

IL RUOLO DELLA FARMACOGENETICA NELLA TERAPIA CON STATINE

The role of pharmacogenetics in therapy with statins

Manuela Casula, Jessica Cocchiarella

Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP),
Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DiSFeB), Università degli Studi di Milano

Keywords

Pharmacogenetics
Pharmacogenomics
Statins

Abstract

Statins are a cornerstone of the pharmacologic treatment and prevention of atherosclerotic cardiovascular disease. Inter-individual variability in response to statins with regard to both efficacy and safety is a target for pharmacogenetic research. Many genes have been identified as possible contributors to variability in statin response and safety. Genetic polymorphisms may alter the structure or expression of coded proteins, with potential impacts on lipid and statin absorption, distribution, metabolism, and elimination as well as response pathways related to the pharmacologic effect. Further research and evaluation of clinical value of pharmacogenetic testing are warranted to optimize the use of statins. Research efforts should focus strategically on collecting data that help clarify existing ambiguities and build more robust evidence showing impact on clinical outcomes to advance the use of pharmacogenetics for treatment of dyslipidemia in the future.

Introduzione

La risposta al trattamento farmacologico mostra profonde differenze interindividuali, sia per quanto riguarda gli effetti terapeutici che le reazioni avverse. Tra i principali responsabili di tali differenze, come evidenziato da diversi studi negli ultimi anni, vi sono i fattori di tipo genetico.

Negli ultimi dieci anni è stato registrato un importante aumento delle prescrizioni di statine nel mondo occidentale. In virtù del loro ampio utilizzo, la letteratura scientifica si è arricchita di studi svolti allo scopo di valutare l'efficacia e la sicurezza - e le variazioni interindividuali - dei farmaci appartenenti a questa classe.

Come è ben noto, esistono profonde differenze nella risposta del singolo individuo al trattamento con i farmaci, sia per quanto riguarda gli effetti terapeutici che le reazioni avverse. Questa variabilità può dipendere da fattori di tipo metabolico, di genere e di età o da interazioni con altre sostanze o farmaci, ma negli ultimi due decenni si sono sviluppati molti studi volti ad indagare l'influenza dei fattori di tipo genetico. Basandosi sull'ipotesi che sequenze differenti di nucleotidi dei geni codificanti per proteine che regolano l'assorbimento, il metabolismo e l'eliminazione di un farmaco o altri codificanti recettoriali, secondi messaggeri, potessero giustificare le variazioni inter-individuali nella risposta ai farmaci, sono stati progettati e condotti numerosi studi di farmacogenetica. L'obiettivo di questi studi è sostanzialmente quello di predire, o almeno prevedere, la risposta individuale a un certo principio attivo e a un certo dosaggio tramite un test genetico, ottenendo così una strategia terapeutica ottimale e personalizzata, con minore incidenza di reazioni avverse e migliori risultati terapeutici. Nell'ambito della terapia con statine, i polimorfismi genetici, se presenti a livello di sequenze che codificano per proteine coinvolte nella farmacocinetica e nella farmacodinamica di questi farmaci, possono infatti modificare sia la risposta farmacologica che l'incidenza delle reazioni avverse legate a queste molecole e, di conseguenza, anche l'aderenza alla terapia da parte dei pazienti [1, 2]. Tra i geni più studiati e maggiormente soggetti a polimorfismi, ci sono quelli che codificano per gli enzimi del metabolismo di fase I e per i trasportatori epatici delle statine (**Figura 1**), così come i geni coinvolti nella sintesi e nel trasporto del colesterolo.

Corrispondenza: Manuela Casula. Centro Interuniversitario di Epidemiologia e Farmacologia Preventiva (SEFAP), Dipartimento di Scienze Farmacologiche e Biomolecolari (DiSFeB), Università degli Studi di Milano, via Balzaretti, 9 - 20133 Milano. E-mail: manuela.casula@unimi.it

fica, è il CYP3A4*1B, noto anche come variante A290G o rs2740574. Questa mutazione è presente a livello del promotore del gene e la sua presenza è stata riscontrata nel 52% degli afro-americani, nel 9,6% dei caucasici ma non è stata identificata nella popolazione asiatica [11]. Nonostante in vitro la mutazione sia stata associata ad un'alterazione dell'attività trascrizionale con un aumento della sintesi proteica, in vivo è stata dimostrata una riduzione della funzionalità dell'enzima nei soggetti portatori del polimorfismo. È stato svolto uno studio su 142 individui affetti da ipercolesterolemia, di età media pari a 56 anni, trattati con una dose giornaliera di atorvastatina di 10 mg per un mese. Nei soggetti portatori del polimorfismo la riduzione del colesterolo LDL e del colesterolo totale è stata più significativa [12].

Infine, in uno studio del 2008, sono stati arruolati 416 pazienti di etnia cinese affetti da iperlipidemia al fine di stabilire la variabilità nella risposta ad atorvastatina e simvastatina in presenza del polimorfismo CYP3A4*1G, una variante allelica molto diffusa nelle popolazioni asiatiche. In particolare 217 soggetti sono stati trattati con simvastatina, 199 con atorvastatina. Entrambi i farmaci sono stati somministrati in monoterapia giornaliera alla dose di 20 mg per 4 settimane. I pazienti sono inoltre stati classificati in base al genotipo: omozigoti per l'allele *wild type* (*1/*1), eterozigoti (*1/*1G), omozigoti per l'allele mutato (*1G/*1G). Il polimorfismo CYP3A4*1G influenzava in maniera significativa l'efficacia del trattamento ipolipemizzante con atorvastatina, determinando nei pazienti omozigoti *1G/*1G una riduzione del colesterolo totale superiore rispetto ai soggetti eterozigoti e non portatori dell'allele mutato. Al contrario, per quanto riguarda la terapia con simvastatina, questa associazione non è stata riscontrata. In questo caso, infatti, i soggetti omozigoti per l'allele polimorfico non hanno manifestato una riduzione del colesterolo totale significativamente migliore. Ciò potrebbe essere, in parte, dovuto al differente grado di coinvolgimento del CYP3A4 nel metabolismo delle due molecole [13].

Il citocromo P450 3A5 è localizzato nelle vicinanze del CYP3A4 ed è stato ipotizzato che il metabolismo di simvastatina, lovastatina e atorvastatina sia da attribuire ad entrambe le isoforme enzimatiche. Nonostante la via enzimatica del CYP3A5 non sia quella maggiormente coinvolta nella biotrasformazione delle statine, in letteratura sono presenti vari studi relativi all'associazione tra la variabilità genetica di questo enzima e le differenze inter-individuali nella risposta ad alcune statine. Quando un individuo è portatore di entrambe le copie dell'allele *wild type* del gene (CYP3A5*1/*1), esprime l'enzima CYP3A5 nel fegato e in altri tessuti extraepatici come il piccolo intestino. La variante allelica CYP3A5*3, data dal polimorfismo 6986 A>G nell'introne 3 del gene, è invece associata a ridotta o non rilevabile espressione dell'enzima, rispettivamente nei soggetti eterozigoti (CYP3A5*1/*3) e in quelli omozigoti per l'allele mutato (CYP3A5*3/*3). Questa mutazione è presente nelle popolazioni caucasiche con una frequenza pari a 0,82-0,95, mentre quest'ultima si riduce negli afro-americani (0,33) [14]. In uno studio condotto su 69 pazienti caucasici è stato valutato l'effetto di questo polimorfismo nel metabolismo e nell'efficacia di lovastatina, simvastatina e atorvastatina [15].

I soggetti hanno ricevuto un dosaggio non noto del farmaco e dopo un anno di trattamento sono stati valutati i livelli plasmatici di colesterolo totale e colesterolo LDL. I pazienti portatori dell'allele 1 hanno mostrato, dopo un anno di terapia, livelli plasmatici di colesterolo LDL e colesterolo totale superiori rispettivamente del 24% e 23% rispetto ai pazienti omozigoti per l'allele 3. Inoltre, per questi ultimi, la riduzione del colesterolo totale è stata del 31%, mentre nei pazienti con piena funzionalità enzimatica solo del 17%. Infine, per quanto riguarda la riduzione del colesterolo LDL, essa è stata del 45% nei pazienti omozigoti per l'allele CYP3A5*3 e del 31% per i portatori dell'allele *wild type*. Sempre nell'ambito di questo studio, gli stessi parametri sono stati valutati in 23 pazienti trattati con fluvastatina o pravastatina. In questo caso non sono state rilevate differenze dipendenti dal genotipo. Infatti, sia i pazienti omozigoti per l'allele CYP3A5*3 che i pazienti portatori dell'allele *wild type* CYP3A5*1, hanno mostrato una riduzione del colesterolo LDL e del colesterolo totale rispettivamente del 34% e del 21,5%. La mancanza di una relazione tra il polimorfismo genetico studiato e l'efficacia di queste due molecole deriva dal fatto che fluvastatina e pravastatina non sono soggette a biotrasformazione da parte del CYP3A.

