



Universitat Autònoma de Barcelona

ADVERTIMENT. L'accés als continguts d'aquesta tesi queda condicionat a l'acceptació de les condicions d'ús establertes per la següent llicència Creative Commons:  http://cat.creativecommons.org/?page_id=184

ADVERTENCIA. El acceso a los contenidos de esta tesis queda condicionado a la aceptación de las condiciones de uso establecidas por la siguiente licencia Creative Commons:  <http://es.creativecommons.org/blog/licencias/>

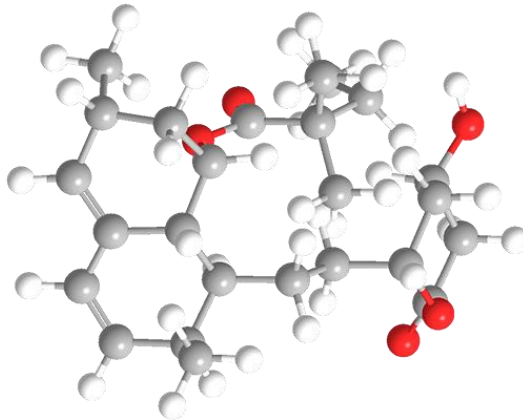
WARNING. The access to the contents of this doctoral thesis it is limited to the acceptance of the use conditions set by the following Creative Commons license:  <https://creativecommons.org/licenses/?lang=en>



Universitat Autònoma
de Barcelona

**INFLUENCIA DE VARIANTES GENÉTICAS EN LA
RESPUESTA AL TRATAMIENTO CON ESTATINAS.
ESTUDIO PROSPECTIVO Y MULTICÉNTRICO**

TESIS DOCTORAL



Cristina Ruiz Iruela

Septiembre 2020



Bellvitge

Hospital Universitari

UNIVERSITAT AUTÒNOMA DE BARCELONA
DEPARTAMENT DE BIOQUÍMICA I BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE DOCTORAT EN BIOQUÍMICA, BIOLOGIA MOLECULAR I
BIOMEDICINA

***INFLUENCIA DE VARIANTES GENÉTICAS EN LA RESPUESTA AL
TRATAMIENTO CON ESTATINAS. ESTUDIO PROSPECTIVO Y
MULTICÉNTRICO***

Tesis presentada por **Cristina Ruiz Iruela** para optar al grado de **Doctora en
Bioquímica, Biología Molecular i Biomedicina**

La doctoranda:

Cristina Ruiz Iruela

Las directoras de tesis:

Dra. Beatriz Candás Estébanez

Dra. Ariadna Padró Miquel

La tutora de tesis:

Dra. Francesca Canalias Reverter

*A mis padres,
a mi hermano,
y a Arnald.*

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, deseo expresar mi agradecimiento a la Dra. Beatriz Candás y a la Dra. Ariadna Padró, directoras de esta tesis. Gracias por brindarme esta oportunidad, por vuestra capacidad, por vuestra paciencia, por vuestro esfuerzo y dedicación, siempre en un marco de confianza y afecto. Esta tesis no habría sido posible sin vosotras. Gracias de corazón.

A la Dra. Francesca Canalías, por tutorizar esta tesis y darme su apoyo y ayuda en todos los trámites de la universidad.

A la comisión de seguimiento de esta tesis: la Dra. Neus Baena, la Dra. Josefa Sabrià y el Dr. Ramón Pujol, por su experiencia y sus buenos consejos.

A la *Fundació Parc Taulí*, la Fundación Jose Luis Castaño de la *Sociedad Española de Medicina de Laboratorio (SEQC)*, y al *Col·legi de Farmacèutics* de la provincia de Barcelona, por confiar en este proyecto y hacerlo posible.

A mis compañeros y compañeras del Laboratori Clínic del Hospital de Bellvitge: adjunto/as, residentes, técnicos de laboratorio, administrativo/as... he tenido la gran suerte de pasar aquí cuatro años de mi vida que nunca olvidaré. Gracias a todo/as por enseñarme tanto. La residencia es como los primeros pasos en la

infancia para lo/as facultativo/as, lo que hace que siempre que voy allí, me sienta como en casa.

A todo el personal de la Fundació Sanitària Mollet (FSM), en especial a mis compañeros y compañeras del Laboratori Clínic, mi otra gran familia. Gracias por vuestro apoyo incondicional y por ayudarme a crecer tanto a nivel personal como profesional. Hacéis que cada día sea mejor persona.

Me gustaría agradecer también a la dirección del Hospital de la FSM toda la confianza que depositó en mí desde el primer momento para el puesto de trabajo que ejerzo actualmente, además de concederme la beca PIF, lo que supuso sin duda el impulso definitivo para el desarrollo de esta tesis. Os estaré siempre agradecida.

A mis amigos y amigas: a Izas y Blan, a las Diosas, a mis compis de la universidad de farmacia, a Chema, Clau, Ariadna, Bárbara e Isa, a Manel, Paloma y el grupo del máster en Barcelona, a las Cat's Back del basquet... en definitiva, a todas aquellas personas que hacen que mi vida se llene de ilusión, pasión y alegría.

A toda mi familia: a los Ruiz, a los Iruela y a mi familia política. Gracias por vuestra confianza, por estar siempre ahí y por todo vuestro apoyo.

En especial gracias a mis padres, a mi hermano Daniel y a Arnald, el mejor compañero de viaje. Por ser los principales promotores de mis sueños, por confiar

y creer siempre en mi y por estar a mi lado de manera incondicional, incluso en los momentos más difíciles. Soy quién soy gracias a vosotros.

“El camino del progreso no es ni rápido ni fácil”

Marie Curie

TABLA DE CONTENIDOS

AGRADECIMIENTOS	5
TABLA DE CONTENIDOS	11
ABREVIATURAS	13
RESUMEN	17
RESUMEN EN CASTELLANO	19
RESUM EN CATALÀ	23
ABSTRACT IN ENGLISH.....	27
I. INTRODUCCIÓN	31
1. Farmacogenética	33
1.1. Farmacogenética, farmacocinética y farmacodinamia.....	33
1.2. Evidencia científica de la farmacogenética y la medicina personalizada	35
1.3. Estrategias de estudio en farmacogenética.....	38
2. Farmacogenética de las estatinas.....	40
2.1. Estructura molecular	40
2.2. Farmacocinética	41
2.3. Farmacodinamia y mecanismo de acción	44
2.4. Genes implicados: <i>state of the art</i>	48
3. Arterioesclerosis y riesgo cardiovascular	53
3.1. Formación de la placa de ateroma	53
3.2. Factores de riesgo cardiovascular	54
3.3. Cálculo del riesgo cardiovascular.....	56
4. Dislipemias.....	59

4.1. Definición	59
4.2. Principales magnitudes lipídicas en el diagnóstico de las dislipemias	59
4.3. Clasificación de las dislipemias	64
4.4. Tratamiento de las dislipemias	68
II. HIPÓTESIS	71
III. OBJETIVOS	75
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	79
1. Primer estudio	81
1.1. Cita al estudio publicado	81
1.2. Presentación	81
1.3. Resultados y discusión	84
2. Segundo estudio	93
2.1. Cita al estudio publicado	93
2.1. Presentación	93
2.2. Resultados y discusión	94
2.4. Publicación completa.....	98
V. CONCLUSIONES	113
VI. BIBLIOGRAFÍA	117

ABREVIATURAS

ABC: del inglés, *ATP binding cassette*

ABCA1: del inglés, *ATP binding cassette subfamily A member 1*

ABCB1: del inglés, *ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1*

ABCG5/G8: del inglés, *ATP Binding Cassette Subfamily G Member 5/8*

ACAT: Acyl CoA Colesterol- acil- transferasa (EC 2.3.1.9)

ACV: Accidente cerebrovascular

ADN: Ácido desoxirribonucleico

APOE: del inglés, Apolipoprotein E

ARN: Ácido ribonucleico

CAD: Enfermedad de la arteria coronaria

CELSR2: del inglés, *Cadherin EGF LAG Seven-Pass G-Type Receptor 2*

CETP: del inglés, *Cholesteryl Ester Transfer Protein*

c-HDL: Colesterol HDL

c-IDL: Colesterol IDL

c-LDL: Colesterol LDL

c-NoHDL: Colesterol No-HDL

CT: Colesterol total

CYP2C19: del inglés, *Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 19* (EC 1.14.14.1)

CYP2D6: del inglés, *Cytochrome P450 family 2 subfamily D member 6* (EC 1.14.14.1)

CYP2D9: del inglés, *Cytochrome P450 family 2 subfamily D member 9* (EC 1.14.13.48)

CYP3A4/5: del inglés, *Cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4/5* (EC 1.14.13.97/ EC EC 1.14.14.1)

CYP2C8: del inglés, *Cytochrome P450 family 2 subfamily C member 8* (EC 1.14.14.1)

CYP450: Citocromo P450

CYP7A1: del inglés, *Cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1* (EC 1.14.14.23)

DM: Diabetes Mellitus

ECV: Enfermedad cardiovascular

FRCV: Factor de riesgo cardiovascular

GWAS: del inglés, *Genome-wide association study*

HMG- CoA reductasa: 3-hidroxi-3-metil-glutaril-CoA reductasa (EC 1.1.1.34)

HMGCR: del inglés, 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA Reductase (EC 1.1.1.34)

HTA: Hipertensión arterial

INE: Instituto Nacional de Estadística

KIF6: del inglés, *Kinesin Family Member 6*

LCAT: Lecitina-colesterol-acil-transferasa (EC 2.3.1.43)

LDLR: del inglés, *Low Density Lipoprotein Receptor*

Lp (a): Lipoproteína (a)

LPL: Lipoproteín-lipasa (EC 3.1.1.34)

NO: Óxido nítrico

OMS: Organización Mundial de la Salud

PAD: Presión arterial diastólica

PAI-1: Inhibidor 1 del activador del plasminógeno

PAS: Presión arterial sistólica

PCSK9: del inglés, *Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9* (EC:3.4.21.-)

PRSC1: del inglés, *Cysteine Protease 1* (EC:3.4.22.34)

RAMs: Reacciones adversas a medicamentos

REGICOR: Registre Gironí del Cor

SCORE: del inglés, *Systematic Coronary Risk Estimation*

SLC: del inglés, *Solute carrier*

SLCO1B1: del inglés, *Solute Carrier Organic Anion Transporter Family Member 1B1*

SNP: del inglés, *Single-nucleotide polymorphism*

SORT1: del inglés, *Sortilin 1*

TG: Triglicéridos

UE: Unión Europea

UGT: del inglés, *Uridine diphosphate (UDP)-glucuronosyl-transferases* (EC 2.4.1.17)

VLDL: Lipoproteínas de muy baja densidad

RESUMEN

RESUMEN

Las estatinas son fármacos inhibidores de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), enzima limitante en la síntesis de colesterol. Su uso está ampliamente extendido en prevención primaria y secundaria de la aterosclerosis debido a su efecto hipolipemiante. Sin embargo, la respuesta terapéutica presenta gran variabilidad interindividual tanto en la disminución de la concentración plasmática de colesterol LDL (c-LDL) como en el aumento de la concentración plasmática de colesterol HDL (c-HDL). Por ello, en los últimos años ha ido creciendo la hipótesis de la existencia de una contribución genética que explicaría esta variabilidad.

En este contexto, se ha propuesto el estudio de algunas variantes genéticas de genes implicados en el metabolismo y en el transporte lipídico (*CETP -cholesteryl ester transfer protein-*, *ABCA1 -binding cassette subfamily A member 1-* y *KIF6 -Kinesin Family Member 6-*) y en la farmacocinética de las estatinas (*CYP2D6 -cytochrome P450 family 2 subfamily D member 6-* y *CYP2C9 -cytochrome P450 family 2 subfamily D member 9-*), cuya evidencia científica no está aún demostrada.

La hipótesis de la presente tesis es que las variantes genéticas seleccionadas influyen en la eficacia del tratamiento con estatinas. La confirmación de esta relación permitiría mejorar la individualización del tratamiento, llevando a cabo una medicina personalizada y coste efectiva.

Se ha realizado un estudio prospectivo y multicéntrico que ha incluido 344 pacientes y se ha estudiado la influencia de variantes genéticas de los genes mencionados en la eficacia al tratamiento con simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina. Las variantes genéticas incluidas han sido: rs708272 y rs5882 del gen *CETP*, rs2230806 del gen *ABCA1*, rs20455 del gen *KIF6*, rs35742686, rs3892097 y rs5030655 del gen *CYP2D6* y rs1799853 y rs1057910 del *CYP2C9*.

Para estudiar la influencia genética sobre la eficacia del tratamiento, se realizaron modelos de regresión multivariante que analizaron por un lado la consecución de los objetivos terapéuticos en base a las concentraciones plasmáticas de c-LDL o colesterol no-HDL (c-NoHDL), y por otro el cambio porcentual en el perfil lipídico post-tratamiento.

Se ha comprobado que las variantes rs2230806 del gen *ABCA1* y rs35742686 del gen *CYP2D6* influyen en la respuesta al tratamiento con estatinas. Los pacientes portadores de estas variantes tienen menor probabilidad de llegar a los objetivos terapéuticos para la concentración plasmática de c-LDL o de c-NoHDL. Cuantitativamente, el genotipo TT de la variante *ABCA1* (rs2230806) condiciona un descenso de c-LDL un 12% menor en el caso de la simvastatina y atorvastatina que los CT o CC. Por otro lado, las variantes rs708272 y rs5882 del gen *CETP* parecen también influir en la respuesta al tratamiento con rosuvastatina, aunque se requiere de un mayor tamaño muestral para corroborar estos resultados.

También se ha demostrado que la variante rs20455 del gen *KIF6* influye en la respuesta al tratamiento con simvastatina y atorvastatina. Concretamente, los homocigotos de la variante (genotipo CC) presentan una disminución un 8,1% menor de las concentraciones plasmáticas de c-LDL o de c-NoHDL, y por tanto responden peor al tratamiento hipolipemiante que los pacientes con los genotipos TT o CT. En relación con la rosuvastatina, los pacientes portadores de la variante genética después del tratamiento farmacológico tienen un aumento de c-HDL un 22% menor comparado con los pacientes que no tienen la variante.

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos en la presente tesis doctoral, la inclusión del estudio de las variantes genéticas en la práctica clínica podría ser de gran interés para la individualización del tratamiento con estatinas, consiguiendo una mejora en la consecución de los objetivos terapéuticos c-LDL o de c-NoHDL en estos pacientes, lo que permitiría reducir, en definitiva, el riesgo cardiovascular.

RESUM

Les estatines són fàrmacs inhibidors de la 3-hidroxi-3-metil-glutaril-coenzima A reductasa (HMG-CoA reductasa), enzim limitant en la síntesi de colesterol. El seu ús està àmpliament estès en prevenció primària i secundària de la aterosclerosi a causa del seu efecte hipolipemiant. No obstant això, la resposta terapèutica presenta gran variabilitat interindividual tant en la disminució de la concentració plasmàtica de colesterol LDL (c-LDL) com en l'augment de la concentració plasmàtica de colesterol HDL (c-HDL). Per això, en els darrers anys ha pres força la hipòtesi de l'existència d'una contribució genètica a la variabilitat interindividual observada.

En aquest context, s'ha proposat l'estudi d'algunes variants genètiques de gens implicats en el metabolisme i en el transport lipídic (*CETP -cholesteryl ester transfer protein-*, *ABCA1 -binding cassette subfamily A member 1-* i *KIF6 -Kinesin Family Member 6-*) i en la farmacocinètica de les estatines (*CYP2D6 -cytochrome P450 family 2 subfamily D member 6-* i *CYP2C9 -cytochrome P450 family 2 subfamily D member 9-*), l'evidència científica dels quals no està encara demostrada.

La hipòtesi de la present tesi és que les variants genètiques seleccionades influeixen en l'eficàcia del tractament amb estatines. La confirmació d'aquesta relació permetria millorar la individualització del tractament, duent a terme una medicina personalitzada i cost efectiva.

S'ha realitzat un estudi prospectiu i multicèntric que ha inclòs 344 pacients i s'ha estudiat la influència de variants genètiques dels gens esmentats en l'eficàcia al tractament amb simvastatina, atorvastatina i rosuvastatina. Les variants genètiques incloses han estat: rs708272 i rs5882 del gen *CETP*, rs2230806 del gen *ABCA1*, rs20455 del gen *KIF6*, rs35742686, rs3892097 i rs5030655 del gen *CYP2D6* i rs1799853 i rs1057910 del *CYP2C9*.

Per a estudiar la influència genètica sobre l'eficàcia del tractament, es van realitzar models de regressió multivariant que van analitzar la consecució dels objectius terapèutics basats en les concentracions plasmàtiques de c-LDL o colesterol no-HDL (c-NoHDL), així com també la variació percentual en el perfil lipídic post-tractament.

S'ha comprovat que les variants rs2230806 del gen *ABCA1* i rs35742686 del gen *CYP2D6* influeixen en la resposta al tractament amb estatines. Els pacients portadors d'aquestes variants tenen menor probabilitat d'arribar als objectius terapèutics per a la concentració plasmàtica de c-LDL o de c-NoHDL. Quantitativament, el genotip TT de la variant *ABCA1* (rs2230806) condiciona un descens de c-LDL un 12% menor en el cas de la simvastatina i atorvastatina que els CT o CC. D'altra banda, les variants rs708272 i rs5882 del gen *CETP* també influeixen en la resposta al tractament amb rosuvastatina, encara que es requereix d'una major grandària mostral per a corroborar aquests resultats.

També s'ha demostrat que la variant rs20455 del gen *KIF6* influeix en la resposta al tractament amb simvastatina i atorvastatina. Concretament, els homozigots de

la variant (genotip CC) presenten una disminució un 8,1% menor de les concentracions plasmàtiques de c-LDL o de c-NoHDL, i per tant responen pitjor al tractament hipolipemiant que els pacients amb els genotips TT o CT. En relació a la rosuvastatina, els pacients portadors de la variant genètica després del tractament farmacològic tenen un augment de c-HDL un 22% menor comparat amb els pacients que no tenen la variant.

Tenint en compte els resultats de la present tesi doctoral, la inclusió de l'estudi de les variants genètiques en la pràctica clínica podria ser de gran interès per a la individualització del tractament amb estatines, aconseguint una millora en la consecució dels objectius terapèutics c-LDL o de c-NoHDL en aquests pacients, la qual cosa permetria reduir, en definitiva, el risc cardiovascular.

ABSTRACT

Statins are drugs that inhibit 3-hydroxy-3-methyl-glutaril- CoA reductase, a rate limiting enzyme of the cholesterol synthesis pathway. Statins are widely used for the primary and secondary prevention of atherosclerosis. However, patient responses to these drugs are highly variable with respect to reducing plasma concentrations of LDL cholesterol (LDL-C) and increasing plasma concentrations of HDL cholesterol (HDL-C). The impact that genetic variants may have on the effectiveness of statins therapy is currently being investigated with the aim of reaching personalized and cost-effective treatments.

In this context, we propose the study of genetic variants within genes involved in lipid transport and metabolism (*CETP* -cholesteryl ester transfer protein-, *ABCA1* - binding cassette subfamily A member 1- and *KIF6* -Kinesin Family Member 6-) and in statin pharmacokinetics (*CYP2D6* -cytochrome P450 family 2 subfamily D member 6- and *CYP2C9* -cytochrome P450 family 2 subfamily D member 9-), whose scientific evidence remains unconfirmed.

In order to more deeply understand the impact of these gene variants on the efficacy of statin treatment, a prospective and multicenter study including 344 patients was performed to determine the influence of the following gene variants on patient response to simvastatin, atorvastatin, and rosuvastatin: the *CETP* variants rs708272 and rs5882, the *ABCA1* variant rs2230806, the *CYP2D6* variants rs35742686, rs3892097, and rs5030655, and the *CYP2C9* variants rs1799853 and rs1057910.

The efficacy of statin treatment was determined using multivariate regression models to analyze both the achievement of lipid therapeutic targets and the percentual variation in lipid profiles before and after therapy.

ABCA1 variant rs2230806 and CYP2D6 rs35742686 influence patient response to treatment with statins. Variant carriers are less likely to achieve LDL-C or cholesterol non-HDL (non-HDL-C) therapeutic targets. In addition, carriers of the TT genotype of rs2230806 have a 12% lower LDL-C in response to treatment with simvastatin and atorvastatin than CT or CC genotype. CETP gene variants rs708272 and rs5882 affect patient responses to rosuvastatin, however a larger sample size is required to corroborate these results.

The rs20455 C variant of the *KIF6* gene also influences treatment response when using simvastatin and atorvastatin. Homozygous patients for the variant (CC genotype) had a smaller decrease (8.1%) in the LDL-C and non-HDL-C. Therefore, these patients did not respond as well to hypolipidemic therapies as patients who were homozygous (TT) or heterozygous (TC). Regarding to rosuvastatin treatment, C variant is associated with a less pronounced increase (22%) in HDL-C compared to patients without the variant.

Taking into account the results obtained in the present doctoral thesis, the study of these genetic variants in the clinical practice could be a powerful tool to personalize patient treatment, improving the achievement of therapeutical goals and, ultimately, decreasing the overall cardiovascular risk.

Esta tesis está presentada como un compendio de dos artículos de investigación obtenidos a partir de estudios multicéntricos.

Las referencias son las siguientes:

- **Ruiz-Iruela, C.**, Candás-Estébanez, B., Pintó-Sala, X., Baena-Díez, N., Caixàs-Pedragós, A., Güell-Miró, R., Navarro-Badal, R., Calmarza, P., Puzo-Foncilla, J. L., Alía-Ramos, P., & Padró-Miquel, A. (2020). Genetic contribution to lipid target achievement with statin therapy: a prospective study. *The pharmacogenomics journal*, 20(3), 494–504. <https://doi.org/10.1038/s41397-019-0136-7>.
- **Ruiz-Iruela, C.**, Padró-Miquel, A., Pintó-Sala, X., Baena-Díez, N., Caixàs-Pedragós, A., Güell-Miró, R., Navarro-Badal, R., Jusmet-Miguel, X., Calmarza, P., Puzo-Foncilla, J. L., Alía-Ramos, P., & Candás-Estébanez, B. (2018). KIF6 gene as a pharmacogenetic marker for lipid-lowering effect in statin treatment. *PloS one*, 13(10), e0205430. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430>.

I. INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

1. Farmacogenética

1.1. Farmacogenética, farmacocinética y farmacodinamia

Existe una gran variabilidad interindividual en la respuesta al tratamiento con fármacos, tanto en lo que se refiere a la eficacia en la respuesta farmacológica como en la aparición de efectos adversos. Las causas de esta variabilidad son diversas; influyen factores demográficos, morfométricos o fisiológicos entre otros, pero la evidencia científica indica que parte de esta variabilidad es inherente al individuo. Esta premisa fue el inicio de la creación de la disciplina de la farmacogenética. Fue en el año 1959 cuando Fredrich Vogel (1) usó por primera vez el término para designar el estudio del papel que juega la variación de los genes en la respuesta a los fármacos, ante los numerosos ejemplos de lo que anteriormente solía denominarse “idiosincrasia” de los medicamentos. La farmacogenética se define hoy en día como la influencia de las variantes del ácido desoxirribonucleico (ADN) sobre la respuesta a fármacos (2). Dependiendo de la bibliografía consultada, existen diversos autores que consideran los términos farmacogenética y farmacogenómica como intercambiables, pero realmente se trata de conceptos diferentes. La farmacogenómica se encarga de comprender las bases genéticas de la enfermedad, con el fin de poder definir nuevas dianas terapéuticas o marcadores moleculares, encargándose de estudiar tanto el ADN como el ácido ribonucleico (ARN) (2). Así, mientras que la farmacogenómica

busca dianas potenciales, la farmacogenética pretende predecir, según la genética del paciente, qué medicamento y/o qué dosis es la adecuada para conseguir un mayor beneficio y menores reacciones adversas.

Aunque generalmente el término '**farmacogenética**' se ha utilizado para referirse al estudio de los genes relacionados con el metabolismo de los fármacos, en la actualidad se extiende también a todos los factores involucrados tanto en su farmacocinética como en su farmacodinamia (3).

La **farmacocinética** es el estudio de los procesos a los que se somete un fármaco tras su paso por el organismo. Estos procesos se agrupan en el acrónimo LADME: liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción (4). La **farmacodinamia**, en cambio, estudia los efectos bioquímicos y fisiológicos de los fármacos y su mecanismo acción, así como la relación entre la concentración del fármaco y su efecto en el organismo (5).

De esta forma, la farmacogenética se centra en el estudio de variantes o SNPs (*Single- nucleotide polymorphisms*) de genes que intervengan en estos procesos, especialmente en el transporte, metabolismo o en los mecanismos de acción de los fármacos. La farmacogenética, por tanto, se postula como una de las ciencias más importantes y prometedoras en el estudio de la variabilidad al tratamiento farmacológico.

En la **figura 1** se muestra esquemáticamente las causas de variabilidad que influyen en la farmacocinética y farmacodinamia.

