

Bases genéticas de la enfermedad coronaria

Francisco Navarro-López

Servicio de Cardiología (ICMCV). Hospital Clínico (IDIBAPS). Universidad de Barcelona.

La etiología de la enfermedad coronaria ha sido objeto de intenso estudio durante las últimas décadas. Dado que los factores de riesgo clásico sólo explican a lo sumo la mitad de los casos, se están buscando nuevos factores etiológicos en el ámbito de la genética molecular. Los polimorfismos son mutaciones del ADN, que apenas alteran la función de la proteína codificada, pero son frecuentes y pueden ser un factor de riesgo genético cuando el organismo se enfrenta a determinados factores de riesgo ambientales (colesterol, estrés, tabaco). Los recientes avances en biología molecular han facilitado la detección de numerosos polimorfismos que pueden tener un efecto patógeno, y han hecho pensar en la hipótesis de que la suma de polimorfismos desfavorables y un marco ambiental propicio puede facilitar la aparición de la aterosclerosis y de la enfermedad coronaria en particular, enfermedades típicamente poligénicas y multifactoriales.

En esta revisión se analiza el estado actual de los conocimientos sobre los polimorfismos y mutaciones que pueden estar implicados en la fisiopatología de la enfermedad coronaria y sus complicaciones, como los relacionados con el metabolismo lipídico, el sistema renina-angiotensina-aldosterona y el sistema simpático adrenérgico, la resistencia a la insulina, el estrés oxidativo y la función endotelial, la inflamación y la trombosis. El riesgo coronario puede depender del número acumulado de polimorfismos desfavorables que porta el individuo.

Palabras clave: *Genética molecular. Mutaciones. Polimorfismos. Aterosclerosis. Enfermedad coronaria.*

Genes and Coronary Heart Disease

The causes of atherosclerotic cardiovascular disease have been intensely scrutinized for the last few decades. Since the classic risk factors have been found to be incomplete predictors of the disease, additional risk factors based on molecular genetics are now being sought. Polymorphisms are gene variations that have only modest effects on the function of coded proteins or enzymes. However, they are common and may be risk factors in the presence of environmental risk factors (cholesterol, stress, tobacco). Recent advances in molecular biology have made it possible to detect numerous polymorphisms that might have a detrimental effect on vascular biology, suggesting the hypothesis that multiple polymorphisms in the presence of environmental factors could act synergistically in the pathogenesis of atherosclerosis and coronary heart disease, which are typically polygenic and multifactorial diseases.

In this review, the current status of our knowledge of polymorphisms and mutations potentially implicated in the mechanisms of coronary artery disease is discussed. Genotype/phenotype, gene-gene, and gene-environmental interactions related to lipid metabolism, the renin-angiotensin-aldosterone and adrenergic systems, insulin resistance, oxidative stress and endothelial function, inflammation and thrombosis are analyzed. Individual coronary risk might be related to the presence of a critical accumulation detrimental polymorphisms.

Key words: *Molecular genetics. Mutations. Polymorphisms. Atherosclerosis. Coronary heart disease.*

Full English text available at: www.revespcardiol.org

INTRODUCCIÓN

Es bien sabido ya desde los años sesenta que el infarto de miocardio, y en general toda la patología aterosclerosa, tiene un componente hereditario importante. Así se desprende de los numerosos estudios realizados en familias y en gemelos¹⁻³, que han descrito el

riesgo que comporta tener un hermano gemelo o un pariente afectado de enfermedad coronaria (tabla 1).

La identificación de los genes responsables del aumento del riesgo, sin embargo, ha sido un proceso lento y difícil, acelerado en la última década gracias a los avances de la biotecnología, que han facilitado la detección de los cambios en la secuencia del ADN que pueden tener un efecto patógeno³. Estos cambios, que llamamos mutaciones o polimorfismos, pueden ser muy sutiles: unas veces se trata de la sustitución de un simple nucleótido (un simple aminoácido en la proteína codificada) entre miles (SNP o *single nucleotide*

Parcialmente financiado con una ayuda del FIS 00/0284.

Correspondencia: Prof. F. Navarro López.
Servicio de Cardiología (ICMCV). Hospital Clínico.
Villarroel, 179. 08036 Barcelona.
Correo electrónico: navarro@medicina.ub.es

ABREVIATURAS

LDL: lipoproteínas de baja densidad.
 HDL: lipoproteínas de alta densidad.
 TG: triglicéridos.
 CETP: proteína de transferencia del colesterol esterificado.
 ECA: enzima conversiva de la angiotensina.
 NO: óxido nítrico.

polimorphism); en otras se produce la inserción o delección de un segmento, o la repetición de unas secuencias en tándem (VNTR, número variable de *tandem repeats*). Puede ocurrir en el exón o segmento codificante, en el intrón o en la zona del promotor del gen.

Mutaciones y polimorfismos son en realidad palabras sinónimas. Ambos se caracterizan por la coexistencia de dos variedades o alelos del mismo gen, el alelo natural o silvestre (*wild type*) y el alelo mutante. Pero suele reservarse el término de mutaciones para los cambios que alteran gravemente la función de la proteína o enzima codificada y basta un gen para provocar una enfermedad (enfermedad monogénica o mendeliana). Son raras y siguen las leyes de la herencia mendeliana, dominante o recesiva. En cambio, se denominan polimorfismos si las variaciones son comunes (por definición ocurren en más del 1% de la población) y la afectación funcional es modesta o mínima, pero supone una minusvalía (un factor de riesgo genético) cuando el organismo debe enfrentarse con un mayor esfuerzo metabólico o un problema ambiental, como puede ser una dieta rica en colesterol, el estrés o el tabaco (factor de riesgo ambiental). Muchos polimorfismos, sin embargo, no tienen consecuencia funcional alguna. La suma de varios polimorfismos desfavorables puede facilitar la aparición de una enfermedad (en este caso poligénica), cuya manifestación requiere a menudo la presencia de un marco ambiental propicio (enfermedad multifactorial).

La arteriosclerosis es su ejemplo más clásico (fig. 1) y se han descrito un buen número de polimorfismos que pueden estar implicados en su patogenia (tablas 2 y 3)⁴⁻⁶. El método que se utiliza para describir un alelo de riesgo consiste en identificar un gen polimórfico como posible candidato y demostrar su asociación estadística con el fenotipo clínico (enfermedad corona-

ria) y con el fenotipo intermedio (valores biológicos que dependen de la enzima).

GENES RELACIONADOS CON LAS LIPOPROTEÍNAS DE BAJA DENSIDAD

La lista empieza con las variaciones genéticas que afectan la concentración plasmática de las lipoproteínas de baja densidad, ricas en colesterol (LDL), cuyo depósito y efecto lesivo sobre la pared vascular constituye el fenómeno central de la aterogenia^{4,5} (fig. 2).

Receptor de las LDL

El primer gen que se relacionó con el infarto de miocardio fue el gen que codifica los receptores de las LDL (*R-LDL*)⁷. Las mutaciones de este gen impiden totalmente la síntesis del receptor en los hepatocitos («mutación nula») o lo deforman de tal manera que son incapaces de captar las LDL circulantes para su eliminación por la bilis. En consecuencia, se produce la acumulación de estas partículas, que caracteriza la hipercolesterolemia familiar (HF). En su forma heterocigota, relativamente frecuente (1 de cada 500 individuos), la cifra del colesterol aumenta hasta 300-500 mg/dl, y esta cifra se duplica en los pacientes homocigotos, que son excepcionales (1/1.000.000). Esta concentración tan elevada facilita la entrada pasiva de las macromoléculas a través de las uniones de las células endoteliales al espacio subendotelial, donde sufren las modificaciones químicas (peroxidación lipídica, glucación) que las convierten en partículas proinflamatorias, procitotóxicas y aterogénicas⁴⁻⁷.

Poco después de descubrir el defecto molecular de la hipercolesterolemia familiar, que les valió el Premio Nobel en 1984, Goldstein y Brown describieron las primeras mutaciones causales de la enfermedad⁸. Hoy se conocen más de 230 (véase <http://www.ucl.ac.uk/fh>). Estas mutaciones presentan una gran variabilidad regional. En nuestro país, en la zona mediterránea, el 55% de las mutaciones detectadas en pacientes heterocigotos tenía una «mutación nula». El resto tenían mutaciones de un simple nucleótido, siendo las más frecuentes las 1146 G/A, 1301 C/G, y 829 G/A⁹.

La gravedad de la hipercolesterolemia y de la enfermedad coronaria también es muy variable: unas veces aparece el infarto de miocardio en edades muy jóvenes; en cambio, algunos pacientes heterocigotos alcan-

TABLA 1. Riesgo de padecer enfermedad coronaria según los antecedentes familiares

	Historia familiar: antecedente de	Riesgo relativo	
		De un familiar de primer grado	Del gemelo
Enfermedad coronaria	Varón fallecido < 55 años Mujer fallecida < 65 años	Varón: 5/1 ¹ Mujer: 7/1 ¹	Varón: 8,1/1 ² (bivitelino: 3,8/1) Mujer: 15/1 ² (bivitelino: 2,6/1)

TABLA 2. Variaciones genéticas comunes (polimorfismos) que favorecen la cardiopatía isquémica y factores ambientales relacionados

	Genes	Polimorfismos (alelos de riesgo)	Frecuencia del genotipo heterocigoto/homocigoto		Fenotipo intermedio o clínico	Interacción con factores ambientales
LDL/VLDL	apo-E	E4 (Cys112Arg) E2 (Arg158Cys)	15% ⁴ 8% ⁴	1% 0,5%	↑ LDL	Ingesta grasa
Lp(a)	apo(a)	Apo (a)	—	—	Lp(a) ≥ 30 mg/dl	< 10%
HDL Transporte inverso	Lipasa lipoproteica (LPL)	Asp9Asn Asn291Ser Gly188Glu, etc. Ser447Ter (HindIII)	2-4 ²⁴ 1-7 0,01 17-22 ²⁴	— — — —	↓ HDL, ↑ TG — — ↑ HDL, ↓ TG	Obesidad Tabaco
	CETP	TaqI-B	35% ²⁹	—	—	Alcohol
	PON1 (paroxonasa)	-192Q/R 55 L/M	30% ³⁵	11%	—	—
	ABC1	- 477T/C	—	—	—	—
	apo-A I-CIII-AIV Lipasa hepática	Apo A1 (múltiples)	—	—	↓ HDL	—
HTA SRAA	AGT	235 M/T	38%	14-19% ^{46,48}	HTA	Estrés
	ECA	I/D	50-78%	28-31% ^{46,48,55}	↑ ECA	—
	AT1R	A/C	28%	5-7% ⁴⁷	HTA	—
	CYP11B2	-344 T/C	54% ⁶¹	31%	↑ Aldosterona, HTA	—
Sistema adrenérgico	ADRB2	—	—	—	Hipertrofia	—
	Aducina-a	—	—	—	—	—
Resistencia insulínica	IRS-1	G972 GR	6% ⁷⁰	—	Síndrome metabólico	Obesidad
Función endotelio	NOS3	G894T	51%	11% ⁷⁸	↓ V. dilatación	—
	p22phox	C/T 242	53%	12% ⁷⁷	↑ V. dilatación	—
	NAD(P)H oxidasa	—	—	—	—	—
	MTHR reductasa	C677T	—	10-15%	↑ Homocisteína ↓ Vasodilatación	Ácido fólico
Inflamación	IL-6	G/C -174	40% ⁸⁴	—	↑ IL-6, ↑ FGN	<i>Chlamydia</i> Tabaco
	IL-1β	C(-511)T	87%	(CC 13%) ⁸⁵	—	—
	Receptores de las quemocinas	CCR5	—	—	—	—
	Receptor CD14 monocitos	C(-260)T	55% ⁸⁷	15%	—	—
Trombosis	FGB (fibrinógeno-β)	G/A -455 (HaeIII H1/H2) C/T -148	20-30% ^{4,88}	4%	↑ FGN	Tabaco
	PAI-1	4G/5G (-675)	48%	21%	↓ PAI-1	Triglicérido: SR Insulina
	Factor VII	R353Q (Arg/Gln 353) 5'F7 R (A1-A2)	26-34% ^{91,92} 25% ^{91,92}	3,8-4,5% 4%	↓ FVIIa	—
	Receptor IIb/IIIa	GPIIIa PI ^{A1} /PI ^{A2}	12% ¹⁰¹	—	↑ Agregación plaquetaria	—

Las abreviaturas se describen en el texto.

zan la séptima u octava década de la vida sin complicaciones. Ello depende: *a*) del tipo de la mutación (las «mutaciones nulas» son las más graves)^{9,10}; *b*) de la interacción con otros factores genéticos, el más importante de los cuales parece ser una cifra favorable de lipoproteínas de alta densidad (HDL) plasmática, debida quizás a la herencia adicional de una lipoproteinlipasa mutante heterocigota⁹, o *c*) de la importancia de los factores ambientales (el contenido de colesterol y grasas de la dieta), como indica el distinto pronóstico de los familiares que han emigrado cuando se compara con el de los autóctonos⁴.

Se conoce también una variante común, el polimorfismo Pvu II en el intrón 15 (que permite el corte por la enzima Pvu II y da lugar a fragmentos de distinta longitud en el estudio electroforético: polimorfismo

RFLP (*restriction fragment length polymorphism*). Poco se sabe de esta variante, pero al parecer influye en la concentración de LDL y en el riesgo coronario¹¹.

