Efecto de variantes de los genes ABCB1 y CYP3A4 sobre la respuesta terapéutica a atorvastatina en individuos chilenos hipercolesterolémicos

Alexy Rosales Z^{1, 2, 3}, Luis A. Salazar^{2, 3}

1 Programa de Doctorado en Ciencias, mención Biología Celular y Molecular Aplicada, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile

2 Centro de Biología Molecular y Farmacogenética, Depto. de Ciencias Básicas, Facultad de Medicina, Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

3 Núcleo de Desarrollo Científico - Tecnológico en Biorecursos (BIOREN), Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

Trabajo financiado por Fundación Araucaria & Proyecto DIUFRO D109-1007, Dirección de Investigación y Desarrollo, Universidad de La Frontera.

Recibido el 2 de mayo 2011 / Aceptado el 15 de junio 2011

Rev Chil Cardiol 2011; 31: 113 - 122

Resumen:

Introducción: El tratamiento farmacológico con estatinas es eficaz en el control de la hipercolesterolemia. Sin embargo, su respuesta terapéutica presenta gran variabilidad interindividual. Factores como edad, género y etnia han sido relacionados a esta variabilidad. Además, estudios recientes demuestran que polimorfismos genéticos también pueden influir sobre la respuesta terapéutica a estos hipolipemiantes. Así, el objetivo del presente trabajo fue investigar el efecto de tres polimorfismos de los genes ABCB1 (3435C>T y 2677G>A>T) y CYP3A4 (-290A>G) sobre la respuesta al tratamiento con atorvastatina en individuos chilenos hipercolesterolémicos.

Métodos: Fueron evaluados 94 individuos hipercolesterolémicos adultos, 35 hombres y 59 mujeres, tratados con atorvastatina (10mg/día) durante 4 semanas. Se realizó medición de los niveles séricos de colesterol total, triglicéridos, HDL-c y LDL-c, antes y después del tratamiento. La genotipificación de los polimorfismos se

realizó mediante PCR-RFLP.

Resultados: Después de 4 semanas de tratamiento, se observaron reducciones significativas en los niveles de colesterol total (275 ± 18 vs. 235 ± 22 mg/dL, $p < 0.001$), LDL-c (183 ± 16 vs. 146 ± 24 mg/dL, $p < 0.001$) y triglicéridos (225 ± 48 vs. 172 ± 51 mg/dL, $p < 0.001$). Además, se observó un aumento en las concentraciones de HDL-c (47 ± 10 vs. 55 ± 7 , $p < 0.001$). La distribución de genotipos para el polimorfismo 3435C>T (ABCB1) fue: CC=47.9%, CT= 41.5% y TT=10.6%; para el polimorfismo trialélico 2677G>A>T (ABCB1): AA=1.1%, GA=14.9%, GT=28.7%, TA=9.6%, TT=8.5% y GG=37.2% y para -290A>G (CYP3A4) fue: AA=77.7%, AG= 22.3% y GG=0.0%. Los portadores del alelo G de la variante -290A>G (CYP3A4) presentaron mayor reducción de colesterol total ($p=0.001$) y LDL-C ($p < 0.001$), y un mayor aumento de HDL-c ($p < 0.001$). No se observaron diferencias significativas para los otros dos polimorfismos estudiados.

Conclusión: La respuesta terapéutica a atorvastatina (10mg/día/1mes) es influenciada por la variante -290A>G del gen CYP3A4 en la población estudiada.

Correspondencia:

Dr. Luis Antonio Salazar
Centro de Biología Molecular y Farmacogenética
Departamento de Ciencias Básicas,
Facultad de Medicina,
Universidad de La Frontera.
Av. Francisco Salazar 01145, Casilla 54-D, Temuco
Fono: (45) 592 895 - Fax: (45) 592 832.
Correo Electrónico: lsalazar@ufro.cl

Effect of ABCB1 and CYP3A4 gene polymorphisms on the therapeutic response to atorvastatin in Chilean hypercholesterolemic individuals

Background: statins are effective in the control of hypercholesterolemia. However, the therapeutic response to these drugs presents a great inter-individual variability. Factors such as age, gender and ethnicity have been associated to this variability. Recent studies show that polymorphisms can influence the lipid-lowering response to statins. The aim of the present study was to investigate the effect of three polymorphisms 3435C>T (ABCB1), 2677G>A/T (ABCB1) and -290 A>G (CYP3A4) gene on the response to atorvastatin treatment in Chilean hypercholesterolemic individuals.

Methods: 94 hypercholesterolemic individuals, were treated with atorvastatin, 10mg/day for 4 weeks. We determined serum levels of total cholesterol, HDL-c, LDL-c and triglycerides, before and after treatment. The polymorphisms were analyzed by PCR-RFLP.

Results: Significant reductions were observed in total cholesterol (275 ± 18 vs. 235 ± 22 mg/dL, $p<0.001$), LDL-c (183 ± 16 vs. 146 ± 24 mg/dL, $p<0.001$) and triglycerides levels (225 ± 48 vs. 172 ± 51 mg/dL,

$p<0.001$). In addition, an increase in the HDL-C levels was observed (47 ± 10 vs. 55 ± 7 , $p<0.001$). The genotype distribution for 3535C>T variant of ABCB1 gene was: CC=47.9%, CT=41.5% and TT=10.6%. The genotype distribution for 2677G>A/T polymorphism (ABCB1) was AA=1.1%, GA=14.9%, GT=28.7%, TA=9.6%, TT=8.5% and GG=37.2%. The genotype distribution for -290A>G variant of CYP3A4 gene was: AA=77.7%, AG=22.3% and GG=0.0%. Subjects carrying the G allele for the -290 A>G variant of the CYP3A4 gene, exhibited a greater reduction in total cholesterol ($p=0.001$) and LDL-C levels ($p<0.001$). No differences were observed for the other polymorphisms studied.