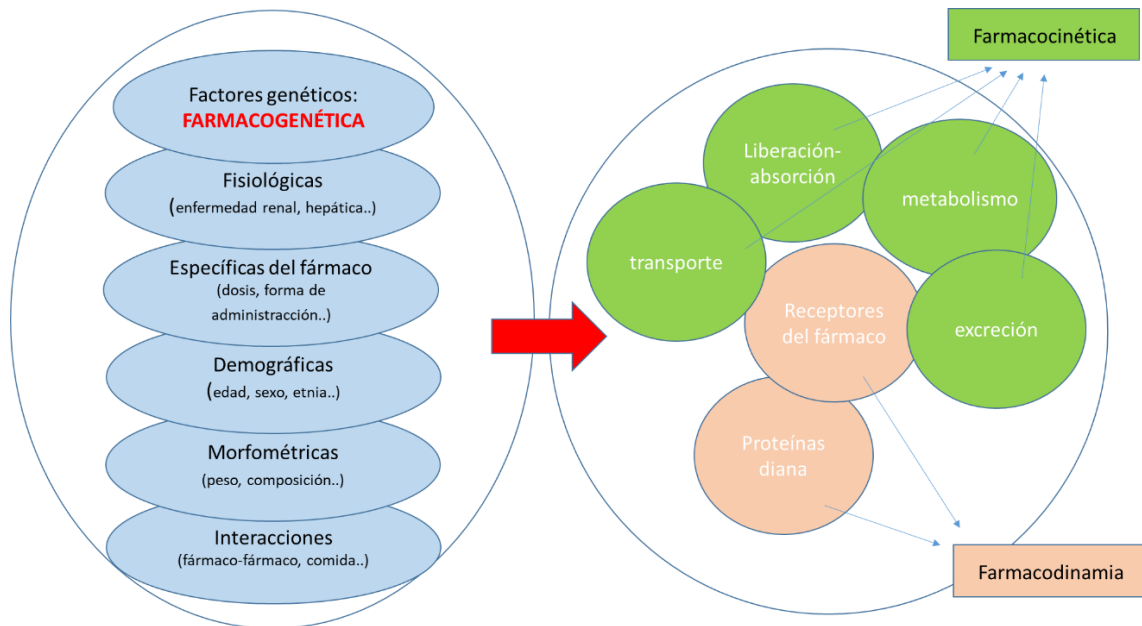


Figura 1. Causas de variabilidad que influyen en la farmacocinética y farmacodinamia.

1.2. Evidencia científica de la farmacogenética y la medicina personalizada

La elección y prescripción de fármacos presenta dos dificultades principales: por un lado, la eficacia es limitada, y por otro, existen reacciones adversas. En la **figura 2** se muestran algunos ejemplos del porcentaje de eficacia farmacológica en función del área terapéutica.

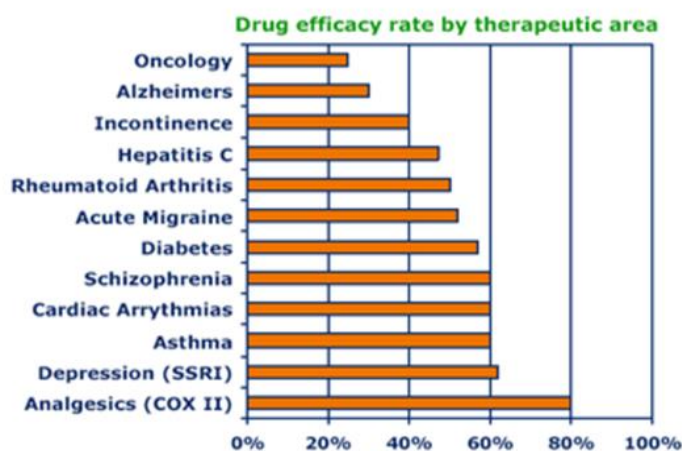


Figura 2. Eficacia de los fármacos en función del área terapéutica. *Imagen cedida con permiso de Trends in Molecular Medicine. Spear, B. B., Heath-Chiozzi, M., & Huff, J. Clinical application of pharmacogenetics. Trends in Molecular Medicine 2001; 7(5), 201–204.*

Además, durante el proceso de desarrollo de nuevos fármacos, la causa más común de fracaso de las moléculas antes de salir al mercado es su falta de eficacia respecto a lo que ya hay comercializado (**figura 3**).

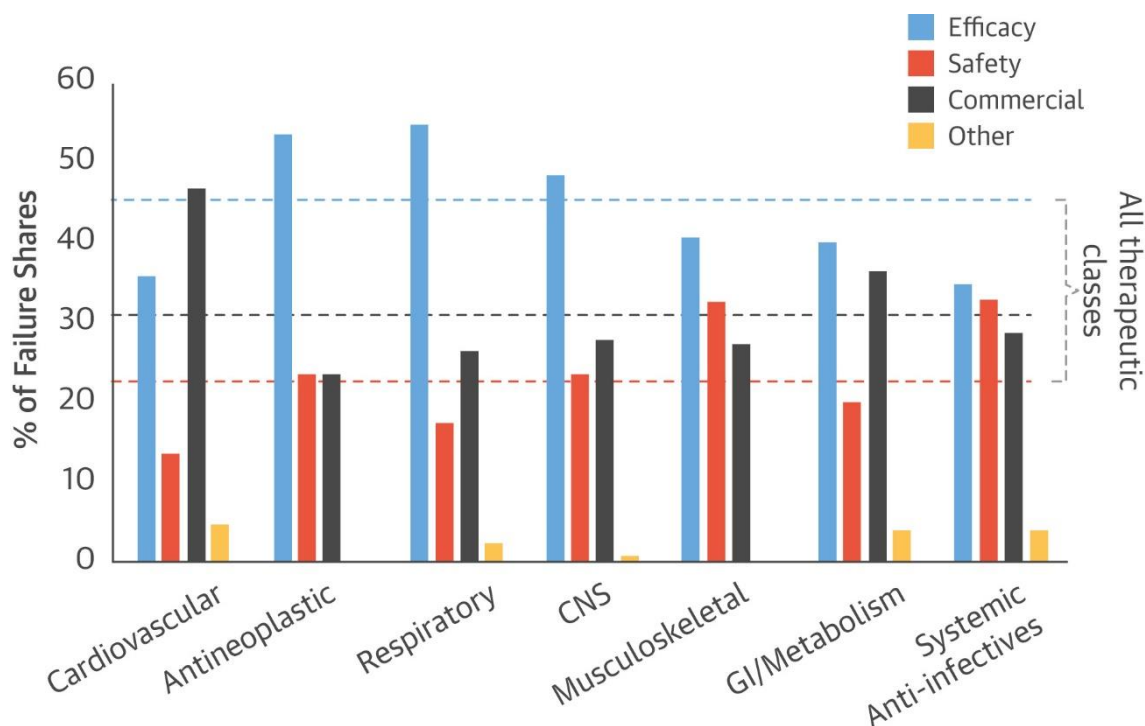


Figura 3. Motivos de fracaso de nuevos fármacos divididos por área terapéutica. CNS= central nervous system; GI = gastrointestinal. *Fordyce CB, Roe MT, Ahmad T, et al. Cardiovascular drug development: is it dead or just hibernating? J Am Coll Cardiol. 2015;65(15):1567-1582.*

Por otro lado, el impacto que las **reacciones adversas a medicamentos (RAMs)** tienen en el bienestar de las personas y en los sistemas públicos de salud es preocupante: una publicación avalada por la Unión Europea (UE) en 2008 mostraba que el 5% de los ingresos a urgencias son debidos a RAMs, lo que supone una estimación de 197.000 muertes al año y un coste de 145.000 millones de euros a los sistemas de salud (6).

En España, el 37% de las causas graves de consulta en centros de atención primaria están relacionadas con la medicación (7), lo que produjo una tasa de mortalidad de 0,1 por cada 100.000 habitantes por RAMs entre los años 2008 y 2015, según el Informe Indicadores de Salud del Ministerio de Sanidad del 2017.

La variabilidad interindividual en la eficacia y en las reacciones adversas como respuesta a la administración de fármacos, hace que nazca el concepto de la medicina **personalizada**. La medicina personalizada incluye actuaciones basadas en la comprensión de que la variación genética conlleva a tratamientos individuales (**figura 4**). Las cuatro “Ps” son sus características básicas: es **predictiva**, porque tiene la capacidad de identificar una condición que puede tener un individuo en un futuro y decir cómo responderá a un tratamiento determinado; además, es una medicina **preventiva**, que cambia el enfoque de la medicina reactiva a la **proactiva**; y se trata de una medicina **participativa**, que fomenta la interacción con el paciente, estando más informado y convirtiéndose en una parte activa de la toma de decisiones en cuanto a su salud.

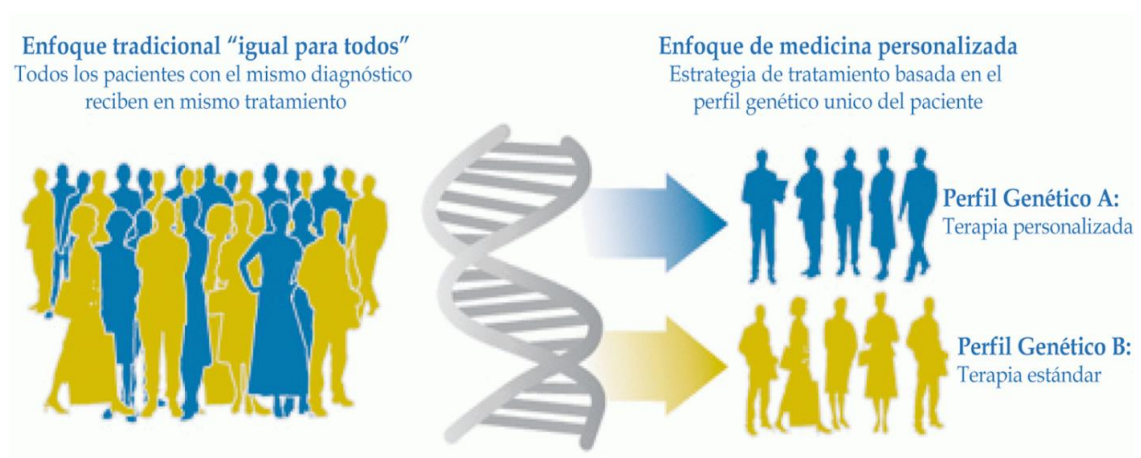


Figura 4. Enfoque de la medicina personalizada: tratamientos basados en el perfil genético del paciente. *Personalized Medicine Coalition. 2011. What is Personalized Medicine? En The Age of Personalized Medicine: http://www.personalizedmedicinecoalition.org/Userfiles/PMC-Corporate/file/pmc_age_of_pmc_factsheet.pdf*

El objetivo fundamental de la medicina personalizada es aumentar la esperanza de vida y el bienestar de las personas de una forma coste-efectiva. La farmacogenética es, por tanto, **uno de los pilares de la medicina personalizada, ya que supone tratar a cada paciente de forma individualizada.**

1.3. Estrategias de estudio en farmacogenética

Los estudios de farmacogenética se están beneficiando en gran medida de los rápidos avances tecnológicos en el genotipado. Actualmente existen plataformas que permiten analizar múltiples polimorfismos genéticos en grandes poblaciones con un coste asumible. Estos avances van ligados a un mayor conocimiento de la arquitectura global del genoma humano, gracias a proyectos como el *International Haplotype Mapping Project* (International HapMap Consortium) (8) así como de la distribución y localización de los polimorfismos genéticos a lo largo del mismo (9).

De esta manera el abordaje de los estudios farmacogenéticos se puede hacer principalmente de dos formas:

- 1) **Estudios de asociación del genoma completo** (GWAS: *Genome-wide association study*): se trata del análisis de las variaciones genéticas a lo largo de todo el genoma humano con el objetivo de identificar su asociación a un rasgo observable, en este caso, a la eficacia y la seguridad mostrada en los fármacos a estudio. Presentan múltiples ventajas: se puede analizar el genoma completo (tanto a nivel de expresión como de SNP) y no requiere de una gran cohorte de muestra, pero, por el contrario,

es difícil de encontrar explicaciones biológicas a los hallazgos encontrados, ya que presentan una alta tasa de falsos positivos. Es la estrategia de elección cuando los mecanismos de acción y rutas metabólicas no se conocen con exactitud o se buscan nuevas asociaciones.

- 2) **Estudios de asociación de genes candidatos** (*candidate genes study*): este tipo de estrategia se aplica cuando se conocen o se intuyen los diferentes procesos biológicos relacionados con el fármaco. Se hacen estudios reducidos con los principales genes transportadores, relacionados con el metabolismo o con el mecanismo de acción, a través de modelos simplificados que permiten controlar los sesgos mediante ajuste con variables de confusión. Requieren una gran cohorte de muestra y se corre el riesgo de no encontrar la asociación esperada, pero por el contrario son necesarios para confirmar de una forma sólida las asociaciones previamente encontradas en los estudios de GWAS.

2. Farmacogenética de las estatinas

Las estatinas son fármacos que actúan inhibiendo de forma específica la HMG-CoA reductasa, enzima limitante en la síntesis del colesterol endógeno, por lo que su principal función es disminuir la concentración plasmática de c-LDL. Dentro de los quince medicamentos genéricos más consumidos en España durante el 2015, la simvastatina y la atorvastatina ocuparon la tercera y la quinta posición respectivamente (10). Actualmente, las estatinas son los fármacos hipolipemiantes más utilizados en la prevención de la aterosclerosis (11).

2.1. Estructura molecular

El grupo farmacóforo de las estatinas está compuesto por una unidad o derivado de ácido dihidroxipentanoico con diferentes sustituyentes (**figura 5**). Se puede encontrar generalmente en forma de lactona o en forma de hidroxilácido. El grupo farmacóforo es la parte molecular que asegura las óptimas interacciones supramoleculares y desencadena (o bloquea) una respuesta biológica.

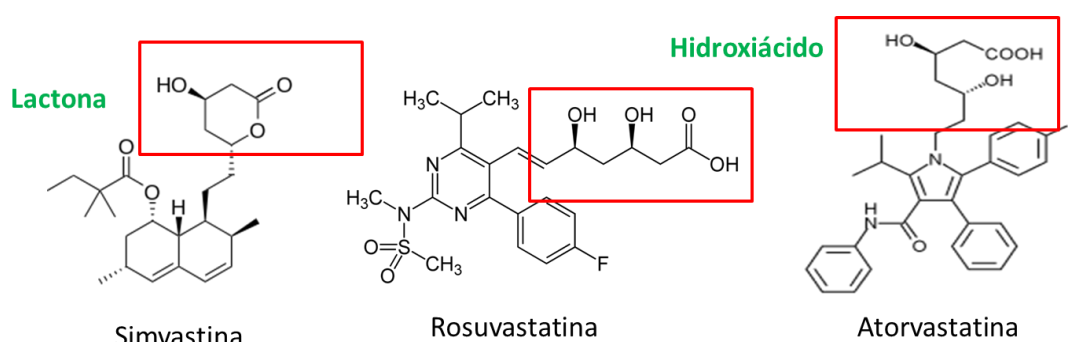


Figura 5. Algunos ejemplos de estructura molecular de diferentes estatinas. Encuadrado en rojo se encuentra el derivado de ácido dihidroxipentanoico en forma de lactona (simvastatina) o hidroxilácido (rosuvastatina y atorvastatina).

Las estatinas se pueden dividir en dos grupos: las de origen natural y aquellas que son productos de síntesis. Dentro de las de origen natural, encontramos la lovastatina, simvastatina, pravastatina y mevastatina, producidas por algunos hongos nativos o por procesos fermentativos, mientras que la fluvastatina, atorvastatina, cerivastatina, rosuvastatina y pitavastatina son productos de síntesis (12).

2.2. Farmacocinética

Las estatinas difieren unas de otras respecto a su estructura de anillo y sus sustituyentes. Estas diferencias afectan a diferentes aspectos relacionados con su farmacocinética y su farmacodinamia, como es la afinidad por el sitio activo de la HMG- CoA reductasa, biodisponibilidad, metabolismo y eliminación (13).

Las propiedades farmacocinéticas de las principales estatinas se muestran en la **tabla 1** (14).

Una de las características que más definen su comportamiento farmacocinético es su hidrofobicidad. Las más hidrofílicas (pravastatina y rosuvastatina) requieren transportadores activos hacia el hígado, sobre todo transportadores de la familia SLC, y son menos metabolizadas por el complejo citocromo P450 (CYP450), mostrando en general, una mayor excreción renal. Sin embargo, las estatinas lipofílicas son transportadas por difusión pasiva y son mejores sustratos de la CYP450 y de los transportadores ABC, involucrados en la excreción biliar (15).

I. INTRODUCCIÓN

Cabe destacar que las vías metabólicas de estos fármacos no están completamente definidas, pero se sabe que se metabolizan mayoritariamente por el CYP450, principalmente por las enzimas CYP3A4/5 (*cytochrome P450 family 3 subfamily A member 4/5*) (16, 17, 18, 19). Otras enzimas como la CYP2C8 (*cytochrome P450 family 2 subfamily C member 8*) y CYP2C19 (*cytochrome P450 family 2 subfamily C member 19*) (20) parecen influir en estas vías, pero el mecanismo por el cual esto tiene lugar no está del todo esclarecido. En el caso del CYP2C9, parece actuar como enzima mayoritaria de la fluvastatina (21, 22), mientras que CYP2D6 estaría implicado, aunque de manera minoritaria, en el metabolismo de la pitavastatina y la rosuvastatina (23).

Propiedad	Simvastatina	Atorvastatina	Rosuvastatina	Fluvastatina	Pravastatina	Pitavastatina
Profármacos	SI	NO	NO	NO	NO	NO
Solubilidad	Lipofílica	Lipofílica	Hidrofílica	Lipofílica	Hidrofílica	Lipofílica
Biodisponibilidad (%)	5	12	20	24	18	80
Enlace a proteínas (%)	95-98	98	90	>98	50	96
Semivida de eliminación (h)	2	14	19	1,2	1,8	11
Metabolismo principal CYP450	CYP3A4	CYP3A4	CYP2D6?	CYP2C9	CYP3A4	CYP2D6?
Metabolitos activos	Sí	Sí	Minoritarios	No	No	Minoritarios
Excreción renal (%)	13	<5	10	6	20	ND

Tabla 1. Propiedades farmacocinéticas de las principales estatinas. ND: no disponible. (14)

En la **figura 6** se muestra una vista generalizada de la farmacocinética de las estatinas que representa los genes con una influencia reportada en el transporte y metabolismo de estos fármacos. Las estatinas se administran por vía oral y entran en la circulación sistémica a través de las células intestinales tanto de forma pasiva como de forma activa a través de transportadores de la familia de genes

SLC (Solute Carrier) y ABC (ATP binding cassette). El principal órgano del metabolismo de las estatinas es el hígado, y es catalizado por las enzimas de la familia de genes de la CYP450 y UGT (Uridine diphosphate (UDP)-glucuronosyl-transferases). La vía principal de eliminación es la excreción biliar mediada por el transportador ABC y, en menor medida, por el riñón.

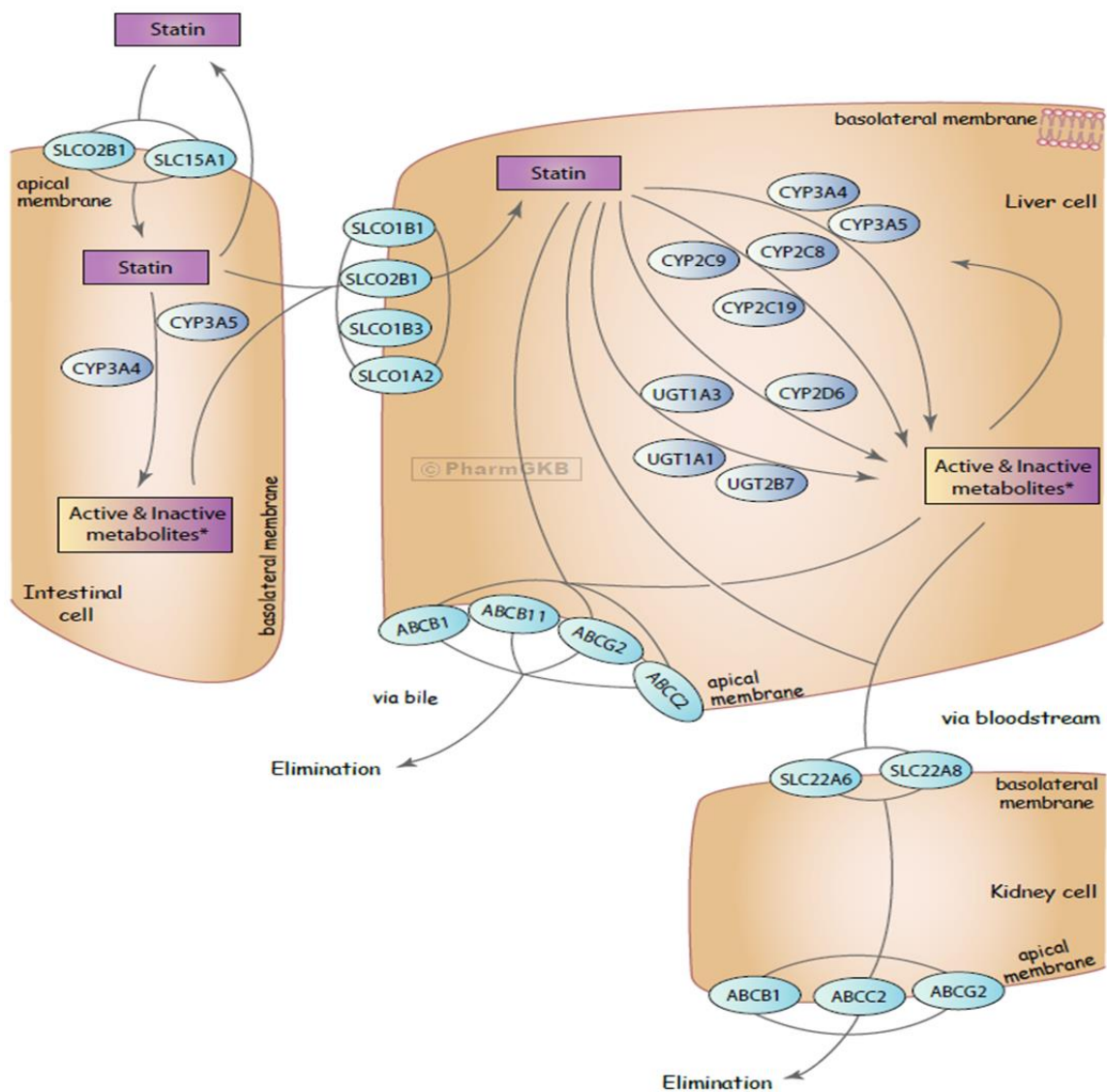


Figura 6. Representación de las proteínas/genes implicados en el transporte, metabolismo y aclaramiento de las estatinas. PharmGKB: M. Whirl-Carrillo, E.M. McDonagh, J. M. Hebert, L. Gong, K. Sangkuhl, C.F. Thorn, R.B. Altman and T.E. Klein. "Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine" *Clinical Pharmacology & Therapeutics*. 2012;92(4): 414-417.

2.3. Farmacodinamia y mecanismo de acción

Las estatinas son fármacos inhibidores enzimáticos reversibles de la HMG- CoA reductasa. Esta inhibición se produce gracias a que el grupo farmacóforo es estructuralmente similar al sustrato endógeno, el HMG- CoA (**figura 7**). La afinidad de las estatinas por la enzima es de 1.000 a 10.000 veces mayor que la que presenta el sustrato natural.

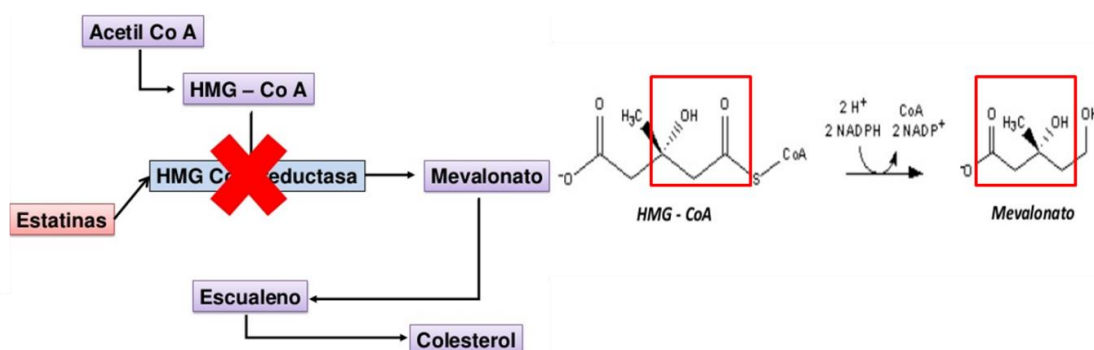


Figura 7. Las estatinas inhiben la HMG- CoA reductasa gracias a que el grupo farmacóforo es análogo al HMG- CoA.

La disminución de la concentración de colesterol intracelular promovida por las estatinas tiene como consecuencia una cascada metabólica compleja cuya finalidad es el restablecimiento de la concentración intracelular de colesterol mediante la entrada de c-LDL extracelular hacia el interior de las células. La **figura 8** muestra las proteínas y genes implicados en la mediación de los efectos de las estatinas sobre el metabolismo del colesterol hepático y los consiguientes efectos sobre el transporte de las lipoproteínas plasmáticas. Tal como se puede apreciar, la homeostasis del colesterol intracelular se consigue a través de una multitud de vías metabólicas coordinadas que implican la participación de genes involucrados en algunos procesos como la captación (LDL-R (*Low Density Lipoprotein Receptor*)), síntesis (HMGCR (*3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-CoA*

Reductase)), bio-transformación (CYP7A1 (*Cytochrome P450 family 7 subfamily A member 1*)), eflujo celular al conducto biliar (ABCG5/G8 (*ATP Binding Cassette Subfamily G Member 5/8*)), eflujo celular hacia las HDL (ABCA1), o la transferencia de ésteres de colesterol de las HDL a otras lipoproteínas (CETP); que implican también mecanismos de regulación mediante factores de transcripción.

A consecuencia de la inhibición del HMG- CoA reductasa, las estatinas tienen como efecto inmediato la disminución de la concentración plasmática del CT, c-LDL, reducción de los TG y aumento del c-HDL, reduciendo el riesgo de aparición de aterosclerosis y de enfermedad cardiovascular.