Citocromo P450 2D6 e 2C9

Un primo studio volto a valutare il possibile legame tra i polimorfismi del CYP2D6 e l'efficacia e la tollerabilità della terapia con statine è stato condotto nel 2001 su 88 pazienti affetti da ipercolesterolemia trattati con simvastatina [16]. I soggetti reclutati sono stati caratterizzati dal punto di vista del genotipo, dell'efficacia del trattamento e dell'insorgenza di reazioni avverse. In particolare:

- 54 soggetti erano omozigoti per l'allele *wild type* (wt/wt). La riduzione del colesterolo totale è stata di 0,10 mmol/L per mg di simvastatina e solo 9 pazienti (17%) hanno interrotto la terapia per insorgenza di miopatia.
- 28 soggetti recavano un solo allele mutato (*3, *4 o *5) associato a ridotta attività enzimatica (mut/wt). La riduzione del colesterolo totale è stata di 0,20 mmol/L per mg di simvastatina e 13 pazienti (46%) non hanno tollerato la terapia per l'insorgenza di effetti indesiderati.
- 5 soggetti portavano entrambi gli alleli non funzionanti del gene (mut/mut) e sono stati classificati come *poor metabolizers*. La riduzione del colesterolo totale è stata di 0,23 mmol/L per mg di simvastatina e ben 4 pazienti (80%) hanno interrotto la terapia a causa di eventi avversi.
- 1 soggetto portava copie multiple dell'allele *wild type* (*4/ 2 x N) ed è classificato come *ultra rapid metabolizer*. La riduzione del colesterolo è stata di 0,01 mmol/L e non c'è stata interruzione della terapia.

I soggetti con genotipo wt/wt e quelli con genotipo mut/wt non hanno mostrato differenze significative per quanto riguarda l'efficacia della terapia e il dosaggio di simvastatina richiesto (rispettivamente 25 mg/die e 20 mg/die). I soggetti recanti entrambi gli alleli mutati hanno mostrato invece una maggiore efficacia del trattamento ipolipemizzante poiché, con un dosaggio giornaliero inferiore di simvastatina (10 mg), la riduzione del colesterolo è stata più consistente. Il genotipo wt/wt è stato inoltre correlato alla più alta incidenza di intolleranza.

Un secondo studio è stato svolto nel 2007, arruolando 100 pazienti selezionati all'interno di un istituto clinico specializzato nei disordini lipoproteici [17]. Tutti i soggetti erano in terapia con una statina e 50 di essi erano affetti da miopatia, mentre gli altri 50 sono stati scelti tra coloro che non manifestavano dolore muscolare (gruppo controllo). I partecipanti sono poi stati suddivisi in base al genotipo; in particolare, per quanto riguarda il CYP2D6, sono stati presi in considerazione 30 pazienti in cura con simvastatina e fluvastatina, molecole nel cui metabolismo è parzialmente coinvolto questo enzima. Dal punto di vista del corredo genetico, i soggetti sono stati così suddivisi: 16 omozigoti per l'allele *wild type* (CYP2D6 *1/*1), 13 portatori di almeno un allele mutato del gene (CYP2D6*1/*4 oppure CYP2D6*4/*4) e un *ultrarapid metabolizer* (UM, CYP2D6*2 x N). Di questi 30 soggetti, inoltre, 18 avevano manifestato effetti indesiderati, mentre gli altri 12 appartenevano al gruppo controllo. L'incidenza di tossicità muscolare non era però legata al genotipo a differenza dell'efficacia di simvastatina e fluvastatina nell'abbassare il colesterolo LDL. Infatti, la migliore riduzione si è avuta nei pazienti recanti almeno un allele mutato mentre il peggior effetto ipocolesterolemizzante è stato riscontrato nel paziente UM.

I due SNP più comuni del gene CYP2C9 nella popolazione caucasica sono il CYP2C9*2 e il CYP2C9*3. Il primo determina la sostituzione di una cisteina con una arginina a livello dell'esone 3 e ha una frequenza dell'8%-14%; il secondo porta sempre a una sostituzione amminoacidica (Ile359Leu) ma a livello dell'esone 7 ed è presente nel 4%-11% dei caucasici [18]. Entrambe queste varianti alleliche sono associate a minor attività enzimatica rispetto al citocromo CYP2C9 *wild type*. In un primo studio del 2003 [19] è stato valutato l'impatto del polimorfismo CYP2C9*3 nella farmacocinetica e nell'efficacia di fluvastatina. Sono stati selezionati 24 volontari sani, trattati con 40 mg/die di farmaco per 14 giorni. La farmacocinetica è stata analizzata dopo la prima somministrazione, mentre i livelli lipidici (colesterolo totale e colesterolo LDL) sono stati misurati al giorno 15 e confrontati con quelli basali. In particolare, i soggetti con genotipo CYP2C9 *1/*1, *1/*3 e *3/*3 hanno mostrato valori di area sotto la curva (AUC) rispettivamente crescenti. Più recentemente, è stato svolta un'ulteriore analisi al fine di stabilire una correlazione tra il genotipo CYP2C9 e l'effetto ipolipemizzante della fluvastatina. In primo luogo sono stati reclutati 87 pazienti di

origine ceca, tutti in terapia per la prima volta con fluvastatina [20]. Da questo gruppo, sono stati selezionati 48 pazienti trattati in monoterapia con fluvastatina, scelti quindi sulla base del fatto che non fossero in cura con induttori/inibitori del CYP2C9 o con altri potenziali farmaci ipolipemizzanti, anche da banco. I soggetti recanti il genotipo *1/*3 hanno raggiunto una migliore riduzione del colesterolo totale e LDL rispetto a coloro che portavano il genotipo *wild type* omozigote o *1/*2. La maggior efficacia nella riduzione lipidica non ha trovato, però, un riscontro statisticamente significativo a livello clinico poiché il raggiungimento dei livelli ottimali di colesterolo totale e LDL non era correlabile al genotipo.

Polimorfismi genetici dei trasportatori

OATP1B1

L'assorbimento intestinale e il metabolismo epatico delle statine sono veicolati da diverse classi di proteine trasportatrici. Le statine sono substrato delle proteine appartenenti alla famiglia dei solute carrier organic anion transporter SLCO1B1. I recettori espressi da questo gene sono responsabili del riassorbimento delle statine dal circolo sanguigno agli epatociti, dove vengono metabolizzati. Sono stati individuati polimorfismi che ne alterano l'attività, influenzando la concentrazione plasmatica di farmaco e conseguentemente l'effetto e la tossicità.

Tra i polimorfismi più frequentemente trattati in letteratura ci sono quelli a carico del gene *SLCO1B1*, il quale codifica per il polipeptide trasportatore degli anioni organici OATP1B1, necessario per l'*uptake* delle statine da parte delle cellule epatiche. Sono state identificate due importanti varianti del gene *SLCO1B1*: la sostituzione di una adenina con una guanina in posizione 388 (388A>G) e la sostituzione di una timina con una citosina in posizione 521 (521T>C). Nel primo caso il polimorfismo è associato a un aumento dell'attività del trasportatore e a una minore concentrazione plasmatica del farmaco [21]; nel secondo caso la mutazione, molto comune nelle popolazioni caucasiche e asiatiche, determina invece una ridotta attività della proteina e aumentate concentrazioni plasmatiche della statina [22]. Nonostante tutte le statine siano substrati del trasportatore OATP1B1, gli studi sui polimorfismi del gene *SLCO1B1* hanno mostrato i risultati più significativi nell'ambito della terapia con simvastatina. In generale, l'*uptake* delle statine negli epatociti può essere importante sia in termini di aumento della loro efficacia che di riduzione della concentrazione plasmatica periferica. Quindi, la riduzione della captazione di simvastatina da parte degli epatociti, causata dal polimorfismo *SLCO1B1* 521C, potrebbe portare sia a una diminuzione dell'effetto ipocolesterolemizzante che a un aumento del rischio di effetti avversi sistemici. Per quanto riguarda l'influenza dei polimorfismi sulla farmacocinetica della simvastatina, in uno studio su 32 giovani volontari di origine caucasica è emerso che i soggetti portatori del genotipo *SLCO1B1* 521CC avevano una maggior AUC e una maggiore C_{max} del farmaco attivo rispetto ai portatori del genotipo 521TC e 521TT [23]. In particolare, i soggetti portatori del genotipo 521CC hanno mostrato AUC superiore del 120% e del 221% di quelli portatori del genotipo 521CT e 521TT, rispettivamente. Analogamente, anche i valori di C_{max} si sono rivelati superiori, rispettivamente, del 162% e del 200%. Le associazioni trovate tra la farmacocinetica della forma attiva della simvastatina e i genotipi non sono state riscontrate per la forma lattonica della molecola (profarmaco). Ciò suggerisce che simvastatina nella sua forma acida sia substrato del trasportatore OATP1B1 e necessiti di questo trasportatore attivo per penetrare la membrana dell'epatocita. Al contrario, il profarmaco può raggiungere il citosol cellulare tramite diffusione passiva o attraverso il legame con un trasportatore diverso. Un'importante indagine avente lo scopo di identificare un'associazione tra la variabilità del gene *SLCO1B1* e la miopatia legata all'utilizzo di statine è stata quella condotta nell'ambito dello studio SEARCH (*Study of the Additional Reductions in Cholesterol and Homocysteina*) nel 2008 [24]. Gli autori di questo lavoro hanno eseguito uno studio GWAS in 85 pazienti (casi) che, all'interno di un trial clinico che aveva coinvolto oltre 12.000 partecipanti, avevano sviluppato miopatia dopo trattamento con un dosaggio di 80 mg/die di simvastatina e li hanno confrontati con altri 90 soggetti (controlli) i quali, arruolati nello stesso trial, non avevano sviluppato miopatia. Le analisi genomiche hanno identificato una forte associazione tra la comparsa di miopatia indotta da simvastatina e la presenza del polimorfismo rs4363657 a livello dell'introne 11 del gene *SLCO1B1*. Ulteriori analisi genetiche hanno mostrato che esso si trova in *linkage disequilibrium* con un altro polimorfismo, il rs4149056 (*SLCO1B1* 521T>C) presente in una regione codificante del gene. I soggetti eterozigoti per questa variante allelica (*SLCO1B1* 521CT) hanno un rischio 4,5 volte maggiore di sviluppare miopatia rispetto ai soggetti *wild-type* (*SLCO1B1* 521TT), mentre tale rischio è di 17 volte maggiore per i soggetti omozigoti per la mutazione (*SLCO1B1* 521CC).