Apolipoproteína B (apo-B₁₀₀)

Otra causa de hipercolesterolemia familiar, menos grave, es la mutación Arg3500Gln (y excepcionalmente la Arg3531Cys) de la apolipoproteína B (apo-B₁₀₀), la molécula que actúa de ligando para los receptores LDL (defecto familiar de la apo-B o FDB). La mutación impide su reconocimiento por el receptor LDL y dificulta su eliminación del plasma. Su prevalencia es de un caso cada 250-1.000 individuos^{4,6,7}.

En cambio, se conocen algunos polimorfismos comunes del gen de la apo-B cuya asociación con la hi-

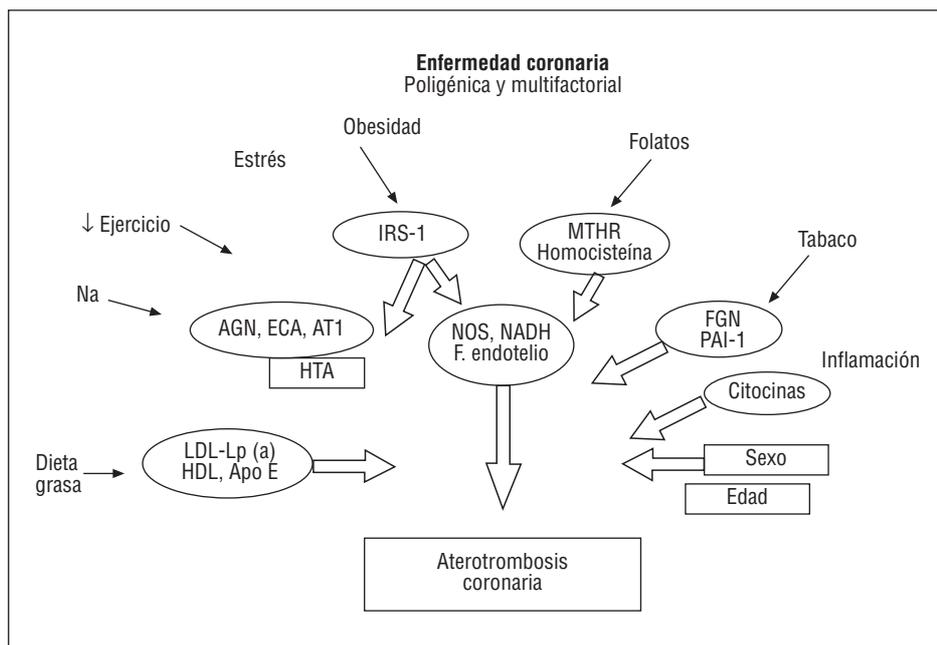


Fig. 1. Etiología de la aterosclerosis coronaria: factores genéticos y ambientales. En cursiva y dentro de la figura elíptica, se indican los genes polimorfos. Las flechas finas señalan las interacciones entre factores ambientales y genéticos. AGN: gen del angiotensinógeno; apo-E: apolipoproteína E; AT1: receptor de la angiotensina; ECA: angina conversiva de la angiotensina; FGN: fibrinógeno; HDL: lipoproteína de alta densidad; HTA: hipertensión arterial; IRS-1: sustrato del receptor de la insulina; LDL: lipoproteína de baja densidad; Lp(a): lipoproteína (a); MTHR: tetrahidrofolato-reductasa; NOS: sintasa del óxido nítrico; NADH: NADH oxidasa; PAI-1: inhibidor del activador del plasminógeno.

percolesterolemia y la enfermedad coronaria es muy sugestiva, pero los resultados contradictorios de algunos estudios la ponen en duda. Se trata de los polimorfismos Sp I/D (inserción/delección en el péptido señal de la apo-B), EcoRI y MspI (polimorfismos RFLP)^{12,13}.

Algunas mutaciones raras (0,3/1000) codifican formas truncadas de apo-B₁₀₀ (apo-B₅₅) y dan lugar a cifras bajas de colesterol (Hipobetalipoproteinemia o

HBLP), que tienen probablemente un efecto protector contra la enfermedad coronaria^{4,7}.

Polimorfismos de la apolipoproteína E (apo-E)

La apo-E es una proteína que comparte con la apo-B la función de ligando de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (lipoproteínas de muy baja densidad

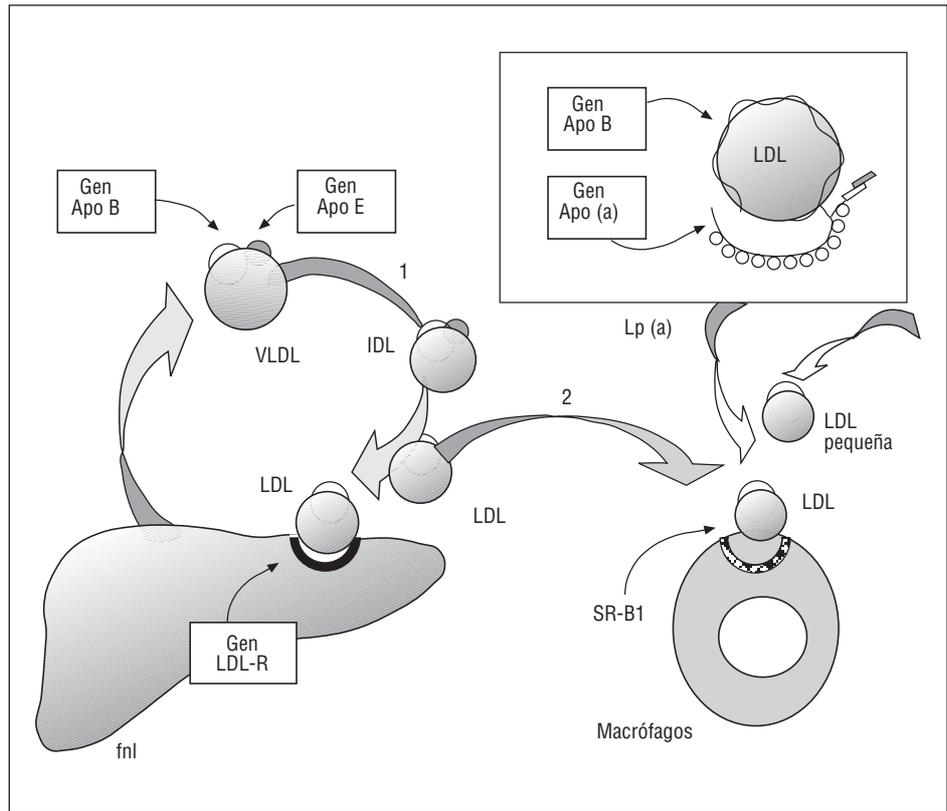
TABLA 3. Variaciones genéticas raras (mutaciones) que favorecen la cardiopatía isquémica y factores ambientales relacionados

Enfermedad familiar	Genes	Mutaciones	Frecuencia de heterocigotos (homocigoto)	Fenotipo	Interacción con factores ambientales
Hipercolesterolemia familiar (FH)	Receptor-LDL	«Nula» (112insA, W-18X); C358Y, C1301G, G829A	1/500 (1/millón)	Enfermedad coronaria, vascular periférica, ictus	Ingesta de grasas y colesterol
Defecto familiar de Apo B (FDB)	apo(B)	Ar3500Gln	1/250-1.000		
Deficiencia apo A1 (síndrome de HDL baja)	apo-A ₁			Deficiencia apo-A ₁	
Enfermedad de Tangier	Transportador ABC1			Enfermedad de Tangier	
Hipertensión	Sintasa aldosterona y 11-b-hidroxilasa Canal epitelial de Na Receptor mineralocorticoide	Mosaicismo		Aldosteronismo sensible a glucocorticoides Síndrome de Liddle HTA, Hipertrofia VI	
Diabetes tipo 2	Factor nuclear hepatocítico 1 y 4; glucocinasa	MODY 1, 2, 3		Diabetes tipo 2 en jóvenes (MODY1, 2 y 3)	
Homocisteinuria	Sintasa de la cistationa			Hiperhomocisteinemia grave	
Coagulación	Protrombina Factor V de Leiden	PT A20210G	2% 5%		

Las abreviaturas se describen en el texto.

Fig. 2. Genes del metabolismo de las lipoproteínas de baja densidad (cLDL). Los genes implicados en la etiología de la aterosclerosis coronaria se indican en cursiva dentro de un recuadro. En el encarte: esquema de una partícula esférica de LDL, el agente específico del ateroma, con su molécula de apo B filamentososa que la rodea, a la que se añade una cadena con anillos *kringle* IV, la apo(a), para formar el complejo Lp(a). Flecha 1: vía de formación y transporte de las LDL a los receptores LDL-R de los hepatocitos o las células periféricas; flechas 2: transporte de las LDL, LDL pequeñas (tipo B) y Lp(a) a la pared vascular, donde, tras sufrir oxidación, son captadas por los receptores SR-B1 de los macrófagos.

Apo-B, E, (a): apolipoproteínas B, E y (a); IDL: lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: lipoproteínas de baja densidad; LDL-R: receptores de las LDL; SR-A: receptores basureros (*scavenger receptors*); VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.



[VLDL] y de densidad intermedia [IDL]). Se presenta en tres versiones principales: la apo-E₃, la isoforma natural, la más común, y dos formas mutantes, la apo-E₂, en la que se ha sustituido arginina por cisteína en la posición 158, y la apo-E₄, que cambia cisteína por arginina en posición 112.

El alelo polimórfico apo-E₄ tiene una menor afinidad que la apo-E₃ para los receptores apo-B/E y se asocia a un ligero aumento de colesterol y los triglicéridos plasmáticos. Su relación con la enfermedad coronaria es de las más firmes¹⁴⁻¹⁶. Los portadores de este alelo tienen un riesgo coronario de un 40% superior al de los alelos apo-E₃ o apo-E₂¹⁵. El estudio 4S (*Scandinavian Simvastatin Survival Study*) ha podido comprobar el efecto letal del alelo apo-E₄ en pacientes que han padecido un infarto de miocardio, pues la mortalidad asociada a este alelo fue del 15,7% a los 5,4 años de seguimiento, cuando en el resto de pacientes fue del 9%. Además, el alelo apo-E₄ permitía predecir una buena respuesta al tratamiento hipolipemiente: la mortalidad de los pacientes portadores de este alelo se redujo del 15,7 al 6%, en tanto que en el resto la reducción de la mortalidad fue sensiblemente menor (del 6 al 5,1%)¹⁶. Este dato confirma que la respuesta al tratamiento con estatinas depende del genotipo apo-E, como se había descrito previamente¹⁷. Se ha señalado también que el alelo apo-E₄ disminuye la probabilidad de alcanzar edades muy avanzadas, pues la prevalencia en nonagenarios (11,6%) es infe-

rior a la de los individuos de mediana edad (22%)¹⁸. Por otra parte, el alelo apo-E₄ se acompaña de un ligero aumento del riesgo de padecer la enfermedad de Alzheimer^{4,7}.

En cambio el alelo apo-E₂ parece tener un efecto favorable. Un reciente estudio comparativo sobre el efecto de la ingesta rica en colesterol en pacientes con distintos genotipos apo-E₁, B, C-III, E y R-LDL ha demostrado que los individuos con el alelo apo-E₂ tienen los niveles más bajos de cLDL y no responden al aumento del colesterol en la dieta, mientras que las mutaciones de la apo B tienen las elevaciones más altas, sobre todo si coexisten con el alelo apo-E₄¹⁹. El alelo apo-E₂ se ha relacionado también con: a) la hipobetalipoproteinemia (cLDL < 70 mg/dl), cuya prevalencia en el *Framingham Off-Spring Study* fue del 2%. La otra causa de hipobetalipoproteinemia, la apo B truncada, es mucho menos frecuente¹³, y b) la disbetalipoproteinemia familiar (hiperlipoproteinemia tipo III), una enfermedad rara que afecta a pacientes con el alelo apo-E₂, está producida por una deficiencia completa de la apo-E y se asocia sobre todo con enfermedad vascular periférica.

