

GENETICA E CARDIOPATIA ISCHEMICA: LE APPLICAZIONI CLINICHE SONO ANCORA LONTANE?

D. Lina, D. Ardissino

**Unità Operativa Complesso di Cardiologia,
Azienda Ospedaliero-Universitaria, Parma.**

L'infarto miocardico è una patologia multifattoriale, che deriva dall'interazione di molteplici fattori di rischio genetici ed ambientali. L'associazione causale fra i fattori di rischio ambientali e lo sviluppo di infarto miocardico è stata chiaramente documentata ed il ruolo di questi fattori è stato ben definito dal punto di vista fisiopatologico. Viceversa, sebbene il ruolo dei fattori di rischio genetici sia da lungo tempo ipotizzato sulla base degli studi epidemiologici, di fatto, a tutt'oggi, relativamente poco è noto circa la base genetica della malattia.

La familiarità per cardiopatia ischemica è un fattore di rischio indipendente per lo sviluppo di infarto miocardico e questa associazione non può essere spiegata dalla sola esposizione agli stessi fattori di rischio ambientali. In effetti, nel caso di gemelli monozigoti, che condividono lo stesso patrimonio genetico, la morte cardiaca in età giovanile di uno dei due gemelli comporta che il gemello sopravvissuto abbia un rischio quindici volte maggiore di andare incontro allo stesso evento se di sesso femminile e di otto volte se di sesso maschile rispetto al caso in cui nessuno dei due gemelli muoia per morte cardiaca. Il rischio è invece significativamente inferiore nel caso di gemelli dizigoti, che hanno in comune solo la metà del proprio patrimonio genetico, con un rischio incrementato di sei volte per le femmine e di due volte per i maschi. Questa influenza geneticamente determinata si conferma, seppur in maniera meno significativa, sia per gli uomini che per le donne, in tutte le fasce di età, suggerendo che la componente di rischio genetica, pur essendo massima rispetto alla componente di rischio ambientale in età giovanile, sia comunque significativa a qualsiasi età^{1,2}. Peraltro, sebbene i fattori genetici contribuiscono allo sviluppo dei classici fattori di rischio cardiovascolare, quali il diabete mellito, l'ipertensione arteriosa e l'ipercolesterolemia, il ruolo della predisposizione genetica all'infarto miocardico non è limitato allo sviluppo di

questi fattori, ma ha anzi un valore incrementale ed indipendente.

Negli ultimi dieci anni sono stati quindi effettuati numerosi tentativi, mediante l'approccio del gene candidato e dell'analisi di linkage, per identificare le varianti genetiche associate al rischio di infarto miocardico³. I risultati sono stati tuttavia poco incoraggianti e di pressoché nulla consistenza sul piano clinico, perché, tra le diverse varianti genetiche proposte, quelle frequentemente rappresentate nella popolazione non sono mai state riprodotte, mentre quelle che sono risultate effettivamente correlate allo sviluppo di infarto miocardico spiegavano solo una minima parte (<1%) dei casi. Questo è riconducibile a diverse ragioni. In primo luogo il genoma umano è estremamente polimorfico e, probabilmente, la maggior parte dei polimorfismi ha scarso o nullo effetto sul fenotipo, per cui non è semplice identificare varianti genetiche "funzionalmente significative". Inoltre, la patogenesi dell'infarto miocardico acuto, e della cardiopatia ischemica più in generale, è estremamente complessa dal punto di vista molecolare, risultando dall'interazione di molteplici componenti, per cui l'influenza fenotipica di ogni singola variante genetica risulta lieve.

Solo molto recentemente, una nuova metodica di analisi genomica, chiamata "genome-wide association study" (GWA), ha fornito risultati promettenti, permettendo di identificare comuni varianti genetiche che influenzano lo sviluppo di alcune malattie complesse quali la degenerazione maculare, il diabete mellito, la malattia di Crohn, l'artrite reumatoide, l'obesità ed anche l'infarto miocardico⁴⁻¹². Tale metodica, partendo dalla mappatura del genoma umano ed in particolare dalla mappa degli aplotipi (Haplotype Map), che individua le varianti genetiche (single nucleotide polymorphism, SNP) più frequentemente e stabilmente presenti nel genoma umano, utilizzando chip che permettono di analizzare sino ad 1 000 000 di SNP per ogni individuo, è in grado di individuare piccole regioni del DNA che massimamente si differenziano tra i sani ed i malati. Questi SNP massimamente diversi tra sani e malati non necessariamente costituiscono essi stessi le sequenze genetiche responsabili della malattia, ma, piuttosto, sono sequenze nucleotidiche ubicate in vicinanza o all'interno della regione genetica che influenza la malattia. L'approccio "genome-wide" è rivoluzionario in quanto permette lo studio di varianti genetiche associate ad una determinata patologia lungo l'intero genoma, con livelli di risoluzione prima inimmaginabili e, a differenza dell'approccio del gene candidato, indipendentemente da ipotesi patogenetiche.

