

## Artículo de revisión

# Variantes genéticas, riesgo cardiovascular y estudios de asociación de genoma completo

Osmel Companioni<sup>a</sup>, Francisco Rodríguez Esparragón<sup>a</sup>, Alfonso Medina Fernández-Aceituno<sup>a,b</sup> y José Carlos Rodríguez Pérez<sup>a,c,\*</sup>

<sup>a</sup>Unidad de Investigación, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España

<sup>b</sup>Servicio de Cardiología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España

<sup>c</sup>Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, Las Palmas de Gran Canaria, España

### Historia del artículo:

Recibido el 3 de agosto de 2010

Aceptado el 27 de enero de 2011

On-line el 6 de mayo de 2011

### Palabras clave:

Riesgo cardiovascular

Enfermedad arterial coronaria

Infarto de miocardio

9p21

### Keywords:

Cardiovascular risk

Coronary artery disease

Myocardial infarction

9p21

## RESUMEN

Estudios de genoma completo han demostrado asociación entre polimorfismos de nucleótido simple (SNP) y enfermedad coronaria e infarto agudo de miocardio en diversas regiones cromosómicas: 1p13.1, 2q36.3, 9p21 y 10q11.21. Los SNP de 9p21 conforman un haplotipo de riesgo; las asociaciones detectadas en esta región han sido replicadas en diversas poblaciones y se los ha encontrado asociados con otras afecciones como aneurisma aórtico abdominal e intracraneal, rigidez arterial y calcio coronario. El haplotipo en 9p21 está localizado en una zona sin anotación génica, cercana a los genes reguladores del ciclo celular *CDKN2A* y *CDKN2B*. En las restantes regiones, los SNP asociados se encuentran en genes con funciones conocidas en la enfermedad aterosclerótica. Se ha demostrado que la incorporación de información genética de los SNP de riesgo de 9p21 mejora la predicción del riesgo cardiovascular a largo plazo estimado por medio del *score* de Framingham y permite la reclasificación de individuos en categorías más precisas. Se han realizado estudios de expresión de *CDKN2A*, *CDKN2B* y *ANRIL* que han demostrado que están corregulados y se asocian con SNP de 9p21, así como con la severidad aterosclerótica, lo que apunta a la relevancia de esta región en la enfermedad coronaria.

© 2011 Sociedad Española de Cardiología. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

## Genetic Variants, Cardiovascular Risk and Genome-Wide Association Studies

### ABSTRACT

Genome-wide association studies have shown an association between single nucleotide polymorphisms (SNPs) and coronary artery disease and myocardial infarction in new chromosomal regions: 1p13.1, 2q36.3, 9p21 and 10q11.21. The SNPs from the 9p21 region constitute a risk haplotype due to the strong linkage disequilibrium in this area. These SNPs have been extensively replicated in several European and Asian populations, and are associated with other pathologies such as abdominal aortic and intracranial aneurysms, and with intermediate phenotypes such as arterial stiffness and coronary calcium. The risk haplotype of 9p21 is located in a region without annotated genes, near *CDKN2A* and *CDKN2B*, known tumor suppressor genes encoding for inhibitors of cell cycle kinases. In the remaining regions the SNPs are located in genes with known roles in atherosclerosis as well as others with new roles. It has been shown that the incorporation of genetic information in the form of SNPs slightly improves the prediction of long-term cardiovascular risk estimated by the Framingham function, allowing the reclassification of individuals into more precise categories. Gene expression studies have found that expression levels of *CDKN2A/CDKN2B/ANRIL* are co-regulated and associated with the risk haplotype and atherosclerosis severity.

Full English text available from: [www.revespcardiol.org](http://www.revespcardiol.org)

© 2011 Sociedad Española de Cardiología. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## INTRODUCCIÓN

Las enfermedades cardiovasculares constituyen la principal causa de mortalidad en los países industrializados. Desde 1996, la enfermedad coronaria (EC) ocasiona en España aproximadamente el 31% de la mortalidad cardiovascular, en la que el infarto de

miocardio (IM) es la causa más frecuente (61%). En 2005 se produjeron en España 72.950 casos de IM, de los que un 60% ingresó en hospitales y el 40% falleció antes de llegar. El coste en atención sanitaria a las enfermedades coronarias ascendió a 1.953 millones de euros durante el año 2003<sup>1</sup>.

Estudios epidemiológicos y con animales de laboratorio han determinado la existencia de factores de riesgo cardiovascular (FRCV) predisponentes a EC, como colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad (cLDL), edad, obesidad, tabaquismo, bajas cifras de colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad (cHDL), triglicéridos, diabetes mellitus e hipertensión arterial<sup>2</sup>. Además,

\* Autor para correspondencia: Unidad de Investigación, Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Gran Canaria Dr. Negrín, Universidad de Las Palmas de Gran Canaria, 35010 Las Palmas de Gran Canaria, España.

Correo electrónico: [jrodperd@gobiernodecanarias.org](mailto:jrodperd@gobiernodecanarias.org) (J.C. Rodríguez Pérez).

