

Polimorfismi del DNA correlabili al metabolismo degli inibitori di HMG-CoA reduttasi (STATINE)

Codici prescrizione: 2 ricette

1) DA160 - DA161- LA646 X 6 (nota: STAT1)

2) LA646 X 8 (nota: STAT2)

Polimorfismi analizzati:

HMGCR -911C>A	rs3761740
HMGCR Ile585Val (A>G)	rs5908
SLCO1B1	rs4363657
SLCO1B1 T521C	rs4149056
CYP3A4*22	rs35599367
CYP2C8 *7/*8	rs72558195
APOA1 -75G>A	rs1799837
APOB R3500Q	rs5742904
CETP	rs1532624

PON A575G (Gln192Arg)	rs662
PON1 C-108T	rs705379
CYP2C9*2 (C>T)	rs1799853
CYP2C9*3 (A>C)	rs1057910
CYP3A4*1B	rs2740574
CYP3A5*3	rs776746
ABCB1 C3435T	rs1045642
MRP2 (ABCC2) Val1188Glu (T>A)	rs17222723
MRP2 (ABCC2) Cys1515Tyr (G>A)	rs8187710
ABCC2 C-24T	rs717620

Razionale

METABOLISMO delle Statine

La concentrazione plasmatica del farmaco e quindi la sua efficacia, dipendono dalla velocità con cui il farmaco viene degradato dall'organismo. D'altro canto, una maggiore e più prolungata esposizione a dosi elevate di principio attivo sono spesso causa di effetti collaterali importanti. Determinare la capacità metabolica del paziente è quindi indispensabile per definire il corretto dosaggio terapeutico.

Tutte le statine, salvo la *pravastatina*, sono metabolizzate dal citocromo P450, in particolare dagli isoenzimi CYP3A4 e CYP2C9, in parte minore da CYP3A5 e CYP2C8. La caratterizzazione dei polimorfismi funzionali in tali geni serve a stabilirne la funzionalità. La *pravastatina* essendo idrosolubile non viene metabolizzata dal

sistema dei citocromi e di conseguenza può rappresentare un'alternativa appropriata quando la simvastatina è controindicata o non tollerata.

SNPs funzionali più frequenti per gli isoenzimi del citocromo p450 sono:

- CYP2C9: *2 (rs1799853) e *3 (rs1057910). Gli alleli *2 e *3 determinano riduzione dell'attività enzimatica. In caso di presenza dei polimorfismi è consigliabile una riduzione del dosaggio del farmaco.

- CYP3A4: *1B (rs2740574) e *22 (rs35599367). Sebbene l'allele *1B sia associato a un aumento dell'attività trascrizionale del gene *in vitro* (Amirimani B et al), è stata dimostrata *in vivo* una riduzione della funzionalità del citocromo 3A4 associata ad aumento della concentrazione plasmatica di atorvastatina e della sua attività farmacologica sulla riduzione del colesterolo totale (Rosale et al 2012).

L'allele *22 comporta la riduzione dell'attività metabolica del citocromo.

Alcuni studi hanno dimostrato che l'attività del CYP3A4 in pazienti con genotipo CC è 1.7 e 2.5 volte maggiore di quella dei portatori dei genotipi CT e TT. I soggetti con l'allele T richiedono un dosaggio inferiore di statine per raggiungere l'effetto terapeutico ottimale. (Wang et al 2011)

- CYP3A5: *3 (rs776746). L'allele *3 è caratterizzato dalla sostituzione di una adenina con una guanina nell'introne 3. Tale sostituzione comporta un difetto di splicing e l'inserimento di un codone prematuro di stop con mancata espressione della proteina CYP3A5. Il genotipo omozigote *3 (GG) è presente nel 90% della popolazione caucasica. La presenza del nucleotide A caratterizza l'allele *1 (AA): quando presente, anche solo in eterozigosi, determina un forte incremento dell'espressione del CYP3a5, con conseguente aumento della capacità metabolica. (Schuetz EG et al 2004)

- CYP2C8: *7 e *8 (rs72558195). La sostituzione di una citosina con una timina o guanina nella posizione 556 del messaggero del CYP2C8 determina rispettivamente la perdita dell'attività del citocromo (*7), a causa della formazione di un codone di stop, e la riduzione dell'attività enzimatica, dovuta alla sostituzione di una arginina con una glicina (*8).

