los gametos y la fecundación. El resultado es que la distribución poblacional de las variantes genéticas es independiente de factores ambientales y comportamientos que normalmente actúan como variables confusoras en los estudios epidemiológicos clásicos. El concepto de aleatorización mendeliana se puede utilizar para analizar si la asociación de algunos fenotipos intermedios, como el colesterol o la proteína C reactiva, con la CI son causales o no¹²⁶. Como se representa en la figura 2, este análisis se fundamenta en determinar la relación entre los tres tipos de variables de interés: la variante genética, el fenotipo intermedio y la enfermedad. Si la variante genética se asocia con el fenotipo intermedio y éste, a su vez, se asocia con la enfermedad, si la asociación es causal, la variante genética se debe asociar con la enfermedad (fig. 3A). Si la variante genética no se asocia con la enfermedad, la asociación entre el fenotipo intermedio y la enfermedad puede deberse a que hay va-

riables confusoras, causalidad reversa o atenuación de la magnitud de las asociaciones por errores en las medidas (fig. 3B).

Un ejemplo reciente lo tenemos con el análisis sobre la posible relación causal de la proteína C reactiva con la CI¹²⁷. En este estudio se observó que determinadas variantes genéticas del gen de la proteína C reactiva se asociaban con las concentraciones plasmáticas de esta proteína, que a su vez se asociaban con la aparición de cardiopatía e ictus isquémico; sin embargo, no se observaba ninguna asociación entre las variantes genéticas analizadas y el riesgo de presentar un acontecimiento clínico isquémico, lo que cuestiona el papel causal de la proteína C reactiva en la CI^{127,128}.

RETOS PARA EL FUTURO

Las conclusiones más importantes que podemos extraer del conocimiento actual y el estado de la investigación genética son: que el esclarecimiento de la arquitectura genética de la CI no está siendo sencillo, que las variantes genéticas identificadas tienen un efecto modesto y que explican una parte pequeña de la variabilidad de los fenotipos analizados. Para continuar avanzando habrá que vencer varios retos que tendremos que afrontar de forma multidisciplinaria y a distintas escalas:

– Los estudios deberán tener un gran tamaño de muestra para tener suficiente poder estadístico para identificar asociaciones con un efecto pequeño (OR

de 1,1 o cambios en la presión arterial o concentraciones de colesterol de 1 mmHg o 1-1,5 mg/dl, respectivamente). Para ello, será necesario seguir estableciendo consorcios y colaboraciones entre distintos grupos, como algunos que ya se han constituido a escala nacional e internacional. La creación y el mantenimiento de biobancos, como el Banco Nacional de ADN (www.bancoadn.org), que incluye un catálogo de diferentes enfermedades cardiovasculares, constituirán también elementos fundamentales de la estrategia.

– Los estudios realizados hasta ahora aún no han tenido en cuenta los factores ambientales y de estilos de vida y la interacción gen-ambiente en la modulación del riesgo: éste es un aspecto muy relevante¹²⁹ que requiere una participación activa multidisciplinaria con médicos, epidemiólogos y, naturalmente, genetistas. Será necesario recoger información ambiental con cuestionarios validados para luego analizar este tipo de interacciones.

– Las variantes genéticas comunes identificadas explican una pequeña parte de la variabilidad de los fenotipos estudiados. La mayor parte de los estudios han analizado polimorfismos, variantes genéticas que implican un cambio de una base en la secuencia del ADN en un locus concreto, pero hay otro tipo de variantes poco estudiadas, como las variantes de número de copias (*copy number variation*), que pueden tener gran relevancia¹³⁰. También el estudio de las modificaciones no estructurales del ADN, como puede ser la metilación de alguna de sus estructuras sin cambios en la secuencia, puede tener un impacto importante en la salud ya que puede regular la expresión de estos genes (epigenética).

– Desarrollar métodos para incorporar la información genética en la predicción del riesgo cardiovascular y validar su utilidad^{131,132}.