## Abreviaturas

EC: enfermedad coronaria  
 FRCV: factor de riesgo cardiovascular  
 GWAS: estudios de asociación de genoma completo  
 IM: infarto de miocardio  
 RR: razón de riesgos  
 siARN: ARN de interferencia pequeño  
 SNP: polimorfismo de nucleótido simple  
 VNC: variación en el número de copias

existe un componente genético confirmado por estudios con gemelos monocigóticos y otros estudios en los que la historia familiar de EC está asociada con la aparición de eventos coronarios.

Desde el punto de vista genético, la EC se clasifica como una enfermedad compleja, aunque existen formas de presentación de herencia mendeliana simple como en la hipercolesterolemia familiar, causada por mutaciones en los genes del receptor de LDL *PCSK9* y *ApoB*<sup>2</sup>. La principal diferencia consiste en que las enfermedades mendelianas las causan mutaciones en un gen que ocasionan un cambio funcional deletéreo en la proteína codificada y, por lo tanto, implican un riesgo elevado de que aparezca la enfermedad, mientras que las enfermedades complejas tienen causa en la interacción entre polimorfismos de pequeño efecto en múltiples genes con factores de riesgo ambientales.

Con el objetivo de cartografiar los genes causales de la EC, se han empleado estudios de ligamiento y de asociación. Los primeros siguen un diseño de estudio familiar en el que se genotifican (tabla 1) microsatélites distribuidos por todo el genoma, lo que conduce a la identificación de genes como *MEF2A*<sup>3</sup>, *ALOX5AP*<sup>4</sup> y *TNFSF4*<sup>5</sup>. Los estudios de asociación generalmente tienen un diseño de casos y controles y estudian genes candidatos presumiblemente implicados en la fisiología de la enfermedad, de modo que se basan en una hipótesis previa. Mediante la comparación de las frecuencias de polimorfismos genéticos entre casos y controles, se concluye si el gen se encuentra asociado con la enfermedad o no. El tipo de polimorfismo más usado en estos estudios son los polimorfismos de nucleótido simple (SNP) consistentes en el cambio de una base en la secuencia de ADN. Las limitaciones más importantes de los estudios de asociación son: la falta de replicabilidad en diferentes poblaciones, el pequeño tamaño muestral y consecuentemente el bajo poder estadístico, errores de genotipificación, imprecisa caracterización clínica de la enfermedad, inadecuada selección de casos y controles y presencia de subestructura poblacional<sup>6</sup>.

Mediante metaanálisis de estudios de casos y controles, ha sido posible detectar la asociación de algunos polimorfismos con el IM (*MTHFR*-C677T, *CETP*-TaqlB, *PON1*-Q192R, *eNOS* Glu298Asp, *Pro-trombina* G20210A, *F5*, *AT1R* 1166 A/C, *ApoB* [Xba, EcoRI, Ins/Del], *ApoE* ε4/ε4, *ACE* DD, *LPL* Ser447Ter), pero muchas de estas asociaciones representan falsos positivos<sup>7</sup>.

El objetivo del presente artículo es revisar los nuevos avances en el componente genético de la enfermedad coronaria, basándonos

en los estudios de asociación de genoma completo (GWAS, *genome-wide association studies*) y su potencial utilidad clínica.

## ESTUDIOS DE ASOCIACIÓN DE GENOMA COMPLETO

Recientemente, los GWAS se han utilizado con éxito en el descubrimiento de *loci* asociados con EC, IM, diabetes mellitus tipo 2, artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, enfermedad bipolar y otras detalladas en el catálogo de estudios GWAS<sup>8</sup>. Estos estudios se basan en el análisis genético de grandes muestras de casos y controles mediante genotipificación de miles de SNP distribuidos por todo el genoma (no se basan en hipótesis previa) por medio de microchips de ADN. Los resultados del proyecto HapMap sobre las frecuencias genotípicas y estructura haplotípica han permitido la selección de los SNP mínimos que hay que genotipificar en estudios GWAS<sup>9</sup> y que permiten capturar la mayor parte de la variabilidad genética común existente en el genoma humano.

Las ventajas de los GWAS con respecto a los estudios genéticos de casos y controles provienen de la utilización de grandes tamaños muestrales, la genotipificación automatizada de los SNP de todo el genoma —por lo tanto, no restringida a genes candidatos—, la realización de controles de calidad de las muestras con vistas a excluir duplicidades, comprobar sexo, evidencias de parentesco familiar y ancestralidad. Además, realizan un control de calidad de SNP para excluir del análisis aquellos con datos perdidos, que presenten desviaciones del equilibrio Hardy-Weinberg en controles, que se caractericen por una frecuencia del alelo < 1% o que la tasa de genotipificación sea < 80-90%. Los SNP se eligen teniendo en cuenta un criterio de significación estadística que mantiene la tasa de falsos positivos dentro de límites aceptables y los resultados han de replicarse en otras poblaciones para que una asociación se considere como definitiva<sup>9,10</sup>.