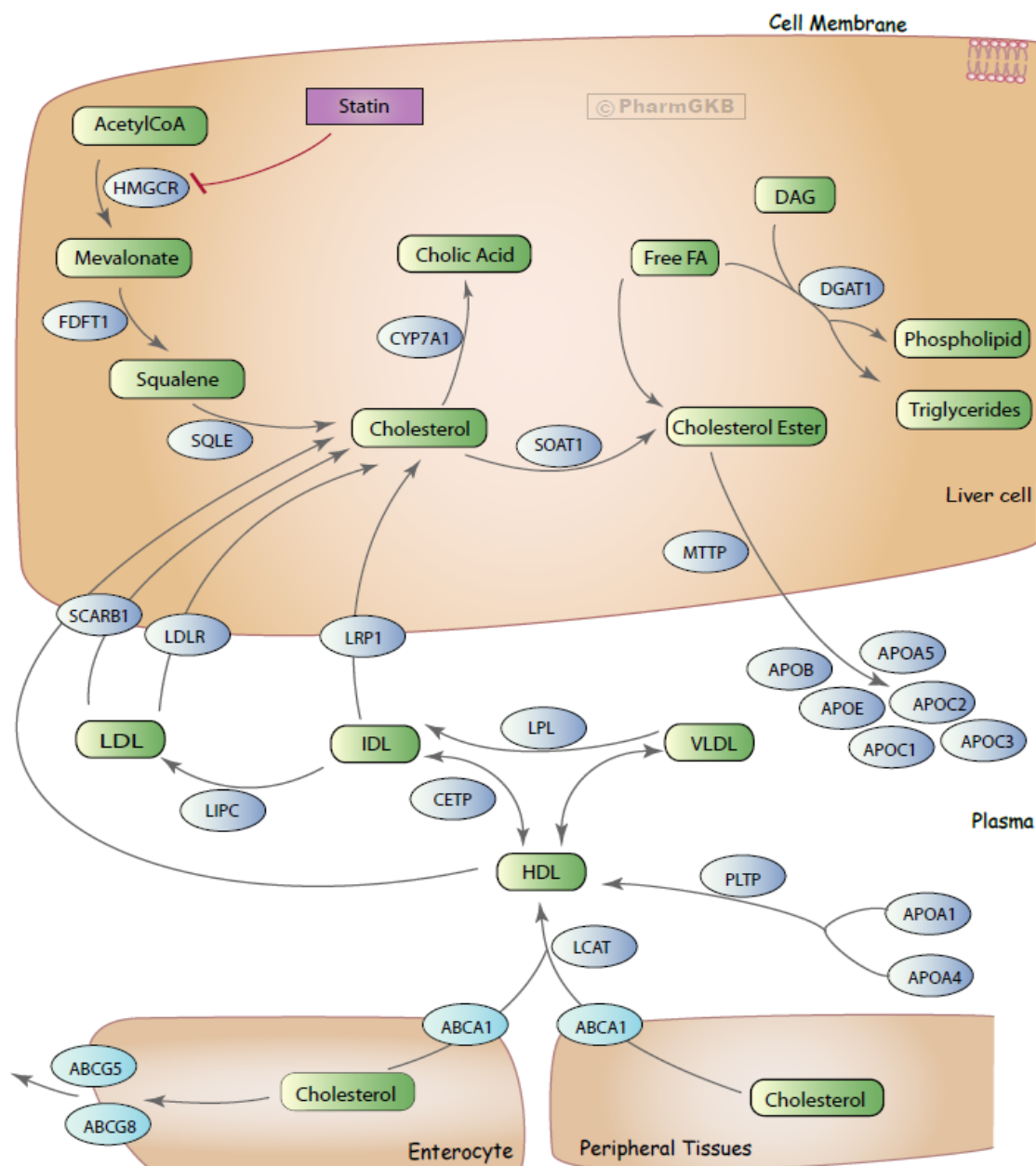


Figura 8. Proteínas/genes implicados en la mediación de los efectos de las estatinas sobre el metabolismo del colesterol hepático y los consiguientes efectos sobre el transporte de las lipoproteínas plasmáticas. *PharmGKB: M. Whirl-Carrillo, E.M. McDonagh, J. M. Hebert, L. Gong, K. Sangkuhl, C.F. Thorn, R.B. Altman and T.E. Klein. "Pharmacogenomics Knowledge for Personalized Medicine" Clinical Pharmacology & Therapeutics. 2012; 92(4): 414-417.*

Efectos pleiotrópicos

Aparte de sus efectos sobre el metabolismo lipídico, las estatinas tienen otras acciones a nivel cardiovascular potencialmente beneficiosas, que podrían explicar

el beneficio adicional que se obtiene tras su administración y que no es atribuible a la disminución de la concentración plasmática de c-LDL (24):

- Mejora de la función endotelial: las estatinas aumentan la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), principal regulador de la homeostasis de las arterias y de la vasodilatación del endotelio (25).
- Modulación de la inflamación: por inhibición de citoquinas proinflamatorias (26).
- Estabilización de la placa de ateroma: por disminución de metaloproteasas y migración de macrófagos (27).
- Prevención de la formación de trombos: por disminución de la agregación plaquetaria, de la expresión del factor tisular y disminuir las concentraciones plasmáticas del inhibidor 1 del activador del plasminógeno (PAI-1) (28).

Efectos adversos

Las estatinas pueden provocar de forma frecuente problemas gastrointestinales, insomnio, fatiga, cefalea, erupción, rinosinusitis y síndrome pseudogripal (29). También pueden provocar una elevación transitoria de transaminasas, pero uno de los efectos adversos más conocidos son los trastornos musculoesqueléticos (30): uno de los transportadores de captación y eflujo hepático de las estatinas es el polipéptido transportador de aniones orgánicos 1B1 (OATP1B1) codificado por el gen *SLCO1B1* (*Solute Carrier Organic Anion Transporter Family Member 1B1*). Se han reportado diferentes SNPs dentro de este gen con capacidad de reducir la captación de este fármaco mediada por OATP1B1, lo que conlleva una disminución en la eficiencia de transportar las estatinas al hígado, acumulándose

en la circulación sistémica y aumentando su tiempo de exposición, pudiendo producir fatiga, sensibilidad, debilidad, calambres y dolor muscular, asociado a altas concentraciones de creatinina quinasa (miopatía), y eventualmente conducir a descomposición muscular y liberación de mioglobina (rabdomiolisis) (31).

2.4. Genes implicados: *state of the art*

La respuesta terapéutica a las estatinas presenta una gran variabilidad interindividual en la disminución de la concentración plasmática de c-LDL y en el aumento de c-HDL (32, 33). Se ha constatado que, a igual tipo de estatina y dosis, incluso utilizando las más elevadas, varios grupos han demostrado en diferentes poblaciones de pacientes que existe heterogeneidad en los efectos de reducción de la concentración plasmática c-LDL y en el aumento de c-HDL (34, 35). Algunos factores como la edad, el tabaquismo o situaciones patológicas como la insuficiencia hepática tienen influencia sobre la respuesta terapéutica (36, 37), pero parecen no ser suficientes para poder explicar la gran variabilidad interindividual en la respuesta.

A raíz de esto, en los últimos años ha ido creciendo la hipótesis de la existencia de una contribución genética que explicaría esta variabilidad.

Desde la publicación en 2009 del primer GWAS que investigó la relación entre la genética y la respuesta al tratamiento con estatinas (38), han sido cada vez más frecuentes los estudios que analizan las interacciones entre genes candidatos y efectividad de las estatinas (39-42).

Tal y como ya se ha explicado en el apartado anterior, existen muchos genes implicados en el transporte, metabolismo y eliminación de las estatinas, así como los implicados en el propio metabolismo lipídico, que podrían influir en la respuesta al tratamiento. Entre los primeros genes candidatos ampliamente estudiados destacan los genes *APOE* (*Apolipoprotein E*) (43-45) y *HMGCR* (46, 47) implicados directamente en el metabolismo de los lípidos, o los genes *ABCB1* (*ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1*) (48, 49) y *SLCO1B1* (50,51) que codifican para proteínas de transporte de las estatinas. También ha sido de reciente interés el estudio del loci *SORT1* (*Sortilin 1*) /*CELSR2* (*Cadherin EGF LAG Seven-Pass G-Type Receptor 2*) /*PRSC1* (*Cysteine Protease 1*) (52), o el gen *PCSK9* (*Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9*) (53). Otros trabajos relevantes que se han publicado incluyen el estudio de los genes *CETP* (54) y *ABCA1* (55, 56) tanto en su influencia en el metabolismo lipídico como en la respuesta a tratamientos hipolipemiantes, incluidas las estatinas. Mientras que la proteína CETP media la transferencia de ésteres de colesterol desde las HDL (57) hacia las VLDL y LDL, la proteína ABCA1 actúa como un transportador para el colesterol intracelular, donde tras atravesar la membrana se une al receptor molecular apolipoproteína A1 (58), actuando por tanto en el transporte reverso del colesterol hacia los hepatocitos para su eliminación.

El estudio de algunas variantes de estos genes parece ser prometedor desde un punto de vista farmacogenético, pero todavía no se ha llegado a obtener una clara evidencia científica en relación con la eficacia al tratamiento con estatinas. La variante genética intrónica rs708272 del gen *CETP* (NM_000078.2: c.118 + 279G>A, también denominada Taq1B) produce una sustitución de adenina (A) por

guanina (G). El alelo A se asocia con un aumento de la concentración plasmática de c-HDL y menores concentraciones de proteína CETP (59, 60). En relación con las estatinas, la variante A podría estar relacionada sin embargo con una menor respuesta al tratamiento ya que se ha visto un mayor porcentaje de enfermedad arterial coronaria (CAD) en este grupo (61), aunque existe controversia al respecto ya que hay estudios que demuestran lo contrario (62).

La variante genética rs5882 del gen *CETP* (NM_000078.2: c.1264A>G, NP_000069.2: p. Val422Ile, también denominada I405V) produce un cambio de valina por isoleucina en la proteína. Este cambio de aminoácido produce un defecto de *splicing* del pre-ARNm, por lo que se relaciona con una menor expresión del gen *CETP* (63) y una menor actividad de esta proteína. Sin embargo, los estudios que relacionan la variante con la eficacia al tratamiento con estatinas no son concluyentes (64, 54).

La variante genética rs2230806 del gen *ABCA1* (NM_005502.3: c.656C>T, NP_005493.2: p. Arg219Lys, también denominada R219K), produce como resultado un cambio de aminoácido en el codón 219 de arginina a lisina. Se ha relacionado el genotipo TT (minoritario) con menor riesgo de CAD (65) y también con la presencia de menor c-LDL y mayor c-HDL (66), pero estos resultados contrastan con otros estudios que no encuentran relación con el perfil lipídico (67) ni con CAD (68) o que relacionan la variante T como factor de riesgo de desarrollar CAD (69) o incluso que la variante T está relacionada con ser un alelo protector de CAD en asiáticos pero no en caucásicos (70). Además, los estudios

que relacionan este polimorfismo con el tratamiento con estatinas son todavía escasos (71, 72).

En la actualidad, otro de los genes candidatos relacionados con la eficacia al tratamiento con estatinas es el *KIF6*. Este gen codifica para la proteína KIF6, que pertenece a la superfamilia de las kinesinas, proteínas que permiten el transporte intracelular de los orgánulos, proteínas complejas y mRNAs, y se expresa a través de la transformación post-traducciona de ubiquitinación en las arterias coronarias y otros tejidos vasculares, pero hasta el momento no se conoce el mecanismo ni el porqué de esta influencia. Se han publicado diversos estudios que relacionan el polimorfismo rs20455 del gen *KIF6* (NM_145027.6: c.2155T>C, NP_659464.3: p.Trp719Arg c.2155T>C), que supone un cambio *missense* de arginina por triptófano en el aminoácido 719 de esta proteína, con la respuesta al tratamiento con estatinas. Se ha observado que los portadores de la variante C presentan un mayor riesgo de sufrir enfermedades cardiovasculares en ausencia de tratamiento hipolipemiente. Sin embargo, paradójicamente, este alelo predice una mejor respuesta al tratamiento con estatinas (73, 74). Concretamente, se ha reportado que los pacientes portadores del alelo C presentan menos riesgo de sufrir una enfermedad coronaria cuando son tratados con pravastatina (75-77) o atorvastatina (78, 74) respecto a los pacientes con genotipo TT, aunque también se han reportado estudios que no muestran ningún tipo de asociación (79). El efecto que podría tener esta variante aún es más interesante si se enmarca en nuestro entorno geográfico, dada la elevada prevalencia de portadores (37% en población europea) (80).

Respecto a la farmacocinética de las estatinas, es importante destacar, como se ha comentado en anteriores apartados, que las vías metabólicas de estos fármacos no están completamente definidas. En el caso del CYP2C9, parece actuar como enzima mayoritaria de metabolización de la fluvastatina (21, 22), y los polimorfismos de este gen parecen demostrar asociación con la eficacia de este fármaco (81), pero de momento se desconoce qué papel podría tener con el resto de estatinas. El CYP2D6 estaría implicado en el metabolismo de la pitavastatina y la rosuvastatina de manera minoritaria (23), aunque los estudios que relacionan las variantes del gen *CYP2D6* con la eficacia al tratamiento con estatinas son todavía escasos y controvertidos (82-84).

3. Arterioesclerosis y riesgo cardiovascular

La arteriosclerosis es el proceso de endurecimiento, aumento de grosor y pérdida de elasticidad de las paredes arteriales. Se produce de forma progresiva debido a la edad, aunque existen diferentes factores de riesgo que lo agravan y hace que aumente de forma precoz.

La forma más común de arterioesclerosis es la aterosclerosis, caracterizada por la infiltración y depósito de lipoproteínas plasmáticas aterogénicas ricas en colesterol en la capa íntima de la pared arterial. Consecuentemente, se produce un complejo proceso inflamatorio que conduce a la formación de la placa de ateroma e incrementa el riesgo de obstrucción del vaso sanguíneo.

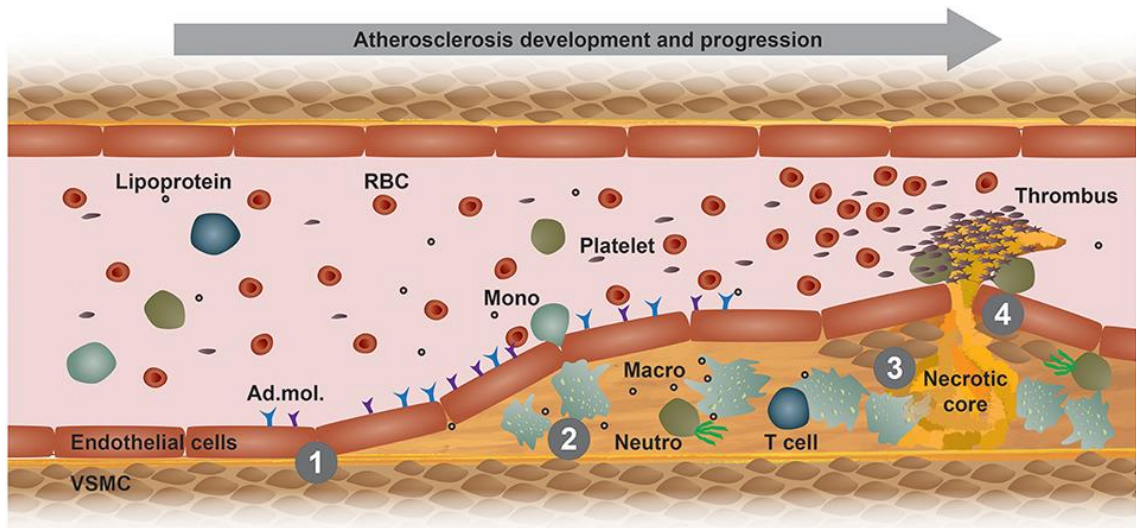


Figura 9. Formación de la placa de ateroma. Oppi S, Lüscher TF, Stein S. Mouse Models for Atherosclerosis Research-Which Is My Line? Front Cardiovasc Med. 2019; 6:46.

3.1. Formación de la placa de ateroma

El desarrollo de la placa de ateroma se puede observar en la figura 9. Comienza por un aumento de la permeabilidad de las lipoproteínas (sobre todo c-LDL,

aunque también de colesterol IDL (c-IDL) y quilomicrones remanentes), que les permite atravesar el endotelio. Las causas de este fenómeno se cree que son multifactoriales: puede ser debido a factores físicos (aumento de la presión arterial) o bioquímicos (aumento de la concentración plasmática de las LDL) o bien el conjunto de éstos junto con otros factores desconocidos (85). Los macrófagos presentes en la pared arterial poseen receptores con gran afinidad para captar LDL oxidadas, que han sido modificadas por peroxidación lipídica, dando origen a las células espumosas (macrófagos cargados de lípidos), formando la denominada estría grasa. Este proceso puede acelerarse en presencia de grandes concentraciones plasmáticas de c-LDL, produciéndose una sobrecarga de células espumosas muertas que forman un cúmulo de lípido extracelular. Los macrófagos estimulan la acumulación de lípidos en las células musculares lisas subyacentes, generándose citocinas que a su vez atraen más macrófagos, lo que determina que el proceso inflamatorio se cronifique (86). Por tanto, la placa de ateroma está formada por un núcleo lipídico con restos celulares, rodeado de tejido fibroso, lo que se traduce en una reducción de la luz de la arteria. Esta reducción parcial o total puede causar isquemia en ese punto en concreto o desprenderse y bloquear otra arteria, de pequeño o gran calibre, ocasionando diversos accidentes isquémicos según su localización, ya sean un síndrome coronario agudo, accidente vascular cerebral o arteriopatía periférica.

3.2. Factores de riesgo cardiovascular

La enfermedad cardiovascular (ECV) es un término amplio que engloba trastornos del sistema cardiovascular que incluye el corazón y los vasos sanguíneos. Se clasifican, según su etiología, en hipertensión arterial, cardiopatía coronaria,

enfermedad cerebrovascular, enfermedad vascular periférica, insuficiencia cardíaca, miocardiopatías y cardiopatías congénitas y reumáticas.

Según datos de la Organización Mundial de la Salud (OMS), 17,7 millones de personas murieron en el mundo en 2015 a causa de ECV. De estas, el 80% fueron cardiopatías coronarias y accidentes cerebrovasculares (ACV) evitables (87). Se puede decir de un modo simplificado, que la mayoría de las ECV que provocan la muerte son las debidas a un mal control de los factores de riesgo que las provocan y que aceleran el proceso aterosclerótico. Un factor de riesgo cardiovascular (FRCV) es aquel elemento o característica que se asocia a una mayor probabilidad de sufrir ECV (88). En términos generales, los factores de riesgo se clasifican en dos grandes grupos: factores no modificables (no podemos intervenir para evitarlos) y modificables (podemos intervenir).

Dentro de los factores **no modificables** se hallan variables como la edad, el sexo, antecedentes familiares o factores genéticos.

Los **modificables** son precisamente los de mayor interés, ya que en ellos podemos actuar de forma preventiva: hipertensión arterial (HTA), tabaquismo, hipercolesterolemia, diabetes mellitus (DM) y sobrepeso/obesidad (particularmente la obesidad abdominal o visceral), frecuentemente unido al sedentarismo. Estos son los denominados factores de riesgo mayores e independientes, y son los que tienen una asociación más fuerte con la ECV (89).

Otros FRCV que se asocian a un mayor riesgo de ECV son la disminución de las concentraciones plasmáticas de c-HDL, el aumento de la concentración de TG, el aumento de partículas LDL pequeñas y densas (90), la homocisteína, la lipoproteína (a) (Lp(a)) (91), así como otros factores inflamatorios (proteína C reactiva de alta sensibilidad) y protrombóticos (fibrinógeno).

Actualmente se concede gran importancia a los factores psicosociales en el desarrollo de la ECV, ya que se ha demostrado que un bajo nivel socioeconómico, el aislamiento social, la depresión u hostilidad y el estrés laboral o familiar se asocian a un mayor riesgo de ECV, por diversos motivos, entre los cuales se encuentran una alimentación menos cardiosaludable o una menor adherencia al tratamiento. Estos factores psicosociales, además, empeoran el pronóstico de los pacientes con cardiopatía isquémica establecida y dificultan significativamente el control de los FRCV modificables (92).

3.3. Cálculo del riesgo cardiovascular

Las guías clínicas sobre prevención de las enfermedades cardiovasculares utilizan mayoritariamente las tablas de riesgo cardiovascular para estratificar a los pacientes en función de su riesgo, establecer los criterios de tratamiento farmacológico o definir los objetivos terapéuticos. La base se fundamenta en que las intervenciones para reducir el colesterol o la presión arterial producen un mayor beneficio absoluto cuanto mayor es el riesgo cardiovascular (93).

Actualmente, las más importantes desde el punto de vista práctico por estar incorporadas a las guías clínicas son las ecuaciones derivadas de las cohortes del

estudio de Framingham, el Framingham Risk Score o FRS (94), la ecuación del proyecto SCORE (Systematic Coronary Risk Estimation) (95) y la del Registre Gironí del Cor (REGICOR), incluida en las guías clínicas de algunas comunidades autónomas como Baleares o Cataluña (96).

Las tablas SCORE están recomendadas para países de bajo riesgo, y los factores que se incluyen en las tablas son la edad, el sexo, la presión arterial sistólica (PAS), la concentración plasmática de CT y el tabaco (97) (**Figura 10**).

Por otro lado, las tablas de REGICOR incluyen la edad, el sexo, tabaco, diabetes, la PAS, la presión arterial diastólica (PAD), la concentración plasmática de CT y c-HDL. También tiene en cuenta aspectos como ser portador o no del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o sufrir una neoplasia mieloproliferativa (98).

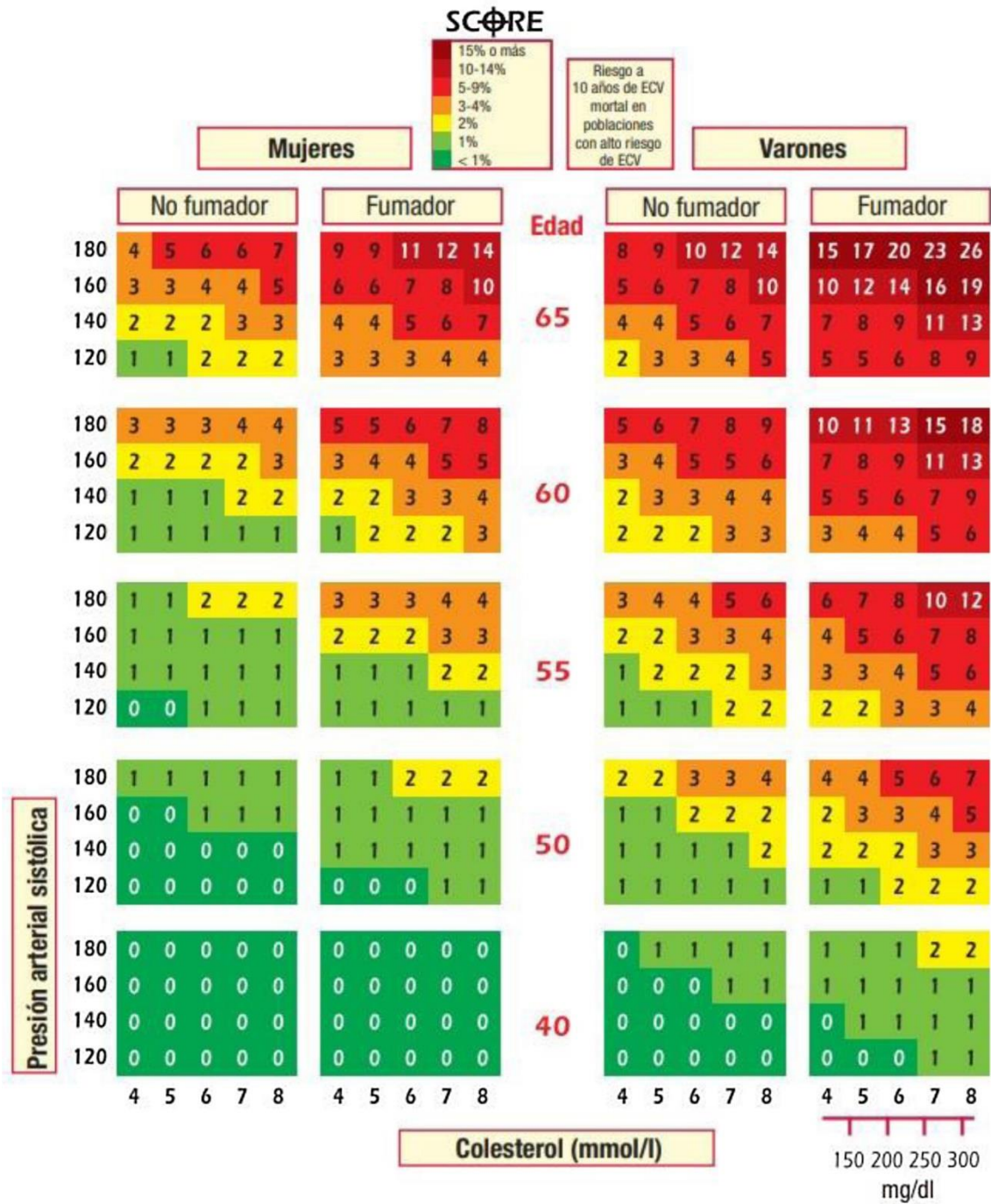


Figura 10. Sistema SCORE (Systematic Coronary Risk Estimation) para países de bajo riesgo cardiovascular que tiene en cuenta la edad, el sexo, la PAS, la concentración plasmática de CT y el tabaco. Conroy RM, Pyörälä K, Fitzgerald AP, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. Eur Heart J. 2003; 24(11):987-1003. doi:10.1016/s0195-668x(03)00114-3.

