

CAPÍTULO 24

CONTRIBUIÇÃO DA GENÉTICA HUMANA PARA COMPREENSÃO E ABORDAGEM DAS DOENÇAS CARDIOVASCULARES

Carla Cecília Leite;
Carmen Lucia Ferrer Carneiro;
Clovis Ruben Monteiro Bona;
Felipe dos Santos Silva;
Hilton Luiz Moreira Dias Junior;
Oziel de Sousa e Sousa;
Tullyo Mychel Fernandes Ramos;
Victor Ramires Reynaux Borba

RESUMO

A doença cardiovascular (DCV), que representa um importante problema de saúde em todo o mundo e envolve o coração, o cérebro e a circulação periférica, tem características complexas e conta com múltiplos componentes genéticos e ambientais. Existem vários desafios na identificação dos determinantes genéticos de doenças comuns, sendo os desafios, nesse caso, relacionados à heterogeneidade fenotípica e genética, assim como as interações gene-gene e gene-ambiente. A busca de genes predisponentes à DCV levou à identificação de tipos comuns de variações do DNA humano, que podem ser consideradas análogas aos já conhecidos fatores de risco para DCV, contribuindo assim para a avaliação do perfil de risco e para a adoção de medidas preventivas ou terapêuticas. Porém, a maioria destes polimorfismos está localizada em regiões não funcionais do genoma e não tem impacto fenotípico (marcadores neutros). As variações que ocorrem no interior de regiões codificantes ou reguladoras podem afetar a sequência proteica ou o nível de expressão genética, afetando assim o fenótipo. Os polimorfismos comuns representam objeto da maioria dos estudos genéticos realizados para avaliar o risco de doenças complexas.

PALAVRAS-CHAVE: Genética; Doenças cardiovasculares; Variação genética; Fatores de risco genéticos; Epigenética

1. INTRODUÇÃO

A doença cardiovascular (DCV) é uma das principais causas de morte em todo o mundo. Vários estudos foram realizados para encontrar maneiras

de combater essa condição, incluindo os estudos epidemiológicos, que contribuíram para a melhor compreensão dos antecedentes das DCV¹. Um exemplo é o Framingham Heart Study, realizado nos Estados Unidos, assim como o Hisayama, no Japão, que revelaram muitos fatores de risco associados à DCV, incluindo colesterol, hipertensão e tabagismo²⁻⁶. Embora os estudos epidemiológicos tenham revelado muitos fatores associados à DCV, as causalidades entre esses fatores e a DCV têm apresentado histórias diferentes. Nesse sentido, ensaios clínicos randomizados foram promovidos, com o objetivo de mostrar a eficácia da intervenção de fatores identificados por meio de estudos epidemiológicos^{7,8}.

Por outro lado, sabe-se que a DCV apresenta característica altamente hereditária, sendo, portanto, importante considerar os fatores genéticos na prática clínica de DCV⁹. Dados sobre o histórico familiar tem sido avaliado há muito tempo, como uma forma de obter informações adicionais relevantes, e estudos têm demonstrado que essa iniciativa tem contribuído de forma significativa a avaliação do risco de DCV¹⁰⁻¹². No entanto, a história familiar é um tipo de traço binário difícil de analisar quantitativa e qualitativamente. Avanços recentes na genética permitiram verificar rapidamente a sequência do DNA humano e revelaram genes associados ao desenvolvimento de DCV. Ao investigar detalhadamente as associações entre o genoma humano e as DCV, é possível identificar indivíduos de alto risco na fase inicial da vida, determinar métodos de medicina de precisão com base nas suas causas e descobrir novas abordagens terapêuticas¹³.

2. GENOMA HUMANO

O genoma humano compreende 3.100 Mbp por genoma haploide e 6.200 Mbp no total (genoma diploide). Embora a sequência do genoma humano tenha sido em sua maioria determinada por sequenciamento de DNA, ela ainda não é totalmente compreendida. Além disso, outros trabalhos precisam ser realizados para elucidar ainda mais as funções biológicas de suas proteínas e produtos de RNA. Mais importante ainda, estudos recentes sugerem que uma grande parcela das quantidades de DNA não codificante dentro do genoma exerce atividades bioquímicas associadas, incluindo regulação da expressão genética, organização da arquitetura cromossômica e sinais que controlam a herança epigenética¹⁴⁻¹⁶.

É praticamente impossível compreender o genoma humano tal como ele é. Por isso, foi proposto um esquema útil para identificar a relação entre o genoma humano e a doença, nomeadamente, para dividir variações genéticas raras e comuns¹⁷. Variações genéticas raras tendem a ter efeitos maiores sobre as doenças em comparação com variações genéticas comuns. Esta hipótese foi bem documentada no caso do peso corporal¹⁸.

3. VARIAÇÕES GENÉTICAS

Cada ser humano é único, mas geneticamente é 99,9% igual. Os 0,1% restantes são responsáveis por todas as diferenças que tornam cada pessoa individual e são causadas pela variação genética (VG). VG é, portanto, a diferença nas sequências de DNA entre indivíduos de uma população e pode ser causada por erros de reparo na maquinaria de replicação. A variação ocorre nas células germinativas e somáticas. Somente a variação que surge nas células germinativas pode ser herdada de um indivíduo por outro e afetar a dinâmica populacional e, em última análise, a evolução¹⁹.

Grandes alterações no genoma humano podem não ter qualquer efeito, enquanto a alteração de um único nucleótido pode gerar impacto enorme. Mutações e recombinação são as principais fontes de variação. Existem três tipos de VG¹⁹:

1. polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) são os mais comuns, ocorrendo cerca de uma vez a cada 1.000 bases;
2. inserção ou deleção de um único trecho de sequência de DNA, que pode variar de dois a centenas de pares de bases de comprimento; e
3. rearranjos genéticos, capazes afetar vários genes ou grandes áreas de um cromossomo ao mesmo tempo. A VG inclui eventos de variação do número de cópias e de rearranjo cromossômico.

A maior parte da variação não tem sentido e não afeta a capacidade humana de sobreviver ou se adaptar. Por exemplo¹⁹:

- a) mutações silenciosas no DNA, que alteram o DNA, mas não a sequência de aminoácidos;
- b) outras mutações podem alterar a sequência de aminoácidos de uma proteína, mas não sua função global; e
- c) outros polimorfismos não parecem afetar em nada a sobrevivência humana.

Outras variações são positivas e melhoram a capacidade humana de sobreviver ou adaptar-se, como as mutações que causam anemia falciforme têm um efeito protetor contra a malária. Algumas variações levam a doenças, como distúrbios monogênicos de um único gene, incluindo as cardiomiopatias hereditárias. O efeito das VG no fenótipo (tamanho do efeito) segue um gradiente de nenhum (indiscernível) a grande (cl clinicamente consequente)¹⁹.

A grande maioria das VG não tem efeitos biológicos significativos, sendo as causadoras de grandes efeitos fenotípicos geralmente responsáveis por distúrbios de um único gene, que exibem padrões de herança mendelianos. Os distúrbios complexos e poligênicos são principalmente devidos a muitas VG comuns, cada uma exercendo efeitos pequenos e indiscerníveis, mas coletivamente e por meio de interações com fatores não genéticos, influenciando o risco do fenótipo complexo, a exemplo

da doença arterial coronariana (DAC). As VG são classificadas funcionalmente como patogênicas, com probabilidade patogênica, de significado incerto e, muitas vezes, benigna¹⁹.

4. CONDIÇÕES CARDIOVASCULARES GENÉTICAS

A DCV é causada por fatores genéticos e ambientais. Em todas as condições, a interação dos genes com o meio ambiente é complexa e afeta profundamente o fenótipo. As condições cardiovasculares genéticas podem apresentar penetrância incompleta ou relacionada com a idade – os indivíduos podem não apresentar sinais da doença até uma certa idade –, até que fatores ambientais ou de estilo de vida precipitem a manifestação de sinais físicos da doença. Um exemplo é a cardiomiopatia hipertrófica (CMH), que geralmente se manifesta no início da adolescência, durante períodos de rápido crescimento somático²⁰.

As DCV genéticas também demonstram expressividade variável, em que diferentes membros da família com a mesma mutação genética expressam a doença de maneiras diferentes, ou seja, com gravidade variável. A expressividade depende de moduladores ambientais, de estilo de vida e genéticos. Condições cardiovasculares genéticas demonstram sobreposição clínica e genética, o que pode complicar a interpretação dos resultados dos testes genéticos. Apesar disso, o conhecimento da natureza genética de uma doença específica pode ser importante – não só pode informar a necessidade de rastreamento familiar e, portanto, de diagnóstico e tratamento precoces para retardar o início da doença, mas também pode auxiliar na estratificação do risco de morte súbita cardíaca (MSC), afetando potencialmente as decisões de tratamento e manejo²⁰.

As condições cardiovasculares genéticas podem ser mendelianas – devido a um defeito de um único gene –, não mendelianas – decorrente de VG complexas e comuns –, ou mitocondriais. A maioria apresenta heterogeneidade significativa, isso é, locus, alélica e fenotípica. A heterogeneidade do locus se refere ao fenômeno em que numerosos genes podem resultar no mesmo fenótipo clínico, como, por exemplo, mais de 20 genes, principalmente do sarcômero, foram envolvidos na etiologia da CMH. A heterogeneidade alélica denota várias mutações, ou alelos, dentro de um gene, que podem causar a mesma condição. A heterogeneidade fenotípica corresponde a mutações no mesmo gene, causando diferentes fenótipos. Um exemplo são as mutações no gene MYH7, que podem causar CMH, cardiomiopatia dilatada (CMD), não compactação do ventrículo esquerdo (NCVE) ou miocardiopatia restritiva (MCR) e também podem estar associadas à miopatia²¹.