Polimorfismo de la apo(a)

Las lipoproteínas (a) –Lp(a)– son un pequeño subgrupo de partículas LDL que contienen, además de una molécula de apo-B₁₀₀, una molécula de apo(a), que

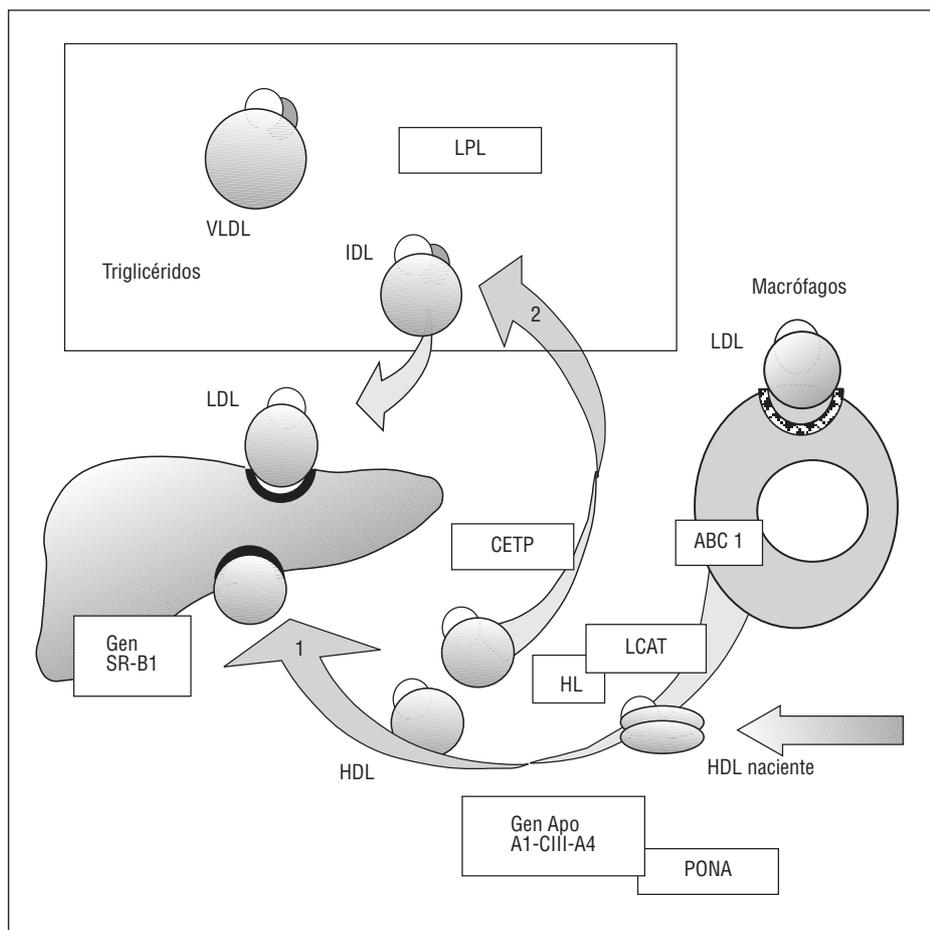


Fig. 3. Genes del metabolismo de las HDL y los triglicéridos (TG). En cursiva se indican los genes polimórficos que codifican las enzimas y los receptores del metabolismo de los TG y las HDL, y se han implicado en la aterogénesis. Flecha 1: vía del transporte inverso del colesterol desde la placa de ateroma al hígado, para su eliminación por la bilis. Su eficacia depende de las producciones de las enzimas que facilitan la extracción del colesterol de los macrófagos (ABC1) y su incorporación a las partículas de HDL (LCA, HL), de los componentes de las HDL (apoproteínas A1-CIII-A4, PONA), o de los receptores hepáticos específicos (SR-B1); flecha 2: vía de transporte alternativo del colesterol de las HDL a las VLDL e IDL, regulada por la enzima CETP. En el recuadro: vía de transformación de las partículas ricas en triglicéridos, VLDL e IDL, en LDL, bajo la acción de la lipasa lipoproteica (LPL). ABC1: transportador ABC1; apo: apolipoproteína; CETP: proteína de transferencia del colesterol esterificado; HL: heparinlipasa; LCAT: enzima lecitín aciltransferasa; IDL: lipoproteínas de densidad intermedia; LDL: lipoproteínas de baja densidad; LDL-R: receptores de las LDL; SR-B1: receptores basureros (*scavenger receptors*); VLDL: lipoproteínas de muy baja densidad.

es extraordinariamente parecida al plasminógeno, pero carece de su efecto mediador de la fibrinólisis. Esta molécula presenta numerosas secuencias repetidas (hasta un máximo de 37) del anillo *kringle IV* (*kringle* en recuerdo de una pasta danesa), el mismo que se repite 5 veces en el plasminógeno^{4,6,20}.

Las Lp(a) son particularmente nocivas, porque: *a*) son atraídas por la fibrina depositada en las lesiones de la íntima; *b*) tienen un efecto antifibrinolítico, pues compiten con el plasminógeno y bloquean su efecto potenciador de la lisis del coágulo en los accidentes coronarios agudos, y *c*) anulan el efecto activador de la plasmina sobre el factor TGF- β , que tiene un importante efecto inhibitorio de la proliferación y migración de las células musculares lisas^{7,20}.

La concentración plasmática varía según los individuos entre menos de 1 y más de 100 mg/dl (10 mg/dl de promedio) y guarda una estrecha relación inversa con el número de anillos de la apo(a). La cifra, en cambio, es muy constante en cada individuo y poco susceptible de modificación dietética o farmacológica, ya que el factor genético es responsable del 90% de la variabilidad^{7,20}.

Como han confirmado ya numerosos estudios epidemiológicos, la presencia de concentraciones elevadas de Lp(a) (> 30 mg/dl) se asocia a un aumento de la in-

cidencia de infartos de miocardio, de reestenosis y de accidentes vasculares cerebrales^{4,21,22}. Se ha señalado incluso que puede ser la causa principal del 25% de los infartos de miocardio en EE.UU.²². Tiene además un significado pronóstico desfavorable. En los pacientes con infarto de miocardio del ensayo clínico escandinavo 4S la mortalidad a los 5,4 años de los pacientes con una concentración elevada de Lp(a) era el doble que en el resto. Más llamativo aún, si coincidían dos polimorfismos desfavorables, el de la Lp(a) y el alelo polimórfico apo-E₄, la mortalidad era más del triple, lo que es un buen ejemplo del efecto amplificador de la interacción entre dos genes. Por otra parte, la presencia del polimorfismo apo(a) predecía una respuesta más eficaz al tratamiento con simvastatina, con una reducción de la mortalidad del 50%. Esta reducción ascendía al 80% si el paciente poseía ambos polimorfismos desfavorables, el de la apo(a) y el de la apo-E¹⁶.

GENES RELACIONADOS CON LAS LIPOPROTEÍNAS DE ALTA DENSIDAD (HDL) Y EL TRANSPORTE INVERSO

El estudio Framinghama ya dejó que la baja concentración plasmática de las HDL es uno de los facto-

res de riesgo coronario más potentes, tanto o más que las cifras altas de LDL. Ello se atribuye al importante papel protector de estas partículas, que son responsables del transporte inverso del colesterol desde la pared vascular a los receptores hepáticos SR-B1 (*scavenger receptor* tipo B1) para su eliminación por la bilis²³. Las concentraciones de HDL plasmáticas –y la eficacia del transporte inverso– dependen de la actividad física o el consumo de alcohol, pero tienen componente genético importante que se cifra en un 35-50%, en el que están implicados buen número de polimorfismos^{4,7} (fig. 3).

Lipasa lipoproteica y triglicéridos

La lipoproteinlipasa (LPL) es la principal enzima del catabolismo de las lipoproteínas ricas en triglicéridos (VLDL e IDL). Tiene dos funciones principales: *a*) cataliza la liberación de los triglicéridos (TG) de las VLDL cuando pasan por los capilares y las degrada a remanentes o IDL, y luego a LDL, y *b*) una vez realizada su función enzimática, se desprende de su anclaje en el endotelio y actúa de ligando de las IDL para su captación y eliminación por los receptores hepáticos^{4,7,23}.

El gen de la lipoproteinlipasa es particularmente propenso a las mutaciones. Se han descrito cerca de 40 (véase: www.ncbi.nlm.nih.gov/omim). Unas se localizan en el segmento terminal C (residuos 313 a 448) y alteran la función de ligando, y otras en el dominio N (del residuo 1 al 312), deprimen la función enzimática y disminuyen el catabolismo de VLDL y las IDL, lo que ocasiona la acumulación de estas partículas en el plasma (el aumento de los TG) y la disminución de las HDL^{4,7}.

Se conocen tres mutaciones localizadas en el dominio N. La Asp9Asn y la Asn291Ser, cuya prevalencia en su forma heterocigota es del 3-5%, se asocian a un aumento del 20-30% en los TG en el plasma, una reducción del cHDL \approx 10 mmol/l y un aumento del riesgo de cardiopatía isquémica (riesgo relativo \approx 1,3). La Gly188Glu, la menos frecuente (1/1.000), es la que más deprime la actividad enzimática, induce un mayor aumento de los TG (80%), una mayor disminución del cHDL (25 mmol/l) y un aumento más importante del riesgo coronario (riesgo relativo de 5/1)²⁴.

El mecanismo de la relación entre el aumento de los TG del plasma (el aumento de las VLDL y IDL) y la enfermedad coronaria sigue siendo un tema controvertido. Se han propuesto varias explicaciones: *a*) se sospecha que la incorporación a la pared arterial de las moléculas más pequeñas de VLDL y de IDL (remanentes de VLDL), que también contienen colesterol aunque en menor proporción, tienen un efecto aterogénico comparable al de las LDL²⁵. Pero es difícil dissociar este efecto de las importantes modificaciones metabólicas que inducen los TG (las VLDL e IDL) en

otras lipoproteínas, como las HDL y las LDL; *b*) la disminución de las HDL, que guarda una estrecha relación inversa con los TG, atribuible al efecto de los TG (y la insulina) sobre el catabolismo de las apo-A₁, la apolipoproteína propia de las HDL; o a la mayor actividad de la enzima CETP, que desvía el transporte del colesterol a otras vías alternativas en detrimento del transporte inverso de la HDL (véase más adelante), o *c*) el aumento de las LDL pequeñas y densas (LDL tipo B), que tienen un gran potencial aterogénico debido posiblemente a su mayor capacidad de penetración en la pared vascular y su fácil oxidación²⁵⁻²⁷.

Los análisis de regresión múltiple parecen confirmar que los TG (las VLDL y IDL) son un tercer factor de riesgo epidemiológico independiente de las LDL y las HDL, aunque los resultados no son muy llamativos. El efecto es más aparente cuando se determinan los TG posprandiales, que reflejan mejor la capacidad de respuesta metabólica del individuo²⁷. Un reciente meta-análisis de 17 estudios resume los datos que apoyan este concepto²⁴.

Estos polimorfismos de la lipoproteinlipasa presentan una interesante interacción con la obesidad, como ha apuntado el estudio EARS, pues la elevación de los TG inducida por el exceso de peso se acentúa en los portadores de la mutación LPL-291S²⁶.

Una cuarta variante, el polimorfismo exónico Ser447Ter, que se localiza en el terminal C y afecta la función de ligando, reviste un interés especial porque, aparte de ser la más frecuente (su prevalencia en la población general es del 20%), se asocia a una concentración ligeramente más elevada de las HDL (0,04 mmol/l), una reducción de los TG (8%) y un menor riesgo de enfermedad coronaria (riesgo relativo: 0,8). Este efecto protector se atribuye a su mayor afinidad por los receptores, que facilita la eliminación de las partículas remanentes de VLDL²⁴. Esta variación está íntimamente ligada al polimorfismo LPL/HindIII (polimorfismo RFLP)^{4,7}.

Proteína de transferencia de los ésteres de colesterol (CETP) y alcohol

Las HDL poseen dos enzimas esenciales para el transporte inverso: la LCAT (lecitina-colesterol aciltransferasa), que facilita la captación del colesterol de la pared vascular y da comienzo a la vía del transporte inverso, y la CETP (*cholesterol ester transfer protein*), que promueve el trasiego del colesterol de las HDL y LDL (ricas en colesterol) a las VLDL e IDL (ricas en TG), e inicia una vía catabólica alternativa para su eliminación por el hígado, menos eficiente que la del transporte inverso^{4,7}.

Las variaciones conocidas de la LCAT no parece que tengan mayor trascendencia, aunque se ha descrito una mutación, LCAT-Gly230Arg, responsable del 5% de los casos de HDL muy bajas²⁸. Se conoce en cam-

bio un polimorfismo TaqI-B del intrón 1 del gen de la CETP (*CETP/TaqI*), que aumenta la actividad de la enzima y tiene un efecto proaterogénico²⁹. Este efecto se atribuye a que: *a*) la activación del CETP desvía el colesterol del transporte inverso a la vía alternativa, con lo que disminuye las HDL; *b*) enriquece el colesterol de las partículas que transportan TG (VLDL y IDL), lo que aumenta su potencial aterogénico, y *c*) empobrece de colesterol las LDL, y las convierte en partículas más pequeñas y densas (LDL patrón B), especialmente aterogénicas^{4,7,26}. Se sospecha que la elevación de los TG y la hipertrigliceridemia posprandial (que dura 8 h y, por tanto, estamos casi siempre en período posprandial a este respecto) desempeñan un papel importante en la génesis de la aterosclerosis, en parte debido a su capacidad de activar la CETP²⁸.

Como ha demostrado el estudio REGRESS (*Regression Growth Evaluation Statin Study*), los portadores del genotipo B1B1 (frecuencia del 35%) tienen una actividad elevada de la enzima, cifras altas de TG y bajas de HDL, y presentan una mayor progresión de la aterosclerosis coronaria que los portadores de B1B2 y B2B2. La presencia de este alelo permite además predecir una mejor respuesta de las lesiones angiográficas al tratamiento con estatinas²⁹.

Este polimorfismo presenta una interacción muy notable con el alcohol. Como ha señalado el estudio ECTIM (*Etude Control-Temoigne l'Infarctus de Myocarde*), la relación entre el polimorfismo CETP y las HDL sólo se manifiesta en los individuos que beben. En cambio, no se observa en los abstemios. Esto indica que el efecto beneficioso de la ingesta moderada de alcohol sobre las HDL podría estar relacionado con su efecto depresor sobre la CETP³⁰.

Paraoxonasa (HDL-PON1)

La paraoxonasa/arylesterasa es una enzima específica de las HDL (asociada a las apo-A₁) capaz de hidrolizar los peróxidos lipídicos y destruir las moléculas proinflamatorias producidas por la oxidación de las LDL, por lo que se sospecha que puede desempeñar un papel muy relevante en la etiopatogenia de la aterosclerosis³¹. Se detecta normalmente en la pared arterial y su concentración aumenta de forma masiva en las placas de ateroma, posiblemente en respuesta al aumento del estrés oxidativo³¹.

La actividad enzimática de la PON1 presenta una variación interindividual de un 10-40%, atribuible en parte a la presencia de dos polimorfismos: el PON1-192, con sustitución de arginina por glutamina en el codón 192 (A/G 192), que da lugar a una isoenzima R con arginina y una isoenzima Q mutante, y el PON1-55 que sustituye leucina (L) por metionina (M) en el codón 55. Se ha comprobado mediante experimentos de coinubación que la capacidad de las partículas HDL para proteger contra la modificación oxidativa de

las LDL es claramente superior en las partículas procedentes de homocigotos QQ/MM que las procedentes de homocigotos RR/LL³².