Conclusion: This study suggests that the therapeutic response to atorvastatin (10mg/day during 4 weeks) is influenced by the -290 A>G variant of CYP3A4 gene.

Keywords: Polymorphisms; CYP3A4; atorvastatin; ABCB1

Introducción:

Una de las principales causas de muerte a nivel mundial, en ambos sexos, son aquellas vinculadas al aparato circulatorio, en las cuales las alteraciones del metabolismo lipídico son, sin lugar a dudas, el factor de riesgo más importante para el desarrollo de estas, demostrado así la estrecha relación existente entre las concentraciones de colesterol plasmático y enfermedad cardiovascular¹. Según datos epidemiológicos de nuestro país (ENS 2003)², un 55 por ciento de la población tiene riesgo de padecer este tipo de enfermedad y más de un tercio de sus habitantes poseen niveles de colesterol elevado, lo cual sumado a otras patologías crónicas como sobrepeso, obesidad e hipertensión arterial, las cuales afectan en promedio a un 30% de la población, y los consiguientes factores de riesgo asociados como tabaquismo, alcohol y sedentarismo, convierten a los chilenos, en edades cada vez más tempranas, en un blanco perfecto de accidentes cardiovasculares¹⁻³.

Una de las alternativas para ayudar a disminuir las altas tasas de morbilidad y mortalidad por enfermedades cardiovasculares, es tratar farmacológicamente a los

pacientes que presenten niveles elevados de colesterol, los cuales demuestran una significativa disminución de estas tasas, al ser tratados con inhibidores de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA) reductasa o estatinas, terapia farmacológica más utilizada, por su demostrada eficacia para reducir el colesterol sérico con el mínimo de efectos clínicos adversos⁴.

Su mecanismo de acción consiste en inhibir de forma competitiva y reversible la enzima HMG-CoA reductasa que cataliza la biosíntesis de colesterol en el hígado, al bloquear la formación de ácido mevalónico y disminuir la síntesis intracelular de colesterol total; lo que resulta en un aumento compensatorio en la expresión de receptores para LDL en las células hepáticas, disminuyendo los niveles de LDL-c circulante y colesterol total (hasta un 50%); asimismo, originan un modesto descenso de los niveles de triglicéridos (TG) y un ligero aumento de los niveles de HDL-c^{5,6}. Además, junto a los resultados exitosos en el manejo de las hipercolesterolemia, las estatinas han demostrado otros efectos benéficos conocidos como efectos "pleiotrópicos", entre ellos podemos destacar, su acción anti-inflamatoria, anti-trombótica, anti-proliferativa y anti-oxidante^{7,8}.

La prescripción de estatinas es amplia y se establece como terapia de primera línea, tanto en prevención primaria como secundaria. Sin embargo, el beneficio del tratamiento entre pacientes varía considerablemente, y estaría determinado, entre otros factores, por variaciones genéticas⁹. A la fecha, se han investigado más de 40 genes que afectan la respuesta a estatinas¹⁰, relacionados tanto con la farmacocinética (enzimas de metabolización y proteínas de transporte) como con la farmacodinámica del medicamento (receptores y vías de transducción de señal)¹¹. Estas variaciones incluyen a genes que actúan en la absorción intestinal de colesterol como la apolipoproteína E (APOE), transportador de ATP (ABC); la producción de colesterol, como la HMG-CoA reductasa; el metabolismo de las lipoproteínas como la apolipoproteína B y el receptor de LDL, como además, de aquellos que actúan en la vía de la citocromo P450¹²⁻¹⁵.

Las estatinas son metabolizadas por vía hepática, principalmente por la familia de la citocromo P450. La isoforma CYP3A4 es la más importante de esta familia de enzimas. Kajinami et al.¹⁶, en un estudio que evaluó 340 pacientes hipercolesterolémicos, demostraron que polimorfismos del gen CYP3A4 influyen en la respuesta terapéutica a atorvastatina. Además, variantes genéticas asociadas a proteínas transportadoras, ABCB1 o MDR1 (proteína de resistencia a múltiples drogas), que se expresan tanto en hígado, intestino, y riñón; y que serían las primeras en interactuar con el medicamento, también han sido relacionadas con la respuesta a estos fármacos¹⁷. Se ha asociado al polimorfismo trialélico G2677A/T del gen ABCB1 con una reducción en los niveles de LDL-colesterol, al ser tratados con el medicamento pravastatina¹⁸.

Así, el objetivo del presente estudio fue investigar el efecto de tres variantes genéticas sobre la respuesta terapéutica al hipolipemiente atorvastatina (10 mg/día/1 mes) en individuos chilenos hipercolesterolémicos.