Entre las limitaciones de estos estudios hemos de considerar la dificultad para detectar *loci* con pequeños efectos, la elección preferente de SNP, por lo que otros polimorfismos como la variación del número de copias (VNC) y microsatélites no se han analizado, que no se evalúa la contribución de SNP de baja frecuencia y que estos estudios se han realizado generalmente en individuos europeos, por lo que otros grupos poblacionales no han sido estudiados.

### Estudios de asociación de genoma completo en enfermedad coronaria e infarto de miocardio (región 9p21)

Estudios GWAS recientes han hallado una nueva región sin genes anotados (9p21) asociada con EC<sup>9,11,12</sup> e IM<sup>13</sup>, con relación independiente de su asociación con FRCV. La zona 9p21 contiene diversos SNP en desequilibrio de ligamiento, como rs1333049, rs10757274, rs10757278, rs2383206 y rs2383207; rs1333049 es el que ha mostrado mayor evidencia de asociación (*odds ratio* [OR] = 1,24; intervalo de confianza [IC] del 95%, 1,2-1,29). La evaluación mediante metaanálisis de alrededor de 40.000 sujetos mostró que el 25% de los europeos poseen dos copias del alelo de

Tabla 1

Glosario de términos genéticos usados en el manuscrito

Término	Concepto
Genotipificación	Determinación del genotipo de un individuo para una variación genética, ya sea polimorfismo o mutación
Transcripto	Cada una de las variantes de ARN mensajero resultante del empalme alternativo característico de los genes humanos
Equilibrio de Hardy-Weinberg	Modelo matemático que establece que la composición genética de una población se mantiene constante a través de las generaciones en ausencia de la acción de mutación, selección natural y otras fuerzas evolutivas
Alelo menor	Para dos alelos A (0,7) y B (0,3) de un polimorfismo, es el que posea menor frecuencia relativa (B)

riesgo de rs1333049, lo cual resulta en un incremento en el riesgo de EC de 1,6<sup>14</sup>. Además, estos SNP se han asociado con aneurisma de aorta abdominal e intracraneal, rigidez arterial, daño miocárdico por espasmo coronario, estenosis coronarias significativas y calcio coronario<sup>6</sup>.

### Estudios de expresión génica en la región cromosomal 9p21

De todos los *loci* asociados con EC e IM, la región 9p21 es la más replicada y la que ha mostrado mayor fortaleza de asociación, razón por la que se ha intentado determinar el mecanismo molecular subyacente a dicha relación. El haplotipo de riesgo cardiovascular en 9p21 se localiza en una zona sin genes anotados, cercana al *cluster INK4a/ARF* compuesto por los genes supresores de tumores *CDKN2A* y *CDKN2B*, que están implicados en la causalidad de diversos cánceres. Adyacente a ellos, se identificó un gen de un ARN antisentido no codificante denominado *ANRIL*<sup>15</sup>. Diversos grupos han evaluado la expresión de *CDKN2A/2B/ANRIL* y su asociación con los SNP de riesgo en 9p21.

Así, Broadbent et al<sup>16</sup>, usando QRT-PCR, detectaron la expresión del transcripto *ANRIL* (DQ485453) en músculo liso coronario primario, en macrófagos y muestras de endarterectomía carotídea y de aneurisma aórtico abdominal. Jarinova et al<sup>17</sup> demostraron que *ANRIL* tiene cuatro secuencias conservadas evolutivamente, una de las cuales (CNS3) potencia la expresión génica cuando se amplifica a partir del homocigoto de riesgo en comparación con el de referencia. Folkersen et al<sup>18</sup> identificaron ocho nuevos transcritos de *ANRIL* en células linfoblastoides, placas de arterias carotídeas, aorta media y mamaria. Holdt et al<sup>19</sup> analizaron la expresión génica en células mononucleares de sangre periférica de enfermos coronarios, placas carotídeas, aórticas y femorales. Estos estudios confirman que el único gen que manifiesta expresión diferencial es *ANRIL* en asociación con SNP de riesgo en 9p21 y con la severidad aterosclerótica.

Por otro lado, Mathews et al<sup>20</sup> demostraron que, en placas de muestras de endarterectomía coronaria, la musculatura lisa experimenta senescencia asociada a la sobreexpresión proteica de *CDKN2A* (p16) y p21 medida por *Western blotting*. Adicionalmente, ratones *knockout* para varios genes supresores de tumores, como *p19ARF*, *p53*, *p27Kip1* y *pRB*, manifiestan un agravamiento de la aterosclerosis<sup>21</sup>, lo que evidencia el papel de las proteínas de control del ciclo celular en esta enfermedad.

En resumen, los estudios de expresión génica en 9p21 muestran que los genes *CDKN2A*, *CDKN2B* y *ANRIL* se expresan en tejidos ateroscleróticos y están corregulados transcripcionalmente. El gen *ANRIL* posee diversos transcritos, cuyos niveles de expresión muestran la más fuerte correlación con genotipos de SNP de riesgo en 9p21 en comparación con *CDKN2A/2B*. *ANRIL* también ha sido identificado como un gen de susceptibilidad en estudios GWAS de diabetes tipo 2<sup>22</sup>, glioma<sup>23</sup> y carcinoma basal<sup>24</sup>.