– Si las variantes genéticas comunes no explican gran parte de la variabilidad de los fenotipos cardiovasculares de interés, no hay que descartar que haya variantes genéticas raras que influyan en estos fenotipos. Para identificar estas variantes se están poniendo en marcha estudios de secuenciación del genoma¹³³.

– Toda esta información genética requerirá programas de formación y puesta al día para los profesionales sanitarios que tengan que usarla¹³⁴.

– Por último, pero no menos importante, toda esta información se tiene que contextualizar en los aspectos ético, legal y social¹³⁵.

Declaración de conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

1. Sanger F, Nicklen S, Coulson AR. DNA sequencing with chain-terminating inhibitors. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74:5463-7.
2. Maxam AM, Gilbert W. A new method for sequencing DNA. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1977;74:560-4.
3. Saiki RK, Scharf S, Faloona F, Mullis KB, Horn GT, Erlich HA, et al. Enzymatic amplification of beta-globin genomic sequences and restriction site analysis for diagnosis of sickle cell anemia. *Science*. 1985;230:1350-4.
4. International Human Genome Mapping Consortium. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*. 2001;409:860-921.
5. International HapMap Consortium. A second generation human haplotype map of over 3.1 million SNPs. *Nature*. 2007;449:851-61.
6. Online Mendelian Inheritance in Man. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=omim
7. Civeira F; International Panel on Management of Familial Hypercholesterolemia. Guidelines for the diagnosis and management of heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2004;173:55-68.
8. Lehnart SE, Ackerman MJ, Benson DW Jr, Brugada R, Clancy CE, Donahue JK, et al. Inherited arrhythmias: a National Heart, Lung, and Blood Institute and Office of Rare Diseases workshop consensus report about the diagnosis, phenotyping, molecular mechanisms, and therapeutic approaches for primary cardiomyopathies of gene mutations affecting ion channel function. *Circulation*. 2007;116:2325-45.
9. Sen-Chowdhry S, Syrris P, McKenna WJ. Role of genetic analysis in the management of patients with arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2007;50:1813-21.
10. O'Donnel CJ, Elosua R. Factores de riesgo cardiovascular. Perspectivas derivadas del Framingham Heart Study. *Rev Esp Cardiol*. 2008;61:299-310.
11. Murray CJL, Lopez AD. Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: global burden of disease study. *Lancet*. 1997;349:1498-504.
12. Instituto Nacional de Estadística. Tablas de mortalidad de la población de España por Comunidades autónomas, Sexo, Edades, Años y Funciones [citado 30 Ene 2009]. Disponible en: <http://www.ine.es/jaxi/menu.do?type=pcaxis&path=%2Ft20%2Fp319a%2F1992-2005&file=pcaxis&N=&L=0>
13. Marrugat J, Elosua R, Martí H. Epidemiología de la cardiopatía isquémica en España: estimación del número de casos y de las tendencias entre 1997 y 2005. *Rev Esp Cardiol*. 2002;55:337-46.
14. White PD. The genes, the heart and destiny. *N Engl J Med*. 1957;256, 965-9.
15. Mayer B, Erdmann J, Schunkert H. Genetics and heritability of coronary artery disease and myocardial infarction. *Clin Res Cardiol*. 2007;96:1-7.
16. Thomas CB, Cohen HB. Familial occurrence of hypertension and coronary artery disease, with observations concerning obesity and diabetes. *Ann Int Med*. 1955;42:90-127.
17. Lloyd-Jones DM, Nam BH, D'Agostino RB Sr, Levy D, Murabito JM, Wang TJ, et al. Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parents and offspring. *JAMA*. 2004;291:2204-11.
18. Murabito JM, Pencina MJ, Nam BH, D'Agostino RB Sr, Wang TJ, Lloyd-Jones D, et al. Sibling cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults. *JAMA*. 2005;294:3117-23.
19. Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, et al. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med*. 1994;330:1041-6.

