



UNIVERSIDAD PERUANA
CAYETANO HEREDIA
FACULTAD DE MEDICINA

TRABAJO ACADÉMICO PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN CARDIOLOGIA

**“INFLUENCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DEL CITOCROMO
CYP3A4 , CYP2C9 Y SUS TRANSPORTADORES EN LA RESPUESTA AL
TRATAMIENTO HIPOLIPEMIANTE CON ESTATINAS EN PACIENTES CON
INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO TRATADOS EN LA UNIDAD
CORONARIA DEL HOSPITAL NACIONAL ARZOBISPO LOAYZA.”**

AUTOR: MAURICIO GUERRA RAYGADA

ASESOR: DRA. VICTORIA CELESTE ARMAS RODRIGUEZ

LIMA – PERÚ

2019

I. RESUMEN:

El presente estudio busca identificar si la respuesta al tratamiento con estatinas y su efecto a nivel sistémico en la reducción de los niveles de colesterol, en sus diversas isoformas, está influenciado por la presencia o ausencia de polimorfismos a nivel de los citocromos encargados del metabolismo de las mismas y determinar si esta característica puede definirse como factor de riesgo para una menor respuesta terapéutica en el manejo del infarto agudo al miocardio.

Las estatinas cumplen un rol fundamental en el tratamiento de la enfermedad coronaria, no existe ningún trabajo en nuestra realidad sobre las características fármaco genéticas en nuestra población en cuanto al uso de estatinas, siendo este el primero en plantear esta interrogante.

Mediante una cohorte prospectiva de pacientes ingresados en la UCI COR del Hospital Nacional Arzobispo Loayza con infarto agudo al miocardio se busca identificar la presencia o no de los polimorfismos, así como los niveles al ingreso de colesterol total, hdl y ldl , y mediante una asociación de riesgo identificar si estas variables juegan un rol importante en la prevención secundaria del infarto agudo al miocardio y en el control de la dislipidemia

Palabras clave: Polimorfismos, estatinas, infarto

- II. Hipótesis: Los pacientes que presentan polimorfismos genéticos a nivel del CYP3A4 y CYP2C9 presentan un mayor riesgo cardiovascular por lo tanto mayor probabilidad de nuevos eventos cardiovasculares a corto plazo en relación a la pobre respuesta al tratamiento con estatinas.
- III. Justificación del estudio: Existen diversos estudios sobre la eficacia del uso de estatinas en la reducción de niveles de c-LDL, efecto pleiotrópico y disminución de riesgo cardiovascular , sin embargo no existen estudios y menos a nivel nacional sobre si realmente la disminución de los niveles anteriormente descritos está directamente relacionada a la actividad metabólica de las estatinas, menos si realmente estos fármacos llegan a tener concentraciones adecuadas que garanticen los efectos ampliamente conocidos de las estatinas.
- IV. Revisión de la Literatura:

La función de los isoenzimas CYP3A4 y CYP2C9 presenta una gran versatilidad interindividual como resultado de su polimorfismo genético. La implicancia clínica de estas variantes genéticas está aún por ser descrita. Los polimorfismos de SLCO1B1 (gen del OATP1B1) pueden causar variabilidad en los niveles plasmáticos de las estatinas.

El OATP1B1 afecta a la afinidad hepática de la estatina, en donde va a ser metabolizada y donde ejerce su función a nivel intracelular. Una estrecha actividad del OATP1B1 puede reducir la eficacia antihipercolesterolemia de la estatina, y aumentar sus concentraciones plasmáticas, con el resultante peligro de toxicidad muscular.

La facultad de las estatinas para traspasar membranas celulares aumenta con su lipofilia, presentan una baja biodisponibilidad (<5%) como resultado de su efecto de primer paso debido al efecto del isoenzima 3A4 del citocromo P450 (CYP3A4) y de la

glucoproteína P (P-gp). La biodisponibilidad del resto de estatinas es superior, y varía a partir de el 12% de atorvastatina al 51% de pitavastatina. La eficacia del CYP3A4 intestinal, de las proteínas transportadoras de fármacos y el pH gastrointestinal son causas de alteración en la biodisponibilidad de las estatinas.