4. Dislipemias

4.1. Definición

Las dislipemias son alteraciones del metabolismo lipídico, que producen tanto exceso como déficit de la concentración plasmática de lípidos o lipoproteínas. El RCV al que predispone cada uno de los posibles defectos es diferente, en función del tipo de lipoproteína alterada y su concentración. La concentración plasmática de c-LDL, por ejemplo, está fuertemente asociada al proceso de la aterosclerosis, por lo que el restablecimiento de la homeostasis lipídica mediante tratamiento hipolipemiante consigue disminuir la incidencia de episodios de origen isquémico (99).

4.2. Principales magnitudes lipídicas en el diagnóstico de las dislipemias

Triglicéridos

Son la familia más abundante de lípidos y del depósito de lípidos en tejido adiposo. En sangre circulan como quilomicrones en la vía exógena y son transportados por las lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) en la vía endógena. La mucosa intestinal sintetiza los TG a partir de los ácidos grasos de la dieta de cadena larga (con más de 10 átomos de carbono, ya que los de cadena corta pasan directamente a la circulación unidos a la albúmina) o de las VLDL o HDL. Los TG recién sintetizados se unen a las apolipoproteínas (B-48 y A) y forman los quilomicrones. Estos quilomicrones, degradados por la lipoproteína-lipasa (LPL), se enriquecen en apolipoproteína C y colesterol y son catabolizados por el hígado. El hígado sintetiza triglicérido a partir del aporte de ácidos grasos unidos a la albúmina, o triglicérido hidrolizado por la LPL como quilomicrones (100).

Se asocian a la ECV de manera independiente, aunque al ajustarlo por otros factores de riesgo (sobre todo por el c-HDL) esta asociación disminuye, pero sigue siendo significativa, por lo que una disminución de la concentración plasmática de TG se asocia a una reducción de la morbimortalidad coronaria (101). Actualmente, según las guías internacionales, para población adulta existen valores discriminantes independientemente del sexo. Una concentración superior a 1,7 mmol/L es el valor discriminante de riesgo cardiovascular (102).

Lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL) y de densidad intermedia (IDL)

Las VLDL se sintetizan predominantemente en el hígado y tienen como mayor componente los TG. La parte proteica de las VLDL es la molécula apoproteína B-100. Cuando se liberan a la circulación sistémica, incorporan ésteres de colesterol a partir de las HDL gracias a la CETP y la Apoproteína C-II, que activa a la enzima LPL para liberar ácidos grasos a partir de los TG. Además, las VLDL transfieren los componentes en exceso de su superficie (colesterol no esterificado, fosfolípidos y Apo C) a las HDL mientras que éstas les transfieren el colesterol esterificado mediante la lecitina-colesterol-acil-transferasa (LCAT), convirtiéndose en las lipoproteínas de densidad intermedia (IDL), que al ser las lipoproteínas de transición entre las VLDL y LDL, son escasas en el plasma (103). Estas moléculas pueden seguir dos vías de metabolización; 1) ser reconocidas mediante la Apo E que se encuentra en su superficie por receptores hepáticos para ser posteriormente degradadas o 2) evolucionar a LDL cediendo la Apo E a las HDL.

La medición de la concentración plasmática de las VLDL es útil para detectar defectos en la metabolización y en el diagnóstico de algunas dislipemias como la disbetalipoproteinemia. El valor de referencia se establece en 0,1 -1,7 mmol/L o >1,7 mmol/L, indicando acumulación de esta lipoproteína.

Lipoproteínas de baja densidad (LDL)

La única lipoproteína presente en las LDL es la Apoproteína B-100, que expone su dominio y puede interactuar con receptores LDL que se encuentran en los tejidos extrahepáticos y en el hígado. El colesterol en los tejidos puede emplearse para la formación de membranas o puede ser reesterificado para su almacenamiento, en una reacción catalizada por la ACAT (Acyl CoA colesterol-acil-transferasa). Como ya hemos comentado en anteriores apartados, la síntesis de receptores de LDL en el hígado es inhibida por altas concentraciones intracelulares de colesterol. Por tanto, altas concentraciones intracelulares de colesterol provocan una disminución en la captación de c-LDL, lo cual puede conducir a depósitos del colesterol plasmático en los tejidos, incluyendo las arterias. La parte correspondiente a los ácidos grasos poliinsaturados de las LDL son susceptibles de ser oxidados por radicales libres, provocando la aparición de aterosclerosis (104).

En los laboratorios clínicos la forma más ampliamente aceptada para la determinación de la concentración plasmática de c-LDL es la estimación mediante la fórmula de Friedewald (105). Esta fórmula emplea las concentraciones plasmáticas de c-HDL y de TG y no se pierde robustez hasta una concentración

de TG máxima de 2,8 mmol/L. Cuando se supera dicha concentración, no se debe emplear, utilizando en su lugar el c-NoHDL o la apolipoproteína B.

Colesterol No-HDL

La concentración plasmática de c-NoHDL incluye la suma del colesterol unido a LDL y VLDL o, en general, la concentración de moléculas que contienen apoproteína B, por lo que constituye el conjunto de las lipoproteínas aterogénicas. Se calcula restando al CT el c-HDL.

La European Society of Cardiology y la European Atherosclerosis Society recomiendan utilizar el c-NoHDL en pacientes con hipertrigliceridemia (106) y en los últimos años se ha observado que es un biomarcador de riesgo cardiovascular residual más potente que el LDL en muchas situaciones.

Lipoproteínas de alta densidad (HDL)

El c-HDL es un complejo macromolecular compuesto por aproximadamente 50% de lípidos y 50% de proteínas, siendo la apoproteína A1 la principal, ya que constituye aproximadamente el 70% del contenido proteico de la partícula. La mayor parte de los fosfolípidos y colesterol de las HDL provienen de tejidos periféricos. En este paso, el transportador ABCA1 tiene un papel esencial en la lipidación de la apoproteína A1 (107).

Aunque ha sido discutido a lo largo de los años, también es un FRCV independiente. La asociación entre c-HDL y ECV es inversamente proporcional: los individuos con alto c-HDL tienen una menor probabilidad de tener ECV que

aquellos que presentan concentraciones bajas. Se calcula que un aumento de 1 mg/dL en la concentración de HDL se asocia a una disminución del riesgo coronario de un 2% en los varones y un 3% en las mujeres (108). El aumento c-HDL ha pasado a ser una posible estrategia terapéutica para reducir la tasa de incidencia de ECV, y se recomienda mantener concentraciones por encima de 1 mmol/L (102).

Lipoproteína (a)

La Lp(a) es una lipoproteína rica en colesterol que va ligada a la apolipoproteína (a) mediante un puente disulfuro. La Lp (a) es sintetizada en el hígado y no es influenciada por los TG, por la dieta ni por la edad, por lo que es uno de los principales factores de riesgo de la ECV aterosclerosa prematura (109). Se trata de un FRCV independiente muy significativo especialmente en población blanca europea, con un aumento del riesgo del 13% por cada 3,5 veces de elevación de la concentración plasmática de Lp(a) respecto al valor discriminante (0,30 g / L) (110). De momento, hasta la comercialización de los anticuerpos anti-Lp(a), es un FRCV no modificable.

Apolipoproteína A-I

Proteína sintetizada en el hígado y en el intestino, presente sobre todo en las HDL. Un defecto en el gen de la apolipoproteína A-I puede disminuir su síntesis y provocar una falta de las HDL. La apolipoproteína A-I activa la LCAT, que cataliza la esterificación del colesterol. Reacciona, además, con el receptor de las HDL, provocando la captación hepática del colesterol procedente de las células periféricas. Existe una relación inversa entre su concentración en plasma y el

riesgo de sufrir las manifestaciones clínicas de la arterioesclerosis (111). El valor de referencia es de 1,08 - 2,25 g/L para mujeres y 1,04 - 2,02 g/L para hombres. Se considera universal, ya que se utiliza el estándar internacional (OMS-IFCC SP1-01) para su medición.

Apolipoproteína B

Término que designa conjuntamente a las apolipoproteínas B-100 y B-48 (que tiene una masa molecular relativa un 48% de la anterior). Las diferencias entre estas formas son debidas al metabolismo postranscripcional que tienen lugar en el citoplasma. La apolipoproteína B-100 es el ligando fisiológico del receptor de las LDL. La apolipoproteína B-48 es la principal apolipoproteína no transferible de los quilomicrones. Presenta correlación con lesiones vasculares arterioscleróticas, pudiendo ser de gran utilidad cuando no es posible calcular el c-LDL, proponiéndose incluso como un marcador de mayor precisión de riesgo aterogénico que el c-LDL (112). El valor de referencia es de 0,60 - 1,17 g/L para mujeres y de 0,66 - 1,33 g/L para hombres. Se considera universal, ya que se utiliza el estándar internacional (OMS-IFCC SP3-07) para su medición.

4.3. Clasificación de las dislipemias

Las dislipidemias pueden clasificarse desde el punto de vista del fenotipo lipídico o de la etiología.

La clasificación según **el fenotipo lipídico** es la de Fredrickson-OMS (113) y se basa en la concentración plasmática de CT y TG, así como el aspecto de la muestra de suero a 4°C. Presenta importantes limitaciones, como su incapacidad

para diferenciar la causa y el mecanismo responsable de la alteración lipídica. Su empleo en la práctica clínica es limitado.

Actualmente, las dislipemias se clasifican en hipercolesterolemia (cuando existe un aumento de la concentración plasmática de CT o c-LDL), hipertrigliceridemia (por aumento en la concentración plasmática de TG) o bien dislipemias mixtas por aumento de ambos. Por otro lado, las hipolipidemias se clasifican en hipocolesterolemia o hipotrigliceridemia.

Las dislipemias también se clasifican desde un punto de vista **etiológico**, que divide las dislipemias en primarias, si el origen es mayoritariamente por causas genéticas, o secundarias, donde predominan las causas ambientales y coexistencia de otros trastornos o enfermedades (114).

Se describe a continuación la clasificación de las dislipidemias según su etiopatogenia (115):

Dislipemias primarias

Su desarrollo se debe principalmente a una causa genética y afectan entre un 5-10% de la población general (114). Pueden ser monogénicas o poligénicas:

- Dislipemias primarias de origen monogénico

Estas dislipemias, que están causadas por un solo gen, exhiben un patrón de herencia mendeliana de tipo autosómico dominante, codominante o

autosómico recesivo. Suelen cursar con concentraciones plasmáticas muy elevadas de colesterol o TG, y en el caso de las hipercolesterolemias familiares se asocian a una historia familiar de ECV prematura y pueden cursar con signos y síntomas patognomónicos, como los xantomas eruptivos, xantelasmas o arco corneal en individuos menores de 45 años.

Dentro de las dislipemias primarias de origen monogénico podemos destacar: las hipercolesterolemias monogénicas, las hiperlipidemias mixtas monogénicas, las hipertrigliceridemias monogénicas, las hipolipidemias primarias y las hipertrigliceridemias primarias.

- Dislipemias primarias de origen poligénico

Las dislipemias de origen **poligénico** son causadas por la presencia de numerosas variantes genéticas y son las más frecuentes en población occidental. Las diferencias de expresión de la dislipidemia a igual susceptibilidad genética se deben a factores dietéticos, médicos o ambientales. Las más frecuentes son: la hipercolesterolemia poligénica, la hiperlipidemia familiar combinada y la hipertrigliceridemia poligénica (**tabla 2**).

Dislipidemias primarias poligénicas	Gen/genes	Fenotipo	Rcv	Rasgos
Hipercolesterolemias				
Hipercolesterolemia poligénica	Múltiples genes herencia familiares primer grado < 10%	(HC) IIa	ECV +++	-
Hiperlipidemia familiar combinada	Múltiples genes, incremento síntesis ApoB	ApoB elevada, VLDL pequeñas, HDL disminuido	ECV +++	Cardiopatía isquémica familiar
Hipertrigliceridemias				
Hipertrigliceridemia familiar poligénica	GWAS, APOCII, APOAV, APOAIV	TG elevados, HDL disminuido, asociación con apoB baja	ECV ++	50% familiares primer grado Tg similares QM si factores estresantes

Tabla 2. Dislipemias primarias de origen poligénico. Entre paréntesis se muestra los fenotipos clásicos establecidos por Fredrickson. ECV: enfermedad cardiovascular; HC: hipercolesterolemia; HTG: hipertrigliceridemia; QM: hiperquilomicronemia. *Candás Estébanez B, Pocoví Mieras M, Romero Román C, Vella Ramírez JC, Esteban Salán M, Castro Castro MJ et al. Estrategia para el diagnóstico de las dislipidemias. Recomendación 2018. Rev Lab Clin. 2019; 12(4): e21-e33.*

Dislipemias secundarias

Las dislipidemias secundarias son aquellas que se deben a factores ambientales, malos hábitos higiénico-dietéticos o a la presencia de otra enfermedad. Aunque en la dislipidemia secundaria en muchos casos podría estar indicada la administración de fármacos hipolipemiantes, será siempre prioritario el tratamiento y control previo de la enfermedad de base, así como una corrección de los hábitos. Cabe destacar las dislipemias secundarias a hipotiroidismo, alcoholismo, hepatopatías, nefropatías, diabetes mellitus, y a algunos fármacos como los inhibidores de proteasas o inmunosupresores (sobre todo ciclosporina).

4.4. Tratamiento de las dislipemias

Como se ha visto en el apartado anterior, en primer lugar, se deben descartar las causas de dislipemia secundaria (diabetes mellitus, hipotiroidismo, nefropatía, hepatopatía, etc.). Una vez identificadas estas causas, deben corregirse siempre que sea posible, y posteriormente evaluar el RCV del paciente mediante las tablas de riesgo (REGICOR, SCORE) para tomar las decisiones terapéuticas adecuadas. El uso de estas tablas está muy extendido, pero no deben emplearse en las dislipemias primarias debido a que per se confieren al individuo un riesgo muy elevado.

La intensidad del tratamiento dependerá en gran medida de si el paciente se encuentra en prevención primaria (trata de evitar ECV en individuos en los que no se ha producido ningún evento previo) o prevención secundaria (ya tienen establecida la ECV y tienen el riesgo de sufrir un evento recurrente).

El tratamiento que hay que aplicar es diferente según la condición del individuo; de este modo, de forma general, debe recurrirse a las tablas para calcular el riesgo de forma individualizada. Además, según las guías clínicas, un individuo puede clasificarse en muy alto riesgo sin necesidad de recurrir al cálculo con las tablas en los casos en que existan FRCV como la diabetes, edad, hipertensión o bien eventos cardiovasculares previos. Es muy útil recurrir a las guías europeas y americana en las que se establecen valores discriminantes teniendo en cuenta estos aspectos. En general, la más sencilla es la guía del National Cholesterol Education Program NCEP-ATP III (102), que establece como objetivos de prevención primaria un c-LDL $< 3,4$ mmol/L o c-NoHDL $< 4,1$ mmol/L y un c-LDL

<2,6 mmol/L o c-NoHDL <3,4 mmol/L como prevención secundaria. Las guías europeas como la European Society of Cardiology (ESC) y la European Atherosclerosis Society (EAS) (115) proponen diferentes tratamientos intentando individualizar al máximo según la condición del paciente, definiendo incluso objetivos de 70 mg/dL (1,8 mmol/L) de c-LDL en los casos de pacientes con mayor riesgo, acogiéndose a la premisa de “el c-LDL cuanto más bajo mejor”. Teniendo en cuenta esto, resultaría muy útil conocer qué estatina tendría mayor efecto en los pacientes, para conseguir individualizar aún más el tratamiento.

II. HIPÓTESIS

II. HIPÓTESIS

Las estatinas son fármacos inhibidores de la HMG-CoA reductasa, enzima limitante en la síntesis de colesterol. Su efecto hipolipemiente está ampliamente extendido en prevención primaria y secundaria de la aterosclerosis. Sin embargo, la respuesta terapéutica presenta una gran variabilidad interindividual en la disminución de la concentración plasmática de c-LDL y en el aumento de c-HDL. Además de los factores higiénico-dietéticos que condicionan esta respuesta, existen múltiples genes implicados en el transporte, metabolismo y eliminación de las estatinas, así como los implicados en el propio metabolismo lipídico, que podrían influir en la respuesta al tratamiento con estos fármacos. El estudio de algunas variantes genéticas de los genes *CETP* y *ABCA1* involucrados en el metabolismo lipídico, y *CYP2D6* y *CYP2C9* implicados en la farmacocinética de estos fármacos es prometedor, pero todavía no se ha llegado a obtener una clara evidencia científica en relación con la eficacia al tratamiento con estatinas. Recientemente, se ha ampliado el estudio farmacogenético de las estatinas a otros genes no directamente relacionados con el metabolismo lipídico ni de estos fármacos, como el gen *KIF6*, cuya expresión viene regulada por fenómenos post-traduccionales que tienen lugar en los tejidos vasculares. El mecanismo mediante el cual *KIF6* podría estar influenciando la efectividad del tratamiento hipolipemiente permanece desconocido.

II. HIPÓTESIS

La hipótesis planteada en la presente tesis doctoral es que las variantes genéticas seleccionadas influyen en la eficacia del tratamiento con estatinas. La confirmación de esta asociación podría mejorar la individualización del tratamiento, estando más cerca de desarrollar una medicina personalizada que al mismo tiempo sea coste-efectiva.

III. OBJETIVOS

III. OBJETIVOS

Basándonos en estos antecedentes, se proponen los siguientes objetivos:

Objetivo primario

Realizar un estudio farmacogenético, a través de la selección **de genes candidatos** (*candidate genes study*) que evalúe la influencia de las variantes genéticas rs708272 y rs5882 del gen *CETP*, rs2230806 del gen *ABCA1*, rs20455 del gen *KIF6*, rs35742686, rs3892097 y rs5030655 del gen *CYP2D6* y rs1799853 y rs1057910 del *CYP2C9* en la eficacia al tratamiento con estatinas, medida como:

- Cambios de tipo cuantitativo en la concentración plasmática de c-LDL y c-NoHDL después de la instauración del tratamiento.
- Cambios de tipo cualitativo en la consecución o no de objetivos c-LDL/c-NoHDL. después de la instauración del tratamiento.

Objetivos secundarios

Se definen dos objetivos secundarios:

1. Estudiar la influencia de estas variantes genéticas en la eficacia al tratamiento estratificando la población en función del tipo de estatina prescrita: simvastatina, atorvastatina o rosuvastatina.
2. Estudiar la influencia de estas variantes genéticas en los cambios de tipo cuantitativo en la concentración plasmática de c-HDL después de la instauración del tratamiento con estatinas.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1. Primer estudio

1.1. Cita al estudio publicado

Ruiz-Iruela, C., Candás-Estébanez, B., Pintó-Sala, X., Baena-Díez, N., Caixàs-Pedragós, A., Güell-Miró, R., Navarro-Badal, R., Calmarza, P., Puzo-Foncilla, J. L., Alía-Ramos, P., & Padró-Miquel, A. (2020).

Genetic contribution to lipid target achievement with statin therapy: a prospective study.

The pharmacogenomics journal, 20(3), 494–504.

<https://doi.org/10.1038/s41397-019-0136-7>.

No es posible adjuntar la publicación completa de este artículo al estar protegido por derechos de autor (© Springer Nature Limited 2019).

1.2. Presentación

La gran variabilidad interindividual que presentan los pacientes al tratamiento con estatinas es debida en parte a factores genéticos que condicionan su mayor o menor efectividad (32, 33). El abordaje a través de estudios de genes candidatos (*candidate genes study*) de tipo prospectivo es la herramienta de elección para confirmar los hallazgos en estudios GWAS, pero todavía no se ha llegado a

obtener una clara evidencia científica de como afectan estos factores genéticos en la eficacia al tratamiento con estatinas.

Se realizó un estudio prospectivo, multicéntrico y observacional para evaluar las variantes genéticas de los genes *CETP* (rs708272 y rs5882) y *ABCA1* (rs2230806) involucradas en el metabolismo lipídico, y *CYP2D6* (rs35742686, rs3892097 y rs5030655) y *CYP2C9* (rs1799853 y rs1057910) involucradas en el metabolismo de las estatinas en la eficacia al tratamiento con simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina. Para ello, se seleccionaron 344 pacientes sin tratamiento hipolipemiante previo con altas concentraciones de c-LDL que, a criterio de su especialista, necesitaran ser tratados con una estatina. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: 1) hipercolesterolemia familiar debida a mutaciones en los genes *LDLR*, *APOB*, *LDLRAP1* o *PSCK9*; 2), pacientes polimedicados (6 o más fármacos) o tratados con inmunosupresores, antidepresivos, antiretrovirales u otros fármacos hipolipemiantes; 3) enfermedad autoinmune; 4) enfermedad hepática crónica; 5) sospecha de nula o baja adherencia al tratamiento, verificado a través de la visita posterior durante la entrevista médica; 6) hipotiroidismo; 7) participación en un ensayo clínico; 8) intolerancia a las estatinas. Por tanto, se descartaron pacientes con dislipemia secundaria o monogénica y se incluyeron pacientes con dislipemia primaria poligénica, ya sea hipercolesterolemia o hiperlipemia combinada.

Se realizaron modelos de regresión multivariante mediante el método *back stepwise* ajustados por variables de control clínicas y demográficas: edad (años) , sexo, isquemia previa (si/no), antecedentes familiares de isquemia (si/no),

hipertensión (si/no), presión arterial diastólica (mmHg), presión arterial sistólica (mmHg), diabetes (si/no), antecedentes de tabaquismo (si/no), consumo actual de tabaco (si/no), antecedentes de consumo de alcohol (si/no), consumo actual de alcohol (si/no), índice de masa corporal, ejercicio (si/no), intensidad del ejercicio (no/bajo/moderado/alto) , concentraciones plasmáticas iniciales de c-LDL, c-NoHDL y c-HDL, medición de la concentración de Lp (a) (g/L) y portador de la variante rs4149056 del gen SLCO1B1 (alelo C) (116). La intensidad del tratamiento se evaluó cualitativamente (baja, moderada y alta) de acuerdo con la guía de práctica clínica *American College of Cardiology* (117).

Para valorar la eficacia del tratamiento, se utilizó las siguientes variables:

- 1) **La llegada a objetivos terapéuticos de c-LDL/c-NoHDL:** Los objetivos terapéuticos tras el tratamiento con estatinas se establecieron siguiendo las guías de práctica clínica del *National Cholesterol Education Program* NCEP-ATP III (102): prevención primaria (objetivos de c-LDL < 3,4 mmol/L o c-NoHDL <4,1 mmol/L) o secundaria, cuando ya ha padecido algún evento cardiovascular o existe la presencia de riesgos equivalentes como es la diabetes: (objetivos de c-LDL <2,6 mmol/L o c-NoHDL <3,4 mmol/L). Se tuvieron en cuenta los objetivos relativos a c-NoHDL únicamente cuando no fue posible calcular la concentración de c-LDL mediante la fórmula de Friedewald (105).
- 2) **Cambios cuantitativos del perfil lipídico post-tratamiento:** se recogieron las concentraciones de las magnitudes relacionadas con el metabolismo lipídico: concentración plasmática de c-LDL, c-NoHDL y c-

HDL durante la primera visita (sin tratamiento) y en la segunda visita (aproximadamente 3 meses después de la instauración del tratamiento).

1.3. Resultados y discusión

Se incluyeron 344 pacientes entre junio de 2014 y febrero de 2017 de forma prospectiva. De estos, se excluyeron 92 durante el estudio por diferentes motivos (falta de adherencia al tratamiento, pérdida de seguimiento, intolerancia a las estatinas relacionada con complicaciones musculares etc.). Consecuentemente, el análisis estadístico se realizó con 252 pacientes: 106 pacientes estaban en tratamiento con simvastatina, 116 con atorvastatina y los 30 restantes con rosuvastatina.

Las variantes *ABCA1* rs2230806 y *CYP2D6* rs35742686 influyeron en la respuesta al tratamiento con estatinas. Los pacientes portadores de estas variantes presentaron menor probabilidad de llegar a objetivos terapéuticos c-LDL/c-NoHDL (*ABCA1* rs2230806 $p = 0,020$; OR (IC95%) = 0,59 (0,37 a 0,93) y *CYP2D6* rs35742686 $p = 0,040$; OR (IC95%) = 0,23 (0,05 a 0,93)). Además, los portadores del genotipo TT (minoritario) de la variante *ABCA1* rs2230806 presentaron un descenso de c-LDL un 12% menor (IC 95%= (2,73 a 21,46)) en el caso de la simvastatina y atorvastatina ($p = 0,012$). Por otro lado, las variantes *CETP* rs708272 y *CETP* rs5882 influyeron significativamente en el tratamiento con rosuvastatina: los portadores de rs708272 presentaron una menor disminución en la concentración plasmática de c-LDL, concretamente un 10,56% menos (IC 95%= (1,27 a 19,86), $p = 0,028$) que los no portadores. Para el caso de la variante rs5882, los portadores respondieron mejor que los no portadores,

bajando el c-LDL un 13,33% más (IC 95%= (25,38 a 1,28), $p= 0,032$). El resto de las variantes estudiadas no mostraron una influencia estadísticamente significativa.

Hasta el momento, este es el primer estudio de carácter observacional que incluye pacientes de forma prospectiva y que ha analizado la eficacia de las estatinas valorada como cambio en el perfil lipídico y consecución de objetivos terapéuticos. Es importante destacar que se ha realizado en tiempo real con pacientes incluidos en la práctica clínica habitual, pilar fundamental de este estudio, del que se extrae que los resultados pueden aplicarse en pacientes que acuden a su ambulatorio o a su unidad funcional de riesgo cardiovascular.