Mutazione/SNP ricercata

Genotipo

Significato clinico

Presente

CYP2C9*2 (C430T) - rs1799853 -	T/T	L'allele T comporta una riduzione dell'attività metabolica del citocromo.	SI
CYP2C9*3 (A1075C) - rs1057910 -	C/C	L'allele C comporta una riduzione dell'attività metabolica del citocromo	SI
CYP3A4*1B (-392A>G) - rs2740574 -	G/G	L'allele G, nonostante sia associato a un incremento dell'attività trascrizionale del gene, correla con una riduzione della funzionalità enzimatica in vivo che determina un aumento dell'attività farmacologica dell' atorvastatina sulla riduzione del colesterolo totale.	SI
CYP3A4*22 (C15389T) - rs35599367 -	T/T	L'allele T è associato a una riduzione dell'espressione e dell'attività del citocromo. Ridurre il dosaggio.	SI
CYP3A5*3 (A6986G) - rs776746-	A/A	L'allele A è associato a aumento dell'espressione e dell'attività del citocromo.	NO
CYP2C8*7/*8 (C556T-G) - rs72558195-	T/T – G/G	L'allele T comporta perdita di attività del citocromo L'allele G è associato a riduzione dell'attività del citocromo.	SI

TRASPORTATORI delle Statine

L'assorbimento intestinale e il metabolismo epatico delle statine è veicolato da diverse classi di proteine trasportatrici. Un ruolo importante è svolto dalla Multidrug resistance-associated protein 2, una pompa di efflusso di membrana. Alcuni polimorfismi nel gene della MRP2 (ABCC2) comportano un'alterazione della sua funzionalità che può riflettersi in una variazione dell'efficacia del farmaco e nella comparsa di reazioni avverse. (Elens L et al, 2012; Michel R et al 2011)

<u>Mutazione/SNP ricercata</u>	<u>Genotipo</u>	<u>Significato clinico</u>	<u>Presente</u>
ABCB1 C3435T - rs1045642 -	T/T	L'allele T comporta una minore funzionalità del trasportatore e conseguentemente maggiori effetti collaterali (mialgia). Il <u>genotipo CC</u> risulta associato con una ridotta risposta alla atorvastatina	SI
MRP2 (ABCC2) Val1188Glu (T>A) - rs17222723 -	A/A	L'allele A comporta una minore funzionalità del trasportatore con accumulo di substrato nella cellula. Probabili effetti collaterali	SI
MRP2 (ABCC2) Cys1515Tyr (G>A) - rs8187710 -	A/A	L'allele A comporta una minore funzionalità del trasportatore con accumulo di substrato nella cellula. Probabili effetti collaterali	SI
ABCC2 C-24T - rs717620 -	T/T	L'allele T è associato a una riduzione dell'espressione del trasportatore, minore efficienza di efflusso del farmaco dalla cellula	SI

Le statine sono anche 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 dei polimorfismi che ne alterano l'attività, influenzando la concentrazione plasmatica di farmaco e conseguentemente l'effetto e la tossicità. Il polimorfismo Val174Ala interferisce con la localizzazione del trasportatore a livello della membrana degli epatociti: quando è presente la variante Ala (allele C), l'assorbimento di farmaco dal sangue agli epatociti viene rallentato. Ciò determina un aumento di concentrazione plasmatica di statine e maggior rischio di sviluppare miopatia.

Un polimorfismo in *linkage disequilibrium* con il precedente è l' rs4363657 che ricade nella regione non codificante del gene SLCO1B1. La presenza dell'allele C comporta un maggior rischio di sviluppare tossicità indotta da trattamento con statine. (Notarangelo MF et al 2012, Wilke et al 2012).