La unión a proteínas plasmáticas es elevada en las estatinas liposolubles, siendo mínimo en el caso de pravastatina y rosuvastatina. El CYP3A4 intestinal es el preferente responsable de la significativa depuración presistémica de algunas estatinas, ya que inactiva tanto la forma lactona como la ácida de las mismas.

El CYP3A4 hepático actúa inactivando lovastatina y simvastatina y favoreciendo la creación de metabolitos activos de atorvastatina. Fluvastatina sufre biotransformación de carácter significativo por el CYP2C9 hepático. Pravastatina, rosuvastatina y pitavastatina no se metabolizan en el CYP4501. La P-gp da parte a la depuración intestinal y biliar de atorvastatina, pravastatina, rosuvastatina y las formas ácidas de lovastatina y simvastatina.

En relación a pitavastatina, la investigación relativa a su afinidad por la P-gp es contradictoria ya que por métodos indirectos se puede determinar su afinidad al citocromo 3A4 inhibiéndolo con el uso de eritromicina y dosando sus niveles incrementados en suero.

Las estatinas hidrosolubles pravastatina y rosuvastatina requieren del anión orgánico portador de polipéptidos 1B1 (OATP1B1) para ingresar al hepatocito. Lovastatina y simvastatina ingresan en los hepatocitos en parte en su isoforma de lactona (penetrando a través de la membrana plasmática y, en parte en su forma ácida)

a través del OATP1B1. La actividad del OATP1B1 parece ser imprescindible en el ingreso al hepatocito de pitavastatina, presenta una importancia aún por precisar como portador de atorvastatina, y no parece ejercer en el de fluvastatina

La acción de las estatinas liposolubles está condicionada por el efecto de primer paso (actividad CYP3A4 y P-gp) y por la acción del OATP1B1. En materia de las estatinas hidrófilas, su capacidad para inhibir la enzima HMGCoA reductasa depende de la actividad del OATP1B1 y de la P-gp como lo describimos líneas antes.

La falla hepática y los polimorfismos genético individuales a nivel de CYP3A4, CYP2C9 y SLCO1B1 o gen codificador de OATP1B1 pueden modificar la actividad y seguridad de estos fármacos teniendo con implicancia clínica final un menor efecto del fármaco o la aparición de los efectos tóxicos de las estatinas.

Características de las estatinas en la enfermedad coronaria

Las estatinas actúan inhibiendo a la HMG-CoA reductasa, con lo que reducen la formación hepática de colesterol, sin embargo una de las claves del tratamiento con estatinas en el SCA reside en que estos fármacos logran algo más que aminorar el colesterol, ya que igualmente se ha demostrado que estabilizan las placas al desarrollar el contenido de colágeno en las que son inestables, reducen la activación de los macrófagos y la formación de las metaloproteinasas de la matriz, reducen el fibrinógeno plasmático y factores trombogénicos en general y revierten la propensión a

un aumento de la agregación plaquetaria. Todo estos fenómenos los llamamos efecto pleiotrópico

La administración de estatinas a los sujetos con SCA tiene dos objetivos diferentes: la estabilización de la placa complicada e impedir la progresión de esa y todas las placas presentes o futuras del árbol coronario y de todo el sistema vascular en su conjunto.

De todas las propiedades atribuidas a las estatinas en su función de estabilizador y protector, más allá de la propia disminución de las cifras de colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad ha dado más importancia son las que ejercen en la función endotelial y la actividad inflamatoria vascular. Este efecto beneficioso estaría dado por su actividad en la liberación del óxido nítrico. El incremento de la biodisponibilidad del NO llevaría una mejora de la función endotelial y una reducción de la inflamación vascular .