### Estudios de asociación de genoma completo en enfermedad coronaria e infarto de miocardio (otras regiones cromosómicas)

En los estudios GWAS también se ha obtenido asociación con EC e IM en SNP de otras regiones cromosómicas diferentes de 9p21. A continuación se describen algunos de estos estudios y las características de los más replicados.

El SNP rs599839 (1p13.1) es de particular importancia porque ha sido asociado con valores incrementados de cLDL, EC e IM, es decir, tanto con un FRCV como con su consecuencia clínica. La variante rs599839 se localiza en la región intergénica colindante con los genes *PSRC1/CELSR2/SORT1*. Mientras que la función de los dos primeros es desconocida, *SORT1* (sortilina 1) es un receptor de superficie celular multiligando que une RAP (proteína asociada al

receptor LDL), lipoproteín lipasa, apolipoproteína A-V, y participa en endocitosis y tráfico intracelular de proteínas<sup>25</sup>. Linsel-Nitschke et al<sup>25</sup>, utilizando perfiles de expresión genómica de sangre total, hallaron que el alelo G de rs599839 se asoció con un alto nivel de expresión de *SORT1*, concentración disminuida de cLDL y una disminución del 9% del riesgo de EC. Dicha conexión está sustentada porque la sobreexpresión de sortilina 1 en células HEK293 transfectadas con ADNc de *SORT1* resultó en un incremento de la absorción de cLDL por ellas. Los autores plantean un posible mecanismo de acción consistente en la unión de cLDL al receptor sortilina en la membrana citoplásmica y posterior endocitosis del cLDL. Kathiresan et al<sup>26</sup>, usando datos de expresión global de hígado humano, hallaron que rs599839 condiciona la cantidad de ARNm de *PSRC1/CELSR2/SORT1* con un efecto regulatorio más fuerte para *SORT1*. Posteriormente, Musunuru et al<sup>27</sup> cartografiaron el haplotipo 1p13 encargado de la asociación con cLDL e identificaron el SNP rs12740374 como una variante que crea un sitio de unión a factores de transcripción C/EBP alterando la expresión hepática de *SORT1*. Utilizando sobreexpresión génica y *knockdown* mediante siARN para *SORT1* en hígado de ratón, estos autores demostraron que este gen altera la concentración de cLDL. La importancia de esta nueva vía viene dada por una diferencia del 40% de riesgo de IM entre los homocigotos alternativos de 1p13, un efecto comparable al de variantes frecuentes de *LDLR* y *PCSK9*. La frecuencia del alelo menor de 1p13 es del 30% en europeos y está presente en otras poblaciones, por lo que este *locus* se considera un determinante de riesgo global de IM<sup>27</sup>. En otro estudio el alelo A de rs599839 se asoció con una susceptibilidad incrementada al desarrollo de EC (1,29; IC del 95%, 1,18-1,4)<sup>28</sup>.

El polimorfismo intrónico rs6922269 se localiza en el gen *MTHFD1L*. Este gen codifica una enzima mitocondrial encargada de la síntesis de formas del tetrahidrofolato. La posibilidad de una conexión funcional entre *MTHFD1L* y la EC está sustentada porque su actividad condiciona la concentración de homocisteína plasmática<sup>11</sup>.

El SNP rs2943634 se localiza en la región 2q36.3 donde sólo existe un pseudogén (ENSG00000197218) anotado. El SNP rs501120 se localiza corriente arriba de *CXCL12*, quimiocina con un papel central en regeneración tisular en cardiopatía isquémica y angiogénesis a través de su actividad de reclutamiento de células progenitoras endoteliales<sup>11</sup>. El SNP rs2943634 ha sido asociado con hipertensión arterial y baja concentración de cHDL en la cohorte MORGAN<sup>29</sup>.

El SNP rs17228212 se localiza en el gen *SMAD3*, modulador transcripcional activado por TGFβ que participa en el crecimiento y la inhibición celular, procesos fundamentales en la progresión de la placa aterosclerótica<sup>11</sup>. Este SNP ha sido asociado con colesterol distinto del cHDL en el estudio MORGAN<sup>29</sup>, suponiendo que su efecto en la EC esté mediado por su asociación con este FRCV. El SNP rs9818870 se encuentra en el gen *MRAS*, que pertenece a la superfamilia RAS de proteínas de unión a GTP y tiene alta expresión en el corazón. Se ha señalado que participa en señalización de moléculas de adhesión, proceso importante en la fase inicial de la enfermedad aterosclerótica. rs9982601 es una variante localizada en *SLC5A3*, el cual participa en el transporte de Na<sup>+</sup> y mioinositol en respuesta al estrés hipertónico<sup>11</sup>.

El SNP rs12526453 está localizado en el gen *PHACTR1*. El gen codifica un inhibidor de la actividad enzimática de la proteína fosfatasa 1, encargada de desfosforilar residuos de serina y treonina en proteínas<sup>30</sup>.