A partire da questi dati, sono stati svolti ulteriori studi al fine di confermare la correlazione tra i polimorfismi del gene *SLCO1B1* e la miopatia indotta dall'assunzione di statine. Nello studio STRENGTH (*Statin Response Examined by Genetic Haplotype Markers*) 542 pazienti non ospedalizzati con ipercolesterolemia sono stati randomizzati a ricevere per 8 settimane atorvastatina 10 mg/die o simvastatina 20 mg/die o pravastatina 10 mg/die seguite, rispettivamente, da atorvastatina 80 mg/die o simvastatina 80 mg/die o pravastatina 40 mg/die [25]. Lo scopo era di verificare la comparsa, in qualsiasi momento dello studio, di un evento avverso tra interruzione prematura della somministrazione del farmaco per qualsiasi effetto indesiderato, mialgia o crampi notturni indipendentemente dai valori di creatinichinasi (CK), valori di CK >3 volte rispetto al limite superiore. Sono stati sequenziati o genotipizzati più di 160 potenziali geni candidati; l'attenzione è stata focalizzata su 5 geni (CYP2D6, CYP2C8, CYP2C9, CYP3A e *SLCO1B1*) coinvolti nella farmacocinetica delle statine. La comparsa di un evento avverso tra quelli specificati si è verificata in 99 soggetti, dei quali 54 hanno interrotto la terapia, 49 hanno manifestato mialgia e 9 un aumento dei valori di CK. Inoltre, gli autori hanno notato una maggior diffusione degli eventi avversi nei soggetti di sesso femminile. Per quanto riguarda la correlazione tra la tossicità indotta da statine e il genotipo, i risultati più significativi sono stati quelli ottenuti per il gene *SLCO1B1*, il cui polimorfismo rs4149056 era diffuso maggiormente tra i soggetti che hanno manifestato un evento avverso. Infine, è stata valutata l'incidenza degli eventi avversi sulla base del sesso e del genotipo studiando separatamente i soggetti che hanno assunto le tre statine. In particolare, i pazienti portatori di almeno un allele *SLCO1B1* 522C trattati con simvastatina hanno manifestato una più alta incidenza di eventi avversi rispetto agli omozigoti per l'allele *wild type*. Lo stesso si è verificato per coloro che hanno assunto atorvastatina, anche se la percentuale di reazioni avverse è stata inferiore. Al contrario, i soggetti che hanno assunto la pravastatina hanno mostrato la stessa incidenza di reazioni avverse indipendentemente dal genotipo.

Poiché diversi studi hanno dimostrato il ruolo dei polimorfismi dei geni *SLCO1B1* e *CYP3A4* nella farmacocinetica, nell'efficacia e nell'incidenza di reazioni avverse di alcune statine, nel 2015 è stato condotto uno studio volto a valutare se le combinazioni di queste varianti alleliche possano influenzare le concentrazioni plasmatiche di simvastatina (SV, profarmaco) e della sua forma acida attiva (SVA) [26]. Queste mutazioni, infatti, sono presenti con una buona frequenza nella popolazione ed è quindi possibile che alcuni pazienti siano portatori di più di una variante allelica che influenza il metabolismo e/o il trasporto del farmaco. Per lo svolgimento delle ricerche sono stati reclutati 646 soggetti di etnia sia caucasica che afro-americana, maschi e femmine, di età superiore o uguale a 30 anni. Sono stati esclusi coloro che assumevano altri farmaci ipolipemizzanti, che avevano funzionalità epatiche e renali compromesse, diabete o ipertensione, che abusassero di alcool e che avessero una intolleranza nota alle statine. I partecipanti hanno ricevuto una dose giornaliera di simvastatina pari a 40 mg per 6 settimane e la valutazione delle concentrazioni è stata condotta 12 ore dopo la somministrazione. L'allele CYP3A4*22 era associato alla concentrazione plasmatica di SV dopo 12 ore dalla somministrazione, mentre gli alleli CYP3A5*3 e *SLCO1B1* 521C non lo erano in maniera significativa. In particolare, i partecipanti recanti l'allele CYP3A4*22 hanno mostrato una concentrazione plasmatica dopo 12 ore superiore del 58% rispetto a coloro i quali presentano un genotipo non mutato (CYP3A4*1/*1). Per quanto riguarda invece la concentrazione plasmatica di SVA, essa era correlata alla presenza dei genotipi mutati *SLCO1B1* 521T/C e *SLCO1B1* C/C, i quali ne hanno determinato un aumento rispettivamente del 71% e del 248% se confrontati con i soggetti omozigoti per l'allele *wild type*. Tenendo in considerazione questi risultati, i partecipanti allo studio sono stati suddivisi in tre gruppi in relazione all'entità del rapporto tra la concentrazione plasmatica di SVA e quella del profarmaco che ci si aspetta essi esprimano in base al genotipo. In particolare:

1. Soggetti portatori delle varianti CYP3A4*22 e *SLCO1B1* 521 TT (4% dei partecipanti): il rapporto SVA/SV plasmatico è <1, quindi basso.
2. Soggetti portatori delle varianti CYP3A4*1/1* e *SLCO1B1* 521T/T oppure le varianti CYP3A4*1/*22 e *SLCO1B1* 521C (79% dei partecipanti): il rapporto SVA/SV nel plasma è circa uguale a 1, quindi intermedio.

3. Soggetti portatori delle varianti *CYP3A4**1/*1 e *SLCO1B1* 521C (17% dei partecipanti): il rapporto SVA/SV nel plasma è >1, quindi alto.

In primo luogo, questo studio ha prodotto risultati coerenti con quelli ottenuti precedentemente per quanto riguarda le varianti genetiche del *CYP3A4* e del *SLCO1B1* considerate indipendentemente l'una dall'altra. Il polimorfismo *CYP3A4**22 è stato associato a maggiore efficacia della simvastatina ma non all'aumento dell'incidenza di miopatia, mentre il gene *SLCO1B1* 521C è stato correlato ad aumentata tossicità ma non a miglior attività terapeutica. I pazienti appartenenti al terzo gruppo hanno il rapporto rischio/beneficio meno favorevole e richiedono un monitoraggio continuo durante la terapia oppure l'utilizzo di un farmaco alternativo. Infatti, poiché esprimono l'allele *CYP3A4**1/*1, questi soggetti richiedono un dosaggio maggiore di simvastatina per avere la stessa efficacia nel ridurre il colesterolo. Ciò comporta, però, un rischio molto elevato di tossicità muscolare dovuta alla contemporanea espressione del polimorfismo *SLCO1B1* 521C. Al contrario i pazienti del gruppo 1 avranno un rapporto rischio/beneficio favorevole poiché, in virtù del loro genotipo, richiedono la dose più bassa di simvastatina ai fini dell'efficacia.