En el estudio RECIFE se evidenció el efecto de pravastatina al incrementar el flujo vascular en 42% luego de un evento coronario. De igual manera en el estudio CARE y en los estudios de Link y col. Evidenciaron un descenso de la actividad de la proteína c reactiva, de la actividad de linfocito th1 y de interleucinas y factor de necrosis tumoral en paciente pos infarto agudo al miocardio frente a pacientes que recibieron placebo.

IV.1. Impacto clínico de las estatinas en la fase aguda del síndrome coronario agudo

Desde estudios con población reducida como el estudio FLORIDA y el estudio PACT empezaban a mostrar evidencias de mejoría en el estado inflamatorio en los pacientes post infarto sin embargo a dosis bajas todavía no repercutían en los efectos de mortalidad.

Con el estudio MIRACL en el cual se utilizan dosis altas de estatinas y con un mayor número de pacientes reclutados es que se encuentra un beneficio sustancial en la reducción de evento de muerte en los pacientes post infarto. Momento para el cual las estatinas empiezan a tener un rol crucial en el manejo del síndrome coronario.

El estudio PROVE-IT- TIMI 22 y el estudio A-Z sostuvieron el impacto del uso de estatinas a altas dosis para reducir el evento de muerte cardiovascular en el post infarto.

Finalmente tenemos al estudio IDEAL donde ya se inicia a comparar el efecto de reducción de muerte entre grupos de estatinas demostrando que la Atorvastatina no era inferior a otros grupos y siempre manteniendo el uso de estatinas a dosis altas.

IV.2 Seguridad y tolerabilidad

Los inhibidores de la HMG-CoA reductasa son fármacos seguros y bien tolerados, sin embargo los diversos estudios mencionados evidencian que al utilizar una dosis alta que clínicamente beneficia al paciente en cuanto a la disminución de muerte puede generar la aparición de los efectos de toxicidad muscular y hepática de estos fármacos.

En el contexto de síndrome coronario la aparición de los efectos toxicos podría generar el cambio en la actitud terapéutica y llevar a la suspensión del tratamiento en un paciente que necesita una estatina que pueda cambiar la posibilidad de un evento mayor cardiovascular

.

IV.3 Reacción en cadena de la polimerasa

La Reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una de las técnicas básicas de Biología Molecular, ampliamente utilizada, debido a su rapidez, especificidad, flexibilidad y aplicabilidad, que ha revolucionado el modo de manipular, clonar y detectar fragmentos de ADN. Durante este ensayo se utilizara esta técnica para amplificar la búsqueda de los genes descritos y poder identificar polimorfismos los cuales nos lleven a la disfunción de los diferentes citocromos involucrados en el metabolismo de las estatinas

V.Objetivos

V.1. Objetivo primario: Identificar polimorfismo genéticos en las enzimas encargadas del metabolismo de estatinas.

V.2 Objetivo secundario:

V.2.1 Determinar si la presencia de polimorfismo genéticos producen un mayor riesgo cardiovascular

V.2.2 Determinar si la presencia de polimorfismos genéticos producen una mayor incidencia de reacciones adversas a la terapia.

VI. Diseño: El tipo de estudio a realizar sería un estudio Cohorte prospectivo con 2 grupos de seguimiento, el grupo A con identificación de polimorfismos y el grupo B sin identificación de polimorfismos en el cual se busca determinar un nuevo evento cardiovascular en el periodo de tiempo a evaluar y la respuesta en cuanto la actividad hipolipemiente en cada grupo. Además como objetivos secundaria evaluaremos si la presencia de polimorfismo lleva a una mayor presencia de reacciones adversas al medicamento durante el periodo de estudio.

Se reclutara a todos los pacientes que ingresen a la Unidad de cuidados intensivos corinarios (UCI COR) del Hospital Arzobispo Loayza los cumplan los siguientes criterios:

- Edad mayor a 18 años
- Infarto agudo al miocardio con elevación de segmento ST y sin elevación del segmento ST (según las definiciones internacionales)
- Autorización para el manejo de información de la Historia Clínica y toma de muestra.