20. Deutscher S, Sepstein FH, Kjelsberg MO. Familial aggregation of factors associated with coronary heart disease. *Circulation*. 1966;33:911-24.
21. Nora JJ, Lortscher RH, Spangler RD, Nora AH, Kimberling WJ. Genetic-epidemiologic study of early-onset ischemic heart disease. *Circulation*. 1980;61:503-8.
22. Zdravkovic S, Wienke A, Pedersen NL, Marenberg ME, Yashin AI, De Faire U. Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20 966 Swedish twins. *J Intern Med*. 2002;252:247-54.
23. Wienke A, Holm NV, Skytthe A, Yashin AI. The heritability of mortality due to heart diseases: a correlated frailty model applied to Danish twins. *Twin Res* 2001;4:266-74.
24. Peyser PA, Bielak LF, Chu JS, Turner ST, Ellsworth DL, Boerwinkle E, et al. Heritability of coronary artery calcium quantity measured by electron beam computed tomography in asymptomatic adults. *Circulation*. 2002;106:304-8.
25. Xiang AH, Azen SP, Buchanan TA, Raffel LJ, Tan S, Cheng LS, et al. Heritability of subclinical atherosclerosis in Latino families ascertained through a hypertensive parent. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:843-8.
26. Fox CS, Polak JF, Chazaro I, Cupples A, Wolf PA, D'Agostino RA, et al. Genetic and environmental contributions to atherosclerosis phenotypes in men and women: heritability of carotid intima-media thickness in the Framingham Heart Study. *Stroke*. 2003;34:397-401.
27. Juo SH, Lin HF, Rundek T, Sabala EA, Boden-Albala B, Park N, et al. Genetic and environmental contributions to carotid intima-media thickness and obesity phenotypes in the Northern Manhattan Family Study. *Stroke*. 2004;35:2243-7.
28. Swan L, Birnie DH, Inglis G, Connell JM, Hillis WS. The determination of carotid intima medial thickness in adults—a population-based twin study. *Atherosclerosis*. 2003;166:137-41.
29. North KE, MacCluer JW, Devereux RB, Howard BV, Welly TK, Best LG, et al. Heritability of carotid artery structure and function: the Strong Heart Family Study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2002;22:1698-703.
30. Hunt KJ, Duggirala R, Göring HH, Williams JT, Almasy L, Blangero J, et al. Genetic basis of variation in carotid artery plaque in the San Antonio Family Heart Study. *Stroke*. 2002;33:2775-80.
31. Van Asselt KM, Kok HS, Van der Schouw YT, Peeters PHM, Pearson PL, Grobbee DE. Role of genetic analyses in cardiology. Part II: Heritability estimation for gene searching in multifactorial diseases. *Circulation*. 2006;113:1136-9.
32. Donis-Keller H, Green P, Helms C, Cartinhour S, Weiffenbach B, Stephens K, et al. A genetic linkage map of the human genome. *Cell*. 1987;51:319.
33. Gusella JF, Wexler NS, Conneally PM, Naylor SL, Anderson MA, Tanzi RE, et al. A polymorphic DNA marker genetically linked to Huntington's disease. *Nature*. 1983;306:234.
34. Wang X, Ishimori N, Korstanje R, Rollins J, Paigen B. Identifying novel genes for atherosclerosis through mouse-human comparative genetics. *Am J Hum Genet*. 2005;77:1-15.
35. Pajukanta P, Cargill M, Viitanen L, Nuotio I, Kareinen A, Perola M, et al. Two loci on chromosomes 2 and X for premature coronary heart disease identified in early- and late-settlement populations of Finland. *Am J Hum Genet*. 2000;67:1481-93.
36. Francke S, Manraj M, Lacquemant C, Lecoeur C, Leprêtre F, Passa P, et al. A Genome-wide scan for coronary heart disease suggests in Indo-Mauritians a susceptibility locus on chromosome 16p13 and replicates linkage with the metabolic syndrome on 3q27. *Hum Mol Genet*. 2001;10:2751-65.
37. Broeckel U, Hengstenberg C, Mayer B, Holmer S, Martin LJ, Comuzzie AG, et al. A comprehensive linkage analysis for myocardial infarction and its related risk factors. *Nat Genet*. 2002;30:210-4.