Da mesma forma, as mutações do gene SCN5A não causam apenas síndromes de arritmia, como a síndrome do QT longo (SQTL), a síndrome do QT curto (SQTS) e a síndrome de Brugada, mas também a CMD. Essa diversidade genética significa que muitas mutações podem ser privadas,

definidas pela sua presença apenas em famílias individuais, sendo que 60 a 90% são descritas como privadas no contexto de cardiomiopatias²¹.

Foram descritas mutações recorrentes ou fundadoras para certas condições e podem ter implicações importantes para determinadas condições encontradas na África do Sul, incluindo SQT, CMH e hipercolesterolemia familiar (HF). Distúrbios de gene único podem ser herdados como autossômicos dominantes, como CMH e CMD; autossômicos recessivos, a exemplo de SQT, cardiomiopatia arritmogênica do ventrículo direito (ARVC) com síndrome de Naxos; ou ligados ao cromossomo X, representados pela distrofia muscular de Duchenne com envolvimento cardíaco²².

Importante ressaltar que a falta de histórico familiar não implica que a doença não tenha uma base genética, pois pode representar uma mutação de novo, penetrância incompleta ou uma história familiar não informativa. Traços complexos associados a estados poligênicos, como níveis séricos de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) e DAC, são extremamente comuns. Por isso, a heterogeneidade genética das VG em todo o espectro de frequência pode ser a regra. Também é necessário considerar os triglicerídeos plasmáticos, pois estima-se que cerca de 50% de sua variabilidade interindividual seja baseada nas VG²³.

5. DOENÇAS GENÉTICAS RARAS E RISCO AUMENTADO DE DCV

Entre várias doenças genéticas raras associadas ao aumento do risco de DCV, os distúrbios lipídicos hereditários são os mais importantes a serem observados. A hipercolesterolemia familiar (HF), causada por mutação(ões) genética(s) no receptor da lipoproteína de baixa densidade (LDL) ou em seu gene associado, é uma das doenças mais importantes neste contexto²⁴⁻²⁶. Pacientes com HF normalmente apresentam elevação extrema do colesterol LDL (LDL-C), xantomas tendinosos e DCV prematura. Embora esta doença seja categorizada como rara, a prevalência entre a população em geral foi estimada em 1 em 300^{27,28}.

Pacientes com HF apresentam risco extremamente elevado de DCV se não forem tratados, embora a intervenção precoce com o uso de estatinas possa compensar o risco²⁹. Nesse caso, é necessário se manter muito mais atento à detecção da HF. Além da HF, indivíduos que apresentam uma mutação prejudicial rara – 1 em 1.000 indivíduos – no membro 5 da subfamília G do cassete de ligação ao ATP (ABCG5) apresentaram risco aumentado de DCV³⁰. Por outro lado, lipoproteínas ricas em triglicerídeos têm sido consideradas fator causal de DCV. Por exemplo, 1 em cada 250 indivíduos com triglicerídeos elevados por meio de uma mutação prejudicial na lipase lipoproteica tem uma probabilidade aumentada de 1,8 vezes para DCV³¹.

Além disso, 1 em cada 3.000 indivíduos com triglicerídeos elevados causado por uma mutação prejudicial na apolipoproteína A5 (APOA5) tem uma probabilidade 4,5 vezes maior de desenvolver DCV³². Indivíduos com um polimorfismo de nucleotídeo único específico na lipoproteína A (LPA) – 1

em 50 indivíduos – exibiram aumento da LPA sérica e aumento das chances de DCV. Esses são exemplos de doenças genéticas raras hereditárias associadas à DCV³³.

6. EFEITO CARDIOPROTETOR

Além dos distúrbios associados a um risco aumentado de DCV, existem diversas situações hereditárias em que variações genéticas raras contribuem para a proteção contra DCV. Nesse sentido, 1 em cada 150 indivíduos com níveis reduzidos de triglicerídeos causados por uma mutação prejudicial na apolipoproteína C3 (APOC3) apresentou risco reduzido de DCV³⁴. Pacientes com APOC3 nocauteados, por sua vez, apresentaram acentuado embotamento do aumento pós-prandial de triglicerídeos³⁵. Da mesma forma, 1 em cada 300 indivíduos que apresentaram hipolipidemia combinada por meio de uma mutação prejudicial no tipo 3 da angiopoietina (ANGPTL3) exibiu um risco reduzido de DCV³⁶.

Além disso, indivíduos com uma mutação prejudicial na proteína de transferência de éster de colesterol (CETP) demonstraram um risco reduzido de DCV, provavelmente decorrente de níveis reduzidos de LDL-C, em vez do aumento dos níveis de colesterol de lipoproteína de alta densidade³⁷. Outros exemplos de nocaute cardioprotetor humano incluem hipobetalipoproteinemia familiar e deficiência na proteína de transferência de triglicerídeos microssomais (MTTP). Pacientes com hipobetalipoproteinemia familiar com mutação de perda de função na apolipoproteína B (APOB) apresentaram risco extremamente menor de DCV, relacionado à redução de lipoproteínas aterogênicas contendo APOB, incluindo LDL-C, triglicerídeos e LPA em conjunto³⁸. Além disso, pacientes com deficiência de MTTP tiveram efeito protetor para aumento pós-prandial da lipoproteína remanescente e níveis extremamente baixos de LDL-C³⁹.

7. VARIAÇÕES GENÉTICAS COMUNS E DCV

Ao contrário das variações genéticas raras, os efeitos das VG comuns nas doenças são normalmente pequenos. Considerando que estudos de associação genômica ampla (GWAS) revelaram muitas VG comuns associadas à DCV^{40,41}, os pesquisadores consideraram que uma agregação de VG comuns em uma única pontuação poderia ser clinicamente útil. A tentativa inicial de desenvolver um escore de risco poligênico (PRS) foi publicada em 2010, com base em 13 variações de nucleotídeo único (SNVs) associadas a GWAS de ancestrais europeus – desenho de caso-controle e coorte prospectiva –, sendo posteriormente testado se o PRS estava associado a eventos de DCV entre coortes independentes. Foi encontrada uma associação significativa entre os eventos PRS e aterosclerose. Porém, naquela época, não foi possível mostrar sua utilidade na característica

operacional do receptor (ROC) e na análise de melhoria de reclassificação líquida⁴².

Em 2015, Mega et al⁴³ ampliaram o número de variações genéticas comuns para 27, buscando determinar se um PRS supera a reclassificação a partir de fatores de risco tradicionais. Eles descobriram que um PRS com base em 27 variações genéticas comuns ultrapassava seu limite. A comparação do poder entre um PRS contendo 27 SNVs com outro contendo 50 SNVs mostrou que uma maior quantidade de SNVs aumenta seu poder preditivo, independentemente da informação do histórico familiar⁴⁴. Um PRS contendo 12 SNVs associado à fibrilação atrial, por sua vez, foi associado a eventos de acidente vascular cerebral (AVC) isquêmico, possivelmente AVC cardioembólico⁴⁵.

Khera et al⁴⁶, por sua vez, verificaram que um PRS com cerca de 6 milhões de SNVs, para prever aterosclerose, estava altamente relacionado a eventos reais de aterosclerose de forma dependente da pontuação, enquanto Hachiya et al⁴⁷ relataram que um PRS de todo o genoma – compreendendo mais de 350 mil VG comuns – foi associado a eventos de AVC isquêmico entre a população japonesa em geral, independente de outros fatores ambientais. Para isso, eles usaram estatísticas resumidas do GWAS do BioBank Japan Project, do Tohoku Medical Megabank Project, do estudo prospectivo baseado no Japan Public Health Center e do Japan Multi-Institutional Collaborative Cohort Study e avaliaram os eventos de AVC isquêmico do Hisayama, um estudo prospectivo baseado em dados iniciais de 1961, que visa investigar a epidemiologia de aterosclerose em uma pequena cidade na ilha japonesa de Kyushu.

Em seu estudo, Wang et al⁴⁸ mostraram que uma PRS de todo o genoma, compreendendo mais 6 milhões de VG comuns, estava associada à DAC entre as populações da Índia e de Bangladesh. Para isso, eles usaram estatísticas resumidas do GWAS da ascendência europeia para fazer um PRS de todo o genoma e o ajustaram para a ancestralidade a partir de um conjunto de dados de sequenciação do genoma completo de indivíduos dessas regiões. Os resultados indicam que o impacto cumulativo de variantes comuns de ADN, que agora é possível quantificar utilizando um PRS, é um importante fator de risco de DAC, mesmo entre indivíduos de ascendência locais.

Recentemente, Koyama et al⁴⁹ mostraram que um PRS transétnico em todo o genoma superou um escore de risco específico da etnia na previsão de DAC entre populações japonesas. Para chegarem a essa conclusão, os pesquisadores realizaram uma meta-análise trans étnica, combinando GWAS japonês, CardiogramC4D (C4D) e UK Biobank e fizeram um PRS transétnico em todo o genoma. Além disso, as variações genéticas mais comuns com significância nominal mostraram uma direção de efeito consistente entre ancestrais japoneses e europeus.