A pesar de que algunos estudios como el ECTIM³³ niegan la asociación del polimorfismo 192 con la enfermedad coronaria, otros más recientes señalan que el genotipo RR/LL puede ser un importante factor de riesgo independiente, sobre todo en pacientes con diabetes tipo 2, en los que la actividad enzimática y los niveles plasmáticos de PON1 están habitualmente disminuidos³⁴. El estudio REGICOR ha confirmado que el alelo R aumenta el riesgo de infarto en pacientes diabéticos³⁵. Cabe la posibilidad de que el aumento de riesgo (que puede ser del 60%) sólo se detecte en los fumadores³⁶. Esta interacción gen/ambiente puede atribuirse a que el tabaco tiene una acción deletérea sobre la paraoxonasa, que anula el efecto de las diferencias interindividuales.

Transportador ABC1

El transportador ABC1 es una proteína que interviene de manera decisiva en la salida del colesterol de las células, pues forma un canal que permite su paso al exterior de la membrana, donde se transfiere a las partículas que nacen de HDL, previa esterificación por la LCAT. La confirmación de que la enfermedad de Tangier, una enfermedad mendeliana rara que cursa con niveles muy bajos de HDL y enfermedad coronaria prematura, se debe a una mutación del gen del transportador ABCA1 propició la búsqueda de polimorfismos comunes de este gen que pudieran influir en el riesgo coronario⁴. Se ha identificado recientemente un polimorfismo -477T/C ABCA1, cuyos genotipos TT y TC se asocian a una reducción modesta de las cifras de HDL y apo-A₁, pero muestran una correlación muy fuerte con la gravedad de la enfermedad coronaria a juzgar por el número de lesiones en la angiografía³⁷.

Polimorfismos de la apoproteínas AI/CIII/AIV y la lipasa hepática

Se han identificado variantes de la lipasa hepática y en los *loci* apo-A₁/CIII/AIV (cuyos genes codifican componentes estructurales de las HDL), que pueden influir en la concentración de las HDL y podrían modificar la frecuencia de la enfermedad coronaria³⁸. Cabe recordar que existe una enfermedad mendeliana rara, la deficiencia de apo-AI, que en su forma homocigota comporta una ausencia virtual de HDL (alelo nulo) y da lugar a una enfermedad coronaria prematura grave^{4,7}.

HIPERTENSIÓN ARTERIAL. SISTEMAS RENINA-ANGIOTENSINA-ALDOSTERONA Y SIMPATICOADRENÉRGICO

La hipertensión arterial y la hipertrofia ventricular se encuentran entre los primeros factores de riesgo co-

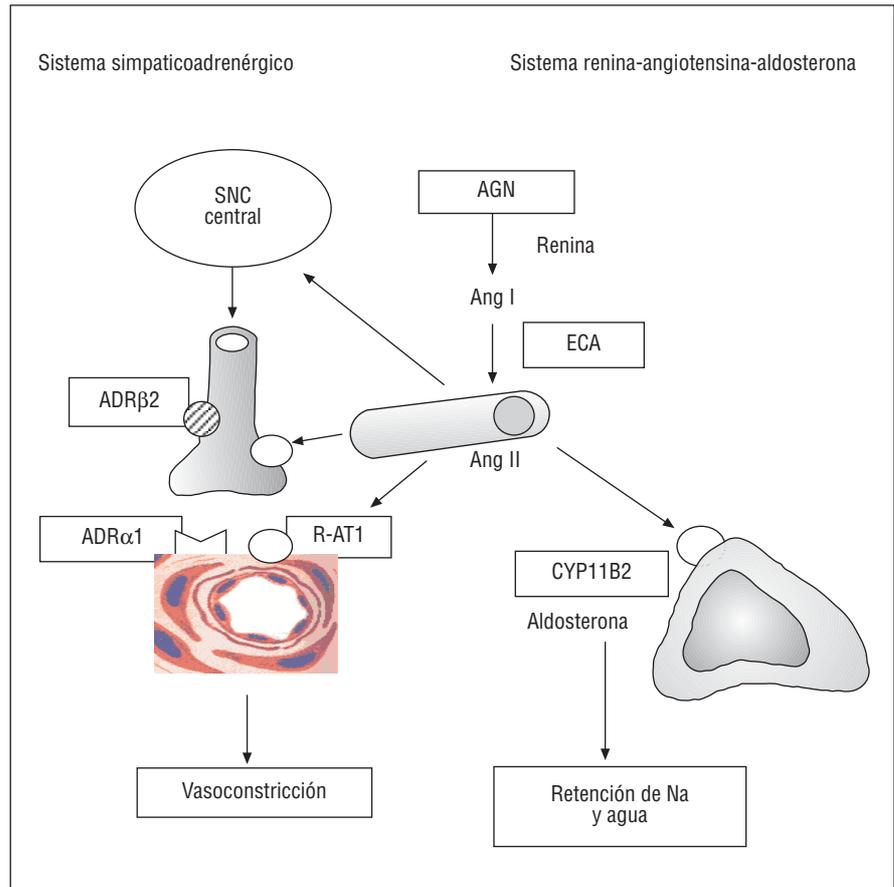


Fig. 4. Genes de los ejes simpático-adrenérgico y renina-angiotensina-aldosterona. En cursiva y en recuadro se indican los genes polimórficos que codifican enzimas o receptores implicados en la patogenia de la enfermedad coronaria. AGN: angiotensinógeno; Ang: angiotensina; ADR: receptor adrenérgico; CYP11B2: enzima sintasa de la aldosterona; ECA: enzima conversiva de la angiotensina; R-AT1: receptor AT1 de la angiotensina II; SNC: sistema nervioso central.

ronario descritos en el estudio Framingham. Es pues lógico que se hayan sometido a un intenso escrutinio las variantes moleculares de los genes de los sistemas renina-angiotensina-aldosterona y simpático-adrenérgico (fig. 4).

Angiotensinógeno

El polimorfismo M235T del gen del angiotensinógeno (AGT) es el que presenta una relación más clara con la hipertensión, aunque el efecto parece ser débil. Su relación con la enfermedad coronaria, en cambio, es dudosa³⁹⁻⁴¹. Se ha señalado que el genotipo 235 TT duplica el riesgo de cardiopatía coronaria y de infarto de miocardio⁴⁰, aunque el *Copenhagen City Heart Study*, con más de 2.800 pacientes, ha sido negativo⁴¹.

Polimorfismo I/D de la enzima conversiva de la angiotensina (ECA)

Una de las variantes genéticas mejor estudiadas es el polimorfismo inserción/delección (I/D) del gen de la ECA, la ectoenzima de las células endoteliales que interviene en la generación de angiotensina II y la degradación de la bradicinina, dos péptidos vasoactivos con importantes efectos sobre la proliferación celular y la

trombosis. Este polimorfismo se caracteriza por la presencia o ausencia de una secuencia *Alu* de 287 pares de bases en el intrón 16. Da lugar a tres genotipos distintos: II/ID/DD. Los portadores del alelo D presentan un aumento de la actividad de la ECA plasmática y la ECA cardíaca y tisular (que representa el 80% de la actividad de la ECA) y están expuestos, por tanto, a mayores niveles de angiotensina II. En el genotipo DD, presente en el 28-31% de los individuos (tabla 2), los niveles son el doble que en el genotipo II^{4,42}.

Desde 1992, cuando se describió la asociación del genotipo DD con el aumento del riesgo de infarto de miocardio⁴², se han publicado numerosos estudios sobre la implicación del alelo D en la patogenia de la enfermedad coronaria y el infarto de miocardio⁴³⁻⁴⁸, el remodelado postinfarto⁴⁹, la dispersión del QT postinfarto y la muerte súbita^{48,50}, la restenosis postintervención percutánea⁵¹, la resistencia a la insulina y la diabetes^{52,53}, la hipertensión arterial⁵⁴ o la hipertrofia del ventrículo izquierdo⁵⁵. El estudio ECTIM, basado en el registro MONICA, comprobó que el genotipo DD es un poderoso factor de riesgo de infarto de miocardio en pacientes menores de 65 años⁴², sobre todo en ausencia de otros factores de riesgo, en cuyo caso el riesgo se triplica. Se ha señalado que el genotipo DD puede ser el factor de riesgo coronario más importante en

pacientes con diabetes tipo 2⁵³. En cambio, no parece que el gen de la ECA influya sensiblemente sobre la hipertensión arterial, por lo que cabe atribuir el efecto aterogénico de la angiotensina II a su acción metabólica (mitógena) sobre la pared vascular, más que a su efecto sistémico hipertensivo.

Por el contrario, algunos estudios de gran envergadura como el *Physician's Health Study* (> 3.500 médicos)⁴³, o el realizado en 11.000 sujetos del estudio ISIS-3⁴⁶, niegan cualquier relación de este polimorfismo con el infarto de miocardio. De los dos grandes metaanálisis publicados, uno concluye positivamente⁴⁴, y el otro, más reciente, que comprende a más de 32.000 individuos de raza blanca⁴⁵, encuentra un aumento significativo del riesgo en los portadores del genotipo homocigoto DD. De manera que 9 años después de la descripción inicial⁴², y a pesar de que las pruebas experimentales y clínicas son muy convincentes a favor del papel causal de la ECA en la enfermedad coronaria, la implicación del polimorfismo ECA sigue en cuarentena.

Receptor tipo I de la angiotensina II

El polimorfismo A1166C del gen *AT1R* (del receptor tipo I de la angiotensina II) se asocia probablemente a un aumento de la sensibilidad del receptor AT1, a través del que se ejercen la mayoría de los efectos de la angiotensina II. El alelo C es más frecuente en pacientes hipertensos, y su relación con la susceptibilidad a la cardiopatía isquémica es indicativa^{47,48,56,57}. La asociación del genotipo AT1R-CC con el ECA DD (el 2% de nuestra población) puede tener un efecto de tipo sinérgico^{47,48}.

Quimasa (CMA)

La quimasa es una enzima de la pared vascular y del corazón que tiene la capacidad de convertir la Ang I en II y la *big* ET-1 en ET-1. Esta enzima permite explicar por qué la producción de Ang II tisular puede mantenerse normal a pesar de la inhibición completa de la ECA. Sin embargo, de momento no se ha podido confirmar la asociación del polimorfismo CMA A-1905G y el infarto de miocardio^{58,59}.

Sintasa de la aldosterona (CYP11B2)

La aldosterona tiene importantes efectos cardiovasculares. Aparte de su efecto sobre la presión arterial y la volemia, es conocido su efecto sobre la fibrosis de la hipertrofia y del postinfarto⁶⁰. No es de extrañar, pues, que haya despertado gran interés el estudio del polimorfismo C/T -344 de la región promotora del gen de la sintasa de la aldosterona (CYP11B2/ T-344C), que se ha implicado en el remodelado ventricular de la hipertensión arterial^{61,62}, o en el remodelado postinfar-

to, que no se ha confirmado⁶³. En un reciente estudio preliminar de 16 polimorfismos genéticos, el análisis de regresión seleccionó el polimorfismo CYP11B2 como uno de los 9 polimorfismos relacionados con la enfermedad coronaria angiográfica⁶⁴.

Otras variantes genéticas

Otros polimorfismos en estudio son los del gen del receptor adrenérgico β_2 (ADRB2-Arg16Gly y Gln27Glu), de la α -aducina (Gly460Trp), una proteína de la capa interna de la membrana plasmática que puede ser responsable en parte de la hipertensión sensible a la sal; o de la endotelina (EDN1) y sus receptores A y B (EDNRA y EDNRB). Su consideración como genes de riesgo parece prematura^{5,65}.

GENES RELACIONADOS CON LA RESISTENCIA A LA INSULINA (EL SÍNDROME METABÓLICO)

El síndrome metabólico, también llamado síndrome de la resistencia a la insulina (o síndrome de Reaven), es un síndrome particularmente aterogénico, que intenta explicar la frecuente asociación de 4 factores de riesgo coronario clásicos (el «cuarteto de la muerte» de Kaplan)^{66,67}:

1. *Obesidad* de predominio visceral (relación cintura/cadera > 1,02 cm), relacionada con la ingesta y el estrés, que podrían ser los factores ambientales necesarios para que se manifieste el síndrome.

2. *Hipertrigliceridemia*, disminución de las HDL y aumento de las LDL tipo B (la llamada «tríada lipídica» o dislipemia aterogénica). El aumento de los TG (de hasta un 60%) se atribuye a un exceso de la producción hepática de las VLDL e IDL, estimulada por la mayor disponibilidad de los ácidos grasos libres del tejido adiposo. Pero cabría también atribuirla a una modificación de la actividad de la lipoproteinlipasa o la CETP (véase más arriba)⁶⁸⁻⁷⁰.

3. *Resistencia a la insulina, hiperinsulinemia, intolerancia a la glucosa y diabetes tipo 2*. La mayor disponibilidad de los ácidos grasos libres acentúa su consumo en el músculo esquelético en detrimento de la glucosa, cuyo aumento en la sangre estimularía la secreción, y pondría en evidencia la resistencia a la insulina. Entre los genes candidatos de la resistencia a la insulina se han señalado las mutaciones del receptor de la insulina (se han descrito más de 50), que serían causas monogénicas raras; o los polimorfismos de la FAB P2 (*fatty acid binding protein*, proteína de unión con los ácidos grasos), de la lipoproteinlipasa, del factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), o el genotipo DD de la ECA, pero sobre todo del gen *IRS* (*insuline receptor substrate*)⁷¹. La mayoría de los componentes del síndrome son premonitorios de la diabetes tipo 2,

cuya incidencia alcanza el 15%, frente al 6,5% en la población general. La resistencia a la insulina puede preceder a la diabetes tipo 2 durante más de una década⁷².