En nuestro estudio, se ha observado que 81 pacientes de 252 no llegaban a objetivos terapéuticos de c-LDL/c-NoHDL después del tratamiento con estatinas, lo que supone el 32,1% del total. El objetivo final del estudio de las variantes genéticas mencionadas es valorar si permiten estratificar predictivamente a los pacientes en función de su respuesta a estatinas, de modo que se pudiera prescribir tratamiento más intensivo al grupo *peor respondedor* para, en definitiva, poder reducir cuanto antes el riesgo cardiovascular de este grupo de pacientes y ser más eficaces con los recursos disponibles.

Dentro de los resultados descriptivos, cabe destacar que la media de edad del grupo que no llega a objetivos terapéuticos (50 años) es menor que la media del grupo que sí los alcanzan (55 años). Por otro lado, hay un menor porcentaje de pacientes con historial de alcoholismo en el grupo de los que llegan a objetivos c-

LDL/c-NoHDL. Para el resto de las variables estudiadas no se encontró ninguna diferencia significativa entre los que responden mejor y los que responden peor. Las variables de control que prevalecieron en los modelos multivariantes después del ajuste estadístico *back stepwise*, fueron la concentración inicial de c-LDL/c-NoHDL y la dosis de estatina. Cabe destacar, sin embargo, el caso concreto de la rosuvastatina, donde la variable de control es la presentación de eventos previos de CAD. Este hecho se debe a la peculiaridad de que su prescripción se restringe a pacientes con muy alto riesgo cardiovascular, donde estarían más representados los pacientes con eventos isquémicos previos.

Una vez el modelo estadístico fue ajustado por las variables de control, la variante *ABCA1* rs2230806 mantuvo su efecto estadísticamente significativo sobre la respuesta al tratamiento con estatinas (los portadores tienen menor probabilidad de llegar a objetivos terapéuticos); este efecto se mantiene cuando se estudia el subgrupo de pacientes en tratamiento con simvastatina o atorvastatina. El gen *ABCA1* se encuentra en el cromosoma 9, concretamente en el área 9q31.1, y codifica para la proteína ABCA1. Esta proteína, que se expresa en diversos tejidos como el hígado, macrófagos e intestino, vehicula la salida de colesterol y fosfolípidos desde el interior de las células hacia las apolipoproteínas extracelulares para la formación de c-HDL nacientes, por lo que es un transportador que provee a la célula de un método eficaz para la liberación del exceso del colesterol intracelular (118, 119). También se le han atribuido propiedades antiinflamatorias por su capacidad para modular el contenido de colesterol de las balsas lipídicas de la membrana (120). La variante genética *ABCA1* rs2230806 da como resultado un cambio de aminoácido en el codón 219

de arginina a lisina y se localiza en los dos bucles extracelulares principales de la proteína ABCA1, que tienen un papel fundamental para la interacción con apoA-I y para el flujo de salida de colesterol de la célula (121). Los resultados obtenidos en este estudio muestran que los pacientes con genotipo TT responden peor al tratamiento con estatinas: presentan un descenso de la concentración plasmática de c-LDL un 12% menor en el caso de la simvastatina y atorvastatina, siendo además el grupo que presenta menor probabilidad de llegar a objetivos c-LDL/c-NoHDL en comparación con los genotipos CT y CC. En algunos estudios se ha contrastado que las estatinas, además de inhibir la enzima HMG-CoA reductasa, podrían actuar regulando la expresión del gen *ABCA1* (122, 123). El posible mecanismo por el cual la variante genética induce a una peor respuesta podría estar en una menor expresión del gen en tratamiento con estatinas cuando está presente el alelo minoritario, pero hasta donde se conoce, no existen estudios in vitro que corroboren la influencia que ejerce la variante sobre la función de la proteína ABCA1 ni tampoco su comportamiento en presencia de estatinas. Sin embargo, en el estudio de Akao *et al.* (72) no se encuentra ninguna relación estadísticamente significativa entre el polimorfismo y las variaciones de la concentración plasmática de c-LDL en tratamiento con pravastatina, al igual que en el estudio de Li *et al.* (71), también con pravastatina, donde se observa que los pacientes portadores de la variante T presentan mayores concentraciones plasmáticas de c-HDL, aunque no encontraron relación con las concentraciones plasmáticas de c-LDL. Esta diferencia de resultados podría estar justificada por las interacciones gen-gen y gen-ambientales, la clase de estatina estudiada o los diferentes criterios de selección de la población de estudio. Serían necesarios estudios in vitro sobre la influencia de esta variante genética en la función de la

proteína ABCA1 para establecer las bases moleculares de acción con las estatinas.

Por otro lado, la variante *CYP2D6* rs35742686 también ha mostrado una asociación estadísticamente significativa con la eficacia a estatinas: los pacientes que presentan la delección T tienen menor probabilidad de alcanzar objetivos c-LDL/c-NoHDL, por lo que responden peor al tratamiento con estatinas. El gen *CYP2D6* se encuentra en el cromosoma 22 y codifica para la proteína CYP2D6, enzima hepática que contribuye al metabolismo de muchos fármacos, y que presenta la característica de ser altamente polimórfica: alrededor de 100 variantes alélicas se han descrito hasta la fecha en *Pharmacogene Variation Consortium* (124). Entre ellas, se encuentra la variante *CYP2D6* rs35742686, en la que se produce un cambio en el marco de lectura causado por la delección de un nucleótido T, por lo que esta variante está asociada a un alelo inactivo. Actualmente, existen pocos trabajos en relación con las estatinas y variantes del *CYP2D6* (82, 125, 126), y ninguno muestra resultados concluyentes con la variante *CYP2D6* rs35742686, influenciado probablemente por la baja frecuencia alélica que presenta (MAF (European_CEU) = 0,018) (127). Se han publicado diversos estudios que relacionan la ausencia de actividad del CYP2D6 con una falta de efecto terapéutico en fármacos como el tramadol (128) y tamoxifeno (129), debido al papel fundamental que juega esta enzima en la transformación de estos fármacos a sus metabolitos activos, por lo que se podría hipotetizar sobre el papel que jugaría la enzima CYP2D6 en la transformación de las estatinas que tienen metabolitos activos, como la simvastatina y la atorvastatina (11).

Finalmente, el estudio de rosuvastatina mostró una relación estadísticamente significativa de los alelos minoritarios de las variantes rs708272 (G>A) y rs5882 (A>G) del gen *CETP* con la eficacia del tratamiento: mientras que los portadores del alelo minoritario A de la primera responden peor al tratamiento con rosuvastatina, los que presentan el alelo minoritario G de la variante rs5882 presentan un descenso de la concentración plasmática de c-LDL mayor que los pacientes no portadores. Con respecto a estas variantes genéticas, está documentado su rol en el metabolismo del colesterol, y también su relación con la aparición de enfermedades cardiovasculares (130), pero su función en la respuesta al tratamiento con estatinas sigue siendo no concluyente (131). El polimorfismo rs708272 (A) del gen *CETP* está ubicado en el intrón 1 y produce la sustitución de una guanina por una adenina en el nucleótido 277 (277G>A), alterando el sitio de restricción de la endonucleasa. El alelo minoritario A se asocia a menores concentraciones de proteína CETP y mayores de c-HDL (59, 60). Esta relación puede explicarse por el fuerte desequilibrio de ligamiento que existe entre esta variante y la variante promotora rs1800775 del mismo gen (conocida como -629A>C) (132). Un estudio llevado a cabo por Carlquist *et al.* (133) mostró una disminución de riesgo de CAD en pacientes portadores del alelo minoritario, aunque cabe destacar que este estudio se realizó en población de alto riesgo (previo evento isquémico) y no en población general. Por el contrario, se ha visto que en tratamiento con estatinas puede producirse en los pacientes portadores de la variante un aumento en el riesgo de CAD (61), hecho que podría estar ligado a una menor disminución de la concentración plasmática de c-LDL, en concordancia con nuestro estudio. La variante rs5882 (G) del gen *CETP* produce un cambio de valina por isoleucina (p. Val422Ile), que está relacionado

con una menor expresión del gen *CETP*, y por tanto una menor concentración de esta proteína (63). Por consiguiente, los pacientes tratados con estatinas y portadores del alelo minoritario G podrían beneficiarse más de la terapia hipolipemiante, en comparación con los portadores del alelo mayoritario A, en concordancia con lo que se observa en este trabajo.

Hasta donde sabemos, este estudio es el primero en encontrar una relación entre estas variantes y la respuesta al tratamiento con rosuvastatina. No obstante, una de las limitaciones de este estudio es el bajo tamaño muestral del grupo de pacientes en tratamiento con rosuvastatina. Para este grupo es más difícil de conseguir un tamaño muestral adecuado ya que es una estatina de muy alta potencia, y su uso queda limitado a pacientes con muy alto riesgo cardiovascular destinados en unidades especializadas de lípidos y hospitales de tercer nivel. Es frecuente que este grupo de pacientes haya sido tratado previamente con otra estatina de menor potencia como atorvastatina o simvastatina y no hayan realizado el “periodo de lavado” antes de empezar el tratamiento con rosuvastatina, lo que hace que el número de pacientes *naive* sea más difícil de conseguir. Se requiere ampliar el tamaño muestral para poder confirmar estos resultados.

En conclusión, este primer estudio encontró relaciones estadísticamente significativas entre variantes genéticas de los genes *ABCA1*, *CETP* y *CYP2D6* y la eficacia del tratamiento con estatinas, de modo que los pacientes portadores tienen menor probabilidad de llegar a objetivos terapéuticos c-LDL/c-NoHDL, excepto para la variante rs5882 del gen *CETP*, donde los portadores en

tratamiento con rosuvastatina responden mejor. El descenso en c-LDL/NoHDL debido a la carga genética (10-12%) es equiparable al efecto hipolipemiante de fármacos como ezetimiba o las resinas (134, 135), usados habitualmente en combinación con las estatinas para mejorar la consecución de los objetivos terapéuticos, por lo que el impacto de estas variantes podría ser de elevado interés para la individualización del tratamiento.

2. Segundo estudio

2.1. Cita al estudio publicado

Ruiz-Iruela, C., Padró-Miquel, A., Pintó-Sala, X., Baena-Díez, N., Caixàs-Pedragós, A., Güell-Miró, R., Navarro-Badal, R., Jusmet-Miguel, X., Calmarza, P., Puzo-Foncilla, J. L., Alía-Ramos, P., & Candás-Estébanez, B. (2018).

KIF6 gene as a pharmacogenetic marker for lipid-lowering effect in statin treatment.

PloS one, 13(10), e0205430.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430>.

2.1. Presentación

KIF6 es una proteína que pertenece a la superfamilia de las kinesinas, proteínas que permiten el transporte intracelular de los orgánulos, proteínas complejas y mRNAs. Se han publicado diversos estudios que relacionan el polimorfismo rs20455 del gen *KIF6* (c.2155T>C) con la respuesta al tratamiento con estatinas. Esta variante supone un cambio *missense* de arginina por triptófano en el aminoácido 719 de esta proteína (NP_659464.3: p. Trp719Arg). Aunque el mecanismo concreto de dicha relación permanece desconocido, se hipotetiza que podría estar relacionado con los efectos pleiotrópicos de las estatinas, más allá de su efecto hipolipemiante.

En la literatura existe controversia respecto al efecto de esta variante en la respuesta al tratamiento con estatinas, por lo que es interesante estudiar la influencia que podría tener este polimorfismo con las estatinas más utilizadas en

la práctica clínica habitual, como la atorvastatina, la simvastatina, y también la rosuvastatina.

Es importante tener en cuenta que en los artículos publicados hasta ahora que han incluido la variante del gen *KIF6*, se ha medido la eficacia al tratamiento con estatinas como la disminución del riesgo de sufrir un episodio cardiovascular. Por tanto, es de gran interés estudiar la eficacia desde el punto de vista de la acción directa de estos fármacos, midiendo los cambios que se producen en el perfil lipídico de los pacientes después de la instauración del tratamiento. De esta manera se reproduce de forma más robusta la realidad de la práctica clínica habitual, donde las decisiones médicas sobre cambios terapéuticos en el tratamiento con estatinas se basan principalmente en cambios objetivables en el perfil lipídico.

El objetivo de este segundo artículo fue realizar un estudio prospectivo, observacional y multicéntrico para evaluar la influencia de esta variante en la eficacia al tratamiento con simvastatina, atorvastatina y rosuvastatina.

La cohorte de pacientes incluidos, así como las variables de control y la estrategia estadística ya han sido descritos para el primer trabajo.

2.2. Resultados y discusión

En este estudio se comprobó que la variante c.2155T>C del gen *KIF6* influye en la respuesta al tratamiento con simvastatina y atorvastatina. Los homocigotos para la variante (genotipo CC) presentan una peor respuesta. Concretamente, se ha

encontrado que la concentración plasmática de c-LDL disminuye un 8,1% menos que en los pacientes TT o CT ($p= 0,010$). En relación con la rosuvastatina, los pacientes portadores de la variante C presentan un aumento de c-HDL un 22% menor que los pacientes que no tienen la variante ($p= 0,008$).

Tal como se ha mencionado anteriormente, la mayoría de los estudios publicados hasta el momento que relacionan la variante rs20455 del gen *KIF6* con la respuesta al tratamiento con estatinas miden la eficacia mediante la disminución del riesgo de sufrir un episodio cardiovascular. En este aspecto, los resultados obtenidos hasta ahora son contradictorios. Diversos estudios llevados a cabo por *lakoubova et al.* (77, 78) han reportado que los pacientes portadores de la variante (genotipos TC y CC) presentan menos riesgo de sufrir una enfermedad coronaria cuando son tratados con pravastatina o atorvastatina respecto a los pacientes no portadores. En la misma línea, un estudio realizado por *Shiffman et al.* (136) ratifica estos hallazgos con pravastatina, aunque cabe destacar que todos estos estudios están realizados con la misma cohorte de pacientes.

De hecho, esta asociación no se ha podido confirmar en otros estudios con simvastatina (137), rosuvastatina (138) o atorvastatina (139). Otros autores como *Chen S et al.* (140) han observado en estudios posteriores que, aunque todos los pacientes en tratamiento con estatinas reducían significativamente el riesgo cardiovascular, los pacientes portadores de la variante (genotipos TC y CC) tenían una mayor incidencia cardiovascular en comparación con los no portadores. Recientemente, un artículo publicado por *Angelini et al.* (141) concluye que no existe ninguna relación significativa entre la variante rs20455 del gen *KIF6*

y la eficacia al tratamiento con estatinas en términos de efectos sobre el perfil lipídico, aunque las tendencias observadas en sus resultados apuntan a que el grupo homocigoto CC responde peor al tratamiento. El estudio presenta ciertas diferencias en el diseño en relación con el estudio de esta tesis, ya que el de Angelini *et al.* es de carácter retrospectivo, no está ajustado por intensidad de dosis ni tipo de estatina, y la variable a predecir es cualitativa en función de si los pacientes llegan o no a un único objetivo de c-LDL $\leq 3,4$ mmol/L (130 mg/dL).

Es importante resaltar que los resultados obtenidos en esta tesis muestran una significación estadística entre sufrir un evento coronario y ser portador de esta variante en todos los pacientes antes de ser tratados con estatinas. Actualmente existe bibliografía que sustenta este hecho (142, 143, 144).

Los resultados obtenidos demuestran que con los tres genotipos se reduce la concentración plasmática de c-LDL, pero los portadores de la variante lo reducen en menor proporción (en el caso de simvastatina y atorvastatina) que los no portadores. La mayoría de la bibliografía consultada reporta que los portadores se benefician más del tratamiento con estatinas en términos de menor riesgo a sufrir eventos cardiovasculares, hecho que puede no estar justificado por una bajada mayor de la concentración plasmática de c-LDL. En esta línea, encontramos la misma tendencia con rosuvastatina midiendo la eficacia como el aumento de la concentración plasmática de c-HDL, pero no se ha demostrado esta relación en este fármaco cuando se estudia la variación de c-LDL/c-NoHDL. Este hecho podría estar justificado por la baja n muestral de pacientes en tratamiento con rosuvastatina.

Es importante remarcar que el mecanismo por el que el gen *KIF6* influye en el tratamiento con estatinas no es bien conocido por lo que, si nuestros resultados se confirman, puede que la explicación del por qué se ha visto que los portadores en tratamiento con estatinas sufran menos eventos coronarios esté relacionado con las acciones pleiotrópicas de estas, y no con la bajada de la concentración plasmática de c-LDL propiamente dicha. Este estudio podría ayudar a entender mejor el mecanismo que relaciona la variante *KIF6* rs20455 y la respuesta al tratamiento con estatinas. Esta hipótesis sería concordante con la teoría sustentada por *Iakoubova et al.* (77), en cuyo trabajo se demostró que los pacientes portadores de la variante se beneficiaban con una terapia más intensiva de estatinas que los no portadores, y se hipotetiza con que el mecanismo podría estar en el efecto pleiotrópico que ejercen las estatinas en la estabilización temprana de la placa (145, 146). Sin embargo, son necesarios estudios funcionales del gen *KIF6* para una mejor comprensión del mecanismo entre la variante rs20455 y el tratamiento con estatinas.

Los resultados de esta tesis indican que los portadores de la variante C disminuyen entre un 7-9 % menos la concentración plasmática de c-LDL/c-NoHDL. Si esta relación se confirma, podría ser de elevado interés para la individualización del tratamiento con estatinas, consiguiendo una mejora en la consecución de los objetivos terapéuticos c-LDL/c-NoHDL en estos pacientes.

2.4. Publicación completa



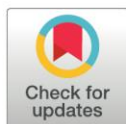
RESEARCH ARTICLE

KIF6 gene as a pharmacogenetic marker for lipid-lowering effect in statin treatment

Cristina Ruiz-Iruela^{1*}, Ariadna Padró-Miquel¹, Xavier Pintó-Sala², Neus Baena-Díez³, Assumpta Caixàs-Pedragós⁴, Roser Güell-Miró⁵, Rosa Navarro-Badal⁵, Xavier Jusmet-Miguel⁶, Pilar Calmarza⁷, José Luis Puzo-Foncilla⁷, Pedro Alía-Ramos¹, Beatriz Candás-Estébanez¹

1 Clinical laboratory, IDIBELL-Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain, **2** Cardiovascular unit, IDIBELL-Hospital Universitari de Bellvitge, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain, **3** Genetics laboratory, Corporació Sanitari Parc Taulí, Sabadell, Barcelona, Spain, **4** Endocrinology department, Corporació Sanitaria Parc Taulí, Sabadell, Barcelona, Spain, **5** Hospitalet Clinical laboratory, Centre Atenció Primària Just Oliveras, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain, **6** Family medicine, Centre Atenció Primària Just Oliveras, L'Hospitalet de Llobregat, Barcelona, Spain, **7** Clinical laboratory, Hospital Miguel Servet, Zaragoza, Spain

* cr.ruiz@fsm.cat



OPEN ACCESS

Citation: Ruiz-Iruela C, Padró-Miquel A, Pintó-Sala X, Baena-Díez N, Caixàs-Pedragós A, Güell-Miró R, et al. (2018) KIF6 gene as a pharmacogenetic marker for lipid-lowering effect in statin treatment. PLoS ONE 13(10): e0205430. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430>

Editor: Ying-Mei Feng, Beijing Key Laboratory of Diabetes Prevention and Research, CHINA

Received: May 9, 2018

Accepted: September 25, 2018

Published: October 10, 2018

Copyright: © 2018 Ruiz-Iruela et al. This is an open access article distributed under the terms of the [Creative Commons Attribution License](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author and source are credited.

Data Availability Statement: All relevant data are within the manuscript.

Funding: This research was supported by the Barcelona's Professional Pharmacist Association (Col·legi de Farmacèutics de la Província de Barcelona, <https://www.cofb.net>) to CRI, Fundació José Luis Castaño (FENIN scholarship 2014) to BCE and Fundació Parc Taulí Institut Universitari UAB (Parc Taulí Recerca scholarship 2012) to BCE. The funders had no role in study design, data

Abstract

Introduction

The therapeutic response to statins has a high interindividual variability with respect to reductions in plasma LDL-cholesterol (c-LDL) and increases in HDL cholesterol (c-HDL). Many studies suggest that there is a relationship between the rs20455 KIF6 gene variant (c.2155T> C, Trp719Arg) and a lower risk of cardiovascular disease in patients being treated with statins.

Aim

The aim of this study was to investigate whether or not the c.2155T> C KIF6 gene variant modulates the hypercholesteremic effects of treatment with simvastatin, atorvastatin, or rosuvastatin.

Materials and methods

This was a prospective, observational and multicenter study. Three hundred and forty-four patients who had not undergone prior lipid-lowering treatment were recruited. Simvastatin, atorvastatin or rosuvastatin were administered. Lipid profiles and multiple clinical and biochemical variables were assessed before and after treatment.

Results

The c.2155T> C variant of the KIF6 gene was shown to influence physiological responses to treatment with simvastatin and atorvastatin. Patients who were homozygous for the c.2155T> C variant (CC genotype, ArgArg) had a 7.0% smaller reduction of LDL cholesterol levels ($p = 0.015$) in response to hypolipidemic treatment compared to patients with the TT (TrpTrp) or CT (TrpArg) genotype. After pharmacological treatment with rosuvastatin,

collection and analysis, decision to publish, or preparation of the manuscript.

Competing interests: The authors have declared that no competing interests exist.

patients carrying the genetic variant had an increase in c-HDL that was 21.9% lower compared to patients who did not carry the variant ($p = 0.008$).

Conclusion

Being a carrier of the c.2155T> C variant of the KIF6 gene negatively impacts patient responses to simvastatin, atorvastatin or rosuvastatin in terms of lipid lowering effect. Increasing the intensity of hypolipidemic therapy may be advisable for patients who are positive for the c.2155T> C variant.

Introduction

Statins are drugs that specifically inhibit 3-hydroxy-3-methyl-glutaril-CoA reductase, a rate limiting enzyme of the pathway responsible for the synthesis of endogenous cholesterol. Among the lipid-lowering drugs, statins are the ones most often employed to prevent atherosclerosis [1]. In 2015, simvastatin and atorvastatin were the third and fifth most prescribed generic drugs in Spain, respectively [2]. However, the therapeutic response to these drugs has a high interindividual variability: the reduction in plasma LDL-cholesterol (c-LDL) resulting from drug intake ranges from 20% to 60%. A similar variability is observed with respect to increases in plasma HDL cholesterol (c-HDL) [3]. The impact genetic variants may have on the effectiveness of statins is currently being investigated [4, 5, 6], with the aim of developing personalized and cost-effective medications.

Many studies have described a relationship between the rs20455 variant of the KIF6 gene (c.2155T> C) and differences in the response to treatment with statins. The c.2155T> C variant is a missense mutation that leads to substitution of an arginine for a tryptophan at position 719 of the KIF6 protein (NP_659464.3: p. Trp719Arg).

KIF6 is a member of the superfamily of kinesins, which are proteins that mediate the intracellular transport of organelles, complex proteins, and mRNAs. Those who carry variant C are at a higher risk of major cardiovascular events (MACE) if they do not receive hypolipidemic treatment [7]. Paradoxically, this allele is also a predictor of better outcomes with statin-based treatments [8, 9]. Specifically, variant C-carriers have been found to be less likely to suffer MACE when treated with pravastatin [10, 11, 12] or atorvastatin [9, 13] than their counterparts carrying the TT (TrpTrp) genotype. However, some reports also suggest that the association of this variant both with MACE and with the response to statins might not exist [14, 15, 16, 17]. Importantly, this SNP is highly prevalent in Europe: 37% of Europeans are carriers [18].

In light of these facts, it is important to clarify what influence this polymorphism might have on the efficacy of statin therapies most commonly employed in our clinical practice, such as atorvastatin, simvastatin or rosuvastatin. Until now, most published studies have focused only on the association between this variant and a lower risk of cardiovascular episodes. However, the effects of statins should be studied more directly. Changes in patient lipid profiles should be measured after treatment begins. This type of study better reflects the realities of clinical practice, in which medical decisions about changes in statin therapy are based primarily on the results of lipid profiling [19].

Objective

The objective of this study was to examine how the c.2155T> C variant of the KIF6 gene influences the hypolipidemic and hypocholesterolemic responses to simvastatin, atorvastatin, and

rosuvastatin. Responses were quantified by measuring differences in the plasma concentration of c-LDL, Non-HDL cholesterol (c-Non-HDL), and c-HDL after treatment.

Materials and methods

Population selection

The c.2155T> C variant of the KIF6 gene was chosen as the object of study as part of an ongoing line of research into the genetic factors that influence patient responses to statins. Of particular interest were genetic variants of genes that play a role in the pharmacodynamics and metabolism of these drugs. This was a prospective, observational, and multicenter study. Non-medicated patients attending several Spanish Primary Health Care Units and Hospital Cardiovascular Risk Units with high-LDL concentration were managed as usual by their physicians. As the design of this study was observational, statin drugs, if necessary, were prescribed in conditions of normal medical practice and according solely to the patients' physicians criteria. The patients who were excluded from the study were those who: 1) had chronic liver disease; 2) had familial hypercholesterolemia due to mutations in their LDLR, APOB, LDLRAP1 or PCSK9 genes; 3) suffered dysbetalipoproteinemia; 4) were receiving antidepressant, antiepileptic, immunosuppressants, antiretroviral or other lipid-lowering treatments 5) were suffering autoimmune diseases; 6) had discontinued treatment or were suspected of not adhering to prescriptions, which was verified during the follow-up visit through the interview and the medical criteria 7) had statin intolerance, which is defined as the inability to tolerate a dose of statin required to reduce MACE sufficiently from their baseline risk and could result from different statin related side effects including: muscle symptoms, headache, sleep disorders, dyspepsia, nausea, rash, alopecia, erectile dysfunction, gynecomastia, and/or arthritis [20] 8) had hypothyroidism; 9) were consuming 6 or more drugs (polymedication); 10) were already participating in a clinical trial.