Métodos:

Sujetos

Se analizó un total de 94 individuos adultos (35 hombres y 59 mujeres), no relacionados, cuyo rango de edad fluctuó entre 33 y 74 años. La condición clínica para la selección de los participantes en este estudio fue el diagnóstico de hipercolesterolemia primaria (Colesterol total $\geq$ 240 mg/dL) y niveles de LDL-c $\geq$ 190 mg/dL, si tenían entre 0 y 1 factor de riesgo; $\geq$ 160 mg/dL, si tenían 2 o más factores de riesgo o $\geq$ 100 mg/dL si tenían enfermedad coronaria conocida, de

acuerdo a las recomendaciones del National Cholesterol Education Program (NCEP)¹⁹ y que requerían tratamiento farmacológico, debido a que no respondieron a intervención dietaria, indicada por un período previo de 3 meses; todos pertenecientes al Centro de Salud Municipal Federico Thieme, Comuna de Perquenco, Región de La Araucanía.

Los criterios de exclusión del estudio fueron los siguientes: Diabetes mellitus, hipotiroidismo (TSH $>$ 7,5 mU/L), enfermedades hepáticas, enfermedades renales, medicación hipolipemiente al momento de la evaluación, uso de contraceptivos orales o anabolizantes y embarazo. Individuos con terapia concomitante con fibratos y mibefradil (bloqueador de los canales de calcio), también fueron excluidos. A los pacientes que consintieron participar del estudio, se les aplicó un cuestionario sobre historia familiar de enfermedad cardiovascular y antecedentes mórbidos personales.

Los pacientes seleccionados recibieron como tratamiento farmacológico 10 mg/día de atorvastatina por el lapso de un mes. Al término de este período se tomó una nueva muestra de sangre para evaluar sus niveles de lípidos. La adherencia del paciente al tratamiento se verificó por el recuento de los comprimidos no ingeridos al final del mes.

El estudio contó con la aprobación del Comité de Ética Científica del Servicio de Salud Araucanía Sur (Región de La Araucanía, Chile). Todos los participantes firmaron voluntariamente un consentimiento informado.

Determinaciones bioquímicas y antropométricas

Las muestras de sangre fueron obtenidas por venopunción periférica, según técnicas de enfermería habituales, con un ayuno mínimo de 12 h, por medio del sistema de extracción al vacío, tomando dos muestras: una muestra con anticoagulante EDTA (1mg/mL de sangre), para la extracción de material genético (DNA) y otra sin anticoagulante para la obtención de suero, en el cual se realizó las determinaciones bioquímicas. Las muestras fueron tomadas en el mismo Centro Asistencial por personal calificado y transportadas al laboratorio, en cadena de frío (4° C). Las muestras de sangre sin anticoagulante fueron centrifugadas a 2500 rpm (1050 g) por 10 minutos para obtener el suero utilizado en las determinaciones bioquímicas.

Se realizó la medición de colesterol total y triglicéridos por los métodos enzimáticos-colorimétricos CHOD-PAP y GPO-PAP, respectivamente^{20, 21}, en un analizador convencional. El colesterol de las HDL-C se midió previa precipitación selectiva de las LDL y VLDL con ácido fosfotúngstico e iones magnesio por

Tabla 1. Partidores y enzimas de restricción utilizadas para la genotipificación.

Variante	Gen	Secuencia de los partidores	Amplicon (bp)	Enzima de restricción
3435C>T	ABCB1	Sentido: 5'TCCTTAATCTCACAGTAACCTGGCA 3' Antisentido: 5' AGGCCAACATACATGCCTTCAT-3'	302	Mbol
2677G>A	ABCB1	Sentido: 5' TTGTTTTCAGGCTATAGGTCC 3' Antisentido: 5' ATTTAGTTTGACTCACCTTCCCG-3'	200	Rsal
2677G>T	ABCB1	Sentido: 5' TTGTTTTCAGGCTATAGGTCC 3' Antisentido: 5' ATTTAGTTTGACTCACCTTCCCG-3'	200	BshNI
-290A>G	CYP3A4	Sentido: 5'-GAATGAGGACAGCCATAGAGACAAGGGGA-3' Antisentido: 5'-CCTTTCAGCTCTGTGTCTCTTTGCTG-3'	385	Mbol

el método CHOD-PAP²². La concentración de colesterol de las LDL (LDL-C) fue calculada mediante la fórmula de Friedewald et al.²³, cuando la concentración de triglicéridos fue inferior a 400 mg/dL.

Los niveles séricos de glucosa, ácido úrico y creatinina se determinaron mediante métodos enzimático-colorimétricos. La seguridad clínica del tratamiento fue evaluada buscando síntomas de efectos adversos y mediante las determinaciones de actividad sérica de las enzimas ALT, AST, γ -GT y CK. Además, se realizaron mediciones antropométricas de peso, talla e IMC.

Análisis Molecular

El ADN genómico fue extraído de muestras de sangre total anticoaguladas con EDTA (1mg/dL), mediante el método de precipitación salina modificado, descrito por Salazar et al.²⁴. El estudio de las variantes 3435C>T (exón ²⁶, ABCB1), 2677G>A/T (exón 21, ABCB1) y -290A>G (región promotora, CYP3A4) se realizó mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), seguida de restricción enzimática con endonucleasas específicas, utilizando los partidores y condiciones descritas por Cascorbi et al.²⁵, Rodrigues et al.²⁶ y Cavalli et al.²⁷, respectivamente (Tabla 1).