38. Wang L. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease. *Science*. 2003;302:1578-81.
39. Wang Q, Rao S, Shen GQ, Li L, Moliterno DJ, Newby LK, et al. Premature myocardial infarction novel susceptibility locus on chromosome 1p34-36 identified by genomewide linkage analysis. *Am J Hum Genet*. 2004;74:262-71.
40. Hauser ER, Crossman DC, Granger CB, Haines JL, Jones CJ, Mooser V, et al. A genomewide scan for early-onset coronary artery disease in 438 families: the GENECARD Study. *Am J Hum Genet*. 2004;75:436-47.
41. Helgadottir A, Manolescu A, Thorleifsson G, Gretarsdottir S, Jonsdottir H, Thorsteinsdottir U, et al. The gene encoding 5-lipoxygenase activating protein confers risk of myocardial infarction and stroke. *Nat Genet*. 2004;36:233-9.
42. BHF Family Heart Study Research Group. A genomewide linkage study of 1933 families affected by premature coronary artery disease: the British Heart Foundation (BHF) Family Heart Study. *Am J Hum Genet*. 2005;77:1011-20.
43. González P, García-Castro M, Reguero JR, Batalla A, Ordóñez AG, Palop RL, et al. The Pro279Leu variant in the transcription factor MEF2A is associated with myocardial infarction. *J Med Genet*. 2006;43:167-9.
44. Weng L, Kavaslar N, Ustaszewska A, Doelle H, Schackwitz W, Hébert S, et al. Lack of MEF2A mutations in coronary artery disease. *J Clin Invest*. 2005;115:1016-20.
45. Lieb W, Mayer B, König IR, Borwitsky I, Götz A, Kain S, et al. Lack of association between the MEF2A gene and myocardial infarction. *Circulation*. 2008;117:185-91.
46. Altschuler D, Hirschhorn JN. MEF2A sequence variants and coronary artery disease: a change of heart? *J Clin Invest*. 2005;115:831-3.
47. Helgadottir A, Gretarsdottir S, St Clair D, Manolescu A, Cheung J, Thorleifsson G, et al. Association between the gene encoding 5-lipoxygenase-activating protein and stroke replicated in a Scottish population. *Am J Hum Genet*. 2005;76:505-9.
48. Kaushal R, Pal P, Alwell K, Haverbusch M, Flaherty M, Moomaw C, et al. Association of ALOX5AP with ischemic stroke: a population-based case-control study. *Hum Genet*. 2007;121:601-7.
49. Zee RY, Cheng S, Hegener HH, Erlich HA, Ridker PM. Genetic variants of arachidonate 5-lipoxygenase-activating protein, and risk of incident myocardial infarction and ischemic stroke: a nested case-control approach. *Stroke*. 2006;37:2007-11.
50. Meharabian M, Allayee H, Wong J, et al. Identification of 5-lipoxygenase as a major gene contributing to atherosclerosis susceptibility in mice. *Circ Res*. 2002;91:120-6.
51. Hakonarson H, Thorvaldsson S, Helgadottir A, et al. Effects of a 5-lipoxygenase-activating protein inhibitor on biomarkers associated with risk of myocardial infarction: a randomized trial. *JAMA*. 2005;293:2245-56.
52. Schulze TG, McMahon FJ. Genetic association mapping at the crossroads: which test and why? Overview and practical guidelines. *Am J Med Genet*. 2002;114:1-11.
53. Aird I, Bentall HH, Mehigan JA, Roberts JA. The blood groups in relation to peptic ulceration and carcinoma of colon, rectum, breast, and bronchus; an association between the ABO groups and peptic ulceration. *Br Med J*. 1954;2:315-21.
54. Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstant A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, et al. How to use an article about genetic association. A: Background concepts. *JAMA*. 2009;301:74-81.
55. Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstant A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, et al. How to use an article about genetic association: B: Are the results of the study valid? *JAMA*. 2009;301:191-7.
56. Attia J, Ioannidis JP, Thakkinstant A, McEvoy M, Scott RJ, Minelli C, et al. How to use an article about genetic