Mutazione/SNP ricercata

Genotipo

Significato clinico

Presente

SLCO1B1 Val174Ala (T>C) - rs4149056 -	C/C	l'allele C è associato a un aumento di concentrazione plasmatica di statine e a conseguente miopia	SI
SLCO1B1 (T>C) - rs4363657 -	C/C	l'allele C è associato a miopia indotta da trattamento con statine	SI

BERSAGLIO delle Statine

L'enzima 3 idrossi-3-metilglutaril- coenzima A reductasi (HMGCR) 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.

Le statine hanno come bersaglio molecolare l'enzima HMGCR: inibendone l'attività, aiutano a ridurre i livelli di colesterolo prodotti dalla cellula.

E' stato dimostrato che polimorfismi nel gene che codifica per l'enzima determinano una diversa risposta al trattamento farmacologico ipolipidemizzante.

Il polimorfismo HMGCR -911C>A (rs3761740) ricade nella regione del promotore del gene e determina un aumento dell'attività trascrizionale. E' stato dimostrato che soggetti portatori dell'allele mutato (A) hanno un rischio maggiore di sviluppare infarto del miocardio (Keller L et al.2010)

Un altro polimorfismo è invece associato a una maggior risposta al trattamento con statine. L' HMGCR Ile585Val -A>G- (rs5908) comporta la sostituzione di una adenina con una guanina, che si traduce nello scambio di una isoleucina con una valina nella catena aminoacidica dell'enzima. Tale sostituzione risulta associata a una risposta più efficace al trattamento con statine, sia in termini di riduzione del colesterolo totale che di LDL-C (Poduri et al, 2010)

Mutazione/SNP ricercata

Genotipo

Significato clinico

Presente

HMGCR -911C>A - rs3761740 -	A/A	l'allele A è aumento dell'attività trascrizionale del gene, associato a maggior rischio di infarto del miocardio	SI
HMGCR Ile585Val (A>G) - rs5908 -	G/G	l'allele G è associato a risposta più efficace al trattamento con statine, sia in termini di riduzione del colesterolo totale che di LDL-C	SI

ALTRI GENI CORRELATI A IPERCOLESTEROLEMIA

L' **Apolipoproteina A1** (APOA1) costituisce la maggiore componente proteica associata alle HDL.

la funzione dell' Apo A1 non è solo quella di consentire il trasporto sanguigno del colesterolo esterificato, ma anche quella di riconoscere i recettori specifici per le HDL di cui sono dotate le membrane di alcune cellule. Poiché APOA1 esercita un ruolo importante nel trasporto inverso del colesterolo, veicolando il lipide in eccesso dai tessuti periferici al fegato, bassi livelli sierici di APOA1/HDL rappresentano un ben conosciuto fattore di rischio di patologie delle arterie coronariche (Shanker J et al 2008).

Un frequente polimorfismo del gene APOA1 localizzato nella regione del promotore, -75G>A (rs1799837), modula l'espressione dell'apolipoproteina A1: i portatori dell'allele A hanno maggiore concentrazione sierica di APOA1 e HDL rispetto ai portatori dell'allele G, effetto dovuto a un aumento dell'attività trascrizionale del gene. (Jeenah et al 1990, Gualberto Rúa~no et al 2006).

Importanti interazioni tra questo polimorfismo, abitudini dietetiche e livelli di HDL sono ben conosciute. I portatori della variante allelica A, possono aumentare il loro livello sierico di HDL in risposta ad una maggiore assunzione con la dieta di acidi grassi insaturi.