El polimorfismo rs17465637 se localiza en el gen *MIA3*, que desempeña funciones en el crecimiento y la inhibición celular<sup>11</sup>. Por último, el SNP rs3184504 se localiza en el gen *SH2B3*, que codifica una proteína adaptadora de la vía de señalización intracelular de activación de linfocitos T<sup>30</sup>. En la tabla 2 aparece

**Tabla 2**

Polimorfismos de nucleótido simple asociados a enfermedad coronaria e infarto de miocardio en poblaciones europeas

SNP (dbSNP)	Gen/cromosoma	Frecuencia del alelo de riesgo en controles	Odds ratio	Tendencia, p
<i>WTCCC</i> <sup>9</sup>				
rs17672135 C/T	<i>FMN2</i>	Alelo T 86%	1,32 (0,79-2,22)	$1,04 \times 10^{-4}$
rs383830 A/T	5q21	Alelo T 78%	1,92 (1,4-2,63)	$5,72 \times 10^{-6}$
rs6922269 A/G	<i>MTHFD1L</i>	Alelo A 25%	1,65 (1,32-2,06)	$6,33 \times 10^{-6}$
rs8055236 G/T	19q12	Alelo G 80%	2,23 (1,56-3,17)	$9,73 \times 10^{-6}$
rs688034 C/T	<i>SEZ6L</i>	Alelo T 31%	1,62 (1,34-1,95)	$6,9 \times 10^{-6}$
rs1333049 C/G	9p21	Alelo C 47%	1,9 (1,61-2,24)	$1,79 \times 10^{-14}$
rs7250581	19q12	Alelo G 78%	1,40 (1,05-1,86)	$9,12 \times 10^{-6}$
<i>Samani et al</i> <sup>11</sup>				
rs1333049 C/G	9p21	Alelo C 47%	1,37 (1,27-1,49)	$1,8 \times 10^{-14}$
rs6922269 A/G	<i>MTHFD1L</i>	Alelo A 25%	1,23 (1,13-1,35)	$6,33 \times 10^{-6}$
rs2943634 A/C	2q36.3	Alelo C 66%	1,22 (1,11-1,33)	$1,19 \times 10^{-5}$
rs599839 A/G	<i>PSRC1</i>	Alelo A 77%	1,24 (1,12-1,38)	$2,19 \times 10^{-5}$
rs17465637 A/C	<i>MIA3</i>	Alelo C 71%	1,23 (1,12-1,34)	$1 \times 10^{-5}$
rs501120 A/G	10q11.21	Alelo T 87%	1,24 (1,09-1,41)	$1,31 \times 10^{-3}$
rs17228212 C/T	<i>SMAD3</i>	Alelo C 70%	1,19 (1,09-1,3)	$1,18 \times 10^{-4}$
<i>McPherson et al</i> <sup>12</sup>				
rs10757274 A/G	9p21	Alelo G 49%	1,29 (1,09-1,52)	—
rs2383206 A/G	9p21	Alelo G 73%	1,26 (1,07-1,48)	—
<i>Helgadottir et al</i> <sup>13</sup>				
rs2383207 A/G	9p21	Alelo G 49%	1,25 (1,17-1,34)	$1,3 \times 10^{-11}$
rs10757278 C/T	9p21	Alelo G 45%	1,29 (1,21-1,38)	$3,6 \times 10^{-14}$
<i>Kathiresan et al</i> <sup>28</sup>				
rs12526453 C/G	<i>PHACTR1</i>	Alelo C 65%	1,13 (1,09-1,17)	$6,54 \times 10^{-10}$
rs6725887 C/T	<i>WDR12</i>	Alelo C 14%	1,16 (1,1-1,22)	$4,29 \times 10^{-7}$
rs9982601 C/T	<i>SLC5A3/MRPS6/KCNE2</i>	Alelo T 13%	1,19 (1,13-1,27)	$2,12 \times 10^{-9}$
rs4977574 A/G	9p21	Alelo G 56%	1,28 (1,24-1,33)	$1,08 \times 10^{-41}$
rs1746048 C/T	<i>CXCL12</i>	Alelo C 84%	1,19 (1,13-1,25)	$8,14 \times 10^{-11}$
rs646776 A/G	<i>CELSR2/PSRC1/SORT1</i>	Alelo T 81%	1,18 (1,12-1,25)	$9,36 \times 10^{-11}$
rs17465637 A/C	<i>MIA3</i>	Alelo C 72%	1,13 (1,09-1,19)	$1,33 \times 10^{-8}$
rs1122608 G/T	<i>LDLr</i>	Alelo G 75%	1,14 (1,09-1,19)	$1,49 \times 10^{-8}$
rs11206510 C/T	<i>PCSK9</i>	Alelo T 81%	1,15 (1,1-1,21)	$2,02 \times 10^{-8}$
<i>Gudbjartsson et al</i> <sup>30</sup>				
rs3184504 C/T	<i>SH2B3</i>	Alelo T	1,13 (1,08-1,18)	$8,06 \times 10^{-8}$
<i>Trégouët et al</i> <sup>31</sup>				
rs2048327(SLC22A3)	<i>SLC22A3-LPAL2-LPA</i>	CCTC: 0,021	CCTC: 1,82 (1,56-2,11)	$4,2 \times 10^{-15}$
rs3127599 (LPAL2)		CTTG: 0,178	CTTG: 1,2 (1,13-1,27)	$1,19 \times 10^{-9}$
rs7767084, rs10755578(LPA)		WTCCC		
<i>Clarke et al</i> <sup>32</sup>				
rs10455872	<i>LPA</i>	Alelo G 7%	1,7 (1,49-1,95)	$3,6 \times 10^{-166}$
rs3798220		Alelo C 2%	1,92 (1,48-2,49)	$5,9 \times 10^{-51}$
<i>Erdmann et al</i> <sup>33</sup>				
rs9818870 C/T	<i>MRAS</i>	—	1,15 (1,11-1,19)	$7,44 \times 10^{-13}$
rs7048915 A/G	<i>GLIS3</i>	—	0,95 (0,92-0,99)	0,0073
rs2259816 A/C	<i>HNFA/C12orf43</i>	—	1,08 (1,05-1,11)	$4,81 \times 10^{-7}$