Nel 2007 diversi studi indipendenti condotti con tale metodica hanno chiaramente documentato l'associazione tra alcune comuni varianti genetiche della regione cromosomica 9p21.3 in linkage disequilibrium tra loro e lo sviluppo di infarto miocardico e cardiopatia ischemica più in generale¹³⁻¹⁶. Al momento attuale le varianti genetiche (tra cui *rs10116277*, *rs1333040*, *rs2383206*, *rs10757278*, e *rs1333049*) di questa regione cromosomica rappresentano il marcatore genomico del rischio di infarto miocardico più consolidato. Infatti tale associazione è stata replicata e confermata in diverse popolazioni indipendenti¹⁷⁻²¹ tra cui la popolazione italiana dello "Studio Genetico nell'Infarto Miocardico Giovanile". Quest'ultimo è uno studio nazionale prospettico caso-controllo che ha coinvolto 125 Unità Coronariche italiane. I casi erano pazienti con documentata anamnesi di infarto miocardico giovanile prima dei 45 anni di età e sottoposti a studio coronarografico eseguito entro i sei mesi successivi all'evento. I controlli erano soggetti sani con anamnesi negativa

per eventi tromboembolici singolarmente appaiati ai casi per età, sesso ed origine geografica. In questo studio, la variante *rs1333040* è quella che ha presentato il più forte segnale di associazione. I 1508 soggetti colpiti da infarto miocardico e non sottoposti ad angioplastica primaria al momento del primo infarto sono poi stati seguiti per un periodo di circa 20 anni relativamente al ricorrere di eventi cardiovascolari, vale a dire morte, re-infarto o rivascolarizzazione coronarica, mediante angioplastica coronarica percutanea e mediante by-pass aorto-coronarico (endpoint primario combinato). La variante genetica *rs133040* ha influenzato in maniera significativa l'endpoint primario dello studio, vale a dire il ricorrere di eventi cardiovascolari; l'analisi dei singoli componenti dell'endpoint primario ha poi evidenziato che tale influenza era mediata dall'effetto sulla rivascolarizzazione coronarica.

L'identificazione delle varianti genetiche della regione cromosomica 9p21.3 è il primo risultato effettivamente consistente nell'ambito della ricerca della predisposizione genetica alla cardiopatia ischemica, essendo di fatto il primo dato chiaramente riprodotto nell'ambito di diverse popolazioni, peraltro tutte di dimensioni significative, ed essendo la variante genetica frequentemente rappresentata nella popolazione. Tuttavia, a fronte di questi dati entusiasmanti, bisogna dire che la funzione della variante genetica non è ancora nota. Ciò che è noto è poco, e cioè che la sequenza genetica a cui appartengono gli SNP identificati è collocata in prossimità delle sequenze codificanti dei geni di due chinasi ciclica-dipendenti, *CDKN2A* e *CDKN2B*, e che le proteine codificate da questi geni, chiamate *p16^{INK4a}*, *ARF* e *p15^{INK4b}* hanno un ruolo nella regolazione della proliferazione, della senescenza e dell'apoptosi cellulare in diverse tipologie di cellule, tutti processi fondamentali per lo sviluppo dell'aterosclerosi e della cardiopatia ischemica ad essa conseguente.

L'identificazione dei primi marcatori genomici associati al rischio di infarto miocardico ha segnato l'inizio di una nuova era in grado di rivoluzionare la pratica clinica; la conoscenza delle varianti genetiche che condizionano il rischio di infarto miocardico rappresenta sicuramente una nuova e preziosa risorsa sul piano clinico aprendo le porte, anche in ambito cardiovascolare, come già è stato in ambito oncologico, alla terapia effettivamente modulata sulle specifiche caratteristiche biologiche del singolo individuo, vale a dire alla "medicina personalizzata". La scoperta di questi marcatori condurrà infatti all'integrazione dei fattori di rischio genetici ed ambientali per la costruzione di uno score per il calcolo del rischio cardiovascolare globale, in cui l'aggiunta delle varianti genetiche aumenterà la capacità di predire il rischio rispetto all'uso dei soli fattori di rischio tradizionali; la migliore stratificazione del rischio su base individuale consentirà l'attuazione di una più efficace strategia di prevenzione, primaria e secondaria.

Un esempio di tale applicazione è quello effettuato da Brautbar et al., (AHA 2008) nella popolazione dello studio Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC), in cui è stata testata l'aggiunta della variante *rs1075724* della regione 9p21 ai classici fattori di rischio per la stima del rischio cardiovascolare. In 10004 soggetti caucasici il rischio è stato inizialmente stimato mediante lo score ARIC, che utilizza i fattori di rischio tradizionali, ed è stato poi rivalutato considerando anche la variante genetica. Per i pazienti nella classe di rischio "intermedio-basso" (5-10%) ed "intermedio-alto" (10-20%), l'aggiunta della variante della regione cromosomica 9p21.3 determinava un cambiamento

della classe di rischio che implicava potenziali cambiamenti nel trattamento farmacologico, tra cui ad esempio l'aggressività del trattamento con statine, in una proporzione significativa di pazienti. Allo stesso modo, quando la stessa variante genetica era aggiunta allo score per il rischio di Framingham, il 17.1% dei pazienti a rischio "intermedio-basso" e il 15.8% dei pazienti a rischio "intermedio-alto" venivano riclassificati²².

