

À procura dos preditores genéticos da doença coronária: A saga continua [46]

LINO M. GONÇALVES*

* Chefe de Serviço de Cardiologia, Hospitais da Universidade de Coimbra EPE, Coimbra, Portugal

* Professor Auxiliar com Agregação da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal

Rev Port Cardiol 2011; 30 (06): 593-598

The search for genetic predictors of coronary artery disease: the saga continues

Key words

Genetics; Predictors; Coronary artery disease

Palavras-Chave

Genética; Preditores; Doença Coronária

INTRODUÇÃO

A doença aterosclerótica coronária é uma das principais causas de mortalidade e morbidade no Mundo Ocidental. Os mecanismos subjacentes à fisiopatologia da doença coronária aterosclerótica são multifactoriais, contribuindo para eles não só causas de natureza ambiental como também causas de natureza genética.

Desde há vários anos que os investigadores têm tentado criar um modelo capaz de prever o risco de desenvolvimento de doença coronária. Assim foi criado, a título de exemplo, o

INTRODUCTION

Atherosclerotic coronary artery disease (CAD) is a leading cause of mortality and morbidity in the western world. The underlying mechanisms are multifactorial, and both environmental and genetic factors contribute to its pathophysiology.

Efforts have been made for many years to develop models to predict the risk of developing CAD, among them the Framingham risk score, which includes conventional risk factors such as age, blood pressure, LDL cholesterol, HDL cholesterol, smoking and diabetes⁽¹⁾. More

Score de Risco de Framingham, o qual integra informação de factores de risco tradicionais para a doença coronária, tais como a idade, pressão arterial, LDL-C, HDL-C, tabagismo e diabetes⁽¹⁾. Mais recentemente, vários estudos avaliaram a associação entre variantes genéticas e a doença coronária, de forma a contribuir para melhorar os modelos de predição estabelecidos. Em meados de 2007, vários estudos independentes utilizando a técnica de Genome Wide Analysis (GWA) demonstraram a existência de uma associação do locus 9p21 com a doença coronária, com o enfarte agudo do miocárdio, bem como com outras doenças de natureza aterosclerótica⁽²⁻⁷⁾. Apesar do aumento do risco absoluto ser pequeno (cerca de 20-30% de aumento do risco de doença coronária), a ocorrência frequente destas variantes na população geral determina que o seu impacto seja substancial.

A referida associação entre a doença aterosclerótica e o locus 9p21, foi já reproduzida por vários grupos a nível mundial, independentemente da raça, da geografia e dos factores de risco tradicionais⁽⁸⁾. No entanto, estes resultados nem sempre foram consistentes. Por exemplo, Horne e colaboradores também demonstraram a existência de uma associação entre a presença do genótipo 9p21 e a ocorrência de doença coronária, mas não com a ocorrência de enfarte agudo do miocárdio⁽⁹⁾. Para além disso, não foi encontrada qualquer associação entre este genótipo, a severidade, e a extensão da doença coronária⁽⁹⁻¹¹⁾. Pelo contrário, outros autores demonstraram que o locus 9p21 não só se associa à severidade da doença coronária, como também à sua extensão e progressão⁽¹²⁾. A variante rs10116277 do locus 9p21 parece estar também associado à mortalidade de qualquer causa após cirurgia de revascularização miocárdica em doentes de raça branca, melhorando significativamente o valor preditivo do EUROSCORE logístico⁽¹³⁾.

No trabalho publicado por Isabel Mendonça e colaboradores, neste número da Revista Portuguesa de Cardiologia, é confirmada numa população portuguesa residente numa ilha a forte associação entre a variante rs1333049 do cromossoma 9p21 e a doença coronária.

recently, several studies have investigated the association between genetic variants and CAD, in an attempt to improve existing predictive models. In 2007, several studies using genome-wide association (GWA) analysis independently demonstrated the existence of an association between locus 9p21 and CAD, myocardial infarction (MI) and other atherosclerotic diseases⁽²⁻⁷⁾. Although the increase in absolute risk is small (20-30% in the case of CAD), the frequency of these variants means that their impact is considerable.