Glicoproteina-P e Breast Cancer Resistance Protein

Un'altra famiglia di trasportatori coinvolti nella variabilità della risposta alle statine è quella che comprende le proteine ABC (*ATP Binding Cassette*), di cui fanno parte la glicoproteina-P (Pgp) e la *Breast Cancer Resistance Protein* (BCRP). Si tratta di trasportatori di efflusso, presenti a livello sia intestinale che epatico.

La glicoproteina-P è codificata dal gene *ABCB1*, la cui variabilità consiste in 3 principali SNP (C3435T, 1236C>T, 2677G>T) ed è stata analizzata da diversi autori. Uno dei primi studi è stato condotto nel 2004 su 344 pazienti trattati con una dose giornaliera di atorvastatina pari a 10 mg, per 52 settimane [27]. La risposta farmacologica era associata al polimorfismo C3435T (rs1045642) e al sesso. In particolare, nelle donne, questa variante allelica ha determinato una minore efficacia del farmaco in termini di riduzione del colesterolo LDL. Al contrario, in un altro studio, il polimorfismo 3435T era associato ad una diminuita stabilità dell'mRNA di *ABCB1* che, di conseguenza, porta ad una ridotta espressione del trasportatore [28]. Un'ulteriore indagine è stata svolta nel 2005 e ha coinvolto 116 pazienti affetti da ipercolesterolemia trattati con una dose di simvastatina di 20 mg/die per 6 mesi [29]. I pazienti portatori del polimorfismo 1236C>T (rs1128503) hanno mostrato un'aumentata efficacia del farmaco in termini di riduzione del colesterolo totale (29%) e LDL (39,6%) rispetto ai pazienti portatori dell'allele *wild type* (24,2% e 33,8%, rispettivamente). L'alterata efficacia osservata negli studi precedenti è stata successivamente supportata da uno studio svolto sulla popolazione finlandese, nel quale sono state considerate 3 varianti alleliche del gene *ABCB1* in *linkage disequilibrium* fra loro: 1236C>T (rs1128503), 2677G>T (rs2032582), 3435C>T (rs1045642) [30]. Lo scopo era quello di confrontare gli effetti dei due aplotipi CGC (1236C-2677G-3435C) e TTT (1236T-2677T-3435T) nella farmacocinetica di 20 mg/die di simvastatina e atorvastatina somministrate a 24 pazienti bianchi in salute. In primo luogo, il genotipo *ABCB1* non influenzava in maniera significativa i parametri farmacocinetici della forma lattonica della simvastatina mentre, per quanto riguarda la SVA, i soggetti omozigoti per l'aplotipo TTT mostravano un AUC superiore del 60% rispetto ai soggetti CGC/CGC. Nel caso della forma attiva della atorvastatina, il genotipo TTT/TTT era associato non solo ad una AUC superiore del 55%, ma anche ad una emivita prolungata del 24% rispetto al genotipo CGC omozigote.

Il polimorfismo più comune del gene *ABCG2*, codificante per la proteina BCRP, è la sostituzione di una C con una A in posizione 421 (421C>A), presente nel 15-36% della popolazione asiatica [31]. Alcuni studi hanno riportato un'associazione tra questo polimorfismo e i parametri farmacocinetici della rosuvastatina [32, 33], dell'atorvastatina e della fluvastatina [34]. In tutti e tre i casi, i soggetti omozigoti per la variante 421A del gene hanno manifestato un aumento dei livelli di esposizione al farmaco. In particolare nello studio condotto da Zhang nel 2006, sono stati reclutati 7 soggetti con genotipo *ABCG2* 421CC e 7 recanti almeno un allele mutante del gene. L'AUC e la C_{max} del farmaco erano rispettivamente superiore dell'80% e del 90% nel gruppo

dei soggetti 421CA o 421AA, se confrontati con corrispondenti valori del gruppo di soggetti omozigoti per l'allele *wild type*. L'emivita e il tempo di raggiungimento della C_{max} invece non variavano significativamente. Lo studio di Tomlinson del 2010 è stato svolto allo scopo di verificare se il polimorfismo 421C>A del gene *ABCG2*, influenzando i parametri farmacocinetici della rosuvastatina, ne influenzasse anche l'efficacia nel ridurre il colesterolo LDL. L'indagine è stata condotta in un gruppo di 305 pazienti cinesi affetti da ipercolesterolemia, trattati con 10 mg/die di farmaco. La variante genetica 421A era associata in modo significativo all'azione ipocolesterolemizzante della rosuvastatina. Infatti, rispetto ai soggetti omozigoti per l'allele *wild type*, i pazienti portatori del genotipo 421AA hanno mostrato una riduzione del colesterolo LDL superiore del 6,9%, ottenendo un effetto paragonabile a quello fornito da un dosaggio doppio della stessa statina.

In base ai risultati ottenuti dagli studi svolti sui geni *ABCB1* e *ABCG2*, è possibile affermare che, in presenza di polimorfismi che compromettono la funzionalità dei trasportatori, aumenta l'assorbimento orale e si riduce la clearance epatica delle statine. Pertanto, determinate varianti alleliche sono associate ad una maggiore esposizione al farmaco da cui può risultare un migliore effetto farmacologico. Nonostante diverse ricerche abbiano confermato una correlazione tra i polimorfismi genetici dei trasportatori di efflusso e i parametri farmacocinetici delle statine, soltanto uno studio ha valutato il ruolo di tali geni nella sicurezza di questi farmaci [29]. In particolare, è emerso che su 116 pazienti trattati con 20 mg di simvastatina, 15 hanno interrotto la terapia a causa di dolori muscolari. Sempre nell'ambito dello stesso studio, è emerso che la frequenza con cui si riscontra l'aplotipo *ABCB1* TTT è inferiore nei pazienti non affetti da mialgia.

Polimorfismi genetici a livello della biosintesi e del trasporto del colesterolo

HMG-CoA reduttasi

L'enzima 3 idrossi-3-metilglutaril-coenzima A reduttasi (HMGCR), bersaglio delle statine, è una glicoproteina di membrana degli epatociti. L' HMGCR catalizza la reazione di ossidoriduzione che converte il mevalonato in 3-idrossi-3-metilglutaril-CoA, precursore del colesterolo. La reazione rappresenta la tappa limitante nella biosintesi del colesterolo. È stato dimostrato che polimorfismi nel gene che codifica per l'enzima determinano una diversa risposta al trattamento farmacologico ipolipemizzante.

Il gene che codifica per l'enzima HMG-CoA reduttasi (HMGCR) è polimorfico: le sue varianti possono alterare la velocità di biosintesi del colesterolo e portare ad una variabilità nella risposta alla terapia con statine. In uno studio su 1536 pazienti trattati con 40 mg/die di pravastatina per 24 settimane, sono stati analizzati 148 SNP a livello di dieci geni candidati coinvolti nel metabolismo lipidico. In particolare sono stati individuati due polimorfismi, entrambi nel gene *HMGCR*, che si manifestano con una frequenza del 6,7% nella popolazione e sono strettamente legati alla risposta alle statine. Il primo (SNP 12, rs17244841) consiste nella sostituzione di una adenina con una timina, il secondo (SNP 29, rs17238540) nella sostituzione di una timina con una guanina. Sono stati analizzati i pazienti eterozigoti per l'allele mutato (SNP 12 AT; SNP 29 TG) e confrontati con i pazienti omozigoti per l'allele *wild type* (SNP 12 AA; SNP 29 TT) in termini di riduzione del colesterolo totale e LDL. Per entrambi i polimorfismi, il genotipo eterozigote era associato a una riduzione del colesterolo totale e del colesterolo LDL inferiore, rispettivamente, del 22% e del 19% rispetto al genotipo omozigote per l'allele non mutato. Non sono presenti, invece, differenze significative per quanto riguarda l'aumento del colesterolo HDL associato alla terapia con pravastatina [35]. Questi dati sono stati confermati da uno studio del 2008, nel quale è emerso che il 51% dei pazienti eterozigoti per il polimorfismo 29 non ha raggiunto l'obiettivo terapeutico di riduzione del colesterolo, mentre questa percentuale si riduceva al 29% nel caso dei pazienti SNP 29 TT. Inoltre i soggetti eterozigoti (TG) hanno mostrato una minore efficacia terapeutica in termini di riduzione del colesterolo totale (-32,3% vs -37,1%) e dei livelli di trigliceridi [36].