dbSNP: base de datos de los polimorfismos de nucleótido simple; SNP: polimorfismos de nucleótido simple.

Los datos de frecuencia del alelo de riesgo provienen de sujetos controles. En caso de que el SNP se localice en región génica no anotada, se apunta la región cromosomal. Los valores de *odds ratio* pertenecen al modelo genético del alelo de riesgo en homocigosis.

una relación de los SNP mencionados y otros, extraídos del catálogo de GWAS<sup>8</sup> utilizando los términos de búsqueda «coronary heart disease» y «myocardial infarction». Es de interés destacar que tras la identificación de los *loci* de interés se deben realizar ensayos colaterales (expresión génica y proteica, *knock-out/down*, actividad biológica) para explicar las asociaciones e identificar blancos terapéuticos de potencial interés clínico.

## PREDICCIÓN GENÉTICA DE RIESGO CARDIOVASCULAR

Las tablas de riesgo cardiovascular son modelos matemáticos basados en estudios prospectivos de cohorte que modelan el riesgo de padecer enfermedad cardiovascular al cabo de un tiempo, en función de determinados factores de riesgo. Desde mediados del siglo xx, el estudio de Framingham desarrolló la primera tabla de

riesgo, y posteriormente se han creado otras como PROCAM, QRISK, ASSIGN, etc.<sup>34</sup>.

Sin embargo, la medición aislada de FRCV (valores lipídicos) se ha demostrado como un marcador ineficiente para predecir el riesgo cardiovascular, ya que están afectados por numerosas variables. Por su parte, los polimorfismos genéticos se mantienen constantes a lo largo de la vida, lo que confiere gran valor al cribado genético. Diversos grupos han trabajado en la incorporación de SNP a las tablas de riesgo cardiovascular para elaborar modelos que incrementen el poder de predicción respecto al uso aislado de FRCV y permitan reclasificar a los sujetos hacia categorías de riesgo más precisas. La reclasificación consiste en evaluar estadísticamente si la incorporación de un score de riesgo genético (formado por diversos SNP) desplaza casos hacia categorías de riesgo altas más frecuentemente que a categorías bajas y mueve a los controles hacia categorías de riesgo bajas más frecuentemente que a categorías altas<sup>34</sup>.

Humphries et al<sup>34</sup> investigaron la predicción de riesgo coronario analizando a sujetos del *Northwick Park Heart Study II* durante 10,8 años. El área bajo la curva ROC resultante del modelo integrado por los FRCV edad, triglicéridos, colesterol total, tabaquismo y presión arterial sistólica fue de 0,66 (0,61-0,7). En el caso de un modelo compuesto por SNP en genes *UCP2*, *ApoE*, *LPL* y *ApoA4*, el valor fue 0,62 (0,58-0,66). El modelo que integra variables genotípicas y ambientales (área bajo la curva, 0,72 [0,68-0,76]) mostró un incremento significativo en el poder predictivo de la ecuación de Framingham con respecto a los modelos aislados.

Brautbar et al<sup>35</sup>, en un estudio de seguimiento de 10.000 pacientes de la cohorte ARIC (*Atherosclerosis Risk in Communities*) durante 14,6 años, analizaron la predicción de IM, revascularización coronaria y muerte cardíaca, y genotipificaron un SNP de 9p21 (rs10757274). Los autores reclasificaron al 1,3 y el 0,8% de los sujetos respecto a las ecuaciones de Framingham; la mayor influencia del alelo de 9p21 se observó en las categorías de riesgo intermedio. Morrison et al<sup>36</sup> realizaron un estudio de seguimiento de la cohorte ARIC para la aparición de eventos cardiovasculares durante una media de 13 años y genotipificaron 116 SNP; construyeron un score que se asoció significativamente con EC en individuos de raza negra (razón de riesgos [RR] = 1,2; IC del 95%, 1,11-1,29) y europeos (RR = 1,1; IC del 95%, 1,06-1,14). El área bajo la curva ROC calculada con el score de riesgo y FRCV fue significativamente mayor que la calculada solamente teniendo en cuenta dichos factores en individuos de raza negra, pero en europeos el resultado no fue significativo.