8. DETERMINAÇÃO MONOGÊNICA VS. POLIGÊNICA

A maioria das DCV e de seus fatores de risco têm antecedentes poligênicos, envolvendo, dessa forma, a interação entre fatores de risco ambientais e de estilo de vida com alelos de risco de dezenas de polimorfismos. Porém, as condições monogênicas podem levar a DCV prematura grave e morte precoce se não forem reconhecidas e tratadas. Conforme mencionado, a doença monogênica mais comum que leva à DCV prematura é a hipercolesterolemia familiar (HF), causada principalmente por mutações nos genes do receptor LDL (LDLR), apolipoproteína B (APOB) e PCSK-9⁵⁰.

As frequências relativas das variantes monogênicas podem variar ligeiramente entre as diferentes populações, porém as mais frequentes são as mutações no LDLR⁵¹. Embora mais de 2.900 mutações no LDLR tenham sido identificadas, aproximadamente mil delas são consideradas a causa da HF. Em contraste com as mutações missense únicas no gene APOB, mutações patogênicas no gene LDLR são principalmente substituições exônicas e rearranjos missense⁵².

A cardiomiopatia hipertrófica (CMH) é a doença cardíaca familiar mais comum, com vasta heterogeneidade genética. Mutações em 11 ou mais genes que codificam proteínas do sarcômero cardíaco – mais de 1.400 variantes – são responsáveis ou associadas à CMH. Os testes genéticos também permitem a expansão do amplo espectro da doença e o diagnóstico de fenocópias da CMH com diferentes histórias naturais e opções de tratamento. Isso, no entanto, não é considerado uma estratégia confiável para prever o prognóstico⁵³.

Outras DCV monogênicas são bastante raras em comparação com a HF, como a sitosterolemia ou as síndromes de Marfan, que ocorrem com frequências inferiores a 1:1000, e as frequências de muitas outras doenças são tão raras que nem sequer foram determinadas⁵³.

A sitosterolemia, por sua vez, é uma doença autossômica recessiva rara, clinicamente semelhante à HF. Mutações homocigóticas ou heterocigóticas compostas nos genes ABCG5 ou ABCG8, que levam ao aumento da absorção de esterol vegetal (principalmente sitosterol), e concentrações plasmáticas, xantomas e aterosclerose acelerada foram reconhecidas como a base molecular da doença^{54,55}.

Doença autossômica dominante que apresenta alta penetrância e expressão variável, a síndrome de Marfan é causada por muitos tipos diferentes de mutações na fibrilina 1 (FBN1) e se manifesta principalmente como anormalidades cardiovasculares, mas também esqueléticas e oculares. Os indivíduos afetados são geralmente muito altos e têm membros longos, rostos longos, dedos das mãos e dos pés longos, hipomusculatura e deformidades no tórax, coluna, quadril e pés⁵⁶.

Mais de 100 DCV monogênicas foram identificadas e pelo menos 10 milhões de pessoas em todo o mundo podem ter algumas delas. Essas

doenças são caracterizadas por sintomas de início precoce, geralmente graves, mau prognóstico e altas taxas de mortalidade e incapacidade. Por isso, não podem ser subestimadas, subdiagnosticadas ou subtratadas⁵³.

9. ESTUDOS DE ASSOCIAÇÃO GENÔMICA AMPLA (GWAS)

Após a era dos estudos de genes candidatos e do mapeamento cromossômico, o GWAS melhorou e ampliou significativamente a compreensão do contexto genético de muitas doenças não transmissíveis, incluindo DCV e seus fatores de risco de DCV. O princípio GWAS é livre de hipóteses. Essa abordagem levou à detecção de muitas variantes significativas – seguidas da identificação de novos genes – com importância clínica completamente desconhecida⁵⁷.

Os primeiros GWAS que tratam do risco de DCV ou seus fatores de risco de DCV foram publicados há aproximadamente 15 anos^{58,59}. Os GWAS levaram à detecção dos determinantes genéticos mais importantes de DCV, que são representados por SNPs (polimorfismos de nucleotídeo único) na região 9p21.3 do cromossomo humano. As variantes foram detectadas em uma região livre de genes – deserto de genes –, posteriormente reconhecida como RNA regulador não codificante longo ANRIL (RNA não codificante antisense no locus INK4; localizado dentro do cluster de genes p15/CDKN2B-p16/CDKN2A-p14/ARF) loci⁶⁰.

O alelo de risco está associado a um risco aumentado de infarto do miocárdio (IM) em aproximadamente 30 a 35%, sendo esse efeito é relativamente homogêneo em diferentes populações e grupos étnicos. É importante ressaltar que as variantes detectadas não estão associadas a nenhum dos fatores de risco tradicionais de DCV (com exceção do diabetes), apontando para mecanismos até agora desconhecidos que levam à aterosclerose⁶⁰. As variantes nestes loci são associadas a um espectro mais amplo de doenças não transmissíveis. Por exemplo, associações foram demonstradas para diferentes tipos de câncer, glaucoma ou mesmo autismo⁶¹⁻⁶³. Essas descobertas destacam a importância destes loci e dos SNPs agrupados como um hotspot genético excepcional como base de SNPs associados a diferentes doenças⁶⁰.

O segundo exemplo do novo gene, que foi detectado devido ao GWAS, é a sortilina. Os sinais GWAS dentro do cluster de genes CELSR2 / PSRC1 / SORT1 estavam entre os sinais mais fortes associados ao risco de DCV e aos níveis plasmáticos de colesterol LDL^{58,64}. Nesse caso, os mecanismos pelos quais o SORT1 influencia os níveis de colesterol plasmático eram desconhecidos. SORT1 codifica um receptor de classificação multiligante que é expresso principalmente no fígado e desempenha um papel no tráfego intracelular. Liga-se às apolipoproteínas E, B e A5, que são proteínas importantes que atuam no metabolismo lipídico⁶⁵.

SORT1 influencia o transporte de VLDL por meio do complexo de Golgi hepático e simultaneamente interage com PCSK9 e influencia a

degradação de LDLR, podendo servir como um receptor alternativo de LDL de baixa capacidade⁶⁶. Embora seus efeitos nos níveis plasmáticos de colesterol e no risco de IM tenham sido bem comprovados e repetidamente confirmados, os resultados de modelos animais não são uniformes e às vezes mostram resultados conflitantes^{67,68}.

Apesar do importante papel do SORT1 na determinação dos níveis de colesterol plasmático, um grande estudo não conseguiu detectar qualquer mutação associada à HF nesse gene. Como o gene codifica a proteína responsável pelo transporte intracelular do colesterol, as mutações nesse gene podem ser gravemente deletérias e levar a consequências letais no útero. Isto pode explicar por que essas mutações não ocorrem na população⁶⁹.

Além do SORT1, o FTO ganhou interesse multidisciplinar, sendo considerado, segundo o GWAS, o gene associado à massa gorda e à obesidade e a um risco aumentado de desenvolvimento de diabetes mellitus tipo 2 (DM2)⁷⁰. Variantes em agrupamento de desequilíbrio de ligação dentro do primeiro íntron do gene são responsáveis pelo aumento do risco. As associações com o índice de massa corporal (IMC) e DM2 foram confirmadas em estudos posteriores, e a associação com o IMC foi descrita em todas as principais etnias, com exceção dos negros africanos, nos quais a frequência do alelo de risco e a proporção da variação do IMC explicados foram muito mais baixos⁷¹.

A contribuição das variantes do FTO para o risco de IM foi descrita logo após as primeiras associações, seguida pelo reconhecimento de seu papel na insuficiência renal, doença de Alzheimer, complicações do diabetes, e até mesmo na determinação da mortalidade total⁷²⁻⁷⁷. Semelhante ao ANRIL, a função do FTO é regulatória e não estrutural ou de transporte. Em estudo, Tung et al⁷⁸ sugeriram que as variantes exercem seus efeitos por meio de outro gene localizado em um cluster (RPGRIP1-/*FTO*/*IRX3*) com *FTO*, o *IRX3* (Iroquois homeobox protein 3).

O *IRX3*, cujo promotor se liga a intensificadores localizados no primeiro íntron do *FTO* e cuja expressão é influenciada pela marcação de variantes do *FTO*, também foi associado ao peso corporal em modelos animais. O *IRX3* é altamente expresso no pâncreas, sugerindo suscetibilidade ao *FTO*/*IRX3* por meio do efeito potencial da secreção de insulina⁷⁸. Os papéis do *FTO* como um importante modificador epigenético, capaz de influenciar a metilação do ácido nucleico, a determinação do comprimento dos telômeros e de servir como um coativador transcricional também foram descritos na literatura⁷⁹⁻⁸².

10. ABORDAGENS DE SEQUENCIAMENTO DE PRÓXIMA GERAÇÃO

As plataformas de sequenciamento de próxima geração diminuíram significativamente o custo do sequenciamento de DNA. Embora o sequenciamento completo do exoma e do genoma completo tenha sido usado

com sucesso para identificar novos genes para diversas formas mendelianas de DCV, o sequenciamento apenas do exoma (em vez de todo o genoma) é justificado na busca por causas genéticas de doenças hereditárias raras, pois a maioria dos alelos responsáveis pelos distúrbios mendelianos perturbam a sequência codificadora da proteína. O rendimento do sequenciamento do exoma na resolução dos distúrbios mendelianos é difícil de prever, pois resultados negativos não foram relatados rotineiramente⁸³.