Un altro studio è stato svolto nel 2008 allo scopo di confrontare la risposta al trattamento con 40 mg/die di simvastatina, per 6 settimane, in 326 uomini afro-americani e 596 pazienti caucasici. In particolare è stato indagato il genotipo dei partecipanti per verificare la presenza dell'aplotipo 7 (H7), costituito dagli SNP 12, 29 e 20144 in *linkage disequilibrium* tra loro. Poiché la presenza di questo aplotipo è associata alla razza, i soggetti neri e bianchi sono stati analizzati separatamente. Gli afro-americani recanti l'aplotipo 7 hanno mostrato una risposta significativamente ridotta alla simvastatina in termini di riduzione del colesterolo LDL rispetto ai soggetti non portatori dei polimorfismi. È stato successivamente analizzato anche l'aplotipo H2 (dato dalla

combinazione di 11 SNP del gene *HMGCR*) e gli autori hanno verificato che esso determina una minore riduzione del colesterolo LDL, in modo specifico nei soggetti neri. Sempre nella popolazione afro-americana, sono state rilevate associazioni simili tra i due aplotipi e la riduzione di colesterolo totale. Infine, è stato studiato l'impatto della combinazione di questi due aplotipi a livello del genoma di 272 soggetti, 260 dei quali erano portatori di H7 o H2, mentre 12 erano portatori entrambi gli aplotipi. In primo luogo questi pazienti hanno mostrato livelli basali di colesterolo LDL inferiori del 6% rispetto a coloro che non portano mutazioni nel genotipo. Inoltre è stata rilevata una minore riduzione del colesterolo LDL, principalmente tra gli afro-americani, mentre non sono emerse differenze nella risposta farmacologica di bianchi e neri non portatori degli aplotipi H2 e H7 [37].

Cholesterol Ester Transfer Protein

La Cholesteryl ester transfer protein è una proteina citoplasmatica responsabile del trasferimento degli esteri del colesterolo dalle HDL alle lipoproteine ricche di trigliceridi, con conseguente riduzione dei livelli di HDL. Il polimorfismo rs1532624 (C>A) è stato associato a diversa efficacia ipolipemizzante delle statine.

Nonostante la proteina CETP (*Cholesterol Ester Transfer Protein*) non sia un target farmacologico delle statine, essa svolge un ruolo molto importante nel trasporto del colesterolo al fegato e nel trasferimento dei trigliceridi dalle LDL alle HDL. I polimorfismi a livello del gene *CETP* possono influenzare i livelli di colesterolo, l'incidenza di eventi clinici (infarto del miocardio, ictus) e la risposta terapeutica alle statine. In un primo studio (*The Regression Growth Evaluation Statin Study Group-REGRESS*) è stato analizzato il DNA di 807 pazienti uomini affetti da patologia aterosclerotica per la presenza del polimorfismo di restrizione *Taq1B* a livello dell'introne 1 del gene *CETP* [38]. I partecipanti all'indagine sono stati, quindi, suddivisi in tre gruppi genotipici: omozigoti per la presenza del sito di restrizione (B1B1), omozigoti per l'assenza del sito di restrizione (B2B2) ed eterozigoti (B1B2). I pazienti sono stati trattati per due anni con pravastatina oppure con placebo allo scopo di verificare la risposta in termini di andamento della patologia coronarica in base al genotipo. In particolare quest'ultimo aspetto è stato valutato considerando la variazione del diametro arterioso. Nel gruppo placebo i portatori del genotipo B1B1 hanno mostrato una più elevata concentrazione plasmatica di CETP e più bassi livelli di HDL, così come una più veloce progressione della patologia aterosclerotica, rispetto ai soggetti B1B2 e B2B2. Quest'ultimo genotipo, infatti, è associato a bassi livelli di CETP e a maggiore concentrazione di colesterolo HDL. Nel gruppo di pazienti che hanno assunto il farmaco, la terapia farmacologica rallentava la progressione della patologia nei pazienti B1B1 ma non nei B2B2. Inoltre, dopo un periodo di follow-up di 10 anni, è stata valutata la mortalità dei partecipanti allo studio. Questa era maggiore nei pazienti portatori dell'allele B2; considerando la morte per cause relative alla aterosclerosi, il rischio per i soggetti B1B1, B1B2, B2B2 era rispettivamente del 5%, 8% e 15% [39].

Un'ulteriore ricerca del 2003 ha valutato questo polimorfismo del gene *CETP* in risposta al trattamento con 10 o 80 mg/die di simvastatina in 217 pazienti diabetici, ottenendo risultati simili ai precedenti [40]. I soggetti portatori del genotipo B1B1 avevano un profilo lipidico basale più aterogeno ma hanno risposto meglio alla terapia farmacologica, con un aumento della concentrazione di colesterolo HDL pari al 7,2%, rispetto al 6,1% e allo 0,5% dei pazienti B1B2 e B2B2. Questi risultati suggeriscono che il trattamento con statine può essere più utile nei soggetti portatori del genotipo B1B1 nonostante, in assenza della terapia ipolipemizzante, i pazienti B2B2 abbiano un rischio di progressione di malattia coronarica più basso.

L'associazione tra lo SNP *Taq1B*, i livelli di colesterolo HDL ed il rischio di malattia coronarica è stata ulteriormente valutata nel 2005 in una metanalisi (n=13.677), dalla quale, tuttavia, non è emersa alcuna evidenza di un'interazione tra il polimorfismo e la terapia con pravastatina [41].

Più recentemente, sono state identificate altre varianti regolatorie nel gene *CETP* [42]:

- uno SNP nell'esone 9 che può originare allo *splicing* un'isoforma proteica non funzionale o una proteina negativa dominante, la quale interferisce con la funzionalità delle proteine *wild type*;
- vari polimorfismi (ad esempio rs247616) nelle regioni *enhancer* e promotore che alterano la trascrizione genica.

Entrambe le varianti sono significativamente associate ai livelli di colesterolo e al rischio cardiovascolare sesso-dipendente, mentre la loro associazione con la risposta

alla terapia con statine è attualmente in fase di studio. Ci sono buone probabilità che ulteriori studi sul gene *CETP* possano fornire le conoscenze necessarie per lo sviluppo di un test clinico capace di identificare a priori i soggetti nei quali una terapia con statine ha scarsa probabilità di successo.

Apolipoproteina E

L'ApoE ha un ruolo molto importante nel modulare i livelli di lipoproteine circolanti poiché, legandosi ai lipidi e ai recettori delle lipoproteine, influenza la loro produzione e la loro velocità di eliminazione. Il gene che codifica per l'ApoE può essere espresso in tre differenti alleli: E2, E3 (*wild type*) ed E4, con affinità crescente nei confronti del recettore LDL.

In uno studio su pazienti che seguivano una dieta ricca di grassi, specifici polimorfismi del gene ApoE erano associati con lo sviluppo di infarto del miocardio. In particolare, un elevato apporto di grassi saturi era correlato a un aumento del rischio cardiaco del 49% nei soggetti con genotipo *wild type*, mentre nei pazienti portatori degli alleli E2 ed E4 il rischio era aggravato dalla variante genetica [43]. Una ricerca ARIC (*Atherosclerosis Risk In Communities*) ha inoltre dimostrato che sia gli americani bianchi sia gli afro-americani recanti l'allele E2 hanno livelli più alti di colesterolo HDL, livelli più bassi di colesterolo LDL e uno spessore minore dell'intima-media rispetto ai pazienti *wild type*. Il contrario avviene nel caso dei soggetti portatori dell'allele E4 [44].

Altri studi hanno mostrato che l'allele E4 è associato a una ridotta risposta alla terapia con statine rispetto all'allele E2, il quale è presente con maggiore frequenza nei soggetti che rispondono meglio al trattamento. In particolare, nei soggetti portatori dell'allele E4 è stata riscontrata una bassa aderenza terapeutica causata da una ridotta risposta alle statine o dall'incidenza di effetti indesiderati [45]. Riguardo alla terapia con fluvastatina, al genotipo omozigote *wild type* (E3/E3) è stata attribuita un'aumentata efficacia in termini di riduzione del colesterolo totale (20,4% vs 15,4%) e LDL (28,7% vs 22,7%), rispetto ai genotipi 3/4 o 4/4. Inoltre il genotipo 2/3 è associato ad un maggiore aumento dei livelli di HDL (19,1% vs 4,3%) in risposta alla terapia con fluvastatina rispetto al genotipo *wild type*, 3/4 o 4/4 [46].

Ulteriori ricerche svolte al fine di correlare il genotipo ApoE alla risposta terapeutica ipolipemizzante includono uno studio del 2001 nel quale sono stati reclutati 328 uomini e donne trattati con 10 mg/die di atorvastatina per un anno. Per quanto riguarda i livelli lipidici basali, non sono state riscontrate differenze tra i due sessi. Nel gruppo dei soggetti di sesso maschile, i portatori dell'allele E2 hanno mostrato, rispetto ai portatori degli alleli E3 e E4, una maggiore efficacia ipolipemizzante del farmaco in termini di riduzione del colesterolo totale (34%), LDL (44%) e trigliceridi (27%) [47]. Ciò nonostante, la miglior efficacia nei pazienti E2 non si è rivelata significativa in un successivo studio svolto su 401 uomini e donne trattati con pravastatina (20 mg/die per 16 settimane). Questa indagine ha infatti mostrato che, quando vengono presi in considerazione altri fattori come indice di massa corporea, età o sesso, la diversità genotipica non è più associata alla variabilità nella risposta al farmaco [48].