This association between atherosclerotic disease and the 9p21 locus has been replicated by various groups around the world and is independent of race, geography and conventional risk factors⁽⁸⁾. However, the results have not always been consistent. For example, Horne et al. demonstrated a link between 9p21 genotype and CAD, but not with MI⁽⁹⁾, and some studies have found no association between the 9p21 locus and severity and extent of CAD⁽⁹⁻¹¹⁾. By contrast, other authors have shown that the 9p21 locus is associated not only with severity of CAD but also its extent and progression⁽¹²⁾. The single-nucleotide polymorphism (SNP) rs10116277 also appears to be linked to all-cause mortality following coronary artery bypass graft surgery in whites, and its inclusion in the logistic EuroSCORE significantly improves its predictive power⁽¹³⁾.

The study by Mendonça et al. published in this issue of the *Journal*, of a Portuguese population resident on the island of Madeira, confirms the strong association between the risk allele of the SNP rs1333049 on chromosome 9p21 and CAD. This excellent work, while not original in international terms, is original in a Portuguese context, and in this respect is noteworthy. Although the results cannot be extrapolated to the general Portuguese population, since the study was carried out in a selected island population with little genetic variety, some of its findings are worthy of particular attention. Firstly, 35.7% of the CAD patients and 29.3% of controls have the risk allele, which underlines its epidemiological importance. Furthermore, the associated risk

Este excelente trabalho, não sendo original a nível internacional, é-o numa população portuguesa, merecendo assim todo o nosso respeito e admiração. Apesar dos resultados obtidos não poderem ser extrapolados para a população geral portuguesa, uma vez que foi realizado numa população seleccionada residente numa ilha com pouca mistura genética com o exterior, são notórios alguns dados que nos deixam impressionados. Em primeiro lugar, 35,7% dos doentes coronários e 29,3% do grupo controle possuem esta variante genética, o que realça o impacto epidemiológico desta situação. Para além disso, o risco apresentado por estes indivíduos é superior ao que foi publicado em algumas séries internacionais. Poderá isto dever-se ao pequeno número de indivíduos estudados, ou ao facto de ser uma população seleccionada com pouco cruzamento genético? Seria pois importante, tal como os autores referem, realizar este estudo na população portuguesa de Portugal Continental, para ver até que ponto as duas populações são semelhantes ou diferentes. Igualmente importante neste trabalho de Isabel Mendonça e colaboradores foi o facto da variante rs1333049 do cromossoma 9p21 se ter associado à presença de doença coronária, mas não a nenhum fenótipo de risco clássico, o que sugere a independência do mecanismo de acção desta variante em relação aos factores de risco clássicos.

Este trabalho apresenta algumas limitações, como por exemplo o pequeno número de indivíduos estudados. Para além disso, apesar de não ser referido pelos autores, é natural que muitos destes indivíduos estivessem a tomar medicamentos com impacto na prevenção secundária da doença coronária o que poderá ter induzido um factor de confusão na análise dos resultados do estudo. A capacidade da angiografia coronária como avaliador da presença da doença aterosclerótica tem igualmente de ser contestada, uma vez que avalia apenas o lúmen e não dá informação sobre a parede vascular onde já pode existir doença aterosclerótica. Finalmente, os controlos não realizaram um teste de pesquisa de isquemia miocárdica e portanto não é possível determinar se porventura são portadores de doença

is higher than that reported in some international series. This may be due to the small study sample, or to the fact that this was a selected population with little genetic mixing. It is thus important, as the authors point out, to perform such studies in mainland Portugal and see to what extent the two populations differ. Another important finding of the study was that the risk variant of rs1333049 was associated with CAD but not with any of the conventional risk phenotypes, which suggests that the mechanism of this variant is independent of these risk factors.

The work has some limitations, including the small number of individuals studied. Also, although this is not mentioned by the authors, many participants would have been taking medication for secondary prevention of CAD, a potential confounding factor in analysis of the study's results. The reliability of coronary angiography in assessing the presence of atherosclerotic disease is also questionable, since it only assesses the lumen and provides no information on the vessel wall, where the disease may already be present. Finally, the controls did not undergo myocardial ischemia testing, and so the possibility cannot be ruled out that they had asymptomatic CAD. However, these limitations do not detract from the study's merit.