Muitas vezes é difícil obter uma única mutação causal após o sequenciamento do exoma, devido aos seguintes fatores⁸³:

1. a VG causal pode não ser codificadora de proteína (ou seja, localizada em um íntron);
2. a VG causal pode ser codificadora de proteínas, mas o gene relevante não foi sequenciado com sucesso;
3. se a mutação causal não for totalmente penetrante, estará presente tanto em indivíduos fenotipicamente afetados como não afetados;
4. a segregação de um fenótipo em uma família pode ser devido a fatores não genéticos – por exemplo, em uma família multigeracional, onde vários indivíduos são afetados por IM, o padrão pode ser devido a um novo gene mendeliano ou a maus hábitos de vida partilhados pela família;
5. em contraste com as substituições de nucleotídeos únicos, os métodos para identificar pequenas deleções de inserção e alterações no número de cópias a partir de dados de sequência de leitura curta são imprecisos.

Para fenótipos complexos, como, por exemplo, IM, que surgem após décadas de patologia, é fundamental distinguir mutações missense funcionais versus neutras. Embora os avanços nas técnicas de sequenciamento e o desenvolvimento de várias ferramentas de previsão de patogenicidade e recursos disponíveis sobre a frequência de variantes em grandes populações tenham sido informativos, a aplicabilidade clínica continua a ser um desafio⁸³.

11. A IMPORTÂNCIA DA NUTRIGENÉTICA

Na grande maioria das doenças não transmissíveis, nem os genes, nem o ambiente ou o estilo de vida individualmente são suficientes para explicar completamente o risco da doença. Assim, é necessário compreender as interações entre os genes e o ambiente, especialmente entre os genes e a dieta. Por fatores ambientais e de estilo de vida, uma dieta pouco saudável – além do tabagismo – é uma das principais causas de mortalidade e morbidade em todo o mundo. O projeto Global Burden of Disease estimou que, em 2015, os fatores de risco nutricionais foram responsáveis por mais mortes e doenças em todo o mundo do que qualquer outro risco⁸⁴.

Nesse caso, uma importante área de pesquisa é a identificação de alvos genéticos na medicina e nutrição personalizada. A interação entre hábitos alimentares e genes é extremamente complexa e pode ocorrer em ambos os sentidos: enquanto características genéticas específicas podem influenciar o efeito da dieta nas características bioquímicas ou antropométricas (nutrigenética), a alimentação também pode ter impacto na expressão genética (nutrigenômica)⁸⁴.

A nutrigenética conta com vários exemplos ilustrativos que mostram como os SNPs podem influenciar o efeito dos nutrientes consumidos nos lipídios plasmáticos ou no peso corporal. O colesterol 7 alfa-hidroxilase (CYP7A1) é a enzima limitante da taxa na cascata de síntese de ácidos biliares, a única via metabólica para a eliminação do colesterol do corpo. Existem vários polimorfismos funcionais na região promotora do CYP7A1⁸⁵. No estudo pós-MONICA, foi demonstrado que o rs3808607 influenciou significativamente a diminuição do colesterol em um subconjunto de homens após mudanças marcantes nos hábitos alimentares – causadas por questões socioeconômicas na República Tcheca entre 1988 e 1996 –, sugerindo a maior sensibilidade dos homocigotos CC⁸⁶. Os resultados foram posteriormente confirmados em estudos de intervenção baseados na ingestão de colesterol na dieta em voluntários do sexo masculino⁸⁷ e em ensaios randomizados focados no consumo de esterois vegetais⁸⁸ ou intervenções baseadas no consumo de cafesterol⁸⁹.

O gene FTO, por exemplo, interage com muitos fatores dietéticos. Indivíduos com baixa ingestão de proteínas e o alelo aumentador de IMC do FTO apresentam os valores de IMC mais altos, e essa interação é particularmente significativa em diferentes populações asiáticas⁹⁰. A modificação do efeito do FTO nos valores do IMC por meio da ingestão de proteínas também foi encontrada em crianças e adolescentes⁹¹. O maior peso ao nascer também atenuou uma associação entre os genótipos FTO e os valores de IMC na idade adulta⁹².

Considerada um fator de risco para IM e AVC, a homocisteína está associada à ingestão dietética de folato. Foi demonstrado que o efeito do polimorfismo do metileno tetraidrofolato redutase (MTHFR) na concentração de homocisteína é maior em regiões com baixa ingestão de folato do que em regiões onde a fortificação com folato é comum. Esse risco é associado a variantes dentro do ANRIL, que pode ser modificado pelos hábitos alimentares⁹³. Foi descrito que o aumento da ingestão de bebidas açucaradas interage com variantes do ANRIL. Um risco aumentado de IM não fatal foi observado apenas em indivíduos que consumiram mais de 2 porções diárias⁹⁴.

12. FARMACOGENÉTICA DO TRATAMENTO DE DCV

O metabolismo, os efeitos e os efeitos colaterais dos medicamentos estão sendo determinados e/ou modificados pela base genética. A

farmacogenética contribuirá com a compreensão das relações complexas e a determinar abordagens individualizadas/personalizadas. Existe uma variabilidade interpaciente significativa na resposta ao medicamento, grande parte da qual tem base genética. Especificamente, os genótipos podem influenciar o metabolismo, o transporte e a sensibilidade de uma pessoa a um medicamento⁹⁵. Na farmacogenética, são analisadas as interações entre variantes genéticas e eficácia de medicamentos e/ou suscetibilidade a efeitos colaterais indesejáveis. Esse campo tem o potencial de melhorar os resultados de saúde, identificando indivíduos que apresentam maior benefício com o tratamento ou que correm maior risco de danos causados pela intolerância aos medicamentos⁹⁶.

As estatinas, por exemplo, são inibidores da hidroximetilglutaril CoA-redutase e estão entre os medicamentos mais utilizados para controle do colesterol. Apesar da prevalência relativamente baixa de efeitos indesejados, o número de indivíduos afetados é grande, de acordo com a quantidade de pessoas que fazem uso do medicamento. Existem, nesse caso, vários genes com potencial para detectar indivíduos propensos a manifestar eventos adversos ao uso de estatinas, principalmente sintomas musculares^{97,98}.

O transportador considerado o melhor para transportes de medicamentos é o SLCO1B1. O gene codifica um polipeptídeo transportador de ânions orgânico OATP1B1, que regula a captação hepática de estatinas. Uma variante comum (rs4363657) dentro deste gene está associada a um risco significativamente aumentado de miopatia, e os portadores de dois alelos de risco têm um risco 16 vezes aumentado⁹⁹. Estudos posteriores sugeriram que esse risco é limitado a indivíduos em altas doses de estatina – pelo menos 40 mg por dia –, especialmente a pacientes tratados com sinvastatina¹⁰⁰⁻¹⁰¹. Para o tratamento da hipertensão, uma importante classe de medicamentos são os betabloqueadores. Recomenda-se examinar as variantes do CYP2D6 para obter a dosagem ideal e evitar efeitos adversos causados por essa classe de medicamentos¹⁰².

13. EPIGENÉTICA

O termo epigenética foi diversas vezes redefinido e, recentemente, a definição mais aceita é que a informação epigenética representa o tipo de informação genética, que não está diretamente incluída na sequência de DNA. Existem várias características mútuas de fatores epigenéticos. São reversíveis e não estáveis ao longo de toda a vida e podem ser influenciados pelo estilo de vida, por exemplo, pela prática de atividade física, tabagismo, hábitos alimentares. Pelo menos alguns deles (metilações do DNA) são claramente hereditários de forma semelhante à sequência do DNA. As mudanças epigenéticas têm principalmente efeitos regulatórios. Existem dois tipos principais de informações epigenéticas potencialmente associadas à DCV que são comumente analisadas: RNA não codificador regulatório, representado principalmente por microRNA (miRNA); e metilação do DNA¹⁰³.

Apesar da modificação das histonas – principalmente acetilação, metilação e fosforilação –, que pode potencialmente afetar a replicação do DNA, a condensação cromossômica ou o splicing alternativo de genes pode ter consequências importantes em conexão com DCV, porém ainda faltam informações mais consistentes sobre essa relação¹⁰⁴.

13.1 miRNA REGULATÓRIO NÃO CODIFICADOR

MicroRNAs (miRNAs) são moléculas de RNA de fita simples não codificantes, endógenas, curtas, com cerca de 22 nucleotídeos de comprimento, que atuam como reguladores transcricionais e estão envolvidos em processos pós-transcricionais. Os miRNAs são derivados de transcrições que formam estruturas em gancho distintas. O processamento do grampo no miRNA maduro permite a formação de um complexo silenciador induzido por RNA (RISC)¹⁰⁵. Os miRNAs emparelham com mRNAs de direcionamento se ligando a diferentes regiões genéticas – região 3' não traduzida (3'UTR), 5'UTR, sequências promotoras ou codificantes. A ligação do miRNA pode reprimir ou ativar a tradução. O local de ligação para a regulação da tradução se concentra na sequência madura do miRNA, chamada de região semente¹⁰⁶.