Procedures and interventions

Data collection. Patient demographic and clinical information were collected during initial consultations. No treatments were administered during this consultation; however, lipid metabolism was evaluated. This evaluation included measurements of triglycerides, total cholesterol, c-Non-HDL, c-HDL, and c-LDL. The Friedewald formula was used when triglyceride concentrations did not exceed 2.3 mmol/L. An identical evaluation of lipid metabolism was made during the final consultations, which occurred approximately 3 months after treatment was initiated.

Genetic analysis. DNA extraction from blood samples was performed with the Maxwell 16 Blood DNA Purification Kit (catalog# AS1010) and the Maxwell 16 System Kit (catalog#AS1010) (Promega, Madison, USA). Real-time polymerase chain reaction (RT-PCR) was used to detect the c.2155T> C variant of the KIF6 gene and also the 521T> C variant of the SLCO1B1 gene. The amplification was performed using all-specific Applied Biosystems Taqman probes labelled with fluorochrome in a 7500 Real Time PCR System thermocycler (Applied Biosystems, Foster City, CA, USA).

Statistical analysis. The following independent control variables were analyzed: age, sex, diabetes, hypertension, diastolic blood pressure, systolic blood pressure, exercise, intensity of exercise, history of smoking, current tobacco use, history of alcohol consumption, current alcohol consumption, body mass index, initial concentrations of c-LDL, c-Non-HDL and c-HDL, detection of lipoprotein a, prior ischemia, family history of ischemia, and carrying the SLCO1B1 gene variant rs4149056 [21]. Models were also fitted according to dose. Treatment intensity was evaluated qualitatively (low, moderate, and high) according to the clinical

practice guide of the American College of Cardiology [22]. The statistically significant control variables ($p < 0.05$) were selected for each model according to a simple linear regression with the lipid concentration variations. An explanatory quantitative multiple linear regression analysis was carried out in order to discern the relationship between the differences in patient c-LDL, c-Non-HDL and c-HDL measurements that were made during the two consultations and detection of the c.2155T > C variant. Each statin treatment group was analyzed in this way.

The relationship between lipid concentration variations and being a carrier of the c.2155T > C variant was assessed using additive models. When significant differences were observed, these were grouped according to the most appropriate model for each case (recessive or dominant).

Statistical analyses were performed with SPSS v.17 (SPSS Inc., Chicago, IL). The level of significance was set at $p < 0.05$.

Ethical and confidentiality issues

Informed consent was received from study participants during their initial consultation. In compliance with regulation #SAS/3470/2009, this study was classified by the Pharmacoeconomics Division of the Medicines and Health Products Agency of Spain (ref. PR169/14) and approved by the institutional review boards of each participating center: *Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) del Hospital Universitario de Bellvitge*, *CEIC Hospital universitario Miguel Servet* and *CEIC Corporació Sanitària Parc Taulí*.

Results

Population selection

From June 2014 to February 2017, 344 patients were recruited prospectively. However, 92 of these were later excluded. Of the excluded, 33 had had prior hypolipidemic treatment, 3 had statin intolerance related with muscle complications (myopathy and rhabdomyolysis), 9 did not adhere to the treatment regimen, 20 did not participate in follow-ups, 11 had been diagnosed, through genetic testing, with familial hypercholesterolemia, 2 had hypothyroidism, 1 had an autoimmune disease. Another thirteen were excluded for miscellaneous reasons. Consequently, only the data from 252 of total number patients recruited for the study was analyzed.

Descriptive statistics

The clinical and demographic data of the patients is found in [Table 1](#).

Simvastatin, atorvastatin, and rosuvastatin were prescribed to 106, 116 and 30 patients, respectively. The genotype frequencies of this sample fulfilled the Hardy-Weinberg equilibrium and their distribution matched those found in the HapMap of Europe [14], ([Table 2](#)).

Figs 1, 2 and 3 show changes in serum c-LDL, c-Non-HDL and c-HDL after treatment stratified by genotypes.

Tables 3, 4 and 5 contain the results for each drug as well as the dependent variables.

Intensity of qualitative treatment and the initial concentration of each lipid were found as significant control variables in the case of atorvastatin, simvastatin and all patients studied together. Concerning atorvastatin and c-Non-HDL variation, the age was also included. Regarding rosuvastatin, prior MACE was found as significant variable for the c-LDL and c-Non-HDL variation, and current tobacco use in the case of c-HDL variation.

Concerning patients that had been treated with simvastatin, an almost statistically significant relationship was observed between being a carrier of the c.2155T > C variant of KIF6 and

Table 1. Patient clinical, demographic, biochemical and treatment characteristics depending on the c.2155T>C (Trp719Arg) KIF6 genotypes.

Clinical and Demographic Variables	TT (TrpTrp)	TC (TrpArg)	CC (ArgArg)	p value
Sex (% male)	48.1	51.9	57.9	0.553
Age (years)	53 (50 to 55)	54 (51 to 56)	57 (53 to 61)	0.201
Body Mass Index	26.7 (25.8 to 27.7)	27.3 (26.5 to 28.0)	27.5 (26.0 to 29.0)	0.574
Tobacco Use (% yes)	37.7	21.7	19.4	0.025*
Personal history of tobacco use (% yes)	71.0	58.5	55.2	0.092
Diabetes mellitus (% yes)	18.8	13.2	24.2	0.267
Current alcohol consumption (% yes)	33.3	24.3	30	0.429
Personal history of alcohol consumption (% yes)	27.1	21.3	27.6	0.621
MACEs (% yes)	13.6	19.8	28.9	0.049*
Family history of MACEs (% yes)	38.6	38.5	35.7	0.960
Exercise (% yes)	55.4	59	65.6	0.616
Intensity of Exercise (none/low/moderate/high) %	33.3/21.6/21.6/23.5	34.6/17.3/17.3/30.9	34.8/8.7/8.7/47.8	0.417
Arterial hypertension (% yes)	27.2	30.5	36.8	0.563
Systolic Blood Pressure (SBP) (mmHg)	129.3 (125.8 to 132.8)	131.5 (128.0 to 135.0)	132.8 (127.7 to 138.0)	0.535
Diastolic Blood pressure (DBP) (mmHg)	79.8 (77.4 to 82.1)	79.0 (76.6 to 81.2)	79.2 (75.2 to 83.1)	0.891
Biochemical and Treatment Variables	TT (TrpTrp)	TC (TrpArg)	CC (ArgArg)	p value
Lipoprotein A (reference value: 0–0.3 g/L)	0.4 (0.3 to 0.5)	0.5 (0.4 to 0.6)	0.5 (0.2 to 0.7)	0.364
Serum cholesterol; initial (mmol/L)	7.3 (7.1 to 7.6)	7.1 (6.9 to 7.3)	7.2 (6.7 to 7.6)	0.562
Serum cholesterol LDL; initial (mmol/L)	5.1 (4.8 to 5.3)	4.9 (4.7 to 5.1)	4.9 (4.5 to 5.3)	0.627
Serum cholesterol no HDL; initial (mmol/L)	5.8 (5.6 to 6.0)	5.7 (5.5 to 5.9)	5.6 (5.2 to 6.0)	0.650
Serum triglycerides; initial (mmol/L)	1.9 (1.6 to 2.17)	2.1 (1.8 to 2.4)	1.7 (1.4 to 2.1)	0.343
Treatment with atorvastatin (%)	38.3	51.1	42.1	0.338
Treatment with simvastatin (%)	50.6	37.4	42.1	
Treatment with rosuvastatin (%)	11.1	11.5	15.8	
Intensity of Treatment (low/medium/high) %	(12.3/63/24.7)	(11.5/59.5/29)	(10.5/44.7/44.7)	0.271

Continuous variables are expressed as averages and as 95% confidence intervals (CI95%). Categorical variables are expressed in percentages.

* indicates statistical significance.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.t001>

changes in c-LDL after treatment ($p = 0.053$). Treatment responses were less pronounced among those patients who were homozygous for the mutation (CC, ArgArg) than among those who were homozygous for the non-mutated gene (TT, TrpTrp). A similar trend was

Table 2. Genotype distribution of the genetic variants investigated, expressed in percentages.

c.2155T>C (Trp719Arg) gene KIF6	Genotype distribution (%)			p
HapMAP	TT (37.2)	CT (51.3)	CC (11.5)	0.37
Simvastatin+Atorvastatin+Rosuvastatin	TT (32.4)	CT (52.4)	CC (15.2)	
	n = 81	n = 131	n = 38	0.56
Simvastatin	TT (38.7)	CT (46.2)	CC (15.1)	
	n = 41	n = 49	n = 16	0.18
Atorvastatin	TT (28.4)	CT (57.7)	CC (13.7)	
	n = 31	n = 67	n = 16	0.38
Rosuvastatin	TT (30.0)	CT (50.0)	CC (20.0)	
	n = 9	n = 15	n = 6	

p: probability of statistical significance as calculated using the Chi squared test.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.t002>

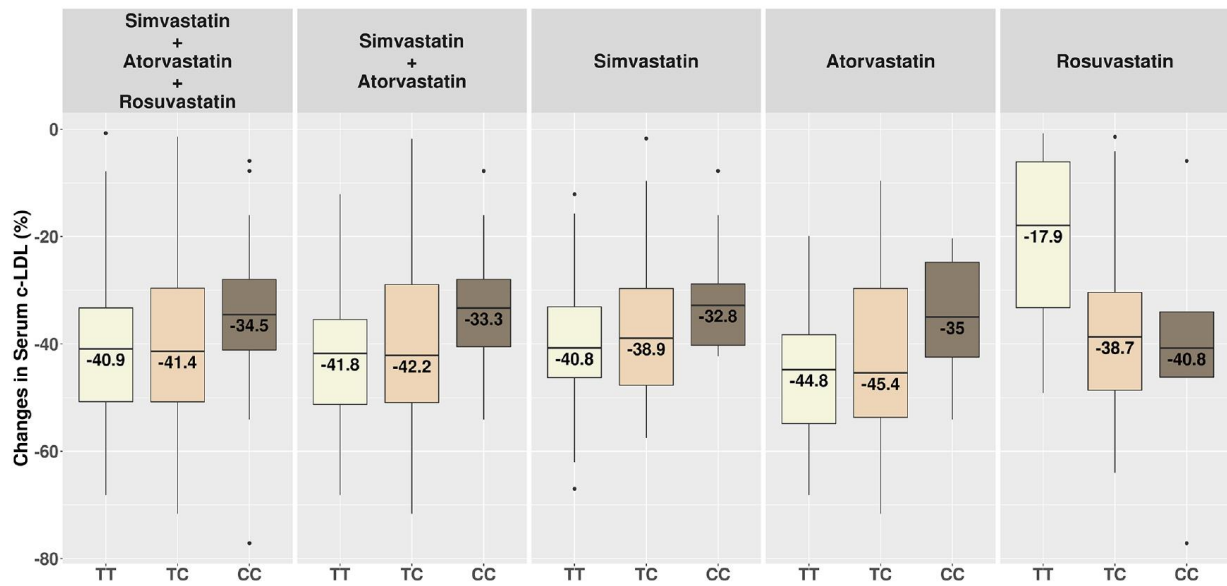


Fig 1. Changes in serum c-LDL after treatment stratified by genotypes. TT = homozygous TrpTrp; TC = heterozygous TrpArg; CC = homozygous ArgArg.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.g001>

observed with patients who had been treated with atorvastatin. In this case, there was a statistically significant relationship between the c.2155T> C variant of KIF6 and the c-Non-HDL variation after treatment ($p = 0.012$). There was also a clear tendency for the presence or absence

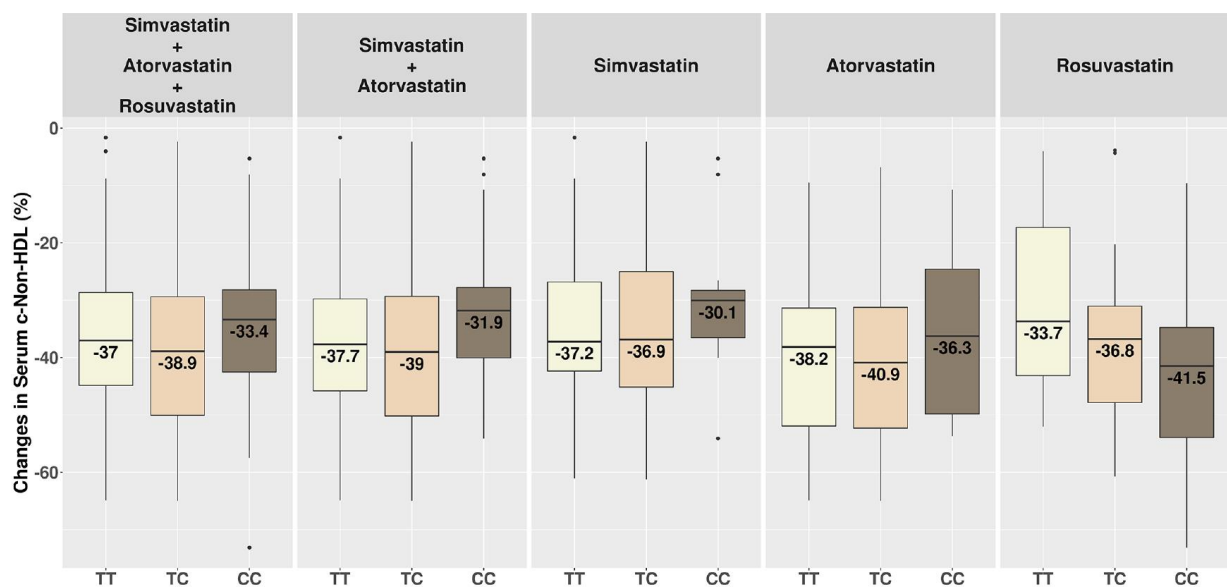


Fig 2. Changes in serum c-Non-HDL after treatment stratified by genotypes. TT = homozygous TrpTrp; TC = heterozygous TrpArg; CC = homozygous ArgArg.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.g002>

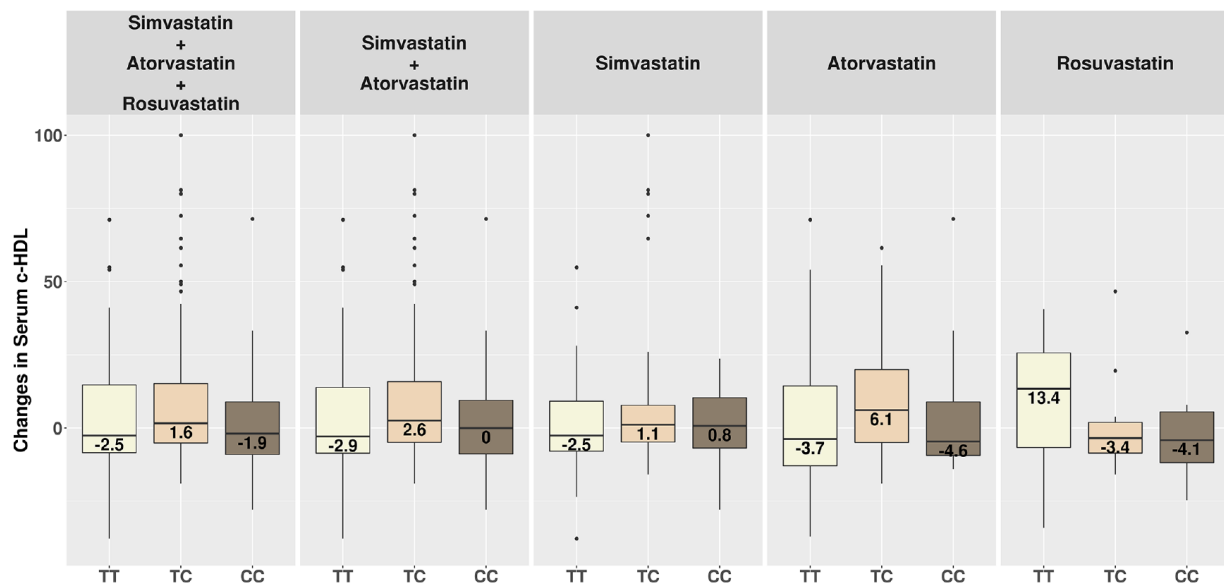


Fig 3. Changes in serum c-HDL after treatment stratified by genotypes. TT = homozygous TrpTrp; TC = heterozygous TrpArg; CC = homozygous ArgArg.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.g003>

of the variant to be associated with c-LDL variation after treatment ($p = 0.06$). However, an association between the c.2155T> C variant and c-LDL and c-Non-HDL variation after treatment was not observed in the group of patients treated with rosuvastatin ($p = 0.353$ and $p = 0.454$, respectively)

Table 3. Multiple regression analysis that correlates the effect of the variant KIF6 on the LDL cholesterol concentration adjusted by statistically significant covariates.

Changes in Serum LDL cholesterol concentration after treatment; (%)				
Treatment	Model	Variables	B + CI (95%)	P
Simvastatin+Atorvastatin+Rosuvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	2.8 (-0.2 to 5.9)	0.070
		Intensity of qualitative treatment	-4.7 (-8.1 to -1.3)	0.008*
		Initial concentration of c-LDL	-2.4 (-4.3 to -0.6)	0.006*
Simvastatin+ Atorvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	4.0 (1.0 to 6.8)	0.010*
		Intensity of qualitative treatment	-6.0 (-9.2 to -2.6)	4.1x10⁻⁴*
		Initial concentration of c-LDL	-2.4 (-4.2 to -0.6)	0.008*
	Recessive	KIF6 (CC compared to T)	7.0 (1.3 to 12.6)	0.015*
		Intensity of qualitative treatment	-6.0 (-9.2 to -2.6)	4.1x10⁻⁴*
Simvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	3.8 (-0.04 to 7.7)	0.053
		Intensity of qualitative treatment	-6.0 (-11.8 to -0.03)	0.039*
Atorvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	4.4 (-0.2 to 9.1)	0.064
		Intensity of qualitative treatment	-6.6 (-11.7 to -1.5)	0.011*
		Initial concentration of c-LDL	-2.9 (-5.3 a -0.5)	0.016*
Rosuvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	-7.0 (-20.2 a 6.0)	0.275
		Prior MACE	-24.1 (-4.,7 to -2.5)	0.031*

B+CI (95%) = coefficient B + a 95% confidence interval

* indicates statistical significance.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.t003>

Table 4. Multiple regression analysis that correlates the effect of the variant KIF6 on the Non-HDL cholesterol concentration adjusted by statistically significant covariates.

Changes in Serum Non-HDL Cholesterol concentration after treatment; (%)				
Treatment	Model	Variables	B + CI (95%)	P
Simvastatin+Atorvastatin+Rosuvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	0.8 (-1.7 to 3.4)	0.535
		Intensity of qualitative treatment	-4.4 (-7.2 to -1.5)	0.003*
		Initial concentration of c-Non-HDL	-2.6 (-4.0 to -1.2)	2.6x10⁻⁴*
Simvastatin+ Atorvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	1.7 (-0.9 to 4.4)	0.200
		Intensity of qualitative treatment	-5.3 (-8.2 to 2.3)	4.0x10⁻⁴*
		Initial concentration of c-LDL	-2.6 (-4.0 to -1.2)	2.2x10⁻⁴*
	Recessive	KIF6 (CC compared to T)	5.1 (0.1 to 10.1)	0.045*
		Intensity of qualitative treatment	-5.4 (-8.2 to -2.5)	2.8x10⁻⁴*
		Initial concentration of c-LDL	-2.6 (-4.0 to -1.2)	2.6x10⁻⁴*
Simvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	1.2 (-2.2 to 4.7)	0.504
		Initial concentration of c-Non-HDL	-3.4 (-5.4 to -1.3)	0.001*
Atorvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	3.6 (-0.4 to 7.6)	0.070
		Intensity of qualitative treatment	-6.2 (-10.6 to -1.8)	0.006*
		Initial concentration of c-Non-HDL	-2.8 (-4.7 to -1)	0.004*
		Age	-0.3 (-0.5 to 0.1)	0.001*
	Recessive	KIF6 (CC compared to T)	9.03 (2.1 to 16.5)	0.012*
		Intensity of qualitative treatment	-6.8 (-11.1 to -2.4)	0.003*
		Initial concentration of c-Non-HDL	-2.8 (-4.7 to -1.0)	0.003*
Rosuvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	-3.4 (-12.9 to 6.0)	0.463
		Prior MACE	-15.4 (-33.3 to 2.5)	0.089

B+CI (95%) = coefficient B + a 95% confidence interval

* indicates statistical significance.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.t004>

Table 5. Multiple regression analysis that correlates the effect of the variant KIF6 on the HDL cholesterol concentration adjusted by statistically significant covariates.

Change in Serum HDL Cholesterol concentration after treatment; (%)				
Treatment	Model	Variables	B + CI (95%)	P
Simvastatin+Atorvastatin+Rosuvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	0.3 (-3.8 to 4.6)	0.860
		Initial concentration of c-HDL	-26.6 (-33.4 to -19.8)	3.4x10⁻¹³*
Simvastatin+ Atorvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	1.0 (-3.5 to 5.6)	0.661
		Initial concentration of c-HDL	-28.7 (-36.1 to -21.3)	7.1x10⁻¹³*
Simvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	1.4 (-4.8 to 7.7)	0.648
		Initial concentration of c-HDL	-31.9 (-42.2 to -21.6)	1.39x10⁻⁸*
Atorvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	0.6 (-6.3 to 7.5)	0.857
		Initial concentration of c-HDL	-25.4 (-36.4 to -14.4)	1.18x10⁻⁵*
Rosuvastatin	Additive	Genotypes: TT, TC, and CC	-11.3 (-21.5 to -1.2)	0.030*
		Current tobacco use	-36.3 (-60.1 a -12.5)	0.004*
	Dominant	KIF6 (C compared to TT)	-21.9 (-37.6 to -6.2)	0.008*
		Current tobacco use	-41.9 (-65.7 to 18.0)	0.001*

B+CI (95%) = coefficient B + a 95% confidence interval

* indicates statistical significance.

<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0205430.t005>

When all 252 recruited patients were included in the statistical analyses and the control variables were adjusted for, a clear tendency for the c.2155T> C variant and the reduction in plasma c-LDL after treatment was found. (Additive model: $p = 0.07$; $B + IC95\% = 2.8 (-0.2 \text{ to } 5.9)$). When only taking into account patients who underwent treatment with simvastatin and atorvastatin, this relationship was even more pronounced, and a statistically significant relationship was found: (additive model: $p = 0.010$; $B + IC95\% = 4 (1 \text{ to } 6.8)$; recessive model: $p = 0.015$; $B + IC95\% = 7 (1.3 \text{ to } 12.6)$).

There was also a statistically significant relationship between being a carrier of the variant c.2155T> C and a weaker response to rosuvastatin in comparison to non-carriers, with higher levels of c-HDL being observed after treatment ($p = 0.03$). However, no statistically significant relation was found between the variant and c-HDL level changes in the simvastatin and atorvastatin treatment groups ($p = 0.648$ and $p = 0.857$, respectively).

Based on these results, we can conclude that being a carrier of the c.2155T> C variant of the KIF6 gene negatively impacts patient responses to statin treatments. A less pronounced decrease in c-LDL in the case of simvastatin and atorvastatin and less pronounced increase in c-HDL in the case of rosuvastatin are observed with respect to non-carriers.

Discussion

Statins are highly effective prophylactics against arteriosclerosis. Nevertheless, a high proportion of patients consuming statins develop some type of cardiovascular disease. These outcomes suggest that genetic factors may influence patient responses to treatment with statins [23]. Numerous genes, such as SLCO1B1, CETP, ABCA, HMGCR, and CYP3A4 are currently being investigated [24, 25] as possible factors affecting statin therapy outcomes. Of these, there has been a particular focus on KIF6 gene and its variant c.2155T> C (Trp719Arg).

A member of the kinesin superfamily, the KIF6 gene encodes the protein KIF6. Kinesins are proteins which mediate the intracellular transport of organelles, complex proteins and mRNAs. This gene is ubiquitously expressed in coronary arteries and other vascular tissue [26].

The effects of the c.2155T> C variant of KIF6 on the ability of statins to reduce the risk of cardiovascular events has been documented, but the results are contradictory. Several studies carried out by Iakouvova et al. [10, 11, 12, 13] concluded that patients that are carriers for the variant (TC (TrpArg) + CC (ArgArg)) are less likely, compared to non-carriers, to suffer from coronary heart disease when treated with pravastatin or atorvastatin. Meanwhile, a meta-analysis by Shiffman et al. [27] concluded that the variant affected responses to pravastatin treatment. Nevertheless, these conclusions are based on data from a single research group and therefore should be confirmed in other studies carried out independently by other groups.

Importantly, this association was not confirmed in other studies of simvastatin [28], rosuvastatin [29] and atorvastatin therapies [30].

In addition, others, such as Chen S. et al [31] have recently observed that patients undergoing statin therapy were at significantly reduced risk for MACE in the case of all three Trp719Arg polymorphisms. Furthermore, subjects carrying (TC) TrpArg or CC+CT (ArgArg +TrpArg) suffered from a greater incidence of MACE when being treated with statins than TT (TrpTrp).

As far as we know, our study is the first attempt to study the relationship between the KIF6 gene variant and the effects of statins on changes on lipid profiles using a prospective and observational design. In addition, the analyses of these effects have been adjusted against control variables. Importantly, normal clinical procedures were reproduced: medical decisions about therapeutic treatments were based primarily on changes in patient lipid profiles.