Control de calidad de las determinaciones bioquímicas y moleculares

La exactitud de las determinaciones bioquímicas fue controlada mediante la utilización de un control de calidad interno y un control de calidad externo, Prevecal, con sueros comerciales normales y patológicos (CEMES-BioSystems). La posibilidad de contaminación en los análisis moleculares, fue excluida por la utilización de control de reactivos en cada serie de amplificación. La correcta genotipificación de los polimorfismos estudiados fue confirmada mediante la repetición al azar del 10% de los análisis previamente realizados y la utilización de muestras genotipificadas

previamente para estos polimorfismos, donadas por la Dra. Rosario Hirata, del Laboratorio de Biología Molecular Aplicada al Diagnóstico de la Facultad de Ciencias Farmacéuticas de la Universidad de Sao Paulo (Brasil).

Análisis estadístico

El análisis de los datos obtenidos se realizó utilizando el Programa SigmaPlot 2008, Systat Software Inc., para Windows, versión 11.0 (San José, California, EE.UU.). Se comenzó analizando todas las variables descriptivamente. Se calcularon promedios, desviaciones standard, valores máximos y mínimos.

La asociación entre las diferentes variables analizadas fue comprobada mediante los test "t" de Student pareado o ANOVA. Además, se utilizó el test de Chi-cuadrado (χ^2) para la comparación de proporciones y evaluar el cumplimiento del equilibrio de Hardy-Weinberg. El nivel de significancia estadístico considerado en este estudio fue $P < 0.05$.

Resultados:

En la Tabla 2, podemos observar las características biodemográficas de los sujetos estudiados. Se evaluaron las concentraciones séricas de lípidos, lipoproteínas, glucosa, creatinina y ácido úrico. En esta tabla se puede observar también, que según los niveles basales de colesterol total y LDL-colesterol, todos los individuos reclutados requerían tratamiento farmacológico. En relación al tratamiento, se observó una adherencia de 100% en los 94 sujetos investigados. No se observaron reacciones adversas.

Las concentraciones séricas de lípidos y lipoproteínas, en condiciones basales y post-tratamiento con el hipolipemiente atorvastatina (10mg/día/ 1mes), se resumen en la Tabla 3. El nivel de reducción de colesterol total, LDL-c y triglicéridos fue significativo al término del tratamiento ($p < 0.001$). Además, el fáрма-

Tabla 2. Características biodemográficas de los individuos estudiados.

Parámetros	N=94
Edad, años	58,9 ± 11,1
Hombres/Mujeres, n	35 / 59
IMC, Kg/m ²	25,4 ± 2,6
Glucosa, mg/dL	97,5 ± 9,9
Creatinina, mg/dL	0,98 ± 0,2
Acido úrico, mg/dL	5,4 ± 1,5
Colesterol total, mg/dL	275 ± 18
HDL-c, mg/dL	47 ± 10
LDL-c, mg/dL	183 ± 16
Triglicéridos, mg/dL	225 ± 48

IMC, índice de masa corporal; LDL-c, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL-c, Colesterol de lipoproteínas de alta densidad.

co produjo un aumento significativo de los niveles de HLD-c ($p < 0.001$).

Las Tablas 4, 5 y 6 resumen las distribuciones genotípicas y frecuencias relativas de alelos para las tres variantes genéticas investigadas. Para la variante -290 A>G del gen CYP3A4 (Tabla 4), la distribución de los genotipos fueron las siguientes: AA=77.7% y AG=22.3%; el genotipo mutado GG no fue observado en la población en estudio. La frecuencia para el alelo mutado -290G fue 0.112. En relación al polimorfismo 3435C>T del gen ABCB1, la distribución de genotipos fue: CC= 47.9%; CT= 41.5% y TT= 10.6%, y la frecuencia del alelo mutado 3435T fue 0.313. Para el polimorfismo trialélico 2677 G >A/T del gen ABCB1 (Tabla 6), la distribución genotípica encontrada fue la siguiente: AA= 1%; GA= 14.9%; GT= 28.7%, TA= 9.6%; TT= 8.5% y GG= 37.2%. Las frecuencias de los alelos mutados 2677T y 2677A fueron 0.277 y 0.113, respectivamente. La distribución genotípica para las tres variantes investigadas fue concordante con el equilibrio Hardy-Weinberg ($p > 0.005$).

Al comparar la respuesta terapéutica a la atorvastatina, según los tres polimorfismos investigados (Tablas

Tabla 3. Concentraciones séricas de lípidos, antes y después, de pacientes tratados con el hipolipemiente atorvastatina (10/mg/día/1mes).

Parámetros	Basal	Post-tratamiento	P*
CT, mg/dL	275 ± 18	235 ± 22	< 0.001
HDL-c, mg/dL	47 ± 10	55 ± 6	< 0.001
LDL-c, mg/dL	183 ± 16	146 ± 24	< 0.001
Triglicéridos, mg/dL	225 ± 48	172 ± 51	< 0.001

CT, colesterol total; LDL-c, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL-c, Colesterol de lipoproteínas de alta densidad.

* Test t de Student pareado.

Tabla 4. Distribución de genotipos y frecuencia relativa de alelos para el polimorfismo -290 A>G del gen CYP3A4 en individuos chilenos hipercolesterolémicos.