A desregulação da expressão de miRNA desempenha um papel importante na patogênese de várias doenças, incluindo as DVC. Alterações na expressão e/ou função do miRNA têm sido associadas a várias complicações cardiovasculares, como IM, hipertrofia cardíaca, cardiomiopatia ou arritmias¹⁰⁷. Os miRNAs são expressos em cardiomiócitos, fibroblastos, células endoteliais e células musculares lisas vasculares e controlam praticamente todos os aspectos da biologia cardiovascular, incluindo remodelação cardíaca e fibrose, apoptose, inflamação, proliferação, angiogênese e metabolismo¹⁰⁸.

Também desempenham um papel relevante no IM, regulando a morte celular apoptótica, necrótica e autofágica. Muitos miRNAs são regulados diferencialmente no tecido cardíaco em resposta ao IM, dependendo do tipo de lesão miocárdica¹⁰⁹. Além disso, estão envolvidos em todas as fases do processo biológico da aterosclerose, ou seja, disfunção endotelial, adesão celular, desenvolvimento de placas e ruptura de placas. Células endoteliais, macrófagos e células musculares lisas, que participam nas vias de formação de placas e trombos, podem potencialmente liberar miRNAs na circulação sistêmica¹¹⁰.

Vários miRNAs foram associados a mecanismos regulatórios envolvidos na senescência das células endoteliais e regulam a inflamação vascular. Além das citocinas pró-inflamatórias, as alterações nos níveis de expressão de miRNA devido ao fluxo sanguíneo têm o potencial de afetar redes de genes que regulam a função das células musculares lisas endoteliais e vasculares, inflamação e aterosclerose¹¹¹.

Em resposta à disfunção endotelial e à infiltração de células inflamatórias, as células musculares lisas migram da média para a íntima e proliferam para formar lesões neointimais. A mudança de um fenótipo contrátil para um fenótipo proliferativo sintético em células musculares lisas é controlada por miRNAs, sendo alguns essenciais para a aquisição do fenótipo contrátil e integridade estrutural da aorta¹¹². Foi relatado que MiR-133 previne a mudança fenotípica de células musculares lisas, e miR-21, miR-221 e miR-222 promovem sobrevivência, proliferação e desdiferenciação dessas células¹¹³.

A captação de lipídios e as respostas inflamatórias em monócitos/macrófagos são reguladas por miRNAs, como miR-155 e miR-125a-5p^{114,115}. Como resultado, o acúmulo neointimal de células espumosas e estrias gordurosas pode ser reduzido, o que é o principal determinante do desenvolvimento e instabilidade da placa. Os miRNAs regulam as vias de sinalização e a homeostase lipídica, que alteram o equilíbrio da progressão e regressão da placa aterosclerótica, e foram identificados como potentes reguladores pós-transcricionais de genes envolvidos na regulação da homeostase do colesterol e oxidação de ácidos graxos, metabolismo de ácidos graxos e lipogênese, além de desempenharem um papel importante no metabolismo de HDL^{116,117}.

O miRNA circulante liberado das células pode ser detectado em praticamente todos os fluidos corporais humanos¹¹⁸. Ao contrário dos miRNAs intracelulares, os miRNAs circulantes apresentam estabilidade e resistência à degradação por RNases endógenas. Os miRNAs podem ser liberados na circulação sanguínea por vários mecanismos, incluindo secreção ativa, apoptose ou necrose. Foi proposto que os miRNAs circulantes residem em microvesículas, o que pode fornecer proteção contra a atividade da RNase e ser responsável pela liberação de miRNAs na circulação. Os miRNAs secretados por células desempenham um papel importante na comunicação célula a célula. A estabilidade dos miRNAs circulantes tem estimulado o interesse na sua utilização como biomarcadores para o diagnóstico e prognóstico de diversas doenças, incluindo DCV¹¹⁹.

13.2 METILAÇÃO DO DNA

A metilação do DNA parece ser a modificação epigenética do DNA mais importante e mais extensivamente estudada em associação com DCV¹²⁰. A metilação do DNA afeta a citosina nos locais CpG em todo o genoma. De todos os marcadores epigenéticos, a metilação do DNA é a mais estável e ocorre aproximadamente em cada segundo gene. Cerca de 70% de todos os CpGs no genoma humano são metilados¹²¹. Geralmente, o padrão global de metilação do DNA pode ser dentro de elementos nucleares intercalados (LINE-1) ou dentro de sequências ALU. As diferenças próximas aos genes candidatos dentro de seus elementos reguladores poderiam ser analisadas com o uso de sequenciamento comparativo de bissulfito.

Mudanças epigenéticas podem levar a um aumento tanto na maquinaria de transcrição quanto no silenciamento de genes. A ingestão suficiente de doadores de grupos metil, como folato e outras vitaminas B, por sua vez, é necessária para uma regulação epigenética ideal¹²².

Agha et al¹²³ realizaram um estudo de perfil de todo o epigenoma e verificaram que dos quase 500.000 CpGs, os níveis de metilação em mais de 50 locais de CpG estavam significativamente associados à ocorrência de DCV ou IM. Esses locais CpG influenciaram principalmente os genes envolvidos na homeostase do cálcio e na regulação dependente de cálcio, na remodelação cardíaca e na migração transendotelial de leucócitos.

A importância da nutrição pré-natal para o desenvolvimento de DCV na idade adulta foi sugerida em um estudo que avaliou seis loci sensíveis à nutrição pré-natal. O aumento da metilação no GNASAS – também conhecido como NESPAS, com um padrão de expressão altamente impresso envolvido na regulação da demanda fetal de nutrientes – foi associado a um risco aumentado de IM em mulheres¹²⁴. Os resultados do estudo alemão KORA¹²⁵ também apontaram para a importância da metilação do DNA para a determinação de lipídios plasmáticos. Aparentemente, muito mais locais CpG estão envolvidos na determinação dos triglicerídeos plasmáticos e do colesterol total do que na determinação dos níveis de colesterol LDL e HDL.

13.3 TELÔMEROS

Telômeros são complexos de nucleoproteínas localizados nas extremidades dos cromossomos lineares e protegem os cromossomos da degradação e fusão do DNA. Nos humanos, os telômeros consistem em milhares de hexanucleotídeos TTAGGG e um complexo proteico chamado abrigo. O comprimento dos telômeros é usado como um marcador da idade biológica/celular, pois eles ficam mais curtos a cada divisão celular¹²⁶.

O comprimento mais curto dos telômeros foi associado a um risco aumentado de mortalidade cardiovascular em estudos longitudinais^{127,128}. Além disso, alguns fatores de risco de DCV foram associados ao comprimento dos telômeros, como obesidade, lipídios plasmáticos ou hipertensão. Essas associações podem ser influenciadas pela idade dos indivíduos examinados e geralmente mostraram efeitos de heterogeneidade¹²⁹⁻¹³¹.

REFERÊNCIAS

1. Virani SS, Alonso A, Aparicio HJ, Benjamin EJ, Bittencourt MS, Callaway CW, et al. Heart disease and stroke statistics-2021 update: a report from the American heart association. *Circulation*. 2021;143:e254–743.

2. D'Agostino RB Sr, Vasan RS, Pencina MJ, Wolf PA, Cobain M, Massaro JM, et al. General cardiovascular risk profile for use in primary care: the Framingham Heart Study. *Circulation*. 2008;117:743–53.
3. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ. The framingham heart study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet*. 2014;383:999–1008.
4. Andersson C, Johnson AD, Benjamin EJ, Levy D, Vasan RS. 70-year legacy of the Framingham Heart Study. *Nat Rev Cardiol*. 2019;16:687–98.
5. Ninomiya T. Japanese legacy cohort studies: the Hisayama study. *J Epidemiol*. 2018;28:44–51.
6. Honda T, Chen S, Hata J, Yoshida D, Hirakawa Y, Furuta Y, et al. Development and validation of a risk prediction model for atherosclerotic cardiovascular disease in Japanese adults: the Hisayama study. *J Atheroscler Thromb*. 2020.
7. Tada H, Usui S, Sakata K, Takamura M, Kawashiri MA. Challenges of precision medicine for atherosclerotic cardiovascular disease based on human genome information. *J Atheroscler Thromb*. 2021;28:59.
8. Tada H, Usui S, Sakata K, Takamura M, Kawashiri MA. Low-density lipoprotein cholesterol level cannot be too low: considerations from clinical trials, human genetics, and biology. *J Atheroscler Thromb*. 2020;27:489–98.
9. Tada H, Fujino N, Nomura A, Nakanishi C, Hayashi K, Takamura M, et al. Personalized medicine for cardiovascular diseases. *J Hum Genet*. 2021;66:67–74.
10. Williams RR, Hunt SC, Heiss G, Province MA, Bensen JT, Higgins M, et al. Usefulness of cardiovascular family history data for population-based preventive medicine and medical research (the health family tree study and the NHLBI family heart study). *Am J Cardiol*. 2001;87:129–35.
11. Lloyd-Jones DM, Nam BH, Sr D'Agostino RB, Levy D, Murabito JM, Wang TJ, et al. Parental cardiovascular disease as a risk factor for cardiovascular disease in middle-aged adults: a prospective study of parents and offspring. *JAMA*. 2004;291:2204–11.
12. Yeboah J, McClelland RL, Polonsky TS, Burke GL, Sibley CT, O'Leary D, et al. Comparison of novel risk markers for improvement in cardiovascular risk assessment in intermediate-risk individuals. *JAMA*. 2012;308:788–95.