According to our results, patients homozygous for variant C did not respond as well to treatment with simvastatin and atorvastatin as did the patients who were homozygous or heterozygous for variant T. The same tendency was observed with rosuvastatin when measuring increases in c-HDL levels. Considering these results, it should be noted that while Rosticci et al [32], did not observe a relationship between the KIF6 variant and statin therapy efficacy, this group did observe a relationship between the variant and c-HDL levels.

However, this relationship was not observed for rosuvastatin when measuring changes in c-LDL and c-Non-HDL. This discrepancy could be explained by the fact that there were a low number of rosuvastatin cases included in the study. Rosuvastatin is usually prescribed to high risk populations when other statins have already been found to be insufficient. Therefore, there were fewer of rosuvastatin cases because this prospective and observational study only included individuals who had not undergone prior hypocholesterolemic treatment.

In a study carried out by Angelini et al. [33] it was shown that there was no relationship between the KIF6 variant and the effects of statins on patient lipid profiles. Although an observed trend says that subjects carrying CC (ArgArg) do not respond as well to treatment as TT (TrpTrp) and TC (TrpArg) subjects. However, in contrast to ours, the study of Angelini et al. was retrospective in nature, rather than prospective. In addition, the Angelini et al. study did not adjust for dose intensity or type of statin.

Moreover, the dependent variable was qualitative: the sole criteria it depended on was whether or not a clinical target of c-LDL ≤ 3.4 (130 mg / dL) mmol / L was reached or not [34].

Importantly, our results could be consistent with the latest information from the literature. We found that there was a statistically significant correlation between being a sufferer of MACE and being a carrier of c.2155T> C variant of KIF6 when taking into consideration all patients prior to treatment with statins ($p = 0.049$). This outcome is consistent with the current literature [35, 36, 37].

In addition, we have demonstrated that, while, c-LDL levels are reduced in all the three genotypes in response to treatment with simvastatin and atorvastatin, c-LDL levels are reduced to a lesser degree in the case of the variant.

Moreover, there is a general consensus that carriers benefit more from statin therapy in terms of a lower risk of suffering from MACE. However, the reason for this relationship may not lie in the fact that c-LDL levels decrease to a greater extent in non-carriers than in carriers.

The mechanism through which KIF6 influences statin therapy outcomes is not well understood. However, our study is an important step to clarifying the relationship between the c.2155T> C variant of KIF6 and responses to statin treatment. If our results can be confirmed, we could hypothesize that the carriers undergoing statin treatment suffer less from MACEs due to the pleiotropic effects of these drugs rather than a reduction in c-LDL. This hypothesis is consistent with the theory posited by Yakubova et al. [13]. In the PROVE IT-TIMI 22 study, no statistically significant relationship was found between the variant and a reduction of c-LDL levels in response to atorvastatin or pravastatin, however, this group found that carriers benefited significantly more from intensive statin therapy than non-carriers and hypothesized that the mechanism could be the early plaque-stabilizing effect of the intensive treatment regimen, a pleiotropic effect that has been proposed to explain the early benefit from statin therapy that appears not to be due to LDL [38, 39]. However, functional studies of the KIF6 gene will be required to a better understand of the mechanism between c.2155T> C variant and statin treatment.

A key outcome of our study is that we have demonstrated that carriers of variant C have a 7% smaller decrease in c-LDL or c-Non-HDL levels in response to simvastatin or atorvastatin. The fact that the less common variant C is associated with a weaker response to treatment is especially relevant. If this relationship were to be confirmed, patients carrying variant C could

be considered candidates for intensive treatment with stronger statins or complementary therapies. Complementary therapies include the drug Ezetimibe, or dietary supplements, such as omega-3.

Conclusions

The c.2155T> C variant of the KIF6 gene influences patient responses to treatment with simvastatin and atorvastatin. Patients homozygous for the variant (CC, ArgArg) had a smaller decrease in the c-LDL and c-Non-HDL. Therefore, these patients did not respond as well to hypolipidemic therapies as patients who were homozygous TT (TrpTrp) or heterozygous TC (TrpArg). The c.2155T> C variant is associated with a less pronounced increase in c-HDL upon rosuvastatin treatment.

These findings, if confirmed, may have an impact on the type of therapies selected for patients carrying the genetic variant. For example, the intensity of statin therapy could be increased, or complementary therapies, such as Ezetimibe or dietary supplements could be employed to treat carriers.

Acknowledgments

We thank Emili Corbella-Inglés, Ferran Trias-Vilagut, Marta Fanlo- Maresma, Hannia Elena Lafuente-González and Enric Juncadella-García, who provided insight and expertise that greatly assisted the research.

The present work was performed as part of the Biochemistry, Molecular Biology and Biomedicine doctoral program of Cristina Ruiz-Iruela at Universitat Autònoma de Barcelona (Barcelona, Spain).

Author Contributions

Conceptualization: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

Data curation: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Neus Baena-Díez, Assumpta Caixàs-Pedragós, Roser Güell-Miró, Rosa Navarro-Badal, Xavier Jusmet-Miguel, Pilar Calmarza, José Luis Puzo-Foncilla, Beatriz Candás-Estébanez.

Formal analysis: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

Funding acquisition: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

Investigation: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

Methodology: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Xavier Pintó-Sala, Neus Baena-Díez, Assumpta Caixàs-Pedragós, Roser Güell-Miró, Rosa Navarro-Badal, Pilar Calmarza, José Luis Puzo-Foncilla, Beatriz Candás-Estébanez.

Project administration: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Xavier Pintó-Sala, Beatriz Candás-Estébanez.

Resources: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

Software: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

Supervision: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Xavier Pintó-Sala, Neus Baena-Díez, Pedro Alía-Ramos, Beatriz Candás-Estébanez.

Validation: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Xavier Pintó-Sala, Beatriz Candás-Estébanez.

Visualization: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

Writing – original draft: Cristina Ruiz-Iruela.

Writing – review & editing: Cristina Ruiz-Iruela, Ariadna Padró-Miquel, Beatriz Candás-Estébanez.

References

- Chasman DI, Giulianini F, MacFadyen J, Barratt BJ, Nyberg F, Ridker PM. Genetic determinants of statin-induced low-density lipoprotein cholesterol reduction: The Justification for the Use of Statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin (JUPITER) trial. *Circ Cardiovasc Genet* 2012; 5 (2):257–64. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.111.961144> PMID: 22331829
- Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad: National Healthcare system Annual Report, 2016. Available in www.msssi.gob.es.
- Davidson MH, Toth PP. Comparative effects of lipid-lowering therapies. *Progress in Cardiovascular Diseases* 2004; 47(2):73–104. PMID: 15586350
- Kitzmler JP, Mikulik EB, Dauki AM, Murkherjee C, Luzum JA. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine* 2016; 9:97–106. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S86013> PMID: 27757045
- Maxwell WD, Ramsey LB, Johnson SG, Moore KG, Shtutman M, Schoonover JH et al. Impact of Pharmacogenetics on Efficacy and Safety of Statin Therapy for Dyslipidemia. *Pharmacotherapy* 2017; 37: 1172–1190. <https://doi.org/10.1002/phar.1981> PMID: 28672099
- Leusink M, Onland-Moret N, de Bakker P, de Boer A, Maitland-van der Zee AH. Seventeen years of statin pharmacogenetics: a systematic review. *Pharmacogenomics*. 2015; 17:15–158.
- Peng P, Lian J, Huang RS, Xu L, Huang Y, Ba Y, et al. Meta-Analyses of KIF6 Trp719Arg in Coronary Heart Disease and Statin Therapeutic Effect. *PLoS ONE* 2012; e50126. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0050126> PMID: 23236363
- Li Y, Iakoubova OA, Shiffman D, Devlin JJ, Forrester JS, Superko HR. KIF6 Polymorphism as a Predictor of Risk of Coronary Events and of Clinical Event Reduction by Statin Therapy. *American Journal of Cardiology* 2010; 106:994–998. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2010.05.033> PMID: 20854963
- Li Y, Sabatine M, Tong C, Ford I, Kirchgessner T, Packard C et al. Genetic variants in the KIF6 region and coronary event reduction from statin therapy. *Human Genetics* 2011; 129:17–23. <https://doi.org/10.1007/s00439-010-0892-6> PMID: 20886236
- Iakoubova OA, Tong CH, Rowland CM, Kirchgessner TG, Young BA, Arellano AR et al. Association of the Trp719Arg polymorphism in kinesin-like protein 6 with myocardial infarction and coronary heart disease in 2 prospective trials: the CARE and WOSCOPS trials. *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 51:435–443. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.05.057> PMID: 18222353
- Shiffman D, Sabatine MS, Louie JZ, Kirchgessner TG, Iakoubova OA, Campos H et al. Effect of pravastatin therapy on coronary events in carriers of the KIF6 719Arg allele from the cholesterol and recurrent events trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2010; 105:1300–1305.
- Iakoubova OA, Robertson M, Tong CH, Rowland CM, Catanese JJ, Blauw GJ et al. KIF6 Trp719Arg polymorphism and the effect of statin therapy in elderly patients: results from the PROSPER study by in European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation. *European Journal of Preventive Cardiology* 2010; 17(4):455–461.
- Iakoubova OA, Sabatine MS, Rowland CM, Tong CH, Catanese JJ, Ranade K et al. Polymorphism in KIF6 gene and benefit from statins after acute coronary syndromes: results from the PROVE IT-TIMI 22 study. *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 51(4):449–55. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.10.017> PMID: 18222355
- Li Y, Chen Z, Song H. Association between KIF6 rs20455 polymorphism and the risk of coronary heart disease (CHD): a pooled analysis of 50 individual studies including 40,059 cases and 64,032 controls. *Lipids Health Disease*. 2018 Jan 5; 17(1):4.
- Vatte C, Cyrus C, Al Shehri AM, Chathoth S, Almansori M, Al-Nafae A et al. Investigation of KIF6 Trp719Arg gene polymorphism in a case-control study of coronary artery disease and non-fatal myocardial infarction in the Eastern Province of Saudi Arabia. *Annals of Saudi Medicine*. 2016 Mar-Apr; 36 (2):105–11. <https://doi.org/10.5144/0256-4947.2016.21.3.1140> PMID: 26997531
- Hubacek JA, Vrablik M, Dlouha D, Stanek V, Gebauerova M, Adamkova V, et al. Gene variants at FTO, 9p21, and 2q36.3 are age-independently associated with myocardial infarction in Czech men. *Clinica Chimica Acta*. 2016 Feb 15; 454:119–23.

17. Musunuru K. Lack of Association of KIF6 Genotype with Vascular Disease and Statin Response. *Cardiovascular Genetics* 2011; 4(4):467–8. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.111.960955> PMID: 21846872
18. <https://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>. (Accessed: 08-13-18).
19. Stone NJ et al. ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults. ACC/AHA Blood Cholesterol Guideline 2013.
20. Banach M, Rizzo M, Toth PP, Farnier M, Davidson MH, Al-Rasadi K et al. Position paper. Statin intolerance—an attempt at a unified definition. Position paper from an International Lipid Expert Panel. *Archives of Medical Science*. 2015; 11(1):1–23. <https://doi.org/10.5114/aoms.2015.49807> PMID: 25861286
21. Ramsey LB, Johnson SG, Caudle KE, Haidar CE, Voora D, Wilke RA, et al. The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guideline for SLCO1B1 and simvastatin-induced myopathy: 2014 update. *Clinical pharmacology and therapeutics* 2014; 96(4): 423–428. <https://doi.org/10.1038/clpt.2014.125> PMID: 24918167
22. ACC/AHA Release Updated Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce ASCVD Risk. *American Family Physician* 2014.
23. Kolovou V, Kolovou G. Statins treatment under the umbrella of pharmacogenetics. *Health Science Journal*. 2015; 9:1–3.
24. Barber MJ, Mangravite LM, Hyde CL, Chasman DI, Smith JD, McCarty CA et al. Genome-Wide Association of Lipid-Lowering Response to Statins in Combined Study Populations. *PLoS ONE*. 2010; 5(3): e976
25. Kitzmiller JP, Binkley PF, Pandey SR, Suhay AM, Baldassarre D, Hartmann K. Statin pharmacogenomics: Pursuing biomarkers for predicting clinical outcomes. *Discovery Medicine*. 2013; 16(86): 45–5 PMID: 23911231
26. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/221458>. (Accessed: 08-13-18).
27. Shiffman D, Trompet S, Louie JZ, Rowland CM, Catanese JJ, Iakoubova OA, et al. Genome-Wide Study of Gene Variants Associated with Differential Cardiovascular Event Reduction by Pravastatin Therapy. *PLoS ONE* 2012; 7(5): e38240. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0038240> PMID: 22666496
28. Hopewell J, Parish S, Clarke R, Armitage J, Bowman L, Hager J et al. No impact of KIF6 Genotype on vascular risk and statin response among 18,348 randomized patients in the heart protection study. *Journal of the American College of Cardiology* 2011; 57(20):2000–7. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2011.02.015> PMID: 21458191
29. Ridker PM, Macfadyen JG, Glynn RJ, Chasman DI. Kinesin-Like Protein 6 (KIF6) Polymorphism and the Efficacy of Rosuvastatin in Primary Prevention. *Circulation Cardiovascular Genetics* 2011; 4(3):312–317. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.110.959353> PMID: 21493817
30. Arsenault BJ, Boekholdt SM, Hovingh GK, Hyde CL, DeMicco DA, Chatterjee A et al. The 719Arg variant of KIF6 and cardiovascular outcomes in statin-treated, stable coronary patients of the treating to new targets and incremental decrease in end points through aggressive lipid-lowering prospective studies. *Circulation Cardiovascular Genetics* 2012; 5(1):51–7. <https://doi.org/10.1161/CIRCGENETICS.111.960252> PMID: 22135385
31. Chen S, Xiang Q, Zhao X, Xie Q, Zhou S, Zhang Z et al. Impact of the 719Arg variant of KIF6 and major cardiovascular events on patients who received statins: a systematic review and meta-analysis. *Current pharmaceutical design* 2018; Jun 24.
32. Rosticci M, Marullo L, Cicero AF, Magi R, Fischer K, Pervjakova N et al. 1a.11: Association of KIF6 and HMGCR loci with cardiometabolic phenotypes and response to statin therapy in the brisighella cohort. *Journal of Hypertension*. 2015 Jun; 33 Suppl 1: e3–4.
33. Angelini S, Rosticci M, Massimo G, Musti M, Ravegnini G, Consolini N et al. Relationship between Lipid Phenotypes, Overweight, Lipid Lowering Drug Response and KIF6 and HMG-CoA Genotypes in a Subset of the Brisighella Heart Study Population. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; Dec 24; 19(1).
34. 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). *Circulation* 2002.
35. Ruiz-Ramos D, Hernández-Díaz Y, Tovilla-Zárate CA, Juárez-Rojop I, López-Narváez ML, González-Castro TB et al. The Trp719Arg polymorphism of the KIF6 gene and coronary heart disease risk: systematic review and meta-analysis. *Hereditas* 2015; 152:3. <https://doi.org/10.1186/s41065-015-0004-7> PMID: 28096762
36. Hamidzadeh L, Haji Hosseini Baghdad Abadi R, Babaee Baigi MA, Dastsooz H, Khazaei Nejhad A, Fardaei M. Impact of KIF6 Polymorphism rs20455 on Coronary Heart Disease Risk and Effectiveness

- of Statin Therapy in 100 Patients from Southern Iran. *Archives of Iranian medicine*. 2015; 18(10):683–687. PMID: [26443250](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26443250/)
37. Iakoubova OA, Tong CH, Catanese J, Rowland CM, Luke MM, Tranquilli M et al. KIF6 719Arg Genetic Variant and Risk for Thoracic Aortic Dissection. *AORTA (Stamford)* 2016; 4(3):83–90.
 38. Schwartz GG, Olsson AG. The case for intensive statin therapy after acute coronary syndromes. *American Journal of Cardiology* 2005; 96:45F–53F. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2005.06.026> PMID: [16126023](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16126023/)
 39. Halcox JP, Deanfield JE. Beyond the laboratory: clinical implications for statin pleiotropy. *Circulation* 2004; 109:II42–8. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000129500.29229.92> PMID: [15173062](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15173062/)

V. CONCLUSIONES

V. CONCLUSIONES

- La variante *ABCA1* rs2230806 influye en la respuesta al tratamiento con estatinas. Los pacientes portadores de esta variante (T) tienen menor probabilidad de llegar a objetivos terapéuticos c-LDL/c-NoHDL. El genotipo TT de la variante *ABCA1* rs2230806 presenta un descenso de la concentración plasmática de c-LDL un 12% menor en el caso de la simvastatina y atorvastatina.
- La variante *CYP2D6* rs35742686 influye en la respuesta al tratamiento con estatinas. Los pacientes portadores de esta variante tienen menor probabilidad de llegar a objetivos terapéuticos c-LDL /c-NoHDL.
- La variante *CETP* rs708272 influye en la respuesta al tratamiento con rosuvastatina. Los portadores presentan un descenso de la concentración plasmática de c-LDL un 11% menor.
- La variante *CETP* rs5882 influye en la respuesta al tratamiento con rosuvastatina: los portadores de la variante responden mejor, bajando la concentración plasmática de c-LDL un 13,33% más.
- La variante *KIF6* rs20455 influye en la respuesta al tratamiento con simvastatina y atorvastatina. Los homocigotos de la variante presentan una disminución un 8,1% menor de las concentraciones plasmáticas de c-LDL.

- La variante *KIF6* rs20455 influye en la respuesta al tratamiento con rosuvastatina. Los pacientes portadores de la variante genética después del tratamiento farmacológico tienen un aumento de la concentración plasmática de c-HDL un 22% menor.
- Las otras variantes genéticas estudiadas no han mostrado relación estadísticamente significativa con los cambios en las concentraciones plasmáticas de c-LDL/ c-NoHDL o c-HDL en el tratamiento con estatinas.

VI. BIBLIOGRAFÍA

VI. BIBLIOGRAFÍA

1. Vogel, F. Moderne probleme der Human genetik. *Ergeb Inn. Med. Kinderheilkd.* 1959; 12: 52-125.
2. Gesteira- Ponce, A. Diseño y desarrollo de un programa de farmacogenética en antipsicóticos enfocado al tratamiento de la esquizofrenia. Traslación a la práctica clínica de la información farmacogenética. 2008; Universidad Santiago de Compostela (España).
3. Daudén- Tello, E. Farmacogenética I. Concepto, historia, objetivos y áreas de estudio. *Actas Dermo-Sifiliográficas*, 2006; 97(10), 623–629.
4. Doménech- Berrozpe J, Martínez- Lanao J, Peraire- Guitart C (eds.) *Tratado general de Biofarmacia y Farmacocinética. Volumen I.* 2013.
5. Arriola- Riestra I, Santos- Marino J, Martínez- Rodríguez N, Barona- Dorado C, Martínez-González J.M. Consideraciones farmacodinámicas y farmacocinéticas en los tratamientos habituales del paciente gerodontológico. *Av Odontoestomatol.* 2009; Feb 25(1): 29-34.
6. Strengthening pharmacovigilance to reduce adverse effects of medicines. Published on: 10/12/2008. https://ec.europa.eu/growth/content/strengthening-pharmacovigilance-reduce-adverse-effects-medicines-0_es.

7. Aranaz-Andrés JM, Aibar C, Limón R, Mira JJ, Vitaller J, Agra Y et al. A study of the prevalence of adverse events in primary healthcare in Spain. *Eur J Public Health*. 2012; 22(6):921-925.
8. Consortium IHA. A haplotype map of the Human Genome. *Nature*. 2005; 437: 1299—320.
9. Lafuente A. Estrategias, fortalezas y limitaciones en estudios de farmacogenética con antipsicóticos. *Rev Psiquiatr Salud Ment (Barc.)* 2011; 4(2):69—71.
10. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad: National Healthcare system Annual Report, 2016. Disponible en www.msssi.gob.es.
11. Byrne P, Cullinan J, Smith A, Smith SM. Statins for the primary prevention of cardiovascular disease: an overview of systematic reviews. *BMJ Open*. 2019; 9(4): e023085.
12. Nieto-Ramirez IJ, Chegwin-Angarita C, Atehortúa L, Sepúlveda LJ. Las estatinas: química, técnicas analíticas, biosíntesis y farmacocinética. *Vitae*. 2013; 20 (1): 49-63.
13. McTaggart, F. Comparative pharmacology of rosuvastatin. *Atherosclerosis Supplements* 2003; 4 (1): 9-14.
14. Schachter M. Chemical, pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of statins: an update. *Fundam Clin Pharmacol*. 2004 Aug; 19 (1): 117-125.
15. PharmGKB: Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther*. 2012; 92(4):414-417.

16. Kitzmiller JP, Luzum JA, Baldassarre D, Krauss RM, Medina MW. 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):486-91.
17. Kitzmiller JP, Luzum JA, Dauki A, Krauss RM, Medina MW. Candidate-Gene Study of Functional Polymorphisms in SLCO1B1 and CYP3A4/5 and the Cholesterol-Lowering Response to Simvastatin. *Clinical and translational science* 2017; 10(3):172-177.
18. Willrich MA, Hirata MH, Genvigir FD, Arazi SS, Rebecchi IM, Rodrigues AC et al. CYP3A53A allele is associated with reduced lowering-lipid response to atorvastatin in individuals with hypercholesterolemia. *Clin Chim Acta* 2008; 398(1-2):15-20.
19. Tsamandouras N, Dickinson G, Guo Y, Hall S, Rostami-Hodjegan A, Galetin A et al. Identification of the effect of multiple polymorphisms on the pharmacokinetics of simvastatin and simvastatin acid using a population-modeling approach. *Clin Pharmacol Ther* 2014; 96(1):90-100.
20. Kitzmiller JP, Mikulik EB, Dauki AM, Murkherjee C, Luzum JA. Pharmacogenomics of statins: understanding susceptibility to adverse effects. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine* 2016; 9:97–106.
21. Kirchheiner J, Kudlicz D, Meisel C, Bauer S, Meineke I, Roots I 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):186-94.

22. Neuvonen PJ, Backman JT, Niemi M. Pharmacokinetic comparison of the potential over-the-counter statins simvastatin, lovastatin, fluvastatin and pravastatin. *Clin Pharmacokinet.* 2008; 47(7):463-74.
23. Fujino, H, Saito, T, Tsunenari, Y, Kojima, J, Sakaeda, T. Metabolic properties of the acid and lactone forms of HMG-CoA reductase inhibitors. *Xenobiotica* 2004; 34(11-12), 961–971.
24. Davignon J. The cardioprotective effects of statins. *Curr Atheroscler Rep* 2004; 6:27-35.
25. Denicola A, Batthyany C, Lissi E, Freeman BA, Rubbo H, Radi R. Diffusion of nitric oxide into low density lipoprotein. *J Biol Chem* 2002; 277:932-6.
26. Vaughan CJ, Gotto AM Jr, Basson CT. The evolving role of statins in the management of atherosclerosis. *J Am Col. Cardiol* 2000; 35:1–10.
27. Aikawa M, Rabkin E, Sugiyama S, Voglic SJ, Fukumoto Y, Furukawa Y et al. An HMGCoA reductase inhibitor, cerivastatin, suppresses growth of macrophages expressing matrix metalloproteinases and tissue factor in vivo and in vitro. *Circulation* 2001; 103:276–83.
28. Mazón-Ramos P. Del concepto de estatinas de alta potencia a los efectos extralipídicos de las estatinas. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2015; 15(A):22-27.
29. Medimecum: Guía de terapia farmacológica. Madrid 2018: Adis International.
30. Mendes P, Robles PG, Mathur S. Statin-induced rhabdomyolysis: a comprehensive review of case reports. *Physiother Can.* 2014; 66(2):124–132.

31. Robledo M, Torres I, Manrique RD, Duque M, Gallo JE. Utilidad del gen SLCO1B1 como marcador de interés en la farmacogenómica de las estatinas. *Rev colomb Cardiol.* 2019; 26 (1): 24-30.
32. Voora D, Shah SH, Reed CR, Zhai J, Crosslin DR, Messer C et al. Pharmacogenetic Predictors of Statin-Mediated Low-Density Lipoprotein Cholesterol Reduction and Dose Response. *Circ Cardiovasc Genet.* 2008; 1:100-106.
33. Davidson MH, Toth PP. Comparative effects of lipid-lowering therapies. *Prog. Cardiovasc. Dis.* 2004; 47(2) ,73–104.
34. Pedro-Botet J, Schaefer EJ, Bakker-Arkema RG, Black DM, Stein EM, Corella D et al. Apolipoprotein E genotype affects plasma lipid response to atorvastatin in a gender specific manner. *Atherosclerosis.* 2001; 158:183–193.
35. Zineh I, Welder GJ, Debella AE, Arant CB, Wessel TR, Schofield RS. Atorvastatin effect on circulating and leukocyte-produced CD40 ligand concentrations in people with normal cholesterol levels: a pilot study. *Pharmacotherapy.* 2006; 26:1572–1577.
36. Simon JA, Lin F, Hulley SB, Blanche PJ, Waters D, Shiboski S et al. Phenotypic predictors of response to simvastatin therapy among African-Americans and Caucasians: the cholesterol and pharmacogenetics (CAP) Study. *Am J Cardiol.* 2006; 97:843– 850.
37. Shear CL, Franklin FA, Stinnett S, Hurley DP, Bradford RH, Chremos AN et al. Expanded clinical evaluation of lovastatin (EXCEL) study results. Effect of patient characteristics on lovastatin induced changes in plasma concentrations of lipids and lipoproteins. *Circulation.* 1992; 85:1293–1303.