Mutazioni del gene LDLR

Lo studio delle mutazioni del gene che codifica per il recettore delle LDL (LDLR) è particolarmente rilevante nell'ambito dell'ipercolesterolemia familiare (*familial hypercholesterolemia*, FH), poiché esse sono la principale causa dell'insorgenza di questa patologia ereditaria, clinicamente caratterizzata da elevati livelli di colesterolo LDL e da alto rischio di sviluppare una patologia coronarica in età precoce. Sono state individuate più di 1600 mutazioni nel gene *LDLR*, suddivise in cinque gruppi sulla base dei diversi effetti fenotipici che ne possono derivare:

- Classe I: sono solitamente mutazioni non senso, delezioni di lunghi tratti e mutazioni a livello del promotore che non portano alla sintesi di una proteina rilevabile.
- Classe II: sono mutazioni caratterizzate da alleli difettosi che portano a completo (IIa) o parziale (IIb) blocco del trasporto dei recettori LDL dal reticolo endoplasmatico all'apparato del Golgi durante la loro sintesi.
- Classe III: sono mutazioni che portano ad un legame difettoso delle LDL al recettore.

Un certo grado di variabilità nella risposta alle statine è stato osservato per mutazioni a carico del recettore per le LDL, il cui malfunzionamento aumenta i livelli di colesterolo LDL circolante, e di PCSK9, una proteina responsabile della degradazione del recettore, per cui mutazioni con guadagno di funzione riducono la quantità di recettori espressi a livello della membrana.

- Classe IV: sono mutazioni che portano ad una ridotta internalizzazione delle LDL dopo il legame con il recettore.
- Classe V: sono mutazioni che compromettono il riciclaggio dei recettori LDL in seguito all'endocitosi.

È noto che la variabilità inter-individuale nella risposta al trattamento ipolipemizzante è maggiore nei pazienti affetti da FH rispetto a quella osservata negli studi che prendono in considerazione la popolazione generale. A questo proposito sono stati condotti diversi studi con lo scopo di valutare l'associazione tra il tipo di mutazione del gene *LDLR* e la risposta al trattamento farmacologico ipolipemizzante. Santos ha valutato la risposta al trattamento farmacologico in 156 pazienti brasiliani affetti da ipercolesterolemia familiare, classificati in tre gruppi sulla base delle mutazioni presenti nel gene *LDLR*: mutazioni di classe I o IIa (gruppo 1); mutazioni di classe IIb, III, IV, V (gruppo 2); nessuna mutazione (gruppo 3) [49]. Sono stati osservati livelli basali più elevati di colesterolo totale e LDL nei soggetti del gruppo 1, rispetto a quelli appartenenti ai gruppi 2 e 3. Inoltre, dopo un anno di terapia, anche la percentuale dei pazienti del gruppo 1 che hanno raggiunto una concentrazione di colesterolo LDL <130 mg/dL era la più bassa.

Un ulteriore studio è stato svolto da Alonso su pazienti spagnoli al fine di valutare la correlazione tra il tipo di mutazione del gene *LDLR* e lo sviluppo di una patologia cardiovascolare prematura, ovvero un evento che si verifica prima dei 55 anni negli uomini e prima dei 65 nelle donne [50]. In questo caso è risultato che i pazienti recanti mutazioni di classe I e IIa avevano un rischio maggiore, ma non sono state rilevate differenze nei livelli di colesterolo LDL tra i pazienti recanti mutazioni differenti.

Nello studio di Miltiadous è stata valutata la risposta ad una terapia con atorvastatina per 12 settimane in 49 pazienti greci affetti da FH. I partecipanti sono stati suddivisi in due gruppi, a seconda che recassero nel gene *LDLR* la mutazione di classe V G1775A o una delle mutazioni di classe II G1646A e C858A [51]. È stato osservato che nei portatori della mutazione di classe V si ha una maggiore riduzione del colesterolo LDL rispetto ai soggetti portatori di una mutazione di classe II. Nel 2002 è stato svolto in Canada uno studio randomizzato in doppio cieco per valutare l'effetto terapeutico della simvastatina alla dose di 20 mg/die per 6 settimane, in relazione alle mutazioni del gene *LDLR* [52]. Sono stati selezionati 64 pazienti adolescenti con FH, di cui 47 trattati con il farmaco e 17 costituenti il gruppo placebo. Gli autori hanno rilevato livelli basali più elevati di colesterolo totale e LDL così come una maggiore efficacia terapeutica ipocolesterolemizzante nei pazienti con una mutazione del gene *LDLR* di classe I e IIa. Risultati praticamente opposti sono emersi, invece, da uno studio analogo condotto in Spagna nel 2001 su 55 pazienti trattati con 20 mg/die di simvastatina per 6 settimane. I soggetti con una mutazione di classe I o IIa hanno mostrato una minore riduzione del colesterolo LDL e nessuna differenza in termini di valori lipidici basali è stata rilevata tra i pazienti recanti mutazioni di classe diversa [53]. Infine, anche due studi svolti nel Regno Unito hanno dato risultati significativi. Nel primo sono stati arruolati 109 pazienti e trattati con 40 mg/die di simvastatina [54]. I soggetti portatori di una mutazione "severa" (classe I o IIa) mostravano una minore possibilità di raggiungere livelli di colesterolo LDL inferiori a 160 mg/dL, rispetto a coloro che presentavano mutazioni "lievi" del gene *LDLR*. Nel secondo studio, condotto su 42 pazienti affetti da FH, è stato osservato che i livelli di colesterolo LDL registrati sia al basale che in seguito alla terapia con simvastatina, erano più elevati nei pazienti che presentavano una mutazione severa del gene *LDLR* [55].

Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9

Le statine inducono l'espressione del fattore di trascrizione SREBP-2 (*Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2*), il quale attiva il gene (*Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9, PCSK9*) che a sua volta codifica per una proteina che regola (attraverso la degradazione) il numero di recettori LDL a livello della superficie cellulare. Poiché le statine inibiscono l'enzima HMG-CoA reduttasi e regolano indirettamente l'espressione dei recettori LDL aumentando la clearance del colesterolo LDL dal plasma, un polimorfismo del gene *PCSK9* potrebbe causare una variazione della risposta al trattamento con statine. A questo proposito, un primo studio è stato condotto da Berge [56]. Sono

stati genotipizzati 479 pazienti, dei quali 441 ipocolesterolemici e 38 ipercolesterolemici: nel primo gruppo 6 soggetti (16%) erano eterozigoti per un polimorfismo del gene *PCSK9* (R46L, G106R o R237W), mentre nel secondo nessun paziente era portatore di una mutazione. Confrontando i risultati ottenuti, i polimorfismi erano associati a ipocolesterolemia. Gli autori di questo studio hanno inoltre sottolineato l'importanza di classificare i polimorfismi del gene *PCSK* in base al fatto che determinino un guadagno o una perdita di funzionalità, poiché gli effetti sulla risposta terapeutica alle statine risultano opposti nei due casi. Dato che normalmente l'enzima *PCSK9* ha il compito di degradare i recettori LDL epatici per regolarne la quantità, le mutazioni genetiche che riducono la funzionalità della proteina portano ad un aumento dei recettori e a conseguente ipocolesterolemia. Nel caso invece in cui la presenza di una mutazione porti ad un aumento dell'attività di degradazione dei recettori da parte dell'enzima, il risultato sarà l'ipercolesterolemia. In entrambi i casi ci si aspetta che la variabilità genetica influenzi l'efficacia delle statine.

Conclusioni

Le statine sono farmaci ampiamente prescritti e molto efficaci nel trattamento delle patologie cardiovascolari. Poiché esiste una grande variabilità nella risposta clinica ipolipemizzante, così come nell'incidenza delle reazioni avverse, sono stati svolti diversi studi farmacogenetici allo scopo di correlare la variabilità genetica alla risposta alle statine (**Tabella 1**). Dal momento che le statine sono metabolizzate principalmente a livello epatico dagli enzimi del citocromo P450, alcuni studi si sono focalizzati sulla ricerca di una relazione tra i numerosi polimorfismi genetici di queste proteine e l'efficacia delle statine. Le varianti del *CYP3A4* A-290 G e M445T, così come l'allele *CYP3A5** 3 sono stati correlati a una alterata risposta ipolipemizzante e a alterati livelli di colesterolo LDL. Inoltre, i soggetti *poor metabolizers* per il gene *CYP2D6* hanno mostrato ridotto metabolismo di alcune statine e conseguenti livelli più bassi di colesterolo LDL.