13. Musunuru K, Kathiresan S. Genetics of common, complex coronary artery disease. *Cell*. 2019;177:132–45.
14. Elkon R, Agami R. Characterization of noncoding regulatory DNA in the human genome. *Nat Biotechnol*. 2017;35:732–46.
15. Portela A, Esteller M. Epigenetic modifications and human disease. *Nat Biotechnol*. 2010;28:1057–68.
16. McPherson R, Tybjaerg-Hansen A. Genetics of coronary artery disease. *Circ Res*. 2016;118:564–78.
17. Kathiresan S, Srivastava D. Genetics of human cardiovascular disease. *Cell*. 2012;148:1242–57.
18. Turcot V, Lu Y, Highland HM, Schurmann C, Justice AE, Fine RS, et al. Protein-altering variants associated with body mass index implicate pathways that control energy intake and expenditure in obesity. *Nat Genet*. 2018;50:26–41.
19. Fieggen K, Ntusi NAB. Understanding the genetic basis of human health and disease: Role of molecular genetics in diagnosis and prognostication. *S Afr Med J*. 2019;109(4):204-206.
20. Ackerman MJ, Priori SG, Willems S, et al. HRS/EHRA expert consensus statement on the state of genetic testing for the channelopathies and cardiomyopathies. *Europace*. 2011;13(8):1077-1109.
21. Burke MA, Cook SA, Seidman JG, Seidman CE. Clinical and mechanistic insights into the genetics of cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*. 2016;68(25):2871-2886.
22. Charron P, Arad M, Arbustini E, et al. Genetic counselling and testing in cardiomyopathies: A position statement of the European Society of Cardiology Working Group on Myocardial and Pericardial Diseases. *Eur Heart J* 2010;31(22):2715-2728.
23. Johansen CT, Wang J, Lanktree MB, et al. *Nat Genet* 2010;42(8):684-687.
24. Harada-Shiba M, Arai H, Ishigaki Y, Ishibashi S, Okamura T, Ogura M, et al. Guidelines for diagnosis and treatment of familial hypercholesterolemia 2017. *J Atheroscler Thromb*. 2018;25:751–70.
25. Tada H, Takamura M, Kawashiri MA. Familial hypercholesterolemia: a narrative review on diagnosis and management strategies for children and adolescents. *Vasc Health Risk Manag*. 2021;17:59–67.

26. Tada H, Hori M, Nomura A, Hosomichi K, Nohara A, Kawashiri MA, et al. A catalog of the pathogenic mutations of LDL receptor gene in Japanese familial hypercholesterolemia. *J Clin Lipidol.* 2020;14:346–51.
27. Beheshti SO, Madsen CM, Varbo A, Nordestgaard BG. Worldwide prevalence of familial hypercholesterolemia: meta-analyses of 11 million subjects. *J Am Coll Cardiol.* 2020;75:2553–66.
28. Hu P, Dharmayat KI, Stevens CAT, Sharabiani MTA, Jones RS, Watts GF, et al. Prevalence of familial hypercholesterolemia among the general population and patients with atherosclerotic cardiovascular disease: a systematic review and meta-analysis. *Circulation.* 2020;141:1742–59.
29. Tada H, Okada H, Nomura A, Nohara A, Yamagishi M, Takamura M, et al. Prognostic impact of cascade screening for familial hypercholesterolemia on cardiovascular events. *J Clin Lipidol.* 2021;15:358–65 .
30. Nomura A, Ermdin CA, Won HH, Peloso GM, Natarajan P, Ardissino D, et al. Heterozygous ABCG5 gene deficiency and risk of coronary artery disease. *Circ Genom Precis Med.* 2020;13:417–23.
31. Khera AV, Won HH, Peloso GM, O’Dushlaine C, Liu D, Stitzel NO, et al. Association of rare and common variation in the lipoprotein lipase gene with coronary artery disease. *JAMA.* 2017;317:937–46.
32. Do R, Stitzel NO, Won HH, Jørgensen AB, Duga S, Angelica Merlini P, et al. Exome sequencing identifies rare LDLR and APOA5 alleles conferring risk for myocardial infarction. *Nature.* 2015;518:102–6.
33. Clarke R, Peden JF, Hopewell JC, Kyriakou T, Goel A, Heath SC, et al. Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease. *N Engl J Med.* 2009;361:2518–28.
34. Crosby J, Peloso GM, Auer PL, Crosslin DR, Stitzel NO, Lange LA, et al. Loss-of-function mutations in APOC3, triglycerides, and coronary disease. *N Engl J Med.* 2014;371:22–31.
35. Saleheen D, Natarajan P, Armean IM, Zhao W, Rasheed A, Khetarpal SA, et al. Human knockouts and phenotypic analysis in a cohort with a high rate of consanguinity. *Nature.* 2017;544:235–9.
36. Stitzel NO, Khera AV, Wang X, Bierhals AJ, Vourakis AC, Sperry AE, et al. ANGPTL3 deficiency and protection against coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol.* 2017;69:2054–63.

37. Nomura A, Won HH, Khera AV, Takeuchi F, Ito K, McCarthy S, et al. Protein-truncating variants at the cholesteryl ester transfer protein gene and risk for coronary heart disease. *Circ Res.* 2017;121:81–8.
38. Peloso GM, Nomura A, Khera AV, Chaffin M, Won HH, Ardissino D, et al. Rare protein-truncating variants in APOB, lower low-density lipoprotein cholesterol, and protection against coronary heart disease. *Circ Genom Precis Med.* 2019;12:e002376.
39. Kawashiri MA, Tada H, Hashimoto M, Taniyama M, Nakano T, Nakajima K, et al. Extreme contrast of postprandial remnant-like particles formed in abetalipoproteinemia and homozygous familial hypobetalipoproteinemia. *JIMD Rep.* 2015;22:85–94.
40. Klarin D, Zhu QM, Emdin CA, Chaffin M, Horner S, McMillan BJ, et al. Genetic analysis in UK Biobank links insulin resistance and transendothelial migration pathways to coronary artery disease. *Nat Genet.* 2017;49:1392–7.
41. van der Harst P, Verweij N. Identification of 64 novel genetic loci provides an expanded view on the genetic architecture of coronary artery disease. *Circ Res.* 2018;122:433–43.
42. Ripatti S, Tikkanen E, Orho-Melander M, Havulinna AS, Silander K, Sharma A, et al. A multilocus genetic risk score for coronary heart disease: case-control and prospective cohort analyses. *Lancet.* 2010;376:1393–400.
43. Mega JL, Stitzel NO, Smith JG, Chasman DI, Caulfield M, Devlin JJ, et al. Genetic risk, coronary heart disease events, and the clinical benefit of statin therapy: an analysis of primary and secondary prevention trials. *Lancet.* 2015;385:2264–71.
44. Tada H, Melander O, Louie JZ, Catanese JJ, Rowland CM, Devlin JJ, et al. Risk prediction by genetic risk scores for coronary heart disease is independent of self-reported family history. *Eur Heart J.* 2016;37:561–7.
45. Tada H, Shiffman D, Smith JG, Sjögren M, Lubitz SA, Ellinor PT, et al. Twelve-single nucleotide polymorphism genetic risk score identifies individuals at increased risk for future atrial fibrillation and stroke. *Stroke.* 2014;45:2856–62.
46. Khera AV, Chaffin M, Aragam KG, Haas ME, Roselli C, Choi SH, et al. Genome-wide polygenic scores for common diseases identify individuals with risk equivalent to monogenic mutations. *Nat Genet.* 2018;50:1219–24.

47. Hachiya T, Hata J, Hirakawa Y, Yoshida D, Furuta Y, Kitazono T, et al. Genome-wide polygenic score and the risk of ischemic stroke in a prospective cohort: the Hisayama study. *Stroke*. 2020;51:759–65.
48. Wang M, Menon R, Mishra S, Patel AP, Chaffin M, Tanneeru D, et al. Validation of a genome-wide polygenic score for coronary artery disease in South Asians. *J Am Coll Cardiol*. 2020;76:703–14.
49. Koyama S, Ito K, Terao C, Akiyama M, Horikoshi M, Momozawa Y, et al. Population-specific and trans-ancestry genome-wide analyses identify distinct and shared genetic risk loci for coronary artery disease. *Nat Genet*. 2020;52:1169–77 .
50. Vrablik M, Tichý L, Freiburger T, Blaha V, Satny M, Hubacek JA. Genetics of familial hypercholesterolemia: New insights. *Front Genet*. 2020;11:574474.
51. Mytilinaiou M, Kyrou I, Khan M, Grammatopoulos DK, Randevo HS. Familial hypercholesterolemia: New horizons for diagnosis and effective management. *Front Pharmacol*. 2018;9:707.
52. Brandts J, Dharmayat KI, Ray KK, Vallejo-Vaz AJ. Familial hypercholesterolemia: Is it time to separate monogenic from polygenic familial hypercholesterolemia? *Curr Opin Lipidol*. 2020;31:111–118.
53. Zou YB, Hui RT, Song L. The era of clinical application of gene diagnosis in cardiovascular diseases is coming. *Chronic Dis Transl Med*. 2020;5:214–220.
54. Berge KE, Tian H, Graf GA, Yu L, Grishin NV, Schultz J, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science*. 2000;290:1771–1775.
55. Lu K, Lee MH, Hazard S, Brooks-Wilson A, Hidaka H, Kojima H, et al. Two genes that map to the STSL locus cause sitosterolemia: Genomic structure and spectrum of mutations involving sterolin-1 and sterolin-2, encoded by ABCG5 and ABCG8, respectively. *Am J Hum Genet*. 2001;69:278–290.
56. Sakai LY, Keene DR, Renard M, De Backer J. FBN1: The disease-causing gene for Marfan syndrome and other genetic disorders. *Gene*. 2016;591:279–291.
57. Gianfagna F, Cugino D, Santimone I, Iacoviello L. From candidate gene to genome-wide association studies in cardiovascular disease. *Thromb Res*. 2012;129:320–324.