Paynter et al<sup>37</sup> efectuaron el seguimiento durante 10,2 años de 22.129 mujeres europeas profesionales de la salud del *Women's Genome Health Study*, y genotipificaron el SNP rs10757274, el cual se asoció con la presencia de eventos cardiovasculares (RR = 1,25; IC del 95%, 1,04-1,51). Sin embargo, la adición de este SNP a un modelo predictivo unido a FRCV (proteína C reactiva e historia familiar de IM) no tuvo efecto en la discriminación del modelo.

McGeachie et al<sup>38</sup> utilizaron el estudio prospectivo MESA de marcadores de aterosclerosis subclínica. Los autores elaboraron un modelo de predicción de calcificación coronaria con 13 SNP y un marcador informativo de ancestralidad. Las variables clínicas fueron sexo, edad, peso, tabaquismo y diabetes mellitus. Demostraron un incremento significativo del área bajo la curva ROC del 85% cuando se comparó el modelo (SNP y variables clínicas) con modelos que incluyen solamente los SNP (77%) o variables clínicas (78,3%). En España, Ferrer inCode y GenDiag, dos compañías privadas, han producido un test de predicción de riesgo cardiovascular llamado Cardioincode (<http://www.ferrerincode.com>) que mejora la predicción basada en los FRCV y 11 SNP con asociación procedentes de estudios GWAS.

A pesar de que las diferencias estadísticas obtenidas en los anteriores estudios no alcanzan una magnitud que derive en un

interés clínico inmediato y los modelos de predicción sólo tienen uso poblacional y no individual, son de relevancia, ya que los SNP asociados, a pesar de poseer riesgos moderados, son de alta frecuencia en la población general, por lo que la información epidemiológica que aportan es de gran valor. Debido a que los estudios GWAS son un área activa de investigación, es posible en un futuro la elaboración de mejores modelos de predicción que incluyan mayor cantidad de SNP asociados con EC, IM y FRCV, así como otros tipos de polimorfismos como VNC recientemente estudiados por GWAS<sup>39</sup>.

## CONFLICTO DE INTERESES

Ninguno.

## BIBLIOGRAFÍA

- Villar Álvarez F, Banegas JR, De Mata Donado Campos J, Rodríguez Artalejo F. Las enfermedades cardiovasculares y sus factores de riesgo en España: hechos y cifras INFORME SEA 2007 [citado 3 Feb 2011]. Disponible en: <http://www.searteriosclerosis.org/arxiu/upload/informe-sea-20071.pdf>
- Damani SB, Topol EJ. Future use of genomics in coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2007;50:1933-40.
- Wang L, Fan C, Topol SE, Topol EJ, Wang Q. Mutation of MEF2A in an inherited disorder with features of coronary artery disease. *Science.* 2003;302:1578-81.
- 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.
- Wang X, Ria M, Kelmenson PM, Eriksson P, Higgins DC, Samnegard A, et al. Positional identification of TNFSF4 encoding OX40 ligand, as a gene that influences atherosclerosis susceptibility. *Nat Genet.* 2005;37:365-72.
- Girelli D. Genetic architecture of coronary artery disease in the genome-wide era: implications for the emerging "golden dozen" loci. *Semin Thromb Hemost.* 2009;35:671-82.
- Ntzani EE. Genetic effects versus bias for candidate polymorphisms in myocardial infarction: case study and overview of large-scale evidence. *Am J Epidemiol.* 2007;165:973-84.
- Hindorf LA, Junkins HA, Hall PN, Mehta JP, Manolio TA. A catalog of published genome-wide association studies [citado Oct 2010]. Disponible en: [www.genome.gov/gwastudies](http://www.genome.gov/gwastudies)
- WTCCC Collaborators. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature.* 2007;447:661-78.
- Shen GQ, Rao S, Martinelli N, Li L, Olivieri O, Corrocher R, et al. Association between four SNPs on chromosome 9p21 and myocardial infarction is replicated in an Italian population. *J Hum Genet.* 2008;53:144-50.
- 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.
- McPherson R, Pertsemliadis 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.
- Helgadottir A, Thorleifsson G, Manolescu A, Gretarsdottir S, Blondal T, Jonasdottir A, et al. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science.* 2007;316:1491-3.
- Schunkert H, Götz A, Braund P, McGinnis R, Tregouet DA, Mangino M, et al. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease. *Circulation.* 2008;117:1675-84.
- Pasmant E, Laurendeau I, Héron D, Vidaud M, Vidaud D, Bièche I, et al. Characterization of a germ-line deletion, including the entire INK4/ARF locus, in a melanoma-neural system tumor family: identification of ANRIL, an antisense noncoding RNA whose expression coclusters with ARF. *Cancer Res.* 2007;67:3963-9.
- Broadbent HM, Peden JF, Lorkowski S, Goel A, Ongen H, Green F, et al. Susceptibility to coronary artery disease and diabetes is encoded by distinct, tightly linked SNPs in the ANRIL locus on chromosome 9p. *Hum Mol Genet.* 2008;17:806-14.
- Jarinova O, Stewart AF, Roberts R, Wells G, Lau P, Naing T, et al. Functional analysis of the chromosome 9p21.3 coronary artery disease risk locus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2009;29:1671-7.
- Folkersen L, Kyriakou T, Goel A, Peden J, Mälärstig A, Paulsson G, et al. Relationship between CAD risk genotype in the chromosome 9p21 locus and gene expression. Identification of eight new ANRIL splice variants. *PLoS ONE.* 2009;4:e7677.
- Holdt LM, Beutner F, Scholz M, Gielen S, Gabel G, Bergert H, et al. ANRIL expression is associated with atherosclerosis risk at chromosome 9p21. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2010;30:620-7.