Despite advances in technology, including GWA analysis, progress towards understanding the genetics of CAD has been slow, and the number and importance of thoroughly validated associations is modest. The locus in question covers a region of approximately 100 kb, in which a number of SNPs have been identified. GWA analysis has identified ten chromosome loci associated with CAD or MI, but these account for only a small proportion of the genetic variability of atherosclerotic disease⁽¹⁴⁾.

The link between locus 9p21 and CAD confers a relatively small risk (odds ratio of 1.2)⁽¹⁵⁾. This locus has been used in association with high-sensitivity C-reactive protein as a CAD risk marker⁽¹⁶⁾, but other studies have failed to demonstrate any link between the locus and a range of CAD biomarkers includ-

coronária assintomática. Estas limitações não retiram, no entanto, o mérito que o estudo apresenta.

Apesar dos avanços tecnológicos, os quais incluem a técnica de GWA, o progresso na compreensão da genética da doença coronária tem sido lento, e o número e impacto de associações bem validadas é pequeno e modesto. O locus em causa compreende uma zona de aproximadamente 100 Kb e nele foram já identificados vários polimorfismos de um só nucleótido (SNPs). Usando esta técnica de GWA foram já identificados 10 loci cromossómicos que se associam à doença coronária ou ao enfarte agudo do miocárdio. No entanto, estes loci explicam apenas uma pequena proporção da variabilidade genética destas doenças ateroscleróticas⁽¹⁴⁾.

À associação encontrada entre o locus 9p21 e a doença coronária é-lhe atribuída um risco relativamente pequeno (*odds ratio*: 1.2)⁽¹⁵⁾. Este locus poderá ser utilizado em associação com a PCR de alta sensibilidade como marcador de risco de doença coronária⁽¹⁶⁾. No entanto, outros estudos não conseguiram demonstrar uma associação entre este locus e um painel de biomarcadores de doença coronária incluindo os lípidos, inflamação, coagulação, nem com o comprimento dos telómeros⁽¹⁷⁾. A adição das variações genéticas melhora a *performance* dos modelos de predição baseados em factores de risco «clássicos»⁽¹⁷⁾.

O cromossoma 9p21 é intrigante por vários motivos. Em primeiro lugar porque é a região conhecida pelos oncologistas como estando associada ao desenvolvimento de formas familiares de melanoma maligno⁽¹⁸⁾. Por outro lado, a zona que habitualmente se associa à presença da doença coronária não possui genes codificadores de proteínas conhecidos⁽⁵⁾. Recentemente, identificou-se nesta região um gene de RNA não codificador, o qual poderá estar associado ao desenvolvimento da doença coronária⁽¹⁹⁾. Também interessante foi a detecção por GWA de dois loci para a diabetes do tipo 2, um de cada lado deste segmento⁽²⁰⁾. Finalmente, apesar de esta região ser bem conservada nos primatas mais diferenciados, ela não tem sido bem conservada em termos evolucionários⁽⁶⁾.

ing lipids, inflammation and coagulation, or telomere length⁽¹⁷⁾. Nevertheless, the addition of genetic variants improves the performance of predictive models based on conventional risk factors⁽¹⁷⁾.

The 9p21 locus is interesting for a variety of reasons. It is well known to oncologists for its association with familial forms of malignant melanoma⁽¹⁸⁾. The region that is usually linked to the presence of CAD contains no known protein-coding genes⁽⁵⁾. However, a gene for non-coding RNA has recently been discovered in this region, which may be linked to the development of CAD⁽¹⁹⁾. It is also worth noting that two loci linked to type 2 diabetes have been detected, one on each side of this region⁽²⁰⁾. Finally, although this segment is conserved in higher primates, it is not strongly conserved evolutionarily⁽⁶⁾.