58. Samani NJ, Erdmann J, Hall AS, Hengstenberg C, Mangino M, Mayer B, et al. Genomewide association analysis of coronary artery disease. *N Engl J Med*. 2007;357:443–453.
59. Scott LJ, Mohlke KL, Bonnycastle LL, Willer CJ, Li Y, Duren WL, et al. A genome-wide association study of type 2 diabetes in Finns detects multiple susceptibility variants. *Science*. 2007;316:1341–1345.
60. Palomaki GE, Melillo S, Bradley LA. Association between 9p21 genomic markers and heart disease: A meta-analysis. *JAMA*. 2010;303:648–656.
61. Li WQ, Pfeiffer RM, Hyland PL, Shi J, Gu F, Wang Z, et al. Genetic polymorphisms in the 9p21 region associated with risk of multiple cancers. *Carcinogenesis*. 2014;35:2698–2705.
62. Wiggs JL, Yaspan BL, Hauser MA, Kang JH, Allingham RR, Olson LM, et al. Common variants at 9p21 and 8q22 are associated with increased susceptibility to optic nerve degeneration in glaucoma. *PLoS Genet*. 2012;8:e1002654.
63. Safa A, Noroozi R, Taheri M, Ghafouri-Fard S. Association analysis of ANRIL polymorphisms and haplotypes with autism spectrum disorders. *J Mol Neurosci*. 2021;71:187–192.
64. Teslovich TM, Musunuru K, Smith AV, Edmondson AC, Stylianou IM, Koseki M, et al. Biological, clinical and population relevance of 95 loci for blood lipids. *Nature*. 2010;466:707–713.
65. Strong A, Rader DJ. Sortilin as a regulator of lipoprotein metabolism. *Curr Atheroscler Rep*. 2012;14:211–218.
66. Zhong LY, Cayabyab FS, Tang CK, Zheng XL, Peng TH, Lv YC. Sortilin: A novel regulator in lipid metabolism and atherogenesis. *Clin Chim Acta*. 2016;460:11–17.
67. Musunuru K, Strong A, Frank-Kamenetsky M, Lee NE, Ahfeldt T, Sachs KV, et al. From noncoding variant to phenotype via SORT1 at the 1p13 cholesterol locus. *Nature*. 2010;466:714–719.
68. Kjolby M, Andersen OM, Breiderhoff T, Fjorback AW, Pedersen KM, Madsen P, et al. Sort1, encoded by the cardiovascular risk locus 1p13.3, is a regulator of hepatic lipoprotein export. *Cell Metab*. 2010;12:213–223.

69. Tveten K, Strøm TB, Cameron J, Berge KE, Leren TP. Mutations in the SORT1 gene are unlikely to cause autosomal dominant hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*. 2012;225:370–375.
70. Diabetes Genetics Initiative of Broad Institute of Harvard and MIT; Lund University; Novartis Institutes of BioMedical Research; Saxena R, Voight BF, Lyssenko V, Burt NP, de Bakker PI, Chen H, et al. Genome-wide association analysis identifies loci for type 2 diabetes and triglyceride levels. *Science*. 2007;316:1331–1336.
71. Loos RJ, Yeo GS. The bigger picture of FTO: The first GWAS-identified obesity gene. *Nat Rev Endocrinol*. 2014;10:51–61.
72. Hubacek JA, Stanek V, Gebauerová M, Pilipincová A, Dlouhá D, Poledne R, et al. A FTO variant and risk of acute coronary syndrome. *Clin Chim Acta*. 2010;411:1069–1072.
73. Doney AS, Dannfald J, Kimber CH, Donnelly LA, Pearson E, Morris AD, et al. The FTO gene is associated with an atherogenic lipid profile and myocardial infarction in patients with type 2 diabetes: A Genetics of Diabetes Audit and Research Study in Tayside Scotland (Go-DARTS) study. *Circ Cardiovasc Genet*. 2009;2:255–259.
74. Hubacek JA, Viklicky O, Dlouha D, Bloudickova S, Kubinova R, Peasey A, et al. The FTO gene polymorphism is associated with end-stage renal disease: Two large independent case-control studies in a general population. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:1030–1035.
75. Reitz C, Tosto G, Mayeux R, Luchsinger JA; NIA-LOAD/NCRAD Family Study Group; Alzheimer’s Disease Neuroimaging Initiative. Genetic variants in the Fat and Obesity Associated (FTO) gene and risk of Alzheimer’s disease. *PLoS ONE*. 2012;7:e50354.
76. Hubacek JA, Dlouha D, Klementova M, Lanska V, Neskudla T, Pelikanova T. The FTO variant is associated with chronic complications of diabetes mellitus in the Czech population. *Gene*. 2018;642:220–224.
77. Zimmermann E, Kring SI, Berentzen TL, Holst C, Pers TH, Hansen T, et al. Fatness associated FTO gene variant increases mortality independent of fatness—In cohorts of Danish men. *PLoS ONE*. 2009;4:e4428.
78. Tung YC, Yeo GSH, O’Rahilly S, Coll AP. Obesity and FTO: Changing focus at a complex locus. *Cell Metab*. 2014;20:710–718.

79. Gerken T, Girard CA, Tung YC, Webby CJ, Saudek V, Hewitson KS, et al. The obesity-associated FTO gene encodes a 2-oxoglutarate-dependent nucleic acid demethylase. *Science*. 2007;318:1469–1472.
80. Dlouha D, Pitha J, Lanska V, Hubacek JA. Association between FTO 1st intron tagging variant and telomere length in middle-aged females. 3PMFs study. *Clin Chim Acta*. 2012;413:1222–1225.
81. Zhou Y, Hambly BD, McLachlan CS. FTO associations with obesity and telomere length. *J Biomed Sci*. 2017;24:65.
82. Wu Q, Saunders RA, Szkudlarek-Mikho M, Serna Ide L, Chin KV. The obesity-associated Fto gene is a transcriptional coactivator. *Biochem Biophys Res Commun*. 2010;401:390–395.
83. Yohe S, Thyagajaran B. Review of clinical next-generation sequencing. *Arch Pathol Lab Med*. 2017;141(11):1544-1557.
84. GBD 2015 Risk Factors Collaborators. Global, regional, and national comparative risk assessment of 79 behavioural, environmental and occupational, and metabolic risks or clusters of risks, 1990–2015: A systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2015. *Lancet*. 2016;388:1659–1724.
85. Hubacek JA, Bobkova D. Role of cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) in nutrigenetics and pharmacogenetics of cholesterol lowering. *Mol Diagn Ther*. 2006;10:93–100.
86. Hubacek JA, Pitha J, Skodová Z, Poledne R, Lánská V, Waterworth DM, Humphries SE, Talmud PJ; Czech MONICA Study. Polymorphisms in CYP7A1, not APOE, influence the change in plasma lipids in response to population dietary change in an 8-year follow-up; results from the Czech MONICA study. *Clin Biochem*. 2003;36:263–267.
87. Kovár J, Suchánek P, Hubáček JA, Poledne R. The A-204C polymorphism in the cholesterol 7alpha-hydroxylase (CYP7A1) gene determines the cholesterolemia responsiveness to a high-fat diet. *Physiol Res*. 2004;53:565–568.
88. MacKay DS, Eck PK, Gebauer SK, Baer DJ, Jones PJ. CYP7A1-rs3808607 and APOE isoform associate with LDL cholesterol lowering after plant sterol consumption in a randomized clinical trial. *Am J Clin Nutr*. 2015;102:951–957.