L' **Apolipoproteina B** (Apo B) è un costituente fondamentale delle proteine a bassa e molto bassa densità (LDL) coinvolte nel metabolismo del colesterolo. La mutazione R3500Q (rs5742904) nel gene che codifica per la Apo B porta a ipercolesterolemia e conseguente rischio di patologie cardiovascolari. (Soria LF et al 1989)

Mutazione/SNP ricercata	Genotipo	Significato clinico	Presente
APOA1 -75G>A - rs1799837 -	A/A	l'allele A determina aumento dell'attività trascrizionale del gene, aumento della concentrazione di APOA1 e HDL (protettivo per rischio cardiovascolare)	SI
APOB1 R3500Q (G>A) - rs5742904 -	A/A	l'allele A è associato a ipercolesterolemia e maggior rischio cardiovascolare	SI

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 ipolipidemizzante delle statine: soggetti portatori dell'allele minore A mostrano una ridotta risposta alle statine (i livelli plasmatici di colesterolo restano alti dopo l'assunzione del farmaco) (de Keyser CE et al 2011)

Mutazione/SNP ricercata	Genotipo	Significato clinico	Presente
CETP (C>A) - rs1532624 -	A/A	l'allele A è associato a ridotta efficacia del farmaco ipolipidemizzante	SI

La **parossonasi** protegge il colesterolo LDL (LDL-c) dall'ossidazione. Dato che l' LDL-c ossidato si ritiene sia un mediatore chiave dell'aterosclerosi, polimorfismi responsabili dell'alterazione della funzionalità dell'enzima parossonasi possono predisporre a malattie cardiovascolari e stroke.

Il polimorfismo **PON1 A575G** determina la sostituzione di una glutammina con una arginina, con riduzione dell'affinità per l' LDL-c. Di conseguenza la presenza dell'allele G è associata ad accumulo di LDL ossidato e quindi aterosclerosi. (Ranade et al 2005)

Un ulteriore polimorfismo, il **PON1 C-108T**, ricade nella regione del promotore del gene e comporta quando presente, una riduzione dell'attività trascrizionale del gene. E' stato dimostrato che la regione contenente il polimorfismo è importante nell'interazione con le statine: il farmaco agisce da attivatore trascrizionale aumentando la concentrazione sierica di parossonasi quando è presente la variante wild type (CC). (Deakin S et al 2007)

Mutazione/SNP ricercata	Genotipo	Significato clinico	Presente
PON1 A575G (Gln192Arg) - rs662 -	G/G	L'allele G forte associazione con malattie cardiovascolari e stroke	SI
PON1 C-108T - rs705379 -	C/C	L'allele C aumenta la capacità anti-ossidante della parossonasi in concomitanza al trattamento con statine.	NO

Referenze.

Amirimani B, Ning B, Deitz AC, Weber BL, Kadlubar FF, Rebbeck TR. Increased transcriptional activity of the CYP3A4*1B promoter variant. *Environ Mol Mutagen*. 2003;42(4):299-305.

Rosales A, Alvear M, Cuevas A, Saavedra N, Zambrano T, Salazar LA. Identification of pharmacogenetic predictors of lipid-lowering response to atorvastatin in Chilean subjects with hypercholesterolemia. *Clin Chim Acta*. 2012 Feb 18;413(3-4):495-501.

Wang D, Guo Y, Wrighton SA, Cooke GE, Sadee W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *Pharmacogenomics J*. 2011 Aug;11(4):274-86

Schuetz EG, Relling MV, Kishi S, et al. PharmGKB update: II. CYP3A5, cytochrome P450, family 3, subfamily A, polypeptide 5. *Pharmacol Rev*. 2004 Jun;56(2):159.

Michel R. Hoenig, MBBS*, Philip J. Walker, MBBS, Christine Gurnsey, Karen Beadle, Leslie Johnson, PhD. The C3435T polymorphism in ABCB1 influences atorvastatin efficacy and muscle symptoms in a high-risk vascular cohort. *Journal of Clinical Lipidology* (2011) 5, 91–96

Elens L, Tyteca D, Panin N, Courtoy P, Lison D, Demoulin JB, Haufroid V. Functional defect caused by the 4544G>A SNP in ABCB2: potential impact for drug cellular disposition. *Pharmacogenet Genomics*. 2011 Dec;21(12):884-93.