The effect of the 9p21 locus on atherosclerotic risk is mediated by mechanisms that are as yet unknown but that are potential therapeutic targets. These mechanisms are therefore the subject of great interest⁽²¹⁾. Some authors suggest that the vessel wall is involved⁽²²⁾, and recently published data suggest that variation in this locus may be associated with increased proliferation of smooth muscle cells in the vessel wall, which plays an important role in the development of atherosclerosis⁽²³⁾. Others have suggested that the 9p21 locus is involved in the early stages of atherosclerosis. One mechanism that may be involved is increased platelet reactivity, a known risk factor for coronary events⁽²⁴⁾. Only further studies in individuals from different ethnic groups and with differing degrees of CAD severity will determine the importance of variation in platelet reactivity in individuals with 9p21 locus risk variants. An understanding of these mechanisms may lead to the development of specific interventions for patients with this genotype to modify platelet reactivity⁽²⁴⁾.

What does the future hold in this area? Research is currently under way to identify causal variants through more detailed sequencing and mapping of the region under study. Identification of the molecular pathways related to this locus will provide a better

O efeito do locus 9p21 sobre o risco aterosclerótico é mediado por um mecanismo ainda desconhecido mas potencialmente alvo de uma modulação terapêutica. Por esse motivo, a investigação destes mecanismos é objecto de grande interesse⁽²¹⁾. Uns autores sugerem que o mecanismo de acção terá algo a ver com a parede vascular⁽²²⁾. De facto, recentemente foram publicados dados que sugerem que este locus poderá associar-se a um aumento da proliferação das células musculares lisas da parede vascular, o que é importante no processo de desenvolvimento da aterosclerose⁽²³⁾. Outros autores sugerem que o locus 9p21 estará envolvido numa fase inicial do desenvolvimento da aterosclerose⁽⁹⁾. Um dos mecanismos que potencialmente pode estar envolvido é o aumento da reactividade plaquetar, a qual é um factor de risco conhecido para os eventos coronários⁽²⁴⁾. Estudos adicionais envolvendo indivíduos de vários grupos étnicos e com vários graus de severidade de doença coronária, permitirão no futuro avaliar em definitivo a importância da variação da reactividade plaquetar nos doentes que possuem o locus 9p21 em causa. O conhecimento destes mecanismos poderá ser fundamental para o desenvolvimento de intervenções específicas sobre o genótipo dos doentes, as quais seriam dirigidas à reactividade plaquetar⁽²⁴⁾.

O que é que o futuro nos pode trazer nesta área? Estão neste momento a desenvolver-se esforços no sentido de identificar variantes causais através da sequenciação aprofundada da região com um mapeamento mais pormenorizado. A identificação dos mecanismos moleculares relacionados com este locus, irá permitir compreender melhor os mecanismos envolvidos na progressão da aterosclerose. O mesmo se poderá dizer de outros locus que têm sido associados à aterosclerose através da utilização da técnica de GWA. Quando todos estes mecanismos moleculares estiverem identificados teremos então finalmente à nossa disposição o conhecimento necessário para desenvolver terapêuticas e formas de prevenção da aterosclerose mais eficazes. Entretanto, até lá, a saga continua...

understanding of the mechanisms involved in the progression of atherosclerosis. The same is true for other loci that GWA studies have identified as being linked to atherosclerosis. When all these molecular mechanisms are identified, we will finally have the knowledge required to develop more effective forms of treatment and prevention of atherosclerosis. Until then, the saga continues.

Pedido de separatas para:
Address for Reprints:

Lino Gonçalves
Serviço de Cardiologia
Hospitais da Universidade de Coimbra
3000-075 Coimbra
e-mail: linog@luc.min-saude.pt