POLIMORFISMO	GENOTIPOS,%			ALELOS	
-290A>G	AA	AG	GG	A	G
	77.7	22.3	0.0		
	(73)	(21)	(0)	0.888	0.112

Número de individuos en paréntesis.

Equilibrio de Hardy Weinberg: $\chi^2 = 1.48$; $P = 0.22$

Tabla 5. Distribución de genotipos y frecuencia relativa de alelos para el polimorfismo 3435 C>T del gen ABCB1 (MDR1) en individuos hipercolesterolémicos chilenos.

POLIMORFISMO	GENOTIPOS,%			ALELOS	
3435 C>T	CC	CT	TT	C	T
	47.9	41.5	10.6		
	(45)	(39)	(10)	0.686	0.313

Número de individuos en paréntesis.

Equilibrio de Hardy Weinberg: $\chi^2 = 0.12$; $P = 0.72$

7, 8 y 9), podemos observar que sólo el polimorfismo -290 A>G del gen CYP3A4 afecta la respuesta al fármaco. Individuos con el genotipo heterocigoto mutado AG presentan mayor reducción de los niveles séricos de colesterol total y LDL colesterol, y un mayor aumento de los niveles de HDL colesterol ($p < 0.001$).

Tabla 6. Distribución de genotipos y frecuencia relativa de alelos para el polimorfismo 2677 G>T/A del gen ABCB1 en individuos chilenos hipercolesterolémicos.

POLIMORFISMO	GENOTIPOS,%						ALELOS		
G 2677 T/A	GG	GT	TT	GA	TA	AA	G	T	A
	37.2	28.7	8.5	14.9	9.6	1.1			
	(35)	(27)	(8)	(14)	(9)	(1)	0.590	0.277	0.133

Número de individuos en paréntesis. Equilibrio de Hardy Weinberg: $\chi^2 = 1.62$, $P = 0.66$

Tabla 7. Concentraciones séricas de lípidos, antes y después, de sujetos tratados con atorvastatina (10/mg/día/1mes), según genotipos para el polimorfismo -290 A>G del gen CYP3A4.

Parámetros	AA (n=73)	AG (n=21)	P*
CT, mg/dL			
Basal	273 ± 16	283.1 ± 21	0.018
Post-tratamiento	238 ± 21	224.9 ± 23	0.019
Variación, %	-13 ± 9	-20 ± 11	<0.001
HDL-c, mg/dL			
Basal	48 ± 10	44.7 ± 8	0.164
Post-tratamiento	53 ± 7	56.4 ± 5	0.243
Variación, %	+16 ± 13	+29 ± 18	<0.001
LDL-c, mg/dL			
Basal	181 ± 16.3	189 ± 15	0.035
Post-tratamiento	150 ± 22.1	132 ± 26	0.002
Variación, %	-17 ± 12.5	-30 ± 16	<0.001
TG, mg/dL			
Basal	219 ± 42.8	245 ± 59	0.026
Post-tratamiento	169 ± 51.9	184 ± 48	0.231
Variación, %	-23 ± 20.2	-24 ± 19	0.852

CT, colesterol total; LDL-c, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL-c, Colesterol de lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos; * Test t de Student pareado.

Tabla 9. Concentraciones séricas de lípidos, antes y después, de sujetos tratados con atorvastatina (10 mg/día/1mes), según genotipos, silvestre (GG) y mutados (No GG), para el polimorfismo trialélico 2677 G>A/T del gen ABCB1.

Parámetros	GG (n=35)	No GG (n=59)	P*
CT, mg/dL			
Basal	278 ± 19	273 ± 18	0.270
Post-tratamiento	233 ± 23	236 ± 22	0.456
Variación, %	-16 ± 10	-13 ± 9	0.210
HDL-c, mg/dL			
Basal	48 ± 9	47 ± 10	0.784
Post-tratamiento	56 ± 6	55 ± 7	0.407
Variación, %	+19 ± 18	+18 ± 14	0.679
LDL-c, mg/dL			
Basal	184 ± 16	182 ± 17	0.534
Post-tratamiento	141 ± 25	148 ± 24	0.199
Variación, %	-23 ± 14	-18 ± 14	0.128
TG, mg/dL			
Basal	230 ± 52	222 ± 46	0.422
Post-tratamiento	177 ± 48	169 ± 53	0.472
Variación, %	-22 ± 18	-23 ± 21	0.868

CT, colesterol total; LDL-c, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL-c, Colesterol de lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos. *Test t de Student pareado.

Tabla 8. Concentraciones séricas de lípidos, antes y después, de sujetos tratados con atorvastatina (10/mg/día/1mes), según genotipos para el polimorfismo 3435 C>T del gen ABCB1.

Parámetros	CC (n=45)	CT (n=39)	TT (n=10)	P*
CT, mg/dL				
Basal	274 ± 19	275 ± 17	280 ± 17	0.646
Post-tratamiento	232 ± 24	236 ± 22	242 ± 25	0.408
Variación, %	-15 ± 9	-14 ± 9	-13 ± 11	0.834
HDL-c, mg/dL				
Basal	46 ± 9	48 ± 11	47 ± 9	0.683
Post-tratamiento	54 ± 6	56 ± 7	55 ± 5	0.434
Variación, %	+23 ± 17	+18 ± 15	+19 ± 17	0.421
LDL-c, mg/dL				
Basal	183 ± 17	182 ± 17	186 ± 15	0.820
Post-tratamiento	143 ± 23	147 ± 24	150 ± 29	0.642
Variación, %	-21 ± 13	-19 ± 15	-18 ± 19	0.716
TG, mg/dL				
Basal	223 ± 47	224 ± 49	235 ± 47	0.783
Post-tratamiento	175 ± 50	166 ± 52	183 ± 56	0.601
Variación, %	-22 ± 17	-24 ± 23	-23 ± 17	0.873

CT, colesterol total; LDL - C, colesterol de lipoproteínas de baja densidad; HDL - C, Colesterol de lipoproteínas de alta densidad; TG, triglicéridos. *Test de ANOVA.