20. Matthews C, Gorenne I, Scott S, Figg N, Kirkpatrick P, Ritchie A, et al. Vascular smooth muscle cells undergo telomere-based senescence in human atherosclerosis: effects of telomerase and oxidative stress. *Circ Res*. 2006;99:156–64.
21. González-Navarro H, Abu YN, Vinué A, Andrés-Manzano MJ, Collado M, Serrano M, et al. p19(ARF) deficiency reduces macrophage and vascular smooth muscle cell apoptosis and aggravates atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol*. 2010;55:2258–68.
22. Scott L, Mohlke L, Bonnycastle L, Willer C, Li Y, Duren W, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science*. 2007;316:1341–5.
23. Shete S, Hosking FJ, Robertson LB, Dobbins SE, Sanson M, Malmer B, et al. Genome-wide association study identifies five susceptibility loci for glioma. *Nat Genet*. 2009;41:899–904.
24. Stacey SN, Sulem P, Masson G, Gudjonsson SA, Thorleifsson G, Jakobsdottir M, et al. New common variants affecting susceptibility to basal cell carcinoma. *Nat Genet*. 2009;41:909–14.
25. Linsel-Nitschke P, Heeren J, Aherrahrou Z, Bruse P, Gieger C, Illig T, et al. Genetic variation at chromosome 1p13.3 affects sortilin mRNA expression, cellular LDL-uptake and serum LDL levels which translates to the risk of coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2010;208:183–9.
26. Kathiresan S, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burtt 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.
27. Musunuru K, Strong A, Frank-Kamenetsky M, Lee NE, Ahfeldt T, Sachs KV, et al. From noncoding variant to phenotype via SORT1 at the 1p13 cholesterol locus. *Nature*. 2010;466:714–9.
28. Kathiresan S, Voight BF, Purcell S, Musunuru K, Ardissino D, Mannucci PM, et al; 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*. 2009;41:334–41.
29. Karvanen J, Silander K, Kee F, Tiret L, Salomaa V, Kuulasmaa K, et al. The impact of newly identified loci on coronary heart disease, stroke and total mortality in the MORGAM prospective cohorts. *Genet Epidemiol*. 2009;33:237–46.
30. Gudbjartsson DF, Bjornsdottir US, Halapi E, Helgadóttir A, Sulem P, Jonsdóttir GM, et al. Sequence variants affecting eosinophil numbers associate with asthma and myocardial infarction. *Nat Genet*. 2009;41:342–7.
31. Trégouët DA, König IR, Erdmann J, Munteanu A, Braund PS, Hall AS. Genome-wide haplotype association study identifies the SLC22A3-LPAL2-LPA gene cluster as a risk locus for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2009;41:283–5.
32. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, Kyriakou T, Goel A, Heath SC. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med*. 2009;361:2518–28.
33. Erdmann J, Grosshennig A, Braund PS, König IR, Hengstenberg C, Hall AS, et al. New susceptibility locus for coronary artery disease on chromosome 3q22.3. *Nat Genet*. 2009;41:280–2.
34. Humphries SE, Cooper JA, Talmud PJ, Miller GJ. Candidate gene genotypes, along with conventional risk factor assessment, improve estimation of coronary heart disease risk in healthy UK men. *Clin Chem*. 2007;53:8–16.
35. Brautbar A, Ballantyne CM, Lawson K, Nambi V, Chambless L, Folsom AR, et al. Impact of adding a single allele in the 9p21 locus to traditional risk factors on reclassification of coronary heart disease risk and implications for lipid-modifying therapy in the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2:279–85.
36. Morrison C, Bare LA, Chambless L, 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.
37. 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: The Women's Genome Health Study. *Ann Intern Med*. 2009;150:65–72.
38. McGeachie M, Ramoni RL, Mychaleckyj JC, Furie KL, Dreyfuss JM, Liu Y, et al. Integrative predictive model of coronary artery calcification in atherosclerosis. *Circulation*. 2009;120:2448–54.
39. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of CNVs in 16,000 cases of eight common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2010;464:713–20.