La hiperglucemia es aterogénica porque facilita la glucación de las LDL y las convierte en partículas altamente lesivas, y porque promueve la aparición de productos finales de glucación avanzada (AGE), solubles, que interaccionan con receptores específicos del endotelio y aumentan la producción de radicales libres de oxígeno⁷³.

4. *Hipertensión arterial*, relacionada con el aumento del tono simpático producido por la acción central de la insulina, la activación del sistema renina-angiotensina, la disfunción endotelial y expresión de la ET-1 o la acción vasoconstrictora provocada por los ácidos grasos libres.

A este cuarteto se ha añadido un *estado disfibrinolítico* imputable a la presencia de niveles elevados del inhibidor del activador del plasminógeno (PAI-1), producidos por las células endoteliales y musculares lisas en respuesta al estímulo de los TG y la insulina. Esta respuesta es más intensa en los pacientes con el polimorfismo del PAI-1^{68,70}.

Sustrato del receptor de la insulina (IRS-1)

La proteína IRS-1 (*insuline receptor substrate*) actúa de intermediaria entre el receptor de la insulina y la cascada de señales que determinan la incorporación a la membrana de la proteína GLUT-4 (el canal de transporte en cuya ausencia la membrana es impenetrable a la glucosa). La causa de la resistencia a la insulina es con toda probabilidad una menor actividad de la IRS⁷². Los estudios epidemiológicos ya conocían que la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia aumentan notablemente el riesgo de infarto de miocardio, aunque el paciente no fuera diabético⁷⁴, por lo que al describirse el polimorfismo G972R del gen *IRS-1* se incluyó enseguida en la lista de posibles factores de riesgo genético. En esta mutación se produce un cambio de arginina por glicina en el codón 972 dando lugar a dos alelos G y R. La prevalencia en la población general de los portadores de la mutación, es decir, del genotipo GR (el RR sería excepcional) es del 6-7%⁷¹. Estudios experimentales y clínicos han confirmado la asociación de este polimorfismo con el deterioro de la función de la proteína IRS, con la resistencia a la insulina y la hiperinsulinemia, y el aumento del riesgo coronario. La mutación se encuentra con mayor frecuencia en los enfermos con lesiones angiográficas (19 frente al 6-7%). Cabe subrayar que el riesgo se multiplica por 7 si el paciente es obeso y por 27 si coexiste además con datos clínicos del síndrome metabólico⁷¹.

GENES RELACIONADOS CON LA FUNCIÓN ENDOTELIAL

El descubrimiento de que la disfunción endotelial puede promover tanto la formación de las placas de aterosclerosis como la aparición de accidentes coronarios ha sido una de las aportaciones más relevantes de los últimos años para la comprensión de la génesis de la aterosclerosis. El endotelio, aparte de su actividad vasodilatadora macro y microvascular, tiene también una importante acción antitrombótica, antiproliferativa, antiapoptótica y, en particular, una función antioxidante que resulta decisiva para proteger la pared vascular contra el efecto aterogénico de las LDL oxidadas y otros agentes lesivos. Todas estas funciones están íntimamente relacionadas con la capacidad del endotelio de producir óxido nítrico (NO), que contrarresta la acción de los radicales libres de oxígeno (aniones superóxido, O₂⁻) liberados en el metabolismo tisular⁷⁵. En condiciones normales la producción de NO predomina sobre la generación de aniones superóxido y mantiene bajo control el estrés oxidativo. Si la producción de NO es insuficiente o la generación de radicales libres de oxígeno es excesiva, puede romperse este equilibrio, y el predominio de los fenómenos oxidativos provoca la disfunción endotelial con todas sus consecuencias vasomotoras y metabólicas (fig. 5).

NADH/NADPH oxidasa

La fuente principal de producción de radicales libres de oxígeno son las enzimas oxidativas, entre las que destaca la NADH/NADPH oxidasa, la xantina oxidasa, la mieloperoxidasa, las 15-lipooxigenasa o la ciclooxigenasa. Se ha descrito un polimorfismo C242T del gen del p22phox, uno de los elementos del transporte de electrones de la NADH oxidoreductasa microsómica en las células musculares lisas, que disminuye la producción de anión superóxido en la pared vascular y mejora la función del endotelio coronario, por lo que se sospecha que puede reducir la sensibilidad a la enfermedad coronaria^{76,77}.

Sintasa del NO

La capacidad de contrarrestar el estrés oxidativo y mantener la integridad de la función endotelial puede depender de un polimorfismo de la sintasa endotelial del NO, en el que se produce un cambio de G → T en la posición que corresponde al nucleótido 894 (Glu 298 Asp), el polimorfismo NOS3 G894T. En pacientes que requieren tratamiento vasoconstrictor durante la cirugía cardíaca, se ha comprobado que la respuesta vascular vasopresora a la fenilefrina (estimulación alfaadrenérgica) es más intensa en portadores del alelo 894 T (TT y GT) que en los homocigotos GG, lo que indica que la capacidad vasodilatadora está deprimida

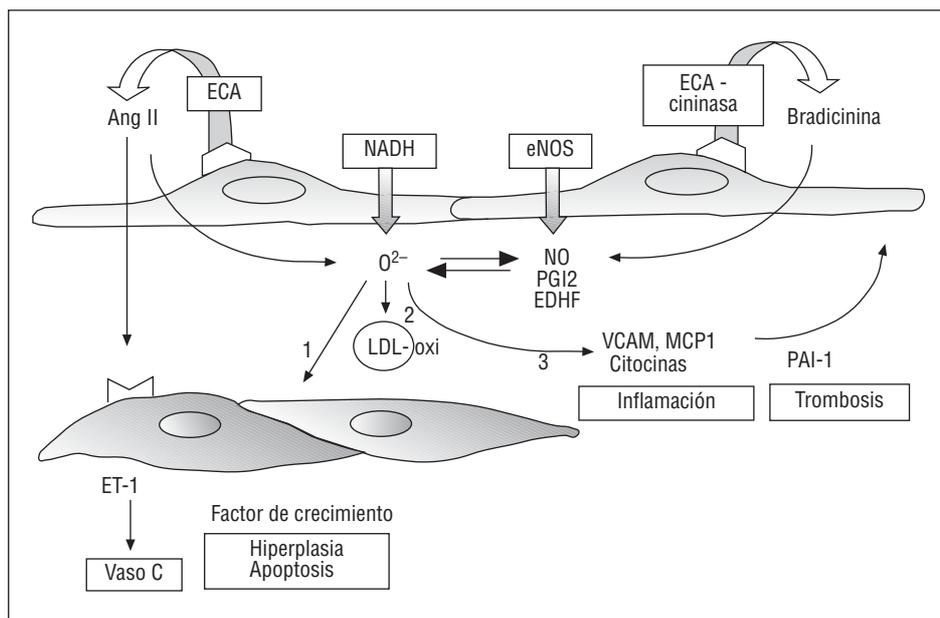


Fig. 5. Genes que modulan la función endotelial. Las flechas paralelas horizontales señalan el equilibrio entre la producción de radicales libres de oxígeno (O_2^-) por la NADH oxidasa y de óxido nítrico (NO) por la eNOS, que está bajo el control de la angiotensina II y la bradicinina (flechas convergentes). Los genes que codifican las enzimas se indican en cursiva y dentro de un recuadro. Las flechas divergentes 1, 2 y 3 indican los efectos desfavorables de O_2^- sobre: a) las células musculares lisas (potencian la producción de ET-1 y factores de crecimiento); b) la oxidación de las LDL, y c) la células endoteliales (que liberan citocinas proinflamatorias y elementos protrombóticos). En los cuatro recuadros de la parte inferior se señalan las alteraciones asociadas con la disfunción endotelial.

a causa de la menor producción de NO⁷⁸. Esta menor actividad de la enzima NOS3 podría ser un factor de riesgo coronario de primera magnitud⁷⁹, sobre todo en pacientes con angina de pecho vasoespástica⁸⁰.

Metilentetrahidrofolatorreductasa (MTHFR), hiperhomocisteinemia y folatos

La hiperhomocisteinemia se considera hoy un importante factor de riesgo coronario, cerebrovascular y periférico. La elevación de sólo 5 mmol/l (el límite superior normal es de 15 μ mol/l) aumenta el riesgo coronario en un 60 y 80% en varones y mujeres, respectivamente. Se trata de una alteración frecuente (ocurre en el 5-7% de la población general) a la que se atribuye un papel causal decisivo en el 10% de los infartos de miocardio en EE.UU. El efecto aterogénico se debe a que se acumula en las células endoteliales, aumenta el estrés oxidativo y provoca la disfunción endotelial^{4,81}.

En la mitad de los casos, la causa de la hiperhomocisteinemia es la presencia del genotipo homocigoto TT del polimorfismo C677T de la MTHFR (5,10 metilentetrahidrofolatorreductasa), que codifica una variante termolábil de la enzima MTHFR, menos eficiente en su función de degradación de la homocisteína a metionina y su eliminación de las células. En estos casos, la cifra de homocisteína plasmática aumenta en un 25%, aunque esta elevación al parecer sólo ocurre en presencia de una relativa deficiencia de folatos. La enzima es dependiente de folato y la enzima mutada tiene una menor capacidad de utilización de folatos (y por tanto el requerimiento dietético es mayor); pero la homocisteinemia puede ser normal si la ingesta de folatos es suficiente⁸¹. La prevalencia de

este polimorfismo es del 10-15% de la población general. Otras mutaciones de las enzimas que intervienen en el metabolismo de la metionina, como la sintasa de la metionina, son más raras⁴.

La segunda causa de la hiperhomocisteinemia es la ingesta inadecuada de cofactores vitamínicos como el ácido fólico y las vitaminas B₆ y B₁₂. Lo común es que coincidan el factor ambiental y el genético⁸¹. Otras causas son el hipotiroidismo, la insuficiencia renal, el efecto de determinados medicamentos como los anti-convulsivos, el ácido nicotínico, el metotrexato, el alcohol y sobre todo el tabaco, que interfieren con la síntesis de la vitamina B₆. Éste es un nuevo mecanismo aterogénico a añadir a los efectos perniciosos del tabaco.

Varios estudios han descrito que el genotipo homocigoto TT aumenta el riesgo coronario, especialmente si el nivel de folatos es bajo⁸¹; pero no faltan resultados contradictorios. Se ha publicado un metaanálisis de 23 estudios con 6.000 casos y 6.000 controles que no pudo comprobar ninguna asociación entre el genotipo y la enfermedad coronaria⁸². Sin embargo, un metaanálisis holandés más reciente, sin embargo, con cerca de 5.000 casos, refiere un resultado ligeramente positivo, y describe un aumento gradual del riesgo coronario en los genotipos heterocigoto y homocigoto del alelo T⁸³. Es posible que la confirmación definitiva requiera estudios en poblaciones de gran tamaño, o poblaciones vulnerables con carencia de folatos.

Las hiperhomocisteinemias graves, con concentraciones plasmáticas de hasta 100-400 μ mol/l, capaces de producir homocisteinuria, son enfermedades mendelianas excepcionales, como la deficiencia homocigota de la CBS, que, aparte de las deformaciones esqueléticas y el retraso mental, se asocia a una aterosclerosis prema-

tura grave, con complicaciones tromboembólicas arteriales y venosas antes de los 30 años⁴.

GENES RELACIONADOS CON LA RESPUESTA INFLAMATORIA

La aterosclerosis se considera un proceso inflamatorio crónico que aparece como respuesta reparadora de una lesión vascular metabólica, física o ambiental. La gravedad y persistencia de esta respuesta inflamatoria local podría estar determinada genéticamente, ya sea a través de genes que influyen en la capacidad de producción de los mediadores inflamatorios (citocinas, moléculas de adhesión) o la capacidad de respuesta de los monocitos y linfocitos a los estímulos inflamatorios, tales como las LDL oxidadas, los radicales libres de O₂- y las endotoxinas o lipopolisacáridos (LPS).

Por otra parte, cada vez hay más indicios de que algunos procesos inflamatorios o infecciosos sistémicos pueden favorecer la aparición de la enfermedad coronaria y sus complicaciones. Tal es el caso de la respuesta inflamatoria crónica de baja intensidad que se detecta en clínica por el aumento de los niveles de los mediadores inflamatorios (la proteína C reactiva [PCR], amiloidosis A, interleucina 6 [IL-6], fibrinógeno [FGN], sICAM), aunque no está claro si esta actividad inflamatoria es causa o consecuencia de la actividad de la placa. Una infección que ha despertado gran interés es la causada por *Chlamydia pneumoniae*, uno de los agentes patógenos respiratorios más frecuentes, cuya asociación con la enfermedad coronaria está respaldada por numerosos estudios seroepidemiológicos y experimentales.

Entre los polimorfismos que pueden influir en la respuesta inflamatoria local o sistémica destacan los siguientes⁸⁴⁻⁸⁷:

Interleucina 6 (IL-6)

La IL-6 ocupa un papel central en la génesis de la reacción inflamatoria sistémica y la respuesta de la fase aguda, pues es la única citocina que puede estimular la síntesis de todas las demás proteínas que intervienen en la respuesta inflamatoria⁸⁴. Se ha descubierto un polimorfismo, el G/C -174 del gen de la IL-6, que disminuye la capacidad de producción de IL-6 y puede amortiguar la respuesta inflamatoria. Los niveles circulantes basales de IL-6 en el genotipo CC son inferiores en un 50% a los del genotipo GG, y los estudios preliminares demuestran que el riesgo de infarto de miocardio se reduce a la mitad (riesgo relativo de 0,54). Se ha comprobado *in vitro* e *in vivo* que las variaciones en la producción de la IL-6 en respuesta a los estímulos de la LPS o IL-1 pueden dar origen a diferencias importantes en la producción de fibrinógeno, de moléculas de adhesión del endotelio o de la agregabilidad plaquetaria⁸⁴.