Tabella 1 Effetti delle varianti genetiche associate alla risposta alle statine.

Gene	Mutazione / variante	Effetti	Risultati
<i>CYP3A4</i>	A290G M445T	Alterazione del metabolismo e della efficacia di atorvastatina	- La variante A290G causa ridotta risposta e più alti livelli di C-LDL - La variante M445T mostra livelli più bassi di C-LDL
<i>CYP3A5</i>	Allele <i>CYP3A5</i> *3	Ridotta espressione del <i>CYP3A5</i> e alterazione dell'efficacia di alcune statine (lovastatina, simvastatina, atorvastatina)	L'allele <i>CYP3A5</i> *3 porta a maggiore riduzione del C-LDL rispetto all'allele <i>CYP3A5</i> *1
<i>CYP2D6</i>	<i>CYP2D6</i> mut/mut	Alterazione del metabolismo e della efficacia di simvastatina	I PM portatori dell'allele mut/mut mostrano una maggior riduzione del C-LDL e una maggiore incidenza di effetti collaterali rispetto ai portatori del genotipo <i>wild type</i> (wt/wt)
<i>SLCO1B1</i>	521T>C	Ridotto trasporto di simvastatina, atorvastatina, rosuvastatina e pravastatina	- Aumentata area sotto la curva (AUC) delle statine - Aumentato rischio di miopatia indotta da statine
	Aplotipo 15 (521T>C e 388A>G)	Ridotto trasporto di varie statine	Aumentata AUC plasmatica delle statine
<i>ABCB1</i>	3435C>T	Alterato efflusso di simvastatina e atorvastatina	Ridotta funzione e più elevati livelli di AUC delle statine nei portatori dei genotipi TTT rispetto ai non portatori
	1236C>T 2677G>A/T	Alterato efflusso di simvastatina	- I portatori della variante 1236T mostrano maggiore riduzione del C-LDL. - Risultati simili per i portatori della variante 2677A/T
<i>ABCG2</i>	421C>A	Limitato assorbimento di rosuvastatina, atorvastatina e simvastatina	Il polimorfismo 421AA mostra aumentata AUC delle statine rispetto al genotipo 421CC
<i>APOE</i>	E2, E3, E4	- Alterati livelli di HMG-CoA reduttasi - Alterata risposta lipidica alle statine - Ridotta incidenza di eventi CV	- L'allele E4 è associato a minore riduzione del C-LDL. - Livelli inferiori di C-LDL nei portatori dell'allele E2 rispetto ai non portatori
<i>CETP</i>	Taq1B (genotipi B1B1, B1B2, B2B2)	- Variazioni nel trasferimento lipidico - Elevati livelli di CETP e bassi livelli di C-HDL - Ridotta incidenza di eventi CV	- Il genotipo B1B1 è stato associato a ridotti livelli di C-HDL e ad aumentato rischio di patologia coronarica rispetto ai portatori del genotipo B2B2. - Ridotta progressione dell'aterosclerosi nei portatori del genotipo B1B1 in terapia con statine rispetto ai portatori del genotipo B2B2
<i>HMGCR</i>	SNP 12 SNP 29	Ridotta risposta alla terapia con statine	I portatori dello SNP 12 o delle SNP 29 mostrano una minore riduzione del colesterolo totale e LDL rispetto ai non portatori

Altri importanti geni associati a una variazione nella risposta ipolipemizzante alle statine sono l'*HMGCR* e l'*APOE*. In particolare molti studi hanno confermato l'impatto degli SNP 12 e 29 del gene *HMGCR* nell'alterare l'efficacia delle statine e lo stesso accade nel caso dei polimorfismi ApoE E2/E3/E4. Altri geni coinvolti sono *SLCO1B1*, *CETP*, *ABCB1* e *ABCG2* (*BRCP*). I sistemi di trasporto ABC e OATP sono coinvolti nell'assorbimento e nella distribuzione delle statine. Sono stati ampiamente studiati i polimorfismi del gene *SLCO1B1* 388A>G e 521T> e quest'ultimo in particolare era associato ad una riduzione del trasporto, con conseguente aumento di AUC di alcune statine. Inoltre alcuni studi hanno anche confermato un legame tra questo polimorfismo e l'aumentato rischio di miopatia indotta da statine. Per quanto riguarda il gene *ABCB1* sono stati analizzati in modo più approfondito i polimorfismi 3435C>T e 1236C>T, mentre per quanto riguarda il gene *ABCG2* alcuni autori hanno riportato una riduzione dell'attività di trasporto ed un aumento della AUC delle statine nei portatori del polimorfismo 421C>A. Infine alcuni studi hanno evidenziato che la variante Taq1B del gene *CETP* è associata ad una riduzione dei livelli plasmatici di colesterolo HDL e ad una variabilità nell'efficacia della terapia. Sono ancora poche le conoscenze sul contributo delle varianti di altri geni (*GATM*, *LDLR*, *PCSK9*).

Bibliografia

- [1] Maxwell WD, Ramsey LB, Johnson SG, et al. Impact of Pharmacogenetics on Efficacy and Safety of Statin Therapy for Dyslipidemia. *Pharmacotherapy* 2017; 37(9): 1172-1190.
- [2] Kitzmiller JP, Mikulik EB, Dauki AM, et al. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects. *Pharmacogenomics and personalized medicine* 2016; 9: 97-106.
- [3] Bolego C, Baetta R, Bellosta S, et al. Safety considerations for statins. *Current opinion in lipidology* 2002V 13(6): 637-644.
- [4] Klein K, Thomas M, Winter S, et al., PPARA: a novel genetic determinant of CYP3A4 in vitro and in vivo. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2012; 91(6): 1044-1052.
- [5] Wang D, Guo Y, Wrighton SA, et al. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *The pharmacogenomics journal* 2011; 11(4): 274-286.
- [6] AIFA, Rapporto Osmed 2015 <http://www.aifa.gov.it/content/luso-dei-farmaci-italia-rapporto-osmed-2015>.
- [7] Tsamandouras N, Dickinson G, Guo Y, et al. Identification of the effect of multiple polymorphisms on the pharmacokinetics of simvastatin and simvastatin acid using a population-modeling approach. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2014; 96(1): 90-100.
- [8] Kitzmiller JP, Luzum JA, Baldassarre D, et al. CYP3A4*22 and CYP3A5*3 are associated with increased levels of plasma simvastatin concentrations in the cholesterol and pharmacogenetics study cohort. *Pharmacogenetics and genomics* 2014; 24(10): 486-491.
- [9] Elens L, Becker ML, Haufroid V, et al. Novel CYP3A4 intron 6 single nucleotide polymorphism is associated with simvastatin-mediated cholesterol reduction in the Rotterdam Study. *Pharmacogenetics and genomics* 2011; 21(12): 861-866.
- [10] Ragia G, Kolovou V, Tavidou A, et al. No effect of CYP3A4 intron 6 C>T polymorphism (CYP3A4*22) on lipid-lowering response to statins in Greek patients with primary hypercholesterolemia. *Drug metabolism and personalized therapy* 2015; 30(1): 43-48.
- [11] Ball SE, Scatina J, Kao J, et al. Population distribution and effects on drug metabolism of a genetic variant in the 5' promoter region of CYP3A4. *Clinical pharmacology and therapeutics* 1999; 66(3): 288-294.
- [12] Rosales A, Alvear M, Cuevas A, et al. Identification of pharmacogenetic predictors of lipid-lowering response to atorvastatin in Chilean subjects with hypercholesterolemia. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2012; 413(3-4): 495-501.
- [13] Gao Y, Zhang LR, Fu Q, CYP3A4*1G polymorphism is associated with lipid-lowering efficacy of atorvastatin but not of simvastatin. *European journal of clinical pharmacology* 2008; 64(9): 877-882.
- [14] Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al., Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature genetics* 2001; 27(4): 383-391.
- [15] Kivisto KT, Niemi M, Schaeffeler E, et al. Lipid-lowering response to statins is affected by CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2004; 14(8): 523-525.
- [16] Mulder AB, van Lijf HJ, Bon MA, et al. Association of polymorphism in the cytochrome CYP2D6 and the efficacy and tolerability of simvastatin. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2001; 70(6): 546-551.
- [17] Zuccaro P, Mombelli G, Calabresi L, et al. Tolerability of statins is not linked to CYP450 polymorphisms, but reduced CYP2D6 metabolism improves cholesterolemia response to simvastatin and fluvastatin. *Pharmacological research* 2007; 55(4): 310-317.
- [18] Scordo MG, Aklilu E, Yasar U, et al. Genetic polymorphism of cytochrome P450 2C9 in a Caucasian and a black African population. *British journal of clinical pharmacology* 2001; 52(4): 447-450.
- [19] Kirchheiner J, Kudlicz D, Meisel C, et al. Influence of CYP2C9 polymorphisms on the pharmacokinetics and cholesterol-lowering activity of (-)-3S,5R-fluvastatin and (+)-3R,5S-fluvastatin in healthy volunteers. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2003; 74(2): 186-194.
- [20] Buzkova H, Pechandova K, Danzig V, et al. Lipid-lowering effect of fluvastatin in relation to cytochrome P450 2C9 variant alleles frequently distributed in the Czech population. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research* 2012; 18(8): CR512-517.
- [21] Mwinyi J, Johne A, Bauer S, et al. Evidence for inverse effects of OATP-C (SLC21A6) 5 and 1b haplotypes on pravastatin kinetics. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2004; 75(5): 415-421.
- [22] Niemi M, Transporter pharmacogenetics and statin toxicity. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2010; 87(1): 130-133.
- [23] Pasanen MK, Fredrikson H, Neuvonen PJ, et al. Different effects of SLCO1B1 polymorphism on the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2007; 82(6): 726-733.
- [24] Group SC, Link E, Parish S, et al. SLCO1B1 variants and statin-induced myopathy—a genomewide study. *The New England journal of medicine* 2008; 359(8): 789-799.