- association: C: What are the results and will they help me in caring for my patients? *JAMA*. 2009;301:304-8.
57. Hirschhorn JN, Lohmueller K, Byrne E, Hirschhorn K. A comprehensive review of genetic association studies. *Genet Med*. 2002;4:45-61.
58. Bennet AM, Di Angelantonio E, Ye Z, Wensley F, Dahlin A, Ahlborn A, et al. Association of apolipoprotein E genotypes with lipid levels and coronary risk. *JAMA*. 2007;298:1300-11.
59. Ioannidis JP. Why most discovered true associations are inflated. *Epidemiology*. 2008;19:640-8.
60. Ioannidis JP. Why most published research findings are false. *PloS Med*. 2005;2:e124.
61. NCI-NHGRI Working Group on Replication in Association Studies, Chanock SJ, Manolio T, Boehnke M, Boerwinkle E, Hunter DJ, Thomas G, et al. Replicating genotype-phenotype associations. *Nature*. 2007;447:655-60.
62. Ioannidis JP, Boffetta P, Little J, O'Brien TR, Uitterlinden AG, Vineis P, et al. Assessment of cumulative evidence on genetic associations: interim guidelines. *Int J Epidemiol*. 2008;37:120-32.
63. Cohen J, Pertsemlidis A, Kotowski IK, Graham R, Garcia CK, Hobbs HH. Low LDL cholesterol in individuals of African descent resulting from frequent nonsense mutations in PCSK9. *Nat Genet*. 2005;37:161-5.
64. Kotowski IK, Pertsemlidis A, Luke A, Cooper RS, Vega GL, Cohen JC, et al. A spectrum of PCSK9 alleles contributes to plasma levels of low-density lipoprotein cholesterol. *Am J Hum Genet*. 2006;78:410-22.
65. Cohen JC, Boerwinkle E, Mosley TH Jr, Hobbs HH. Sequence variations in PCSK9, low LDL, and protection against coronary heart disease. *N Engl J Med*. 2006;354:1264-72.
66. Kathiresan S; Myocardial Infarction Genetics Consortium. A PCSK9 missense variant associated with a reduced risk of early-onset myocardial infarction. *N Engl J Med*. 2008;358:2299-300.
67. Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, et al. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet*. 2008;40:161-9.
68. Fernández-Fernández JM, Tomás M, Vázquez E, Orio P, Latorre R, Sentí M, et al. Gain-of-function mutation in the KCNMB1 potassium channel subunit is associated with low prevalence of diastolic hypertension. *J Clin Invest*. 2004;113:1032-9.
69. Sentí M, Fernández-Fernández JM, Tomás M, Vázquez E, Elosua R, Marrugat J, et al. Protective effect of the KCNMB1 E65K genetic polymorphism against diastolic hypertension in aging women and its relevance to cardiovascular risk. *Circ Res*. 2005;97:1360-5.
70. Zhao Q, Wang L, Yang W, Chen S, Huang J, Fan Z, et al. Interactions among genetic variants from contractile pathway of vascular smooth muscle cell in essential hypertension susceptibility of Chinese Han population. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18:459-66.
71. Nielsen T, Burgdorf KS, Grarup N, Borch-Johnsen K, Hansen T, Jørgensen T, et al. The KCNMB1 Glu65Lys polymorphism associates with reduced systolic and diastolic blood pressure in the Inter99 study of 5729 Danes. *J Hypertens*. 2008;26:2142-6.
72. Beitelshes AL, Gong Y, Wang D, Schork NJ, Cooper-Dehoff RM, Langae TY, et al; INVEST Investigators. KCNMB1 genotype influences response to verapamil SR and adverse outcomes in the INternational VErapamil SR/Trandolapril Study (INVEST). *Pharmacogenet Genomics*. 2007;17:719-29.
73. Kelley-Hedgpeeth A, Peter I, Kip K, Montefusco M, Kogan S, Cox D, et al. The protective effect of KCNMB1 E65K against hypertension is restricted to blood pressure treatment with beta-blockade. *J Hum Hypertens*. 2008;22:512-5.