Discusión:

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son consideradas uno de los mayores problemas de nuestra década, aduciendo que cada año mueren más personas por esta causa que por alguna otra patología en el mundo, calculando que para el año 2015 podrían morir cerca de 20 millones de personas, pues se estima que siga siendo la principal causa de muerte, todo esto amparado en la creciente prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular y el estancamiento de la reducción de muertes por esta causa, sugiriendo que la disminución continua de la tasa de mortalidad cardiovascular, observada en los últimas décadas, podría estar llegando a su fin²⁸.

Ante estas alarmantes noticias, donde las campañas de prevención no están disminuyendo por sí solas estos factores de riesgo, la utilización de tratamiento farmacológico sigue siendo la alternativa de elección ante estas patologías. Pero la diversidad de respuesta presentada por los individuos, respondiendo de manera diferente ante el mismo medicamento, inclusive a las mismas dosis, han llevado a clínicos e investigadores a buscar nuevas alternativas para el éxito terapéutico.

El estudio de variantes genéticas en medicina ha genera-

Figura 1. Respuesta individual de 94 individuos sometidos a tratamiento con atorvastatina (10 mg/día/1mes), considerando las concentraciones de colesterol total (A), de HDL-c (B) y de LDL-c (C) como variables de eficacia.

do nuevas hipótesis con respecto al funcionamiento de las enzimas asociadas al metabolismo y transporte de los fármacos, como también a la etiología de la enfermedad cardiovascular. Por ello, en este estudio, hemos analizado, por primera vez en nuestro país, el efecto de tres polimorfismos presentes en los genes CYP3A4 (-290A>G) y ABCB1 (3435C>T y 2677G>A/T) sobre la respuesta al tratamiento con atorvastatina (10mg/día/1 mes).

El análisis de los datos bioquímicos, demuestra que atorvastatina (10 mg/día/1mes) es eficaz en reducir los niveles séricos de LDL-c (-20% en promedio), principal variable de eficacia. Además, redujo significativamente las concentraciones séricas de colesterol total (-14%) y triglicéridos (-23%), y aumentó significativamente los niveles de HDL-c (+19). Estos datos permiten también confirmar la variabilidad de respuesta a este fármaco (Figura 1).

Desde el punto de vista de distribución genotípica y frecuencias alélicas, nuestros datos demuestran que para el polimorfismo 3435C>T del exón 21 del gen ABCB1, la frecuencia en nuestra población para el alelo salvaje C fue 0.686; siendo similar a la frecuencia reportada por Wielandt et al.²⁹ en etnias mapuche y mestiza de nuestro país, observando frecuencias alélicas de 0.650 y 0.670, respectivamente, para este alelo. Similarmente, Rodríguez et al.²⁶ reportaron una frecuencia de 0.530 para el alelo C en población brasileña hipercolesterolémica. Además, la frecuencia encontrada, en nuestro estudio, para el alelo C de la variante 3435C>T es similar a la observada en población asiática (0.631)³⁰, pero difiere significativamente de la observada en poblaciones de origen caucásico (0.480)^{25, 31}; africano (0.830)³¹, oceánico (0.47)³², afroamericano (0.790)¹⁰ o centroamericano (0.510-0.540)³³.

Con respecto al alelo silvestre G del polimorfismo 2677G>A/T del gen ABCB1, la frecuencia alélica encontrada fue 0.590, levemente inferior a la reportada en poblaciones étnicas chilenas (0.650-0.690)²⁹. Al comparar nuestros resultados con otras poblaciones, podemos observar una similitud con las reportadas por Crettol et al.³⁴ y Cascorbi et al.²⁵, quienes observaron en poblaciones caucásicas frecuencias alélicas de 0.55 y 0.56, respectivamente. En contraste, Yi et al.³⁰ reportaron, en un estudio con 232 individuos de nacionalidad coreana, una frecuencia alélica de 0.440 para este alelo. Por su parte, Rodrigues et al.²⁶, en población brasileña, reportaron una frecuencia de 0.580 para el alelo 2677G, similar a la observada en nuestro estudio (0.590).

En cuanto al polimorfismo -290A>G del gen CYP3A4, el alelo mutado G se encontró en el 11,2% de los individuos estudiados. Al comparar esta frecuencia (0.112) con la reportada por otros estudios, podemos observar una similitud con población brasileña (0.133)²⁷, asiática (0.160)¹⁰ e hispánica (0.093)³⁵, y una diferencia significativa con población americana, tanto de raza blanca (0.360) como negra (0.540)³⁵.