Interleucina 1 (IL-1 β)

También podrían influir en la progresión de la aterosclerosis los polimorfismos de la interleucina 1 (IL-1): el polimorfismo C/T -511 del gen de la IL-1 β y el polimorfismo del antagonista del receptor R-IL-1 (aR-IL-1)⁸⁵. Se ha descrito que los pacientes seropositivos a *Chlamydia* son más propensos a padecer infarto de miocardio si son portadores del genotipo IL-1 C/C y/o el alelo 2- o 3-repeat allele del aR-IL-1. Al parecer el efecto aterogénico de la infección sólo se manifestaría en presencia de este polimorfismo, que confiere la susceptibilidad necesaria. Esto podría explicar los resultados a veces conflictivos de los estudios sobre la asociación entre *Chlamydia* y la enfermedad coronaria⁸⁵.

Receptores de la quemocina CCR5 y del CD14 de los monocitos

Otro gen en estudio es el de los receptores de la quemocina CCR5. El polimorfismo D-CCR5 (delección de 32 pb) puede tener cierto efecto protector contra el infarto de miocardio, atribuible a la atenuación de la respuesta inflamatoria y al enlentecimiento de la aterosclerosis⁸⁶.

Se ha identificado también un polimorfismo, -260 C/T, en el promotor del gen de receptor CD14, que podría modificar la respuesta de los monocitos/macrófagos a los estímulos infecciosos y citocinas proinflamatorias, y en consecuencia podría aumentar su adhesividad al endotelio, su capacidad de infiltración y reclutamiento en la pared vascular y su transformación en macrófagos. Mediante citometría de flujo se ha podido comprobar que la densidad de los receptores CD14 de los monocitos está aumentada en los homocigotos TT y que este genotipo se encuentra con mayor frecuencia en pacientes que han padecido un infarto de miocardio⁸⁷.

GENES RELACIONADOS CON LA TROMBOSIS

Trombosis y aterosclerosis están íntimamente relacionadas entre sí. El aumento de la actividad procoagulante o la disminución de la capacidad fibrinolítica pueden contribuir al progreso de la placa de ateroma y/o favorecer la formación del trombo y la oclusión coronaria en el momento de la rotura.

Gen del fibrinógeno y tabaco

El fibrinógeno se ha revelado como un factor predictivo muy potente de enfermedad coronaria, tanto como pueden serlo los factores de riesgo clásicos. Este hecho refuerza la importancia de su papel en la progresión de las estenosis coronarias y/o en la aparición de las complicaciones. Los mecanismos en los que in-

terviene son múltiples: *a)* es el precursor de la fibrina, que se deposita en la placa de ateroma y favorece su crecimiento a través de la organización del trombo; *b)* estimula la proliferación de las células musculares lisas; *c)* aumenta la viscosidad de la sangre y tiene un efecto reológico sobre la función endotelial; *d)* interviene en los fenómenos de adhesión, y *e)* además, puede influir en la gravedad de los accidentes coronarios agudos, porque los trombos formados con niveles altos de fibrinógeno son más resistentes a la lisis que los formados con niveles bajos⁷.

Se ha comprobado reiteradamente que la concentración del fibrinógeno depende en parte de su genotipo⁸⁸⁻⁹⁰. La molécula está formada por dos subunidades idénticas (proteína dimérica), cada una de las cuales consta de tres cadenas polipeptídicas (α , β , γ), codificadas en tándem por tres genes distintos del brazo largo del cromosoma 4. Se han descrito varios polimorfismos íntimamente asociados en el gen de la cadena beta (FNG B), entre los que destacan el polimorfismo -455 G/A (el polimorfismo guanina/adenina en la región promotora) y su marcador, el Hae III (polimorfismo RFLP), y el polimorfismo Bcl I.

En el estudio europeo ECTIM, los portadores del alelo -455 A, que representan el 20-25% de la población general, tenían una cifra de fibrinógeno más alta (351 mg/dl) que los del genotipo GG (338 mg/dl). La cifra era de 388 mg/dl en el genotipo AA⁸⁸. Las diferencias en otros estudios oscilan entre el 1 y el 10%³.

Una de las características más notables de este polimorfismo es su importante interacción con el tabaco, pues el aumento de la concentración del fibrinógeno únicamente se observa (o es más aparente) en fumadores. El tabaco es el principal determinante ambiental del fibrinógeno plasmático, y su supresión lo reduce en un 10%⁴. Este efecto se atribuye a que la síntesis hepática del fibrinógeno forma parte de la respuesta de la fase aguda mediada por las citocinas, pues el gen tiene una región del promotor sensible al estímulo de la IL-6. El tabaco promueve la síntesis hepática a través de su importante efecto proinflamatorio estimulante de la producción de IL-6^{4,88}. Este efecto podría acentuarse por la coexistencia del polimorfismo -148 C/T FGN B, localizado en la región promotora sensible a la IL-6. La coexistencia de estos dos polimorfismos explicaría por qué algunos fumadores presentan cifras tan elevadas de fibrinógeno⁸⁸.

A pesar de que la relación entre el genotipo y el fibrinógeno (fenotipo intermedio) se ha comprobado repetidamente⁸⁸⁻⁹⁰, los estudios de asociación con la enfermedad coronaria angiográfica o la incidencia de infarto de miocardio (fenotipo clínico) no han sido todo lo convincentes que cabría esperar. La mayoría son negativos. De todos modos se ha descrito su asociación con la enfermedad vascular periférica en el *Edinburgh Artery Study*^{4,89}, con el infarto de miocar-

dio en la rama francesa del ECTIM⁸⁸, y con el infarto familiar en una población seleccionada del GISSI-2⁹⁰.

Polimorfismos de los factores VII y XIII

El factor VII interviene junto con el factor tisular en el inicio de la cascada de la coagulación (vía extrínseca). Dos polimorfismos pueden tener un importante papel protector contra el infarto de miocardio, debido a que se asocian a una notable disminución de los niveles plasmáticos del factor VII y de la propensión a la trombosis. Se trata del polimorfismo FVII R353Q, con sustitución de arginina (R) por glutamina (Q) en el codón 353 del exón 8, y del polimorfismo 5'F7R, que incluye la inserción de 10 pb en la posición -323 de la región 5' del promotor, con dos alelos, A1 (sin inserción) y A2 (con inserción). Los individuos con el genotipo homocigoto QQ o A2A2 tienen unos niveles plasmáticos del factor VIIa (activado) inferiores en un 70% al de los homocigotos RR o A1A1. Esta importante reducción tiene al parecer una repercusión clínica significativa, pues el alelo Q o el A2 se asocia a una reducción del riesgo de infarto de miocardio a la mitad. La mayor protección la confiere el genotipo A2A2, que reduce el riesgo en un 70% comparado con el genotipo A1A1⁹¹. Así se explicaría por qué algunos pacientes no sufren un infarto de miocardio a pesar de que padecen una aterosclerosis coronaria grave^{91,92}. Otros estudios, sin embargo, niegan cualquier asociación⁹³.

La contribución del polimorfismo Val34Leu del factor XIII es más discutible, aunque se ha descrito un efecto protector contra el infarto y la trombosis venosa^{94,95}. Este factor interviene en la fase final de la coagulación estabilizando el coágulo de fibrina y confiere una mayor resistencia frente a la fibrinólisis.

Se ha apuntado que también podrían estar implicados en la enfermedad coronaria los polimorfismos del factor VIII, que interviene, junto con el factor IX (vía intrínseca), en la propagación del coágulo, o del factor de Von Willebrand (vWF), la molécula más decisiva en la interacción de las plaquetas y pared vascular⁴.

Gen del PAI-1 y triglicéridos

El aumento de la cifra plasmática del PAI-1 (inhibidor del activador del plasminógeno) se considera un importante factor de riesgo trombótico y aterogénico, ya que amortigua la actividad fibrinolítica natural del t-PA. Esta proteína está bajo el control del polimorfismo 4G/5G del gen *PAI-1*, que se caracteriza por la presencia de 5 nucleótidos de guanina en la zona promotora en vez de cuatro. El alelo 5G reduce la actividad transcripcional y la producción de fibrinógeno, por lo que en principio puede considerarse un cambio favorable. Los portadores del genotipo homocigoto 4G4G

tienen cifras de PAI-1 superiores en un 10-50% a las del 5G/5G, y una capacidad fibrinolítica del plasma reducida. Como se desprende de los estudios de asociación, los portadores del alelo 4G serían más propensos a padecer la enfermedad coronaria⁹⁶⁻⁹⁸, aunque las conclusiones del ECTIM⁹⁷ han sido negativas. Un metaanálisis reciente demuestra una débil propensión del alelo 4G al infarto de miocardio⁹⁸.

Cabe destacar la existencia de una relación muy significativa entre las concentraciones plasmáticas de los TG (y la obesidad visceral) y del PAI-1. Los individuos con niveles altos de TG y genotipo 4G/4G tienen cifras de PAI-1 superiores a las de los portadores del genotipo 5G/5G (véase síndrome metabólico). Se ha identificado en la región promotora del gen una secuencia sensible a los TG que podría explicar esta interacción genética/ambiental.

Gen del t-PA

La capacidad del endotelio de liberar grandes cantidades de t-PA en los accidentes coronarios agudos para contrarrestar el depósito masivo de fibrina parece estar influida por el polimorfismo Alu I del gen del t-PA (inserción que contiene un sitio de restricción para la enzima Alu I). En el estudio de Rotterdam se ha comprobado su asociación con el infarto de miocardio, que está pendiente de confirmar⁹⁹.

Otras variantes genéticas

Las enfermedades monogénicas producidas por mutaciones del sistema hemostático aumentan el riesgo de hemorragia o de trombosis (generalmente venosa), pero no tienen al parecer efectos notables sobre la aterosclerosis. Tal es el caso de las enfermedades hemorrágicas causadas por un defecto del vWF, la proteína indispensable para la formación del coágulo plaquetario, y la hemofilia A (deficiencia del factor VIII ligado al cromosoma X), que dificulta la formación del trombo de fibrina. Aunque se ha sospechado que pueden tener un efecto protector, no son una garantía contra la aterosclerosis. Por otra parte, las variaciones genéticas trombofílicas, como las del factor V de Leiden (presente en el 5% de la población) y el A20210G del gen de la protrombina (en el 2%), aumentan el riesgo de trombosis venosa profunda pero no parecen influir en el riesgo de trombosis arterial o de infarto⁴⁻⁶.

POLIMORFISMOS PLAQUETARIOS

Entre las variaciones genéticas que pueden modificar la actividad de las plaquetas destacan los polimorfismos de las tres glucoproteínas principales (GP) de la membrana plaquetaria: la GP IIb/IIIa, el receptor del fibrinógeno; la GP Ib-IX-V, el receptor de vWF; y el GP Ia-IIa, el receptor del colágeno¹⁰⁰⁻¹⁰³.

Polimorfismo PI^{A1}/PI^{A2} del gen de la glucoproteína IIIa

El gen IIIa codifica uno de los componentes del receptor IIb/IIIa, el receptor que se une al FGN y da origen a la agregación de las plaquetas y al trombo plaquetario. Se conoce la existencia de un polimorfismo de la glucoproteína IIIa, en el que la sustitución T/C en la posición 1565 da lugar a dos variantes, los antígenos plaquetarios 1 y 2 (PI^{A1} y PI^{A2}).

El *Framingham Offspring Study* ha podido confirmar que el polimorfismo GP IIIa PI^{A2} aumenta muy significativamente la agregabilidad plaquetaria¹⁰¹, lo que indica que este alelo, presente en el 16% de la población, puede ser un factor de riesgo genético importante. Algunos estudios lo han asociado con el infarto de miocardio, los síndromes coronarios agudos, el riesgo de trombosis del *stent* o de complicaciones isquémicas en las intervenciones percutáneas. Otros han puesto en duda cualquier relación^{101,102}.

Polimorfismo del gen GP Ib (polimorfismo Kozak)

El receptor GP Ib-IX-V cumple un papel crucial en la adhesión de las plaquetas a la pared vascular lesionada en la fase inicial de la hemostasia, gracias a que se une a la matriz subendotelial rica en vWF. El polimorfismo -5 T/C en la secuencia Kozak de la GP Iba (la subunidad del complejo GP Ib-IX-V que se une al vWF) se ha asociado a un aumento de la densidad del receptor GP Ib-IX-V en la membrana plaquetaria, lo que podría ser un factor de riesgo de trombosis plaquetaria en los síndromes coronarios agudos o las complicaciones postangioplastia coronaria transluminal percutánea. Los portadores del alelo -5C (portadores del polimorfismo Kozak) presentan angina inestable con más frecuencia que los del alelo natural (5T). La determinación del genotipo podría facilitar la estratificación del riesgo y el diseño del tratamiento antiplaquetario más idóneo¹⁰³.

Polimorfismo del gen de la glucoproteína Ia

La GP Ia-IIa es el receptor de colágeno que estabiliza las plaquetas adheridas a la pared vascular. Algunos polimorfismos del gen GP Ia aumentan hasta 10 veces la densidad de los receptores de colágeno en la superficie de las plaquetas. Los estudios sobre su predisposición a los síndromes coronarios agudos han dado resultados dispares¹⁰⁰.