74. Lander ES. The new genomics: global views of biology. *Science*. 1996;274:536-9.
75. Entrez SNP. Disponible en: www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?db=snp
76. Manolio TA, Brooks LD, Collins FS. A HapMap harvest of insights into the genetics of common disease. *J Clin Invest*. 2008;118:1590-605.
77. Helgadóttir A, Thorleifsson G, Manolescu A, Gretarsdóttir S, Blondal T, Jonasdóttir A, et al. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science*. 2007;316:1491-3.
78. McPherson R, Pertsemlidis A, Kavaslar N, Stewart A, Roberts R, Cox DR, et al. A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science*. 2007;316:1488-91.
79. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2007;357:443-53.
80. Myocardial Infarction Genetics Consortium. Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with common single nucleotide polymorphisms, common copy number variants, and rare copy number variants. *Nat Genet Epub* 2009 Feb 8.
81. Erdmaan J, Grobhenig A, Braund PS, König IR, Hengstenberg C, Hall AS, et al. Novel susceptibility locus for coronary artery disease on chromosome 3q22.3. *Nat Genet Epub* 2009 Feb 8.
82. Ozaki K, Sato H, Inoue K, Tsunoda T, Sakata Y, Mizuno H, et al. SNPs in BRAP associated with risk of myocardial infarction in Asian populations. *Nat Genet Epub* 2009 Feb 8.
83. Gudbjartsson DF, Björnsdóttir US, Halapi E, Helgadóttir A, Sulem P, Jónsdóttir GM, et al. Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction. *Nat Genet Epub* 2009 Feb 8.
84. Tregouet DA, König IR, Erdmann J, Muteanu A, Braund PS, Hall AS, et al. Genome-wide haplotype association study identifies the SLC22A3-LPAL2-LPA gene cluster as a risk locus for coronary artery disease. *Nat Genet Epub* 2009 Feb 8.
85. Kooner JS, Chambers JC, Aguilar-Salinas CA, Hinds DA, Hyde CL, Warnes GR, et al. Genome-wide scan identifies variation in MLXIPL associated with plasma triglycerides. *Nat Genet*. 2008;40:149-51.
86. Pollin TI, Damcott CM, Shen H, Ott SH, Shelton J, Horenstein RB, et al. A null mutation in human APOC3 confers a favorable plasma lipid profile and apparent cardioprotection. *Science*. 2008;322:1702-5.
87. Wallace C, Newhouse SJ, Braund P, Zhang F, Tobin M, Falchi M, et al. Genome-wide association study identifies genes for biomarkers of cardiovascular disease: serum urate and dyslipidemia. *Am J Hum Genet*. 2008;82:139-49.
88. Sandhu MS, Waterworth DM, Debenham SL, Wheeler E, Papadakis K, Zhao JH, et al. LDL-cholesterol concentrations: a genome-wide association study. *Lancet*. 2008;371:483-91.
89. Burkhardt R, Kenny EE, Lowe JK, Birkeland A, Josowitz R, Noel M, et al. Common SNPs in HMGCR in micronesians and whites associated with LDL-cholesterol levels affect alternative splicing of exon13. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2008;28:2078-84.
90. Willer CJ, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, et al. Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease. *Nat Genet*. 2008;40:161-9.
91. Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, et al. Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. *Nat Genet*. 2008;40:189-97.
92. Sabatti C, Service SK, Hartikainen AL, Pouta A, Ripatti S, Brodsky J, et al. Genome-wide association analysis of metabolic traits in a birth cohort from a founder population. *Nat Genet*. 2009;41:35-46.