Francesca Notarangelo M, Marziliano N, Antonietta Demola M, Pigazzani F, Guidorossi A, Angelica Merlini P, Ardissino D. Genetic predisposition to atorvastatin-induced myopathy: a case report. *J Clin Pharm Ther*. 2012 May 14. doi: 10.1111/j.1365-2710.2012.01337.x

R A Wilke, L B Ramsey, S G Johnson, W D Maxwell, H L McLeod, D Voora, R M Krauss, D M Roden, Q Feng, R M Cooper-DeHoff, L Gong, T E Klein, M Wadelius and M Niemi. The Clinical Pharmacogenomics Implementation Consortium: CPIC Guideline for SLCO1B1 and Simvastatin-Induced Myopathy. *Clinical Pharmacology & Therapeutics*, (23 May 2012) doi:10.1038/clpt.2012.57

Keller L, Murphy C, Wang HX, Fratiglioni L, Olin M, Gafvels M, Björkhem I, Graff C, Meaney S. A functional polymorphism in the HMGCR promoter affects transcriptional activity but not the risk for Alzheimer disease in Swedish populations. *Brain Res*. 2010 Jul 16;1344:185-91.

Poduri A, Khullar M, Bahl A, Sehrawat BS, Sharma Y, Talwar KK. Common variants of HMGCR, CETP, APOAI, ABCB1, CYP3A4, and CYP7A1 genes as predictors of lipid-lowering response to atorvastatin therapy. *DNA Cell Biol*. 2010 Oct;29(10):629-37.

Shanker J, Perumal G, Rao VS, Khadrinarasimhiah NB, John S, Hebbagodi S, Mukherjee M, Kakkar VV. Genetic studies on the APOA1-C3-A5 gene cluster in Asian Indians with premature coronary artery disease. *Lipids Health Dis*. 2008 Sep 19;7:33.

Jeenah M, Kessling A, Miller N, Humphries S. G to A substitution in the promoter region of the apolipoprotein AI gene is associated with elevated serum apolipoprotein AI and high density lipoprotein cholesterol concentrations. *Mol Biol Med*. 1990 Jun;7(3):233-41.

Ruaño G, Seip RL, Windemuth A, Zöllner S, Tsongalis GJ, Ordovas J, Otvos J, Bilbie C, Miles M, Zoeller R, Visich P, Gordon P, Angelopoulos TJ, Pescatello L, Moyna N, Thompson PD. Apolipoprotein A1 genotype affects the change in high density lipoprotein cholesterol subfractions with exercise training. *Atherosclerosis*. 2006 Mar;185(1):65-9.

Soria LF, Ludwig EH, Clarke HR, Vega GL, Grundy SM, McCarthy BJ. Association between a specific apolipoprotein B mutation and familial defective apolipoprotein B-100. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1989 Jan;86(2):587-91.

de Keyser CE, Eijgelsheim M, Hofman A, Sijbrands EJ, Maitland-van der Zee AH, van Duijn CM, Uitterlinden AG, Witteman JC, Ch Stricker BH. Single nucleotide polymorphisms in genes that are associated with a modified response to statin therapy: the Rotterdam Study. *Pharmacogenomics J*. 2011 Feb;11(1):72-80.

Ranade K, Kirchgessner TG, Iakoubova OA, Devlin JJ, DelMonte T, Vishnupad P, Hui L, Tsuchihashi Z, Sacks FM, Sabatine MS, Braunwald E, White TJ, Shaw PM, Dracopoli NC. Evaluation of the paraoxonases as candidate genes for stroke: Gln192Arg polymorphism in the paraoxonase 1 gene is associated with increased risk of stroke. *Stroke*. 2005 Nov;36(11):2346-50.

Deakin S, Guernier S, James RW. Pharmacogenetic interaction between paraoxonase 1 gene promoter polymorphism C-107T and statin. *Pharmacogen Genom* 2007; 17: 451–7.