IMPLICACIONES CLÍNICAS

El concepto de que la variabilidad genética individual puede desempeñar un papel determinante del riesgo coronario resulta muy atractivo, sobre todo si se

tiene en cuenta que los factores de riesgo clásico no son capaces de justificar más del 30-50% de los casos de enfermedad coronaria⁴. Se han descrito ya numerosos alelos de riesgo y la lista de genes candidatos no cesa de ampliarse. Nuestro conocimiento, sin embargo, adolece de importantes limitaciones. En la mayoría de los casos la asociación con el riesgo coronario o el fenotipo intermedio es muy modesta o está en entredicho. A pesar de sus limitaciones, está tomando cuerpo la hipótesis de que el riesgo de padecer la enfermedad coronaria es función del número de polimorfismos desfavorables que porta un individuo. Las posibles consecuencias de este concepto son importantes:

1. El análisis del perfil genómico (diagnóstico molecular) puede facilitar el diagnóstico de la susceptibilidad genética individual a partir de la suma de los alelos de riesgo presentes. Un ejemplo de lo que puede ser la realidad inmediata lo ilustra un reciente estudio preliminar en el que se analiza el riesgo en función de los 8 polimorfismos más relevantes identificados en el estudio de regresión, relacionados con los lípidos (LPL Pvu y Hind III, CETP), con el sistema renina-angiotensina-aldosterona (AGT, CMA y sintasa de la aldosterona) y la trombosis (PAI-1)⁶². La lista definitiva de factores genéticos quizá tenga que esperar a que el Proyecto Genoma Humano-2 (1998-2003) ofrezca el catálogo completo de polimorfismos y dispongamos de tecnología adecuada (microchips) para realizar estudios de asociación en muchos miles de individuos.

2. La descripción de las bases genéticas (fisiopatología) puede resolver el problema de la clasificación etiológica de la aterosclerosis coronaria, una vieja aspiración.

3. Los tests genéticos pueden ser de utilidad en la predicción de la eficacia de un fármaco en un paciente determinado (farmacogenómica). El genotipo es un factor a tener muy cuenta al interpretar los resultados de los ensayos clínicos.

4. Un tema distinto es considerar el posible beneficio de la estratificación precoz del riesgo genético mediante pruebas del ADN (el cribado sistemático). En qué medida puede sustituir o completar el diagnóstico bioquímico tradicional es todavía tema de debate.

5. El objetivo más ambicioso de la medicina preventiva, la modificación genética que evite el infarto (la terapia génica), queda más lejos, pero quizá menos de lo que parece.

BIBLIOGRAFÍA

- Slack J, Evans KA. The increased risk of death from ischaemic heart disease in first degree relatives of 121 men and 96 women in ischaemic heart disease. *J Med Genet* 1966;2:239-57.
- Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, De Faire U. Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in study of twins. *N Engl J Med* 1994;330:1041-6.
- Rojas A, Ortiz R, Delgado I. Genética y medicina molecular en cardiología. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:91-108.
- Lusis AJ, Weinreb A, Drake TA. Genetics of atherosclerosis. En: Topol EJ, editor. *Textbook of cardiovascular medicine*. Philadelphia: Lippincott-Raven, 1998; p. 2389-496.
- Lusis AJ. Atherosclerosis. *Nature* 2000;407:233-40.
- Cambien F, Tiret L. Genotype and risk of coronary heart disease. *Cardiovasc Risk Factors* 1997;7:118-28.
- Betteridge J. Lipids and vascular disease. *Current Issues*. London: Martin Dunitz, 2000; p. 1-39.
- Brown MS, Goldstein JL. A receptor mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986;232:34-47.
- Real JT, Chaves FJ, Martínez-Usó I, García-García AB, Ascaso JF, Carmena C. Importance of HDL cholesterol levels and the total/HDL cholesterol ratio as a risk factor for coronary heart disease in molecular defined heterozygous familial hypercholesterolemia. *Eur Heart J* 2001;22:465-71.
- Vuorio AF, Aalto-Setälä K, Koivisto UM, Turtola H, Nissen H, Kovanen PT, et al. Familial hypercholesterolaemia in Finland: common, rare and mild mutations of the LDL receptor and their clinical consequences. *Finnish FH-group. Ann Med* 2001;33:410-21.
- Salazar LA, Hirata MH, Forti N, Diamant J, Giannini SD, Issa JS, et al. Pvu II intron 15 polymorphism at the LDL receptor gene is associated with differences in serum lipid concentrations in subjects with low and high risk for coronary artery disease from Brazil. *Clin Chim Acta* 2000;293:75-88.
- Gardemann A, Ohly D, Fink M, Katz N, Tillmanns H, Hehrlein FW, et al. Association of insertion/deletion gene polymorphism of the apolipoprotein B signal peptide with myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1998;141:165-75.
- Marshall HW, Morrison LC, Wu LL, Anderson JL, Corneli PS, Sta DM, et al. Apolipoprotein polymorphisms fail to define risk of coronary artery disease. Results of a prospective, angiographically controlled study. *Circulation* 1994;89:567-77.
- Frikke-Schmidt R, Tybjaerg-Hansen A, Steffensen R, Jensen G, Nordestgaard BG. Apolipoprotein E genotype: epsilon32 women are protected while epsilon43 and epsilon44 man are susceptible to ischemic heart disease: the Copenhagen City Heart Study. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:1192-9.
- Wilson PWF, Schaefer EJ, Larson MG, Ordovas JM. Apolipoprotein E alleles and risk of coronary disease: a meta-analysis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996;16:1250-5.
- Gerdes LU, Gerdes C, Kervinen K, Savolainen M, Klausen IC, Hansen PS, et al. The apolipoprotein E4 allele determines prognosis and the effect on prognosis of simvastatin in survivors of myocardial infarction. A substudy of the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Circulation* 2000;101:1366-71.
- Carmena R, Roederer G, Mailloux H, Lussier-Cacan S, Davignon J. The response to lovastatin treatment in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia is modulated by apolipoprotein E polymorphism. *Metabolism* 1993;42:895-901.
- Kervinen K, Savolainen MJ, Salokannel J, Hynninen A, Heikkinen J, Ehnholm C, et al. Apolipoprotein E and B polymorphisms-longevity factors assessed in nonagenarians. *Atherosclerosis* 1994;105:89-95.
- Gylling H, Kontula K, Koivisto UM, Miettinen HE, Miettinen TA. Polymorphisms of the genes encoding apoproteins A-I, B, C-III, and E and LDL receptor, and cholesterol and LDL metabolism during increased cholesterol intake. Common alleles of the apoprotein E gene show the greatest regulatory impact. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:38-44.
- Liu AC, Lawn RM. Lipoprotein(a) and atherogenesis. *Trends Cardiovasc Med* 1994;4:40-4.
- DahlenGH, Guyton JR, Attar M, Farmer JA, Kautz JA, Gotto AM. Association of levels of lipoprotein Lp(a), plasma lipids, and other lipoproteins with coronary artery disease documented by angiography. *Circulation* 1986;74:758-65.
- Rosengren A, Wilhelmsen L, Eriksson E, Risberg B, Weded H. Lipoprotein(a) and coronary heart disease: a prospective case-

- control study in a population sample of middle aged man. *Br Med J* 1990;301:1248-51.
23. Eckardstein AV, Nofer J-R, Assmann G. High density lipoproteins and arteriosclerosis. Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:13-27.
 24. Witttrup HH, Tybjaerg-Hansen A, Nordestgaard BG. Lipoprotein lipase mutations, plasma lipids and lipoproteins, and risk of ischemic heart disease. A meta-analysis. *Circulation* 1999;99:2901-7.
 25. Gotto AM Jr. Triglycerides as a risk factor for coronary artery disease. *Am J Cardiol* 1998; 82:22Q-5Q.
 26. Gerdes C, Fisher RM, Nicaud V, Boer J, Talmud PJ, Humphries SE, et al, on behalf of EARS group. Lipoprotein lipase variants asparagine 291-serine aspartic acid 9-asparagine determine elevated plasma triglyceride concentrations studies in the fasting and postprandial states. *Circulation* 1997;96:733-40.
 27. Föger B, Patsch JR. Postprandial lipaemia. En: Betterbridge DF, editor. *Lipids and vascular disease. current issues*. London: Martin Dunitz, 2000; p. 1-14.
 28. Miettinen HE, Gylling H, Tenhunen J, Virtamo J, Jauhiainen M, Huttunen JK, et al. Molecular genetic study of Finns with hypoalphalipoproteinemia and hyperalphalipoproteinemia: a novel Gly230 Arg mutation (LCAT[Fin]) of lecithin: cholesterol acyltransferase (LCAT) accounts for 5% of cases with very low serum HDL cholesterol levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:591-8.
 29. Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, De Knijff P, McPherson R, Bruschke AV, et al. The role of a common variant the cholesterol ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. *N Engl J Med* 1998;338:86-93.
 30. Fumeron F, Betoulle D, Luc G, Behague I, Ricard S, Poirier O, et al. Alcohol intake modulates the effect of a polymorphism of the cholesterol ester transfer protein gene on plasma high density lipoprotein and the risk of myocardial infarction. *J Clin Invest* 1995;96:1664-71.
 31. Hegele RA. Paraoxonase-genes and disease. *Ann Med* 1999;31:217-24.
 32. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Durrington PN. Effect of the human serum paraoxonase 55 and 192 genetic polymorphisms on the protection by high density lipoprotein against low density lipoprotein oxidative modification. *FEBS Lett*. 1998;423:57-60.
 33. Herrmann SM, Blanc H, Poirier O, Arveiler D, Luc G, Evans A, et al. The Gln/Arg polymorphism of human paraoxonase (PON192) is not related to myocardial infarction in the ECTIM study. *Atherosclerosis* 1996;126:299-303.
 34. Mackness B, Mackness MI, Arrol S, Turkie W, Julier K, Abuasha B, et al. Serum paraoxonase (PON1) 55 and 192 polymorphism and paraoxonase activity and concentration in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Atherosclerosis* 1998;139:341-9.
 35. Aubo C, Sentí M, Marrugat J, Tomás M, Vila J, Sala J, et al. Risk of myocardial infarction associated with Gln/Arg192 polymorphism in the human paraoxonase gene and diabetes mellitus. The REGICOR Investigators. *Eur Heart J* 2000;21:33-8.
 36. Sen-Banergee S, Siles X, Campos H. Tobacco smoking modifies association between Gln-Arg 192 polymorphism of human paraoxonase (PON 192) and risk of myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:2120-6.
 37. Lutucuta S, Ballantyne CM, Elghannam H, Gotto AM, Marian A. A novel polymorphism in promoter region of ATP binding transporter gene and plasma lipids, severity, progression and regression of coronary atherosclerosis and response to therapy. *Circ Res* 2001;88:969-73.
 38. Cohen JC, Wang Z, Grundy SM, Stoesz MR, Guerra R. Variations of the hepatic lipase and apolipoprotein AI/CIII/AIV *loci* is a major cause of genetically determined variations in plasma HDL cholesterol levels. *J Clin Invest* 1994;94:2377-84.
 39. Katsuya T, Koike G, Yee TW, Sharpe N, Jackson R, Norton R, et al. Association of angiotensinogen gene T235 variant with increased risk of coronary heart disease. *Lancet* 1995;345:1600-3.
 40. Jeunemaitre X, Ledru F, Battaglia S, Guillemeuf MT, Courbon D, Dumont C, et al. Genetic polymorphisms of the renin-angiotensin system and angiographic extent and severity of coronary artery disease: the CORGENE study. *Hum Genet* 1997;99:66-73.
 41. Sethi AA, Tybjaerg-Hansen A, Gronholt ML, Steffensen R, Schnor P, Nordestgaard BG. Antiotensinogen mutations and risk for ischemic heart disease, myocardial infarction and ischemic cerebrovascular disease. Six case-control studies from the Copenhagen City Heart Study. *Ann Intern Med* 2001;134:941-54.
 42. Cambien F, Poirier O, Lecert L, Evans A, Cambou JP, Arveiler D, et al. Deletion polymorphism and the angiotensin-converting enzyme gene is a potent risk factor for myocardial infarction. *Nature* 1992;359:641-4.
 43. Lindpaintner K, Pfeffer MA, Kreutz R, Stampfer MJ, Grodstein F, LaMotte F, et al. A prospective evaluation of an angiotensin-converting-enzyme gene polymorphism and the risk of ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1995;332:706-11.
 44. Samani NJ, Thompson JR, O'Toole L, Channer K, Woods KL. A meta-analysis of the association of the deletion allele of the angiotensin-converting enzyme gene with myocardial infarction. *Circulation* 1996;94:708-12.
 45. Agerholm-Larsen B, Nordestgaard BG, Tybjaerg-Hansen A. ACE en polymorphism in cardiovascular disease. Meta-analysis of small and large studies in whites. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:484-92.
 46. Keavney B, McKenzie C, Parish S, Palmer A, Clark S, Youngman L, et al. Large-scale test of hypothesised associations between the angiotensin-converting-enzyme insertion/deletion polymorphism and myocardial infarction in about 5,000 cases and 6,000 controls. International Studies of Infarct Survival (ISIS) Collaboration. *Lancet* 2000;355:434-42.
 47. Álvarez R, Reguero JR, Batalla A, Iglesias-Cubero G, Cortina A, Álvarez V, et al. Angiotensin-converting enzyme and angiotensin II receptor 1 polymorphism: association with early coronary disease. *Cardiovasc Res* 1998;54:1843-9.
 48. Fatini C, Abbate R, Pepe G, Battaglini B, Gensini F, Ruggiano G, et al. Searching for a better assessment of the individual coronary risk profile. The role of angiotensin-converting enzyme, angiotensin II type I receptor and angiotensinogen gene polymorphism. *Eur Heart J* 2000;21:633-8.
 49. Pinto YM, Van Gilst WH, Kingma JH, Schunkeert H. Deletion type allele of the angiotensin converting enzyme gene is associated with progressive ventricular dilation after anterior myocardial infarction. Captopril and Thrombosis Study Investigators. *J Am Coll Cardiol* 1995;25:1622-6.
 50. Jeron A, Hengstenberger C, Engek S, Löwel H, Riegger GAJ, Schunkert H, et al. The D-allele of the ACE polymorphism is related to increased QT dispersion in 609 patients after myocardial infarction *Eur Heart J* 2001;22:663-8.
 51. Ribichini F, Steffenino G, Dellavalle A, Matullo G, Colajanni E, Camilla T, et al. Plasma activity and insertion/deletion polymorphism of angiotensin I-converting enzyme: a major risk factor and a marker of risk for coronary stent restenosis. *Circulation* 1998;97:147-54.
 52. Yudkin JS, Andres C, Mohamed-Ali V, Gould M, Panahloo A, Humphries S, et al. The angiotensin-converting enzyme and angiotensin converting II type I receptor gene as candidate gene for microalbuminuria. A study in non-diabetic and non-insulin diabetic subjects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:2188-91.
 53. Ruiz J, Blanché H, Cohen N, Velho G, Cambien F, Cohen D, et al. Insertion/deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene is strongly associated with coronary heart disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci* 1994;91:3662-5.
 54. O'Donnell CJ, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, Ordovas JM, Schaefer EJ, et al. Evidence for association and genetic linkage of the angiotensin converting enzyme locus with hyperten-