- [25] Vora D, Koboldt DC, King CR, et al. A polymorphism in the VKORC1 regulator calumenin predicts higher warfarin dose requirements in African Americans. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2010; 87(4): 445-451.
- [26] Luzum JA, Kitzmiller JP, Isackson PJ, et al. GATM polymorphism associated with the risk for statin-induced myopathy does not replicate in case-control analysis of 715 dyslipidemic individuals. *Cell metabolism* 2015; 21(4): 622-627.
- [27] Kajinami K, Brousseau ME, Ordovas JM, et al. Polymorphisms in the multidrug resistance-1 (MDR1) gene influence the response to atorvastatin treatment in a gender-specific manner. *The American journal of cardiology* 2004; 93(8): 1046-1050.
- [28] Wang D, Johnson AD, Papp AC, et al. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenetics and genomics* 2005; 15(10): 693-704.
- [29] Fiegenbaum M, da Silveira FR, Van der Sand CR, et al. The role of common variants of ABCB1, CYP3A4, and CYP3A5 genes in lipid-lowering efficacy and safety of simvastatin treatment. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2005; 78(5): 551-558.
- [30] Keskitalo JE, Kurkinen KJ, Neuvoneni PJ, et al. ABCB1 haplotypes differentially affect the pharmacokinetics of the acid and lactone forms of simvastatin and atorvastatin. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2008; 84(4): 457-461.
- [31] Robey RW, To KK, Polgar O, et al. ABCG2: a perspective. *Advanced drug delivery reviews* 2009; 61(1): 3-13.
- [32] Tomlinson B, Hu M, Lee VW, et al. ABCG2 polymorphism is associated with the low-density lipoprotein cholesterol response to rosuvastatin. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2010; 87(5): 558-562.
- [33] Zhang W, Yu BN, He YJ, et al. Role of BCRP 421C>A polymorphism on rosuvastatin pharmacokinetics in healthy Chinese males. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry* 2006; 373(1-2): 99-103.
- [34] Keskitalo JE, Zolk O, Fromm MF, et al. ABCG2 polymorphism markedly affects the pharmacokinetics of atorvastatin and rosuvastatin. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2009; 86(2): 197-203.
- [35] Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, et al. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *Jama* 2004; 291(23): 2821-2827.
- [36] Donnelly LA, Doney AS, Dannfald J, et al. A paucimorphic variant in the HMG-CoA reductase gene is associated with lipid-lowering response to statin treatment in diabetes: a GoDARTS study. *Pharmacogenetics and genomics* 2008; 18(12): 1021-1026.
- [37] Krauss RM, Mangravite LM, Smith JD, et al. Variation in the 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme a reductase gene is associated with racial differences in low-density lipoprotein cholesterol response to simvastatin treatment. *Circulation* 2008; 117(12): 1537-1544.
- [38] Kuivenhoven JA, Jukema JW, Zwinderman AH, et al. The role of a common variant of the cholesteryl ester transfer protein gene in the progression of coronary atherosclerosis. The Regression Growth Evaluation Statin Study Group. *The New England journal of medicine* 1998; 338(2): 86-93.
- [39] Regieli JJ, Jukema JW, Grobbee DE, et al. CETP genotype predicts increased mortality in statin-treated men with proven cardiovascular disease: an adverse pharmacogenetic interaction. *European heart journal* 2008; 29(22): 2792-2799.
- [40] van Venrooij FV, Stolk RP, Banga JD, et al. Common cholesteryl ester transfer protein gene polymorphisms and the effect of atorvastatin therapy in type 2 diabetes. *Diabetes care* 2003; 26(4): 1216-1223.
- [41] Boekholdt SM, Sacks FM, Jukema JW, et al. Cholesteryl ester transfer protein TaqIB variant, high-density lipoprotein cholesterol levels, cardiovascular risk, and efficacy of pravastatin treatment: individual patient meta-analysis of 13,677 subjects. *Circulation* 2005; 111(3): 278-287.
- [42] Papp AC, Pinsonneault JK, Wang D, et al. Cholesteryl Ester Transfer Protein (CETP) polymorphisms affect mRNA splicing, HDL levels, and sex-dependent cardiovascular risk. *PLoS one* 2012; 7(3): e31930.
- [43] Huang Y, Mechanisms linking apolipoprotein E isoforms with cardiovascular and neurological diseases. *Current opinion in lipidology* 2010; 21(4): 337-345.
- [44] Volcik KA, Barkley RA, Hutchinson RG, et al., Apolipoprotein E polymorphisms predict low density lipoprotein cholesterol levels and carotid artery wall thickness but not incident coronary heart disease in 12,491 ARIC study participants. *American journal of epidemiology* 2006; 164(4): 342-348.
- [45] Ordovas JM, Mooser V, The APOE locus and the pharmacogenetics of lipid response. *Current opinion in lipidology* 2002; 13(2): 113-117.
- [46] Ballantyne CM, Herd JA, Stein EA, et al. Apolipoprotein E genotypes and response of plasma lipids and progression-regression of coronary atherosclerosis to lipid-lowering drug therapy. *Journal of the American College of Cardiology* 2000; 36(5): 1572-1578.
- [47] Pedro-Botet J, Schaefer EJ, Bakker-Arkema RG, et al. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner. *Atherosclerosis* 2001; 158(1): 183-193.
- [48] Pena R, Lahoz C, Mostaza JM, et al. Effect of apoE genotype on the hypolipidaemic response to pravastatin in an outpatient setting. *Journal of internal medicine* 2002; 251(6): 518-525.
- [49] Santos RD and Maranhao RC, What is new in familial hypercholesterolemia? *Current opinion in lipidology* 2014; 25(3): 183-188.
- [50] Alonso R, Mata N, Castillo S, et al. Cardiovascular disease in familial hypercholesterolaemia: influence of low-density lipoprotein receptor mutation type and classic risk factors. *Atherosclerosis* 2008; 200(2): 315-321.
- [51] Miliadous G, Xenophontos S, Bairaktari E, et al. Genetic and environmental factors affecting the response to statin therapy in patients with molecularly defined familial hypercholesterolaemia. *Pharmacogenetics and genomics* 2005; 15(4): 219-225.
- [52] Vohl MC, Szots F, Lelievre M, et al. Influence of LDL receptor gene mutation and apo E polymorphism on lipoprotein response to simvastatin treatment among adolescents with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 2002; 160(2): 361-368.
- [53] Chaves FJ, Real JT, Garcia-Garcia AB, et al. Genetic diagnosis of familial hypercholesterolemia in a South European outbred population: influence of low-density lipoprotein (LDL) receptor gene mutations on treatment response to simvastatin in total, LDL, and high-density lipoprotein cholesterol. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism* 2001; 86(10): 4926-4932.
- [54] Heath KE, Gudnason V, Humphries SE, et al. The type of mutation in the low density lipoprotein receptor gene influences the cholesterol-lowering response of the HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin in patients with heterozygous familial hypercholesterolaemia. *Atherosclerosis* 1999; 143(1): 41-54.
- [55] Sun XM, Patel DD, Knight BL, et al. Influence of genotype at the low density lipoprotein (LDL) receptor gene locus on the clinical phenotype and response to lipid-lowering drug therapy in heterozygous familial hypercholesterolaemia. The Familial Hypercholesterolaemia Regression Study Group. *Atherosclerosis* 1998; 136(1): 175-185.
- [56] Berge KE, Ose L and Leren TP, Missense mutations in the PCSK9 gene are associated with hypocholesterolemia and possibly increased response to statin therapy. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 2006; 26(5): 1094-1100.