En relación al efecto de los polimorfismos investigados sobre la respuesta terapéutica a atorvastatina, un hallazgo importante en nuestra investigación, fue la relación observada entre la presencia del alelo mutado -290G del gen CYP3A4 y la mejor respuesta terapéutica a atorvastatina en los individuos portadores de esta variante. Se observó una mayor reducción de los niveles de colesterol total y LDL-c, al concluir la terapia farmacológica, en los individuos portadores de este alelo. Además, estos individuos presentaron un mayor aumento de los niveles de HDL-colesterol post-tratamiento. Este resultado es similar al encontrado por

Gao et al.³⁶, en población asiática, quienes observaron que los portadores del alelo mutado G presentaban una mayor reducción de los niveles séricos de colesterol total, al ser tratados con atorvastatina 20 mg/día por 4 semanas. Sin embargo, nuestros datos no coinciden con los resultados obtenidos por Kajinami et al.¹⁶, quienes estudiaron 340 sujetos hipercolesterolémicos tratados por 52 semanas con 10 mg/día de atorvastatina. Estos autores observaron que la presencia de la variante G se asocia a niveles más elevados de LDL-colesterol post-tratamiento.

Por otro lado, nuestros resultados no mostraron efecto de los polimorfismos 3435C>T y 2677G>A/T del gen *ABCB1* sobre la respuesta terapéutica a atorvastatina. Similarmente, Rodrigues et al.²⁶, en población brasileña, no observaron una relación entre la presencia individual de estos polimorfismos y la respuesta a atorvastatina (10 mg/día/1mes). Sin embargo, estos autores consiguieron establecer una asociación entre la reducción de niveles lipídicos de colesterol total y LDL-c, al realizar un análisis de haplotipos, construidos con los alelos de estas dos variantes del gen *ABCB1*.

En resumen, los resultados obtenidos en nuestro estudio sugieren que el polimorfismo -290A>G del gen *CYP3A4* es capaz de modificar la respuesta terapéu-

ca a la atorvastatina (10mg/día/1mes) en la población estudiada. Como es conocido, las estatinas son el fármaco de elección para el tratamiento de la hipercolesterolemia, no sólo por sus excelentes resultados en la disminución de los niveles lipídicos, sino también por la disminución del riesgo cardiovascular. Otro aspecto importante a considerar, es que esta terapia farmacológica es distribuida en todos los servicios de atención médica pública de nuestro país, razón por la cual el conocimiento de las principales rutas del metabolismo de este medicamento es de suma importancia y podría ser un factor indispensable en la decisión del clínico en la correcta elección del tratamiento farmacológico y la dosis a utilizar. Resulta interesante investigar, en un futuro estudio, si este polimorfismo puede influenciar la respuesta a otras dosis de atorvastatina, y también a otras estatinas disponibles en nuestro país. También es importante considerar que este estudio debe ser replicado por otros grupos de investigación, idealmente con un mayor número de sujetos, con el objetivo de evaluar un posible efecto dosis alélica-respuesta, situación que no fue posible estudiar en nuestra población por la ausencia de individuos portadores del genotipo homocigoto GG.

Referencias:

1. LANAS F, AVEZUMA A, BAUTISTA LE, DÍAZ R, LUNA M, ISLAM S, et al. Risk factors for acute myocardial infarction in Latin America: the INTERHEART Latin American study. *Circulation* 2007; 115: 1067-74.
2. MINISTERIO DE SALUD. GOBIERNO DE CHILE. Encuesta Nacional de Salud. 2003
3. MEDINA E, KAEMPFER A. Epidemiology of cardiovascular disease in Chile. *Rev Chil Cardiol* 2007; 26: 219 - 26.
4. NEWMAN CB, PALMER G, SILBERSHATZ H, SZAREK M. Safety of atorvastatin derived from analysis of 44 completed trials in 9,416 patients. *Am J Cardiol* 2003; 92: 692-5
5. VAUGHAN CJ, GOTTO AM, BASSON CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35: 1-10.
6. MARHUENDA E. Estatinas en el tratamiento de dislipidemias. *Ars. Pharmaceutica* 2002; 43: 83-85
7. ECHEVERRI D, BUITRAGO L, MONTES FR. Efecto pleiotrópico de las estatinas características farmacológicas útiles en la prevención tratamiento y regresión de la enfermedad cardiovascular. *Rev Col Cardiol* 2005; 12:103-112.
8. LIAO JK. Beyond lipid lowering: the role of statins in vascular protection. *Int J Cardiol.* 2002; 86: 5-18.
9. NAVARRO-LÓPEZ. F. Bases genéticas de la enfermedad coronaria. *Rev Esp Cardiol* 2002; 55: 413-31.
10. THOMPSON JF, MAN M, JOHNSON KJ, WOOD LS, LIRA ME, LLOYD DB, et al. An association study of 43 SNPs in 16 candidate genes with atorvastatin response. *Pharmacogenomics Journal* 2005; 5: 352-58.
11. NEUVONEN PJ, NIEMI M, BACKMAN JT. Drug interactions with lipid-lowering drug: mechanisms and clinical relevance. *Clin Pharmacol Ther.* 2006; 80: 565-81.
12. SALAZAR LA, HIRATA MH, QUINTÃO EC, HIRATA RDC. Lipid-lowering response of the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin is influenced by polymorphisms in the low-density lipoprotein receptor gene in Brazilian patients with primary hypercholesterolemia. *J Clin Lab Anal* 2000; 14: 125-31.
13. KAJINAMI K, AKAO H, POLISECKI E, SCHAEFER EJ. Pharmacogenomics of statin responsiveness. *Am J Cardiol.* 2005; 96:65K-70K.
14. WANG A, YU BN, LUO CH, TAN ZR, ZHOU G, WANG LS, et al. Ile118Val genetic polymorphism of CYP3A4 and its effects on lipid-lowering efficacy of simvastatin in Chinese hyperlipidemic patients. *Eur J Clin Pharmacol* 2005; 60:843-848.
15. KEROLA T, LEHTIMÄKI, KÄHÖNEN M, NIEMINEN T. Statin pharmacogenomics: lipid response and cardiovascular outcomes. *Curr Cardio Risk Rep* 2010; 4: 150-158.
16. KAJINAMI K, BROUSSEAU ME, ORDOVAS JM, SCHAEFER EJ. CYP3A4 genotypes and plasma lipoprotein levels before and after treatment with atorvastatin in primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2004; 93:104-7.
17. SCHMITZ G, LANGMANN T. Pharmacogenomics of cholesterol-lowering therapy. *Vascul Pharmacol.* 2006; 44:75-89.
18. MEGA JL, MORROW DA, BROWN A, CANNON CP, SABATINE MS. Identification of genetic variants associated with response to statin therapy. *Arterioscler Thromb Vas Biol* 2009; 29:1310-1315.
19. EXECUTIVE SUMMARY OF THE THIRD REPORT OF THE NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA.* 2001; 285: 2486-97.
20. FOSSATI P, MEDICCI R. Abstract Book. International Symposium on Cholesterol Control and Cardiovascular Diseases: Prevention and Therapy. Milan, Italy, 1987. Apud: Bayer Corporation, Diagnostic Division, Tarrytown, N.Y., Cholesterol-Fast color.
21. FOSSATI P, PRINCIPE L. Serum triglycerides determined colorimetrically with an enzyme of low-density lipoprotein cholesterol in plasma without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1982; 28:2077 - 80.
22. BURSTEIN M, SCHOLNICK HR, MORFIN R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res* 1970; 11: 583 - 95.
23. FRIEDEWALD WT, LEVY RI, FREDICKSON DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499 - 502.
24. SALAZAR LA, HIRATA MH, CAVALLI SA, MACHADO MO, HIRATA RD. Optimized procedure DNA isolation from fresh and cryopreserved clotted human blood useful in clinical molecular testing. *Clin Chem* 1998; 44:1748-50.
25. CASCORBI I, GERLOFF T, JOHNE A, MEISEL C, HOFFMEYER S, SCHWAB M, et al. Frequency of single nucleotide

- polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther* 2001; 69:169-74.
26. RODRIGUES AC, REBECCHI IM, BERTOLAMI MC, FALUDI AA, HIRATA MH, HIRATA RDC. High baseline serum total and LDL cholesterol levels are associated with MDR1 haplotypes in Brazilian hypercholesterolemic individuals of European descent. *Braz J Med Biol Res* 2005; 38: 1389-97.
27. CAVALLI SA, HIRATA MH, HIRATA RDC. Detection of MboII polymorphism at the 5' promoter region of CYP3A4. *Clin Chem* 2001; 47: 348-351.
28. ROMERO T, ROMERO CX. Prevención cardiovascular estancada: tendencias alarmantes y barreras socioeconómicas persistentes. *Rev Esp Cardiol* 2010; 63:1340-8.
29. WIELANDT AM, VOLLRATH V, CHIANALE J. Polimorfismos del gen de Resistencia a múltiples drogas (MDR1) en poblaciones chilenas: mapuche, mestiza y maorí. *Rev Méd Chile* 2004; 132:1061-1068.
30. YI SY, HONG KS, LIM HS, CHUNG JY, OH DS, KIM JR, et al. A variant 2677A allele of the MDR1 gene affects fexofenadine disposition. *Clin Pharmacol Ther*. 2004; 76:418-27.
31. AMEYAW MM, REGATEIRO F, LI T, LIU X, TARIQ M, MOBAREK A, et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics*. 2001;11:217-221
32. ROBERTS RL, JOYCE PR, MULDER RT, BEGG EJ, KENNEDY MA. A common P-glycoprotein polymorphism is associated with nortriptyline-induced postural hypotension in patients treated for major depression. *Pharmacogenomics J*. 2002; 2:191-6
33. VICENTE J, SINUES B, FANLO A, VASQUEZ P, MEDINA JC, MARTINEZ-JARRETA B. Polymorphism C3435T of the MDR1 gene in Central Americans and Spaniards. *Mol Biol Rep*. 2008; 35:473-8.
34. CRETOL S, DÉGLON JJ, BESSON J, CROQUETTE-KROKAR M, HÄMMIG R, GOTHUEY I, et al. ABCB1 and cytochrome P450 genotypes and phenotypes: Influence on methadone plasma levels and response to treatment. *Clin Pharmacol Ther* 2006; 80: 668-81.
35. BALL S, SCATINA J, KAO J, FERRON G, FRUNCILLO R, MAYER P, et al Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5' promotor region of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther*. 1999 ;66:288-94
36. GAO Y, ZHANG L, QIANG F. CYP3A4*1G polymorphism is associated with lipid-lowering efficacy of atorvastatin but not of simvastatin. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008 64:877-882.