38. Thompson JF, Hyde CL, Wood LS, Paciga SA, Hinds DA, Cox DR et al. Comprehensive whole-genome and candidate gene analysis for response to statin therapy in the treating to new targets (TNT) cohort. *Circ. Cardiovasc. Genet* 2009; 2, 173–181.
39. Vrablík M, Hubáček JA, Dlouhá D, Lánská V, Rynekrová J, Zlatohlávek L et al. Impact of Variants Within Seven Candidate Genes on Statin Treatment Efficacy. *Physiol. Res.* 2012; 61: 609-617.
40. Munshi A. Genetic variation in MDR1, LPL and eNOS genes and the response to atorvastatin treatment in ischemic stroke. *Hum Genet.* 2012; 131(11):1775-81.
41. Wei KK, Zhang LR, Zhang Y, Hu XJ. Interactions between CYP7A1 A-204C and ABCG8 C1199A polymorphisms on lipid lowering with atorvastatin. *J Clin Pharm Ther* 2011; 36(6):725-33.
42. Jiang XY, Zhang Q, Chen P, Li SY, Zhang NN, Chen XD et al. CYP7A1 polymorphism influences the LDL cholesterol lowering response to atorvastatin. *J Clin Pharm Ther* 2012; 37(6):719-23.
43. Voora D, Svati HS, Reed CR, Zhai J, Crosslin DR, Messer C et al. Pharmacogenetic predictors of statin-mediated low-density lipoprotein cholesterol reduction and dose response. *Circulation. Cardiovascular genetics* 2008; 1:100–106.
44. Thompson JF, Man M, Johnson K J, Wood LS, Lira ME, Lloyd DB et al. An association study of 43 SNPs in 16 candidate genes with atorvastatin response. *The pharmacogenomics journal* 2005; 5(6):352-8.
45. Smit RA, Postmus I, Trompet S, Barnes RM, Warren H, Arsenault BJ et al. Rooted in risk: genetic predisposition for low-density lipoprotein cholesterol level

- associates with diminished low-density lipoprotein cholesterol response to statin treatment, *Pharmacogenomics* 2016; 17, 1621–1628.
46. Krauss R, Mangravite LM, Smith JD, Medina MW, Wang D, Guo X 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; 25; 117(12):1537-44.
47. Chasman DI, Posada D, Subrahmanyam L, Cook NR, Stanton VP Jr, Ridker PM. Pharmacogenetic study of statin therapy and cholesterol reduction. *JAMA* 2004; 16; 291(23):2821-7.
48. Becker ML, Visser LE, van Schaik RH, Hofman A, Uitterlinden AG, Stricker BH. Common genetic variation in the ABCB1 gene is associated with the cholesterol-lowering effect of simvastatin in males. *Pharmacogenomics* 2009; 10(11):1743-51.
49. Fiegenbaum M, da Silveira FR, Van der Sand CR, Van der Sand LC, Ferreira ME, Pires RC 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):551-8.
50. Martin NG, Li KW, Murray H, Putt W, Packard CJ, Humphries SE. The effects of a single nucleotide polymorphism in SLCO1B1 on the pharmacodynamics of pravastatin. *Br J Clin Pharmacol.* 2012;73(2):303-6.
51. Hu M, Mak VW, Tomlinson B. Intronic variants in SLCO1B1 related to statin-induced myopathy are associated with the low-density lipoprotein cholesterol response to statins in Chinese patients with hyperlipidaemia. *Pharmacogenetics and genomics* 2012; 22(11):803-6.

52. Postmus I, Trompet S, Deshmukh HA, Barnes MR, Li X, Warren HR et al. Pharmacogenetic meta-analysis of genome-wide association studies of LDL cholesterol response to statins. *Nat Commun* 2014; 5:5068.
53. Feng Q, Wei-Qi W, Chung C, Levinson R, Bastarache L, Joshua C et al. The effect of genetic variation in PCSK9 on the LDL-cholesterol response to statin therapy. *Pharmacogenomics J* 2017; 17(2): 204–208.
54. Ference BA, Kastelein JJP, Ginsberg HN, Chapman MJ, Nicholls SJ, Ray KK et al. Association of Genetic Variants Related to CETP Inhibitors and Statins with Lipoprotein Levels and Cardiovascular Risk. *JAMA* 2017; 318(10):947-956.
55. Li YY, Zhang H, Qin XY, Lu XZ, Yang B, Chen ML. ATP-binding cassette transporter A1 R219K polymorphism and coronary artery disease in Chinese population: a meta-analysis of 5,388 participants. *Mol Biol Rep* 2012; 39(12):11031-9.
56. Zeng T, Li SJ, Ao W, Zheng H, Wu FX, Chen Y et al. The detection of autoantibodies to ATP-binding cassette transporter A1 and its role in the pathogenesis of atherosclerosis in patients with systemic lupus. *Clin Biochem* 2012; 45(16-17):1342-6.
57. Tall AR. Functions of cholesterol ester transfer protein and relationship to coronary artery disease risk. *J Clin Lipidol.* 2010; 4(5):389-93.
58. Rocha KCE, Pereira BMV, Rodrigues AC. An update on efflux and uptake transporters as determinants of statin response. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* 2018; 14(6):613-624.
59. Kashani Farid MA, Azizi F, Hedayati M, Daneshpour MS, Shamshiri AR et al. Association between CETP Taq1B and LIPC -514C/T polymorphisms with the

- serum lipid levels in a group of Tehran's population: a cross sectional study. *Lipids Health Dis.* 2010; 9:96.
60. De Haan W, van der Hoogt CC, Westerterp M, Hoekstra M, Dallinga-Thie GM, Princen HM et al. Atorvastatin increases HDL cholesterol by reducing CETP expression in cholesterol-fed APOE*3-Leiden.CETP mice. *Atherosclerosis* 2008; 197(1): 57-63.
61. Regieli JJ, Jukema JW, Grobbee DE, Kastelein JJ, Kuivenhoven JA, Zwinderman AH et al. CETP genotype predicts increased mortality in statin-treated men with proven cardiovascular disease: an adverse pharmacogenetic interaction. *Eur Heart J.* 2008; 29(22):2792-2799.
62. Carlquist JF, Muhlestein JB, Horne BD, Hart NI, Bair TL, Molhuizen H et al. The cholesteryl ester transfer protein Taq1B gene polymorphism predicts clinical benefit of statin therapy in patients with significant coronary artery disease. *American Heart Journal* 2003; 146(6), 1007–1014.
63. Boekholdt SM, Thompson JF. Natural genetic variation as a tool in understanding the role of CETP in lipid levels and disease. *J Lipid Res.* 2003; 44(6):1080–1093.
64. Anagnostopoulou K, Kolovou G, Kostakou P, Mihas C, Mikhailidis D, Cokkinos DV. Pharmacogenetic study of cholesteryl ester transfer protein gene and simvastatin treatment in hypercholesterolaemic subjects. *Expert Opin Pharmacother.* 2007; 8(15):2459-2463.
65. Ma XY, Liu JP, Song ZY. Associations of the ATP-binding cassette transporter A1 R219K polymorphism with HDL-C level and coronary artery disease risk: a meta-analysis. *Atherosclerosis* 2011; 215(2):428-34.

66. Lu Z, Luo Z, Jia A, Yu L, Muhammad I, Zeng W et al. Associations of the ABCA1 gene polymorphisms with plasma lipid levels: A meta-analysis. *Medicine (Baltimore)* 2018; 97(50): e13521.
67. Ghaznavi H, Aali E, Soltanpour MS. Association Study of the ATP - Binding Cassette Transporter A1 (ABCA1) Rs2230806 Genetic Variation with Lipid Profile and Coronary Artery Disease Risk in an Iranian Population. *Open Access Maced J Med Sci.* 2018; 6(2):274–279.
68. Rejeb J, Omezzine A, Rebhi L, Boumaiza I, Kchock K, Belkahla R et al. Associations between common polymorphisms of adenosine triphosphate-binding cassette transporter A1 and coronary artery disease in a Tunisian population. *Arch Cardiovasc Dis.* 2010 Oct; 103(10):530-7.
69. Cyrus C, Vatte C, Al-Nafie A, Chathoth S, Al-Ali R, Al-Shehri A et al. The impact of common polymorphisms in CETP and ABCA1 genes with the risk of coronary artery disease in Saudi Arabians. *Hum Genomics.* 2016 Mar 2; 10:8.
70. Liu N, Hou M, Ren W, Cao J, Wu H, Zhou W. The R219K polymorphism on ATP-binding cassette transporter A1 gene is associated with coronary heart disease risk in Asia population: evidence from a meta-analysis. *Cell Biochem Biophys.* 2015 Jan; 71(1):49-55.
71. Li J, Wang LF, Li ZQ, Pan W. Effect of R219K polymorphism of the ABCA1 gene on the lipidlowering effect of pravastatin in Chinese patients with coronary heart disease. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2009; 36(5-6):567-70.
72. Akao H, Polisecki E, Schaefer EJ, Trompet S, Robertson M, Ford I et al. ABCA1 gene variation and heart disease risk reduction in the elderly during pravastatin treatment. *Atherosclerosis.* 2014; 235(1):176-81.

73. Li Y, Iakoubova OA, Shiffman D, Devlin JJ, Forrester JS, Superko HR. KIF6 Polymorphism as a Predictor of Risk of Coronary Events and of Clinical Event Reduction by Statin Therapy. *American Journal of Cardiology* 2010; 106:994 – 998.
74. Li Y, Sabatine M, Tong C, Ford I, Kirchgessner T, Packard C, Robertson M Rowland C, Bare L, Shepherd J, Devlin J, Iakoubova O. Genetic variants in the KIF6 region and coronary event reduction from statin therapy. *Human Genetics* 2011; 129:17–23.
75. Iakoubova OA, Tong CH, Rowland CM, Kirchgessner TG, Young BA, Arellano AR et al. Association of the Trp719Arg polymorphism in kinesin-like protein 6 with myocardial infarction and coronary heart disease in 2 prospective trials: the CARE and WOSCOPS trials. *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 51:435-443.
76. Shiffman D, Sabatine MS, Louie JZ, Kirchgessner TG, Iakoubova OA, Campos H et al. Effect of pravastatin therapy on coronary events in carriers of the KIF6 719Arg allele from the cholesterol and recurrent events trial. *Journal of the American College of Cardiology* 2010; 105:1300-1305.
77. Iakoubova OA, Robertson M, Tong CH, Rowland CM, Catanese JJ, Blauw GJ et al. KIF6 Trp719Arg polymorphism and the effect of statin therapy in elderly patients: results from the PROSPER study by in *European journal of cardiovascular prevention and rehabilitation*. *European Journal of Preventive Cardiology* 2010; 17(4):455-461.
78. Iakoubova OA, Sabatine MS, Rowland CM, Tong CH, Catanese JJ, Ranade K et al. Polymorphism in KIF6 gene and benefit from statins after acute coronary

syndromes: results from the PROVE IT-TIMI 22 study. *Journal of the American College of Cardiology* 2008; 51(4):449-55.

79. Musunuru K. Lack of Association of KIF6 Genotype with Vascular Disease and Statin Response. *Cardiovascular Genetics* 2011; 4(4):467-8.
80. <https://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/>. (Último acceso: 06-09-20).
81. Buzková H, Pechandová K, Danzig V, Vareka T, Perlik F, Zak A et al. Lipid-lowering effect of fluvastatin in relation to cytochrome P450 2C9 variant alleles frequently distributed in the Czech population. *Med Sci Monit.* 2012 Aug; 18(8):CR512-517.
82. Mulder AB, van Lijf HJ, Bon MA, van den Bergh FA, Touw DJ, Neef C et al. Association of polymorphism in the cytochrome CYP2D6 and the efficacy and tolerability of simvastatin. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Dec; 70(6):546-51.
83. Zuccaro P, Mombelli G, Calabresi L, Baldassarre D, Palmi I, Sirtori CR. Tolerability of statins is not linked to CYP450 polymorphisms, but reduced CYP2D6 metabolism improves cholesteraemic response to simvastatin and fluvastatin. *Pharmacol Res* 2007; 55(4):310-7.
84. Geisel J, Kivistö KT, Griese EU, Eichelbaum M. The efficacy of simvastatin is not influenced by CYP2D6 polymorphism. *Clin Pharmacol Ther* 2002; 72(5):595-6.
85. Fernández- Travieso JC. Consideraciones genéticas sobre las dislipidemias y la aterosclerosis. *CENIC Ciencias Biológicas* 2008; 39:3.
86. Bertomeu- Ruiz A, Zambón- Rados D. La placa aterogénica: fisiopatología y consecuencias clínicas. *Med Integral* 2002; 40(9):394-405.

87. Organización Mundial de la salud. Enfermedades cardiovasculares. Datos y cifras. Last update: 17-05-2017.
88. Eckel RH, Cornier MA. Update on the NCEP ATP-III emerging cardiometabolic risk factors. *BMC Med.* 2014; 12:115.
89. Bejarano JM, Cuixart CB. Factores de riesgo cardiovascular y atención primaria: evaluación e intervención [Cardiovascular risk factors and Primary Care: evaluation and intervention]. *Aten Primaria.* 2011; 43(12):668-677.
90. Fernández-Cidón, B., Pintó-Sala, X., Ribalta-Vives, J., Masana, L., Ibarretxe, D., Padró-Miquel, A. et al. Diagnostic accuracy of a novel predictive model for ischemic events based on small dense LDL-cholesterol concentration (SDLDL-C) and lipid characterization by NMR. *Clinica Chimica Acta.* 2019: 493.
91. Kronenberg, F. Prediction of cardiovascular risk by Lp(a) concentrations or genetic variants within the LPA gene region. *Clin Res Cardiol.* 2019: Suppl 14, 5–12.
92. Lobos- Bejarano M, Royo-Bordonada MA, Brotons C, Alvarez-Sala L, Armario P, Maiques A et al. Guía europea de Prevención Cardiovascular en la Práctica Clínica. Adaptación española del CEIPC 2008. *Aten Primaria* 2009; 41: 463.e1-463.e24.
93. Brotons-Cuixart C, Alemán-Sánchez JJ, Banegas-Banegas JR, Fondón-León C, Lobos-Bejarano M, Martín-Rioboó E et al. Recomendaciones preventivas cardiovasculares. Actualización PAPPS 2018 [published correction appears in *Aten Primaria.* 2018 Dec; 50(10):655]. *Aten Primaria.* 2018; 50 Suppl 1:4-28.

94. Wilson PW, D'Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97 (18): 1837-1847.
95. Conroy RM, Pyorala K, Fitzgerald AP, Sans S, Menotti A, De Backer G, et al. Estimation of ten-year risk of fatal cardiovascular disease in Europe: the SCORE project. *Eur Heart J* 2003; 24: 987-1003.
96. Marrugat J, Solanas P, D'Agostino R, Sullivan L, Ordovás J, Cerdán F et al. Estimación del riesgo coronario en España mediante la ecuación de Framingham calibrada. *Rev Esp Cardiol* 2003; 56: 253-261.
97. Mostaza JM, Pintó X, Armario P, et al. Standards for global cardiovascular risk management arteriosclerosis. Estándares SEA 2019 para el control global del riesgo cardiovascular. *Clin Investig Arterioscler.* 2019; 31 Suppl 1:1-43.
98. <https://regicor.cat/aplicacions/regicor/> (Último acceso: 13/08/2020).
99. Mach F, Baigent C, Catapano AL, et al. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J.* 2020; 41(1):111-188.
100. Brandan N, Llanos C, Barrios BI, Escalante- Marassi AP, Ruiz Díaz, D. Lipoproteínas. 2008. Catedra de medicina. Argentina Universidad Nacional del Noreste (UNNE).
101. Pintó-Sala X. Protocolo de hipertriglicemias. Sociedad Española de Medicina Interna. 2008.
102. National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). 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) final report. *Circulation*. 2002; 106(25):3143-3421.
103. Cano Corres, R. Influencia de variantes de los genes APOE, HMGCR, SLCO1B1, CYP3A4 y LPA en la respuesta al tratamiento con estatinas en pacientes con dislipemias (tesis doctoral). Universitat de Barcelona, Barcelona. 2014.
104. Pérez- Guerra Y. Oxidación de las LDL (lipoproteínas de baja densidad) y su relación con la patogénesis de la aterosclerosis. *CENIC Ciencias Biológicas* 2007, 38.
105. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972; 18:499–502.
106. Catapano AL, Graham I, De Backer G, Wiklund O, Chapman MJ, Drexel H, et al. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2016; 37:2999-3058.
107. Civeira F, Baila L, Castro-Orós I, Mateo-Gallego R, Cenarro A. Novedades en el metabolismo lipídico. *Nefrología Sup Ext* 2013;4(4):9-17.
108. Gordon DJ, Probstfield JL, Garrison RJ, Neaton JD, Castelli WP, Knoke JD et al. High-density lipoprotein cholesterol and cardiovascular disease: four prospective American studies. *Circulation* 1989; 79:8-15.
109. Esteban- Salán M, Aguilar- Doreste J.A, Gómez- Gerique J.A, Romero- Román C, Castro Castro M.J, Calmarza- Calmarza P et al. Lipoproteína (a): factor de

riesgo emergente de enfermedad cardiovascular. Recomendación 2013. Documentos de la Sociedad Española de Medicina de Laboratorio.

110. Erqou S, Kaptoge S, Perry PL, Di Angelantonio E, Thompson A, White IK et al. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA* 2009; 302:412-23.
111. Mangaraj M, Nanda R, Panda S. Apolipoprotein A-I: A Molecule of Diverse Function. *Indian J Clin Biochem.* 2016; 31(3):253-259.
112. Sniderman AD, Thanassoulis G, Glavinovic T, Navar AM, Pencina M, Catapano A et al. Apolipoprotein B Particles and Cardiovascular Disease: A Narrative Review. *JAMA Cardiol.* 2019; 4(12):1287–1295.
113. Fredrickson DS. An international classification of hiperlipidemias and hyperlipoproteinemias. *Ann Intern Med.* 1971; 75 (3): 471-472.
114. Candás Estébanez B, Pocoví Mieras M, Romero Román C, Vella Ramírez JC, Esteban Salán M, Castro Castro MJ et al. Estrategia para el diagnóstico de las dislipidemias. Recomendación 2018. *Rev Lab Clin.* 2019; 12(4): e21-e33.
115. ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Atherosclerosis Society (EAS). *European Heart Journal*, 2020; 41 (1): 111–188.
116. Ramsey LB, Johnson SG, Caudle KE, Haidar CE, Voora D, Wilke RA, et al. The clinical pharmacogenetics implementation consortium (CPIC) guideline for SLCO1B1 and simvastatin-induced myopathy: 2014 update. *Clin Pharmacol Ther.* 2014; 96:423–8.

117. ACC/AHA Release Updated Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce ASCVD Risk. *Am Fam Phys.* 2014; 90:260–5.
118. Nagao K, Takahashi K, Azuma Y, Takada M, Kimura Y, Matsuo M et al. ATP hydrolysis-dependent conformational changes in the extracellular domain of ABCA1 are associated with apoA-I binding. *J Lipid Res.* 2012; 53(1):126-36.
119. Phillips MC. Is ABCA1 a lipid transfer protein? *J Lipid Res* 2018; 59(5):749-763.
120. Liu Y, Tang C. Regulation of ABCA1 functions by signaling pathways. *Biochim Biophys Acta* 2011; 1821(3):522-9.
121. Zhao GJ, Yin K, Fu YC, Tang CK. The interaction of ApoA-I and ABCA1 triggers signal transduction pathways to mediate efflux of cellular lipids. *Molecular Medicine.* 2012; 18(2).
122. Niesor EJ, Schwartz GG, Perez A, Stauffer A, Durrwell A, Bucklar-Suchankova G et al. Statin-induced decrease in ATP-binding cassette transporter A1 expression via microRNA33 induction may counteract cholesterol efflux to high-density lipoprotein. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2015; 29(1):7-14.
123. Kobayashi M, Gouda K, Chisaki I, Ochiai M, Itagaki S, Iseki K. Regulation mechanism of ABCA1 expression by statins in hepatocytes. *Eur J Pharmacol.* 2011; 662(1-3):9-14.
124. Gaedigk A, Ingelman-Sundberg M, Miller NA, Leeder JS, Whirl-Carrillo M, Klein TE, PharmVar Steering Committee. The Pharmacogene Variation (PharmVar) Consortium: Incorporation of the Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. *Clin Pharmacol Ther.* 2018; 103(3):399-401.

125. Li J, Wang X, Zhang Z, Zou J, Chen Y, Wang X, Wu J. Statin therapy correlated CYP2D6 gene polymorphism and hiperlipidemia. *Curr Med Res Opin.* 2014; 30(2):223-8.
126. Ophelia QP, Valiant WL, Miao H, Benny SP, Moses S, Tomlinson B. Impact of CYP2D6 polymorphisms on the pharmacokinetics of lovastatin in Chinese subjects. *European journal of clinical pharmacology* 2012; 68(6):943-9.
127. A global reference for human genetic variation, The 1000 Genomes Project Consortium. *Nature* 2015; 526, 68-74.
128. Dagostino C, Allegri M, Napolioni V, et al. CYP2D6 genotype can help to predict effectiveness and safety during opioid treatment for chronic low back pain: results from a retrospective study in an Italian cohort. *Pharmgenomics Pers Med* 2018; 11:179-191.
129. Cronin-Fenton DP, Lash TL. Clinical epidemiology and pharmacology of CYP2D6 inhibition related to breast cancer outcomes. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2011; 4(3):363-77.
130. Thompson A, Di Angelantonio E, Sarwar N, et al. Association of Cholesteryl Ester Transfer Protein Genotypes With CETP Mass and Activity, Lipid Levels, and Coronary Risk. *JAMA* 2008; 299(23):2777–2788.
131. Leusink, M, Onland-Moret, NC, de Bakker, PI, de Boer, A, Maitland-van der Zee, AH. Seventeen years of statin pharmacogenetics: a systematic review. *Pharmacogenomics* 2016; 17(2), 163–180.
132. Dacht C, Poirier O, Cambien F, Chapman J, Rouis M. New functional promoter polymorphism, CETP/-629, in cholesteryl ester transfer protein (CETP) gene related to CETP mass and high density lipoprotein cholesterol levels: role of

- Sp1/Sp3 in transcriptional regulation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2000 Feb; 20(2):507-15.
133. Carlquist, J. F, Muhlestein, J. B, Horne, B. D, Hart, N. I, Bair, T. L, Molhuizen, H, et al. The cholesteryl ester transfer protein Taq1B gene polymorphism predicts clinical benefit of statin therapy in patients with significant coronary artery disease. *American Heart Journal* 2003; 146(6), 1007–1014.
134. Karalis DG, Victor B, Ahedor L, Liu L. Use of Lipid-Lowering Medications and the Likelihood of Achieving Optimal LDL-Cholesterol Goals in Coronary Artery Disease Patients. *Cholesterol.* 2012; 2012:861924.
135. Serrano- Cumplido A. Indicaciones de los hipolipemiantes. *IT Sistema Nacional de Salud.* 2010; (34) 2.
136. Shiffman D, Trompet S, Louie JZ, Rowland CM, Catanese JJ, Iakoubova OA et al. Genome-Wide Study of Gene Variants Associated with Differential Cardiovascular Event Reduction by Pravastatin Therapy. *PLoS ONE* 2012; 7(5): e38240.
137. Hopewell J, Parish S, Clarke R, Armitage J, Bowman L, Hager J et al. No impact of KIF6 Genotype on vascular risk and statin response among 18,348 randomized patients in the heart protection study. *Journal of the American College of Cardiology* 2011; 57(20):2000-7.
138. Ridker PM, Macfadyen JG, Glynn RJ, Chasman DI. Kinesin-Like Protein 6 (KIF6) Polymorphism and the Efficacy of Rosuvastatin in Primary Prevention. *Circulation Cardiovascular Genetics* 2011; 4(3):312-317.
139. Arsenault BJ, Boekholdt SM, Hovingh GK, Hyde CL, DeMicco DA, Chatterjee A et al. The 719Arg variant of KIF6 and cardiovascular outcomes in statin-treated,

stable coronary patients of the treating to new targets and incremental decrease in end points through aggressive lipid-lowering prospective studies. *Circulation Cardiovascular Genetics* 2012; 5(1):51-7.

140. Chen S, Xiang Q, Zhao X, Xie Q, Zhou S, Zhang Z et al. Impact of the 719Arg variant of KIF6 and major cardiovascular events on patients who received statins: a systematic review and meta-analysis. *Current pharmaceutical design* 2018; Jun 24.
141. Angelini S, Rosticci M, Massimo G, Musti M, Ravegnini G, Consolini N et al. Relationship between Lipid Phenotypes, Overweight, Lipid Lowering Drug Response and KIF6 and HMG-CoA Genotypes in a Subset of the Brisighella Heart Study Population. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017; 24; 19(1).
142. Ruiz-Ramos D, Hernández-Díaz Y, Tovilla-Zárate CA, Juárez-Rojop I, López-Narváez ML, González-Castro TB et al. The Trp719Arg polymorphism of the KIF6 gene and coronary heart disease risk: systematic review and meta-analysis. *Hereditas* 2015; 152:3.
143. Hamidizadeh L, Haji Hosseini Baghdad Abadi R, Babae Baigi MA, Dastsooz H, Khazaei Nejhad A, Fardaei M. Impact of KIF6 Polymorphism rs20455 on Coronary Heart Disease Risk and Effectiveness of Statin Therapy in 100 Patients from Southern Iran. *Archives of Iranian medicine*. 2015; 18(10):683-687.
144. Iakoubova OA, Tong CH, Catanese J, Rowland CM, Luke MM, Tranquilli M et al. KIF6 719Arg Genetic Variant and Risk for Thoracic Aortic Dissection. *AORTA (Stamford)* 2016; 4(3):83-90.

145. Schwartz GG, Olsson AG. The case for intensive statin therapy after acute coronary syndromes. *American Journal of Cardiology* 2005; 96:45F–53F.
146. Halcox JP, Deanfield JE. Beyond the laboratory: clinical implications for statin pleiotropy. *Circulation* 2004; 109: 1142–8.