In conclusione, al momento questa nuova era è solo in fase embrionale e la ricerca di questi marcatori genomici nella pratica clinica può essere applicata solo in determinati casi selezionati per motivare l'adozione di un adeguato stile di vita, atto a contrastare la suscettibilità genetica allo sviluppo della malattia.

BIBLIOGRAFIA

- 1) *Marenberg ME, Risch N, Berkman LF, Floderus B, de Faire U.* Genetic susceptibility to death from coronary heart disease in a study of twins. *N Engl J Med* 1994; 330(15):1041-6
- 2) *Zdravkovic S, Wienke A, Pedersen NL, Marenberg ME, Yashin AI, De Faire U.* Heritability of death from coronary heart disease: a 36-year follow-up of 20966 Swedish twins. *J Intern Med* 2002; 252 (3):247-54
- 3) *Morgan TM, Krumholz HM, Lifton RP, Spertus JA.* Nonvalidation of reported genetic risk factors for acute coronary syndrome in a large-scale replication study. *JAMA* 2007; 297:1551-61
- 4) *Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of Harvard and MIT, Lund University, and Novartis Institutes of BioMedical Research, Saxena R, Voight BF, et al.* Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science* 2007; 316:1331-6
- 5) *Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, et al.* A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science* 2007; 316:1341-5
- 6) *Sladek R, Rocheleau G, Rung J, et al.* A genome-wide association study identifies novel risk loci for type 2 diabetes. *Nature* 2007; 445:881-5
- 7) *Zeggini E, Weedon MN, Lindgren CM, et al.* Replication of genome-wide association signals in UK samples reveals risk loci for type 2 diabetes. *Science* 2007; 316:1336-41
- 8) *Frayling TM, Timpson NJ, Weedon MN, et al.* A common variant in the FTO gene is associated with body mass index and predisposes to childhood and adult obesity. *Science* 2007; 316:889-94
- 9) *Klein RJ, Zeiss C, Chew EY, et al.* Complement factor H polymorphism in age-related macular degeneration. *Science* 2005; 308:385-9
- 10) *Plenge RM, Seielstad M, Padyukov L, et al.* TRAF1-C5 as a risk locus for rheumatoid arthritis—a genomewide study. *N Engl J Med* 2007; 357:1199-209
- 11) *Duerr RH, Taylor KD, Brant SR, et al.* A genome-wide association study identifies IL23R as an inflammatory bowel disease gene. *Science* 2006; 314:1461-3
- 12) *Wellcome Trust Case Control Consortium.* Genome-wide association study of 14,000 cases of seven common diseases and 3,000 shared controls. *Nature* 2007; 447:661-78
- 13) *Helgadottir A, Thorleifsson G, Manolescu A, et al.* A common variant on chromosome 9p21 affects the risk of myocardial infarction. *Science* 2007; 316(5830):1491-3

- 14) *McPherson R, Pertsemlidis A, Kavasslar N, et al.* A common allele on chromosome 9 associated with coronary heart disease. *Science* 2007; 316 (5830):1488-91
- 15) *Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, et al.* Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med* 2007; 357(5):443-53
- 16) *Infarction Genetics Consortium.* Genome-wide association of early-onset myocardial infarction with single nucleotide polymorphisms and copy number variants. *Nat Genet* 2009; 41(3):334-41
- 17) *Shen GQ, Rao S, Martinelli N, et al.* Association between four SNPs on chromosome 9p21 and myocardial infarction is replicated in an Italian population. *J Hum Genet* 2008; 53(2):144-50
- 18) *Helgadottir A, Thorleifsson G, Magnusson KP, et al.* The same sequence variant on 9p21 associates with myocardial infarction, abdominal aortic aneurysm and intracranial aneurysm. *Nat Genet* 2008; 40(2):217-24
- 19) *Shen GQ, Li L, Rao S, et al.* Four SNPs on chromosome 9p21 in a South Korean population implicate a genetic locus that confers high cross-race risk for development of coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2008; 28(2):360-5
- 20) *Schunkert H, Gotz A, Braund P, et al.* Repeated replication and a prospective meta-analysis of the association between chromosome 9p21.3 and coronary artery disease. *Circulation* 2008; 117(13):1675-84
- 21) *Hinohara K, Nakajima T, Takahashi M, et al.* Replication of the association between a chromosome 9p21 polymorphism and coronary artery disease in Japanese and Korean populations. *J Hum Genet* 2008; 53(4):357-9
- 22) *Brautbar A, Ballantyne C, Lawson K, et al.* Abstract 5090: impact of adding a single allele in the 9p21 locus to traditional risk factors on risk classification for coronary heart disease and implication for lipid-modifying therapy in the white population of the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *Circulation* 2008; 118:S-1143