93. Kathiresan S, Willer CJ, Peloso GM, Demissie S, Musunuru K, Schadt EE, et al. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet.* 2009;41:56-65.
94. Aulchenko YS, Ripatti S, Lindqvist I, Boomsma D, Heid IM, Pramstaller PP, et al. Loci influencing lipid levels and coronary heart disease risk in 16 European population cohorts. *Nat Genet.* 2009;41:47-55.
95. WTCCC. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2007;447:661-78.
96. Meigs JB, Manning AK, Fox CS, Florez JC, Liu C, Cupples LA, et al. Genome-wide association with diabetes-related traits in the Framingham Heart Study. *BMC Med Genet.* 2007;8 Suppl 1:S16.
97. Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, Frayling TM, Elliott KS, Lango H, et al. Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science.* 2007;316:1336-41.
98. Salonen JT, Uimari P, Aalto JM, Pirskanen M, Kaikkonen J, Todorova B, et al. Type 2 diabetes whole-genome association study in four populations: the DiaGen consortium. *Am J Hum Genet.* 2007;81:338-45.
99. Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, Burt NP, De Bakker PI, Chen H, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science.* 2007;316:1331-6.
100. Steinthorsdottir V, Thorleifsson G, Reynisdottir I, Benediktsson R, Jonsdottir T, Walters GB, et al. A variant in CDKAL1 influences insulin response and risk of type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2007;39:770-5.
101. Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science.* 2007;316:1341-5.
102. Sladek R, Rocheleau G, Rung J, Dina C, Shen L, Serre D, et al. A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature.* 2007;445:881-5.
103. Timpson NJ, Lindgren CM, Weedon MN, Randall J, Ouwehand WH, Strachan DP, et al. Adiposity-related heterogeneity in patterns of type 2 diabetes susceptibility observed in genome wide association data. *Diabetes.* 2009;58:505-10.
104. Zeggini E, Scott LJ, Saxena R, Voight BF, Marchini JL, Hu T, et al. Meta-analysis of genome-wide association data and large-scale replication identifies additional susceptibility loci for type 2 diabetes. *Nat Genet.* 2008;40:638-45.
105. Bierut LJ, Madden PA, Breslau N, Johnson EO, Hatsukami D, Pomerleau OF, et al. Novel genes identified in a high-density genome wide association study for nicotine dependence. *Hum Mol Genet.* 2007;16:24-35.
106. Thorgeirsson TE, Geller F, Sulem P, Rafnar T, Wiste A, Magnusson KP, et al. A variant associated with nicotine dependence, lung cancer and peripheral arterial disease. *Nature.* 2008;452:638-42.
107. Fox CS, Heard-Costa N, Cupples LA, Dupuis J, Vasan RS, Atwood LD. Genome-wide association to body mass index and waist circumference: the Framingham Heart Study 100K project. *BMC Med Genet.* 2007;8 Suppl 1:S18.
108. Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, Zeggini E, Freathy RM, Lindgren CM, et al. A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science.* 2007;316:889-94.
109. Scuteri A, Sanna S, Chen WM, Uda M, Albai G, Strait J, et al. Genome-wide association scan shows genetic variants in the FTO gene are associated with obesity-related traits. *PLoS Genet.* 2007;3:e115.
110. Loos RJ, Lindgren CM, Li S, Wheeler E, Zhao JH, Prokopenko I, et al. Common variants near MC4R are associated with fat mass, weight and risk of obesity. *Nat Genet.* 2008;40:768-75.
111. Willer CJ, Speliotes EK, Loos RJ, Li S, Lindgren CM, Heid IM, et al. Six new loci associated with body mass index highlight a neuronal influence on body weight regulation. *Nat Genet.* 2009;41:25-34.
112. Thorleifsson G, Walters GB, Gudbjartsson DF, Steinthorsdottir V, Sulem P, Helgadóttir A, et al. Genome-wide association yields new sequence variants at seven loci that associate with measures of obesity. *Nat Genet.* 2009;41:18-24.