- sion and blood pressure in men but not in women in the Framingham Heart Study. *Circulation* 1998; 97:1766-72.
55. Schunkert H, Hense HW, Holmer SR, Stender M, Perz S, Keil U, et al. Association between a deletion polymorphism of the angiotensin-converting-enzyme gene and left ventricular hypertrophy. *N Engl J Med* 1994;330:1634-8.
 56. Gardemann A, Nguyen QD, Humme J, Stricker J, Katz N, Tillmanns H, et al. Angiotensin II type I receptor A1166 gene polymorphism. Absence of an association with the risk of coronary artery disease and myocardial infarction and of a synergistic effect with angiotensin-converting enzyme gene polymorphism on the risk of these diseases. *Eur Heart J* 1998;19:1657-65.
 57. Fernández-Arcas N, Diéguez-Lucena JL, Muñoz-Morán E, Ruiz-Galdón M, Espinosa-Galiani S, Aranda-Lara P, et al. The genotype interactions of methylenetetrahydrofolate reductase and renin-angiotensin system genes are associated with myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1999;145:293-300.
 58. Pfeufer A, Busjahn A, Vergopoulos A, Knoblauch H, Urata H, Osterziel KJ, et al. Chymase gene locus is not associated with myocardial infarction and is not linked to heart size or blood pressure. *Am J Cardiol* 1998;82:979-81.
 59. Gardemann A, Harnami M, Katz N, Tillmann H, Haberbosch W. The chymase A(-1903)G gene polymorphism is not associated with the risk and extent of coronary heart disease. *Atherosclerosis* 2000;50:445-6.
 60. Silvestre JS, Heymes C, Oubénaissa A, Robert V, Aupetit-Faisant B, Carayon A, et al. Activation of cardiac aldosterone production in rat myocardial infarction. *Circulation* 1999;99:2694-701.
 61. Kupari M, Hautanen A, Lankinen L, Koskinen P, Virolainen J, Nikkila H, et al. Association between human aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism and left ventricular size, mass and function. *Circulation* 1998;97:569-75.
 62. Navarro-López F, Enjuto M, Francino A, Gómez-Angelats E, Ballesta AM, Paré JC. Association between aldosterone synthase (CYP11B2) gene polymorphism and left ventricular hypertrophy of mechanical overload [resumen]. *Eur Heart J* 1993; 14(Suppl J):38-41.
 63. Patel S, Steeds R, Channer K, Samani NJ. Analysis of promoter region polymorphism in the aldosterone synthase gene (CYP11B2) as a risk factor for myocardial infarction. *Am J Hypertension* 2000;13:134-9.
 64. Ortlepp JR, Lauscher J, Hanrath P, Hoffman R. Genetic polymorphisms in coronary artery disease [resumen]. *J Am Coll Cardiol* 2001;37(Suppl A): 230.
 65. Bray MS, Krushkal J, Li L, Ferrell R, Kardias S, Sing CF, et al. Positional genomic analysis identifies the beta-2-adrenergic receptor gene as a susceptibility locus for human hypertension. *Circulation* 2000;101:2877-84.
 66. Reaven GM, Laws A. Insuline resistance. The metabolic syndrome X. Totowa: Humana Press, 1999; p. 3.
 67. Kaplan NM. The deadly quartet. Upper body obesity, glucose intolerance, hypertriglyceridemia, and hypertension. *Arch Intern Med* 1989;149:1514-20.
 68. DeFronzo RA, Ferranini E. Insulin resistance: a multifaceted syndrome responsible for NIDDM, obesity, hypertension, dyslipidemia y atherosclerotic cardiovascular disease. *Diabetes Care* 1991;14:173-94.
 69. Grundy S. Small LDL. Atherogenic dislipemia and metabolic syndrome. *Circulation* 1997;95:1-4.
 70. Reaven GM, Chen YD, Jeppesen J, Maheux P, Krauss RM. Insuline resistance and hyperinsulinemia in individuals with small, dense, low density lipoprotein particles. *J Clin Invest* 1993;92:141-6.
 71. Baroni MG, D'Andrea MP, Montali A, Pannitteri G, Barilla F, Campagna F, et al. A common mutation of the insulin receptor substrate-1 gene is a risk factor for coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:2975-80.
 72. Martin BC, Warram JH, Krolewski AS, Bergman RN, Soeldner JS, Kahn CR. Role of glucose and insuline resistance in development of type 2 diabetes mellitus: results of a 25-year follow-up study. *Lancet* 1992;340:925-9.
 73. Sánchez-Recalde A, Kaski JC. Diabetes mellitus, inflamación y aterosclerosis coronaria: perspectiva actual y futura. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:751-63.
 74. Despres JP, Lamarche B, Mauriege P, Cantin B, Dagenais GR, Moorjani S, et al. Hyperinsulinemia as an independent risk factor for ischemic heart disease. *N Engl J Med* 1996;334:952-9.
 75. Patterson C. Temas actuales de biología vascular: puesta al día para el siglo XXI. *Rev Esp Cardiol* 2001;54:635-42.
 76. Inoue N, Kawashima S, Kanazawa K, Yamada S, Akita H, Yokoyama M. Polymorphism of the NADH/NADPH oxidase p22 *phox* gene in patients with coronary artery disease. *Circulation* 1998;97:135-7.
 77. Schächinger V, Britten MB, Dimmeler S, Zeiher AM. NADH/NADPH oxidase p22 *phox* gene polymorphism is associated with improved coronary endothelial vasodilator function. *Eur Heart J* 2001;22:96-101.
 78. Philip I, Plantefève G, Vaillaumier-Barrot S, Vicaut E, LeMarie C, Henrion D, et al. G894T polymorphism in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with an enhanced vascular responsiveness to phenylephrine. *Circulation* 1999;99:3096-8.
 79. Hingorani AD, Liang CF, Fatibene J, Lyon A, Monteith S, Parsons A, et al. A common variant of the endothelial nitric oxide synthase (Glu298 > Asp) is a major risk factor for coronary artery disease in the UK. *Circulation* 1999;100:1515-20.
 80. Yoshimura M, Yasue H, Nakayama M, Shimasaki Y, Sumida H, Sugiyama S, et al. A missens Glu298Asp variant in the endothelial nitric oxide synthase gene is associated with coronary spasm in the Japanese. *Hum Genet* 1998;103:65-9.
 81. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative analysis of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995;274:1049-57.
 82. Brattstrom L, Wilcken DE, Ohrvik J, Brudin L. Common methylenetetrahydrofolate reductase gene and genotype/phenotype correlations in severe methylenetetrahydrofolate reductase activity. *Am J Hum Genet* 1995;56:1052-9.
 83. Kluitjans LAJ, Whitehead AS. Methylenetetrahydrofolate reductase genotypes and predisposition to atherothrombotic disease: evidence that all three MTHFR C677T genotypes confer different levels of risk. *Eur Heart J* 2001;22:294-9.
 84. Woods A, Brull DJ, Humphries SE, Montgomery HE. Genetics of inflammation and risk of coronary artery disease: the central role of interleukin-6. *Eur Heart J* 2000;21:1574-83.
 85. Momiyama Y, Hirano R, Taniguchi H, Nakamura H, Ohsuzu F. Effects of Interleukin-1 gene polymorphisms on the development of coronary artery disease associated with *Chlamydia pneumoniae* infection. *J Am Coll Cardiol* 2002;38:712-7.
 86. González P, Álvarez R, Batalla A, Reguero JR, Álvarez V, Astudillo A, et al. Genetic variation at the chemokine receptors CCR5/CCR2 in myocardial infarction. *Genes Immun* 2001;2:191-5.
 87. Hubacek JA, Piha J, Skodová Z, Stanek V, Poledne R. C(-260) T polymorphism in the promoter of the CD14 monocyte receptor gene as a risk factor for myocardial infarction. *Circulation* 1999;99:3218-20.
 88. Behague I, Poirier O, Nicaud V, Evans A, Arveiler D, Luc G, et al. Beta fibrinogen gene polymorphism are associated with plasma fibrinogen and coronary artery disease in patients with myocardial infarction. The ECTIM Study. *Circulation* 1996;93:440-9.
 89. Tybjaerg-Hansen A, Agerholm-Larsen B, Humphries JE, Abildgaard S, Schnohr P, Nordestgaard BG. A common mutation (G-455-A) in the beta-fibrinogen is an independent predictor of plasma fibrinogen, a risk factor for ischemic heart disease. *J Clinical Invest* 1997;99:3034-9.
 90. Zito F, Di Castelnuovo A, Amore C, D'Orazio A, Donati MB, Iacoviello L. *Bcl I* polymorphism in the fibrinogen b-chain gene is associated with the risk of familial myocardial infarction by increasing plasma fibrinogen levels. A case-control study in a sample of GISSI-2 patients. *Atheroscl Thromb Vasc Biol* 1997;17:3489-94.

91. Iacoviello L, Castelnuovo AD, De Knijff P, D'Orazio A, Amore C, Arboretti R, et al. Polymorphism in the coagulation factor VII gene and the risk of myocardial infarction. *N Engl J Med* 1998;338:79-85.
92. Girelli D, Russo C, Ferraresi P, Olivieri O, Pinotti M, Friso S, et al. Polymorphisms in the factor VII gene and the risk of myocardial infarction in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:774-80.
93. Doggen CJ, Manger CV, Bertina RM, Reitsma PH, Vandenbroucke JP, Rosendaal FR. A genetic propensity to high factor VII is not associated with the risk of myocardial infarction in men. *Thromb Haemost* 1998;80:281-5.
94. Franco RF, Pazin-Filho A, Tavella MH, Simoes MV, Marin-Neto JA, Zago MA. Factor XIII val34leu and the risk of myocardial infarction. *Haematologica* 2000;85:67-71.
95. Marín F, Roldán V, González-Conejero R, Corral J, Pineda J, Climent V, et al. Polimorfismo genético Val34Leu del factor XIII y riesgo de infarto agudo de miocardio precoz [resumen]. *Rev Esp Cardiol* 2001;54(Suppl 2):40.
96. Kohler HP, Grant PJ. Plasminogen-activator inhibitor type I and coronary artery disease. *N Engl J Med* 2000;343:1792-801.
97. Ye S, Green FR, Scarabin PY, Nicaud V, Bara L, Dawson SJ, et al. The 4G/5G genetic polymorphism in the promoter of the plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) gene is associated with differences in plasma PAI-1 activity but not with risk of myocardial infarction in the ECTIM study. *Thromb Haemost* 1995;74:837-41.
98. Iacoviello L, Burzotta F, Castelnuovo A, Zito F, Marchioli R, Donati MB. The AG/5G polymorphism of PAI-1 promoter gene and the risk of myocardial infarction: a meta-analysis. *Thromb Haemost* 1998;79:8-13.
99. Van der Bom JG, De Knijff P, Haverkate F, Bots ML, Meijer P, De Jong PT, et al. Tissue plasminogen activator and risk of myocardial infarction. The Rotterdam Study. *Circulation* 1997;95:2623-7.
100. Kandzari DE, Goldschmidt-Clermont PJ. Platelet polymorphism and ischemic heart disease: moving beyond traditional factors. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1028-32.
101. Feng D, Lindpaintner K, Larson MG, Rao VS, O'Donnell CJ, Lipinska I, et al. Increased platelet aggregability associated with platelet GPIIIa PIA2 polymorphism. The Framingham Offspring study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1999;19:1142-7.
102. Zhu MM, Wedon J, Clark LT. Meta-analysis of the association of platelet glycoprotein PIA1/A2 polymorphism with myocardial infarction. *Am J Cardiol* 2000;86:1000-5.
103. Meisel C, Afshar-Karghan V, Cascorbi I, Laule M, Stangl V, Felix SB, et al. Role of Kozak sequence polymorphism of platelet glycoprotein Ibalpha as a risk factor for coronary artery disease and catheter interventions. *J Am Coll Cardiol* 2001;38:1023-7.