89. Hofman MK, Weggemans RM, Zock PL, Schouten EG, Katan MB, Princen HM. CYP7A1 A-278C polymorphism affects the response of plasma lipids after dietary cholesterol or cafestol interventions in humans. *J Nutr.* 2004;134:2200–2204.
90. Merritt DC, Jamnik J, El-Sohehy A. FTO genotype, dietary protein intake, and body weight in a multiethnic population of young adults: A cross-sectional study. *Genes Nutr.* 2018;13:4.
91. Qi Q, Downer MK, Kilpeläinen TO, Taal HR, Barton SJ, Ntalla I, Standl M, Boraska V, Huikari V, Kieft-de Jong JC, et al. Dietary intake, FTO genetic variants, and adiposity: A combined analysis of over 16,000 children and adolescents. *Diabetes.* 2015;64:2467–2476.
92. Kim J. Are genes destiny? Exploring the role of intrauterine environment in moderating genetic influences on body mass. *Am J Hum Biol.* 2020;32:e23354.
93. Holmes MV, Newcombe P, Hubacek JA, Sofat R, Ricketts SL, Cooper J, Breteler MM, Bautista LE, Sharma P, Whittaker JC, et al. Effect modification by population dietary folate on the association between MTHFR genotype, homocysteine, and stroke risk: A meta-analysis of genetic studies and randomised trials. *Lancet.* 2011;378:584–594.
94. Zheng Y, Li Y, Huang T, Cheng HL, Campos H, Qi L. Sugar-sweetened beverage intake, chromosome 9p21 variants, and risk of myocardial infarction in Hispanics. *Am J Clin Nutr.* 2016;103:1179–1184.
95. Johnson JA, Cavallari LH. Pharmacogenetics and cardiovascular disease—Implications for personalized medicine. *Pharmacol Rev.* 2013;65:987–1009.
96. Rodríguez Vicente AE, Herrero Cervera MJ, Bernal ML, Rojas L, Peiró AM. Personalized medicine into health national services: Barriers and potentialities. *Drug Metab Pers Ther.* 2018;33:159–163.
97. Vrablik M, Zlatohlavek L, Stulc T, Adamkova V, Prusikova M, Schwarzova L, Hubacek JA, Ceska R. Statin-associated myopathy: From genetic predisposition to clinical management. *Physiol Res.* 2014;63(Suppl. 3):S327–S334.
98. Canestaro WJ, Austin MA, Thummel KE. Genetic factors affecting statin concentrations and subsequent myopathy: A HuGENet systematic review. *Genet Med.* 2014;16:810–819.

99. SEARCH Collaborative Group, Link E, Parish S, Armitage J, Bowman L, Heath S, Matsuda F, Gut I, Lathrop M, Collins R. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—A genomewide study. *N Engl J Med.* 2008;359:789–799.
100. Voora D, Shah SH, Spasojevic I, Ali S, Reed CR, Salisbury BA, Ginsburg GS. The SLCO1B1*5 genetic variant is associated with statin-induced side effects. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54:1609–1616.
101. Brunham LR, Lansberg PJ, Zhang L, Miao F, Carter C, Hovingh GK, Visscher H, Jukema JW, Stalenhoef AF, Ross CJ, et al. Differential effect of the rs4149056 variant in SLCO1B1 on myopathy associated with simvastatin and atorvastatin. *Pharmacogenom J.* 2012;12:233–237.
102. Swen J, Nijenhuis M, de Boer A, Grandia L, Maitland-van der Zee A, Mulder H, Rongen G, van Schaik R, Schalekamp T, Touw D, et al. Pharmacogenetics: From bench to byte—An update of guidelines. *Clin Pharmacol Ther.* 2011;89:662–673.
103. Abi Khalil C. The emerging role of epigenetics in cardiovascular disease. *Ther Adv Chronic Dis.* 2014;5:178–187.
104. Xu Y, Fang F. Histone methylation and transcriptional regulation in cardiovascular disease. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2014;14:89–97.
105. Kaikkonen MU, Lam MT, Glass CK. Non-coding RNAs as regulators of gene expression and epigenetics. *Cardiovasc Res.* 2011;90:430–440.
106. Dlouhá D, Hubáček JA. Regulatory RNAs and cardiovascular disease—With a special focus on circulating microRNAs. *Physiol Res.* 2017;66(Suppl. 1):S21–S38.
107. Laffont B, Rayner KJ. MicroRNAs in the pathobiology and therapy of atherosclerosis. *Can J Cardiol.* 2017;33:313–324.
108. De Gonzalo-Calvo D, Iglesias-Gutiérrez E, Llorente-Cortés V. Epigenetic biomarkers and cardiovascular disease: Circulating microRNAs. *Rev Esp Cardiol.* 2017;70:763–769.
109. Sun T, Dong YH, Du W, Shi CY, Wang K, Tariq MA, Wang JX, Li PF. The role of microRNAs in myocardial infarction: From molecular mechanism to clinical application. *Int J Mol Sci.* 2017;18:745.
110. Economou EK, Oikonomou E, Siasos G, Papageorgiou N, Tsalamandris S, Mourouzis K, Papaioanou S, Tousoulis D. The role of microRNAs in

coronary artery disease: From pathophysiology to diagnosis and treatment. *Atherosclerosis*. 2015;241:624–633.

111. Kumar S, Williams D, Sur S, Wang JY, Jo H. Role of flow-sensitive microRNAs and long noncoding RNAs in vascular dysfunction and atherosclerosis. *Vascul Pharmacol*. 2019;114:76–92.

112. Zampetaki A, Dudek K, Mayr M. Oxidative Stress in Atherosclerosis: The role of microRNAs in arterial remodeling. *Free Radic Biol Med*. 2013;64:69–77.

113. Lu Y, Thavarajah T, Gu W, Cai J, Xu Q. Impact of miRNA in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018;38:E159–E170.

114. Huang RS, Hu GQ, Lin B, Lin ZY, Sun CC. MicroRNA-155 silencing enhances inflammatory response and lipid uptake in oxidized low-density lipoprotein-stimulated human THP-1 macrophages. *J Investig Med*. 2010;58:961–967.

115. Chen T, Huang Z, Wang L, Wang Y, Wu F, Meng S, Wang C. MicroRNA-125a-5p partly regulates the inflammatory response, lipid uptake, and ORP9 expression in oxLDL-stimulated monocyte/macrophages. *Cardiovasc Res*. 2009;83:131–139.

116. Fernández-Hernando C, Suárez Y, Rayner KJ, Moore KJ. MicroRNAs in lipid metabolism. *Curr Opin Lipidol*. 2011;22:86–92.

117. Rotllan N, Price N, Pati P, Goedeke L, Fernández-Hernando C. MicroRNAs in lipoprotein metabolism and cardiometabolic disorders. *Atherosclerosis*. 2016;246:352–360.

118. Dlouha D, Blaha M, Blaha V, Fatorova I, Hubacek JA, Stavek P, Lanska V, Parikova A, Pitha J. Analysis of circulating miRNAs in patients with familial hypercholesterolaemia treated by LDL/Lp(a) apheresis. *Atheroscler Suppl*. 2017;30:128–134.

119. Zampetaki A, Willeit P, Drozdov I, Kiechl S, Mayr M. Profiling of circulating microRNAs: From single biomarkers to re-wired networks. *Cardiovasc Res*. 2012;93:555–562.

120. Prasher D, Greenway SC, Singh RB. The impact of epigenetics on cardiovascular disease. *Biochem Cell Biol*. 2020;98:12–22.

121. Wilson AG. Epigenetic regulation of gene expression in the inflammatory response and relevance to common diseases. *J Periodontol*. 2008;79:1514–1519.

122. Sae-Lee C, Corsi S, Barrow TM, Kuhnle GGC, Bollati V, Mathers JC, Byun HM. Dietary intervention modifies DNA methylation age assessed by the epigenetic clock. *Mol Nutr Food Res*. 2018;62:e1800092.
123. Agha G, Mendelson MM, Ward-Caviness CK, Joehanes R, Huan T, Gondalia R, Salfati E, Brody JA, Fiorito G, Bressler J, et al. Blood leukocyte DNA methylation predicts risk of future myocardial infarction and coronary heart disease. *Circulation*. 2019;140:645–657.
124. Talens RP, Jukema JW, Trompet S, Kremer D, Westendorp RG, Lumey LH, Sattar N, Putter H, Slagboom PE, Heijmans BT, et al. Hypermethylation at loci sensitive to the prenatal environment is associated with increased incidence of myocardial infarction. *Int J Epidemiol*. 2012;41:106–115.
125. Pfeiffer L, Wahl S, Pilling LC, Reischl E, Sandling JK, Kunze S, Holdt LM, Kretschmer A, Schramm K, Adamski J, et al. DNA methylation of lipid-related genes affects blood lipid levels. *Circ Cardiovasc Genet*. 2015;8:334–342.
126. López-Otín C, Blasco MA, Partridge L, Serrano M, Kroemer G. The hallmarks of aging. *Cell*. 2013;153:1194–1217.
127. Pusceddu I, Kleber M, Delgado G, Herrmann W, März W, Herrmann M. Telomere length and mortality in the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. *PLoS ONE*. 2018;13:e0198373.
128. Arbeev KG, Verhulst S, Steenstrup T, Kark JD, Bagley O, Kooperberg C, Reiner AP, Hwang SJ, Levy D, Fitzpatrick AL, et al. Association of leukocyte telomere length with mortality among adult participants in 3 longitudinal studies. *JAMA Netw Open*. 2020;3:e200023.
129. Mundstock E, Sarria EE, Zatti H, Mattos Louzada F, Kich Grun L, Herbert Jones M, Guma FT, Mazzola IMJ, Epifanio M, Stein RT, et al. Effect of obesity on telomere length: Systematic review and meta-analysis. *Obesity*. 2015;23:2165–2174.
130. Tellechea ML, Pirola CJ. The impact of hypertension on leukocyte telomere length: A systematic review and meta-analysis of human studies. *J Hum Hypertens*. 2017;31:99–105.
131. Koriath M, Müller C, Pfeiffer N, Nickels S, Beutel M, Schmidtman I, Rapp S, Münzel T, Westermann D, Karakas M, et al. Relative telomere length and cardiovascular risk factors. *Biomolecules*. 2019;9:192.