BIBLIOGRAFIA / REFERENCES

1. Wilson PWF, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation*. 1998;97:1837-1847.
2. 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 Jun 8;316(5830):1488-91.
3. Helgadóttir A, Thorleifsson G, Manolescu A, Gretarsdóttir S, Blöndal T, Jonasdóttir A, et al. A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science*. 2007 Jun 8;316(5830):1491-3.
4. Wellcome Trust Case Control Consortium. Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature*. 2007 Jun 7;447(7145):661-78.
5. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al.; WTCCC and the Cardiogenics Consortium. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2007 Aug 2;357(5):443-53.
6. Samani NJ, Schunkert H. Chromosome 9p21 and cardiovascular disease: the story unfolds. *Circ Cardiovasc Genet*. 2008 Dec;1(2):81-4.
7. Scheffold T, Kullmann S, Hüge A, Binner P, Ochs HR, Schöls W, et al. Six sequence variants on chromosome 9p21.3 are associated with a positive family history of myocardial infarction: a multicenter registry. *BMC Cardiovasc Disord*. 2011 Mar 7;11:9.
8. Schunkert H, Götz A, Braund P, McGinnis R, Tregouet DA, Mangino M, et al.; Cardiogenics Consortium. Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease. *Circulation*. 2008 Apr 1;117(13):1675-84.
9. Abdullah KG, Li L, Shen GQ, Hu Y, Yang Y, MacKinlay KG, et al. Four SNPs on chromosome 9p21 confer risk to premature, familial CAD and MI in an American Caucasian population (GeneQuest). *Ann Hum Genet*. 2008 Sep;72(Pt 5):654-7.
10. Dandona S, Stewart AF, Chen L, Williams K, So D, O'Brien E, et al. Gene dosage of the common variant 9p21 predicts severity of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2010 Aug 3;56(6):479-86.
11. Chan K, Motterle A, Laxton RC, Ye S. Common variant on chromosome 9p21 predicts severity of coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol*. 2011 Mar 29;57(13):1497-8.
12. Patel RS, Su S, Neeland IJ, Ahuja A, Veledar E, Zhao J, et al. The chromosome 9p21 risk locus is associated with angiographic severity and progression of coronary artery disease. *Eur Heart J*. 2010 Dec;31(24):3017-23.
13. Muehlschlegel JD, Liu KY, Perry TE, Fox AA, Collard CD, Shernan SK, Body SC; CABG Genomics Investigators. Chromosome 9p21 variant predicts mortality after coronary artery bypass graft surgery. *Circulation*. 2010 Sep 14;122(11 Suppl):S60-5.
14. Erdmann J, Willenborg C, Nahrstaedt J, Preuss M, König IR, Baumert J, et al. Genome-wide association study identifies a new locus for coronary artery disease on chromosome 10p11.23. *Eur Heart J*. 2011 Jan;32(2):158-68.
15. Ogawa N, Imai Y, Morita H, Nagai R. Genome-wide association study of coronary artery disease. *Int J Hypertens*. 2010 Sep 21;2010:790539.
16. Dov Shiffman, Ellen S O'Meara, Charles M Rowland, Judy Z Louie, Mary Cushman, Russell P Tracy, et al. The contribution of a 9p21.3 variant, a KIF6 variant, and C-reactive protein to predicting risk of myocardial infarction in a prospective study. *BMC Cardiovasc Disord*. 2011; 11: 10.
17. Harrison SC, Cooper JA, Li K, Talmud PJ, Sofat R, Stephens JW, et al. Association of a sequence variant in DAB2IP with coronary heart disease. *Eur Heart J*. 2011 Mar 28. [Epub ahead of print]
18. Hayward NK. Genetics of melanoma predisposition. *Oncogene*. 2003; 22: 3053-3062.
19. Pasmant E, Laurendeau I, Heron D, Vidaud M, Vidaud D, Bieche I. 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: 3963-3969.
20. 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: 806-814.
21. Cunnington MS, Keavney B. Genetic Mechanisms Mediating Atherosclerosis Susceptibility at the Chromosome 9p21 Locus. *Curr Atheroscler Rep*. 2011 Apr 13. [Epub ahead of print]
22. Horne BD, Carlquist JF, Muhlestein JB, Bair TL, Anderson JL. Association of variation in the chromosome 9p21 locus with myocardial infarction versus chronic coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2008 Dec;1(2):85-92.
23. Visel A, Zhu Y, May D, Afzal V, Gong E, Attanasio C, et al. Targeted deletion of the 9p21 non-coding coronary artery disease risk interval in mice. *Nature*. 2010 Mar 18;464(7287):409-12.
24. Musunuru K, Post WS, Herzog W, Shen H, O'Connell JR, McArdle PF, et al. Association of single nucleotide polymorphisms on chromosome 9p21.3 with platelet reactivity: a potential mechanism for increased vascular disease. *Circ Cardiovasc Genet*. 2010 Oct 1;3(5):445-53.