113. Pablos JL, Santiago B, Galindo M, Torres C, Brehmer MT, Blanco FJ, et al. Synovial cell-derived CXCL12 is displayed on endothelium and induces angiogenesis in rheumatoid arthritis. *J. Immun.* 2003;170:2147-52.
114. D'Agostino RB Jr, Grundy S, Sullivan LM, Wilson P. CHD Risk Prediction Group. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA.* 2001;286:180-7.
115. Morrison AC, Bare LA, Chambless LE, Ellis SG, Malloy M, Kane JP, et al. Prediction of coronary heart disease risk using a genetic risk score: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Am J Epidemiol.* 2007;166:28-35.
116. Kathiresan S, Melander O, Anevski D, Guiducci C, Burt NP, Roos C, et al. Polymorphisms associated with cholesterol and risk of cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2008;358:1240-9.
117. Paynter NP, Chasman DI, Buring JE, Shiffman D, Cook NR, Ridker PM. Cardiovascular disease risk prediction with and without knowledge of genetic variation at chromosome 9p21.3. *Ann Intern Med.* 2009;150:65-72.
118. Costet P, Krempf M, Cariou B. PCSK9 and LDL cholesterol: unravelling the target to design the bullet. *Trends Biochem Sci.* 2008;33:426-34.
119. FDA Clears Genetic Lab Test for Warfarin Sensitivity. Disponible en: <http://www.fda.gov/bbs/topics/NEWS/2007/NEW01701.html>
120. Higashi MK, Veenstra DL, Kondo LM, Wittkowsky AK, Srinouanprachanh SL, Farin FM, et al. Association between CYP2C9 genetic variants and anticoagulation-related outcomes during warfarin therapy. *JAMA.* 2002;287:1690-8.
121. Aithal GP, Day CP, Kesteven PJ, Daly AK. Association of polymorphisms in the cytochrome P450 CYP2C9 with warfarin dose requirement and risk of bleeding complications. *Lancet.* 1999;353:717-9.
122. Schwarz UI, Ritchie MD, Bradford Y, Li C, Dudek SM, Frye-Anderson A, et al. Genetic determinants of response to warfarin during initial anticoagulation. *N Engl J Med.* 2008;358:999-1008.
123. Rieder MJ, Reiner AP, Gage BF, Nickerson DA, Eby CS, McLeod HL, et al. Effect of VKORC1 haplotypes on transcriptional regulation and warfarin dose. *N Engl J Med.* 2005;352:2285-93.
124. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hackett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med.* 2009;360:354-62.
125. Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2009;360:363-75.
126. Smith GD, Ebrahim S. Mendelian randomization: prospects, potentials, and limitations. *Int J Epidemiol.* 2004;33:30-42.
127. Zacho J, Tybjaerg-Hansen A, Jensen JS, Grande P, Silleesen H, Nordestgaard BG. Genetically elevated C-Reactive protein and ischemic vascular disease. *N Engl J Med.* 2008;359:1897-908.
128. Schunkert H, Samani NJ. Elevated C-Reactive protein in atherosclerosis. Chicken or Egg? *N Engl J Med.* 2008;359:1953-5.

129. Kaput J, Ordovas JM, Ferguson L, Van Ommen B, Rodriguez RL, Allen L, et al. The case for strategic international alliances to harness nutritional genomics for public and personal health. *Br J Nutr*. 2005;94:623-32.
130. Redon R, Ishikawa S, Fitch KR, Feuk L, Perry GH, Andrews TD, et al. Global variation in copy number in the human genome. *Nature*. 2006;444:444-54.
131. Melzer D, Hogarth S, Liddell K, Ling T, Sanderson S, Zimmern RL. Genetic test for common diseases: new insights, old concerns. *BMJ*. 2008;336:590-3.
132. Wray NR, Goddard ME, Visscher PM. Prediction of individual genetic risk to disease from genome-wide association Studies. *Gen Res*. 2007;17:1520-8.
133. 1000 Genomes. Disponible en: www.1000genomes.org
134. Scheuner MT, Sieverding P, Shekelle PG. Delivery of genomic medicine for common chronic adult diseases: a systematic review. *JAMA*. 2008;299:1320-34.
135. Clayton EW. Ethical, legal, and social implications of genomic medicine. *N Engl J Med*. 2003;349:562-9.