Exclusión:

- Aquellos que no cumplan con los criterios de inclusión mencionados
- Alergia conocida y documentada a estatinas

Detalle de ingreso al estudio:

Todo paciente que cumpla con los criterios de inclusión será reclutado al ingreso e identificación en la UCI COR, luego de la firma de consentimiento informado se procederá a la toma de muestra.

VII. Muestra:

Tamaño muestral: transversal, de cohorte, y ensayo clínico

Nivel de significación de dos lados(1-alpha)	95
Potencia (1-beta,% probabilidad de detección)	80
Razón de tamaño de la muestra, Expuesto/No Expuesto	1
Porcentaje de No Expuestos positivos	30
Porcentaje de Expuestos positivos	70
Odds Ratio:	5.4
Razón de riesgo/prevalencia	2.3
Diferencia riesgo/prevalencia	40

	Kelsey	Fleiss	Fleiss con CC
Tamaño de la muestra - Expuestos	2	24	29
Tamaño de la muestra- No expuestos	25	24	29
Tamaño total de la muestra	50	48	58

VARIABLES

Operacionalización de variables

VARIABLE	DEFINICION CENCEPTUAL	DEFINICION OPERACIONAL	TIPO	ESCALA DE MEDICION	VALORES Y CATEGORIAS
Polimorfismo	Alteración en la secuencia con respecto al original	Resultado en el análisis de reacción en cadena de la polimerasa	Cualitativa	Resultado de laboratorio	Positivo y negativo
Colesterol Total	La concentración total de colesterol en el plasma	Colesterol total mayor de 200 mg/dL	Cuantitativa	mg/dl	Elevado: Mayor de 200 mg/dl
Colesterol LDL	Colesterol unido a lipoproteínas de baja densidad	Se considera a un valor superior de 130 mg/dl	Cuantitativa	mg/dl	Elevado: Mayor de 130 mg/dL
Colesterol HDL	Colesterol unido a lipoproteínas de alta densidad	Se considera a un valor inferior de 40 mg/dl	Cuantitativa	mg/dl	Reducido: Menor de 40 mg/dl
SEXO	Según sexo biológico	Sexo biológico del paciente estudiado	Nominal	Historia clínica	Masculino Femenino
EDAD	Según último año cumplido	18 a más	Cuantitativa	Historia Clínica	No hay categoría

VII.1 Selección de los genes objeto de estudio.

Se realizó una detallada revisión bibliográfica de los genes identificados en la actualidad involucrados en el metabolismo de estatinas . Se revisaron varias bases de datos, donde se recoge información de todas las mutaciones y variaciones identificadas para cada gen con significado clínico patológico y otras aún desconocidas. Entre estas bases de datos destacan “GeneWindow” (<http://genewindow.nci.nih.gov/Welcome>) y “Ensamble Genome Browser” (<http://www.ensembl.org/index.html>).

VII. 2. Diseño de primers. Una vez seleccionados los genes objeto del estudio, se procede al diseño de primers utilizando el software Primer 3.0 es una aplicación gratuita que se encuentra en diferentes servidores web.

Los primers deben ser específicos, con una longitud determinada, de modo que tengan una secuencia única dentro del ADN. Si esta secuencia se repite en otras zonas del ADN dará lugar a productos no deseados.

VIII.1 Análisis de resultados de secuenciación

Para el análisis utilizaremos MEGA 5.0, que está disponible de forma gratuita (<http://www.megasoftware.net>). Se realizara este análisis mediante el soporte de biólogos calificados en manejo de PCR

VIII.2 Obtención de muestras. Las muestras de sangre que utilizamos normalmente para la extracción de ADN, vienen en anticoagulante EDTA. Todos los envíos de las muestras han de contener: 3 ml de sangre recién extraída, anticoagulada con EDTA (tubos con tapón violeta) a temperatura ambiente (RT) o 4 °C por mensajero urgente, consentimiento

informado, formulario de la muestra, historia clínica del paciente (resumida y anonimizada).

VIII.3 Análisis Estadístico

Se realizará el análisis estadístico con el programa STATA 15 proporcionado por la Universidad Peruana Cayetano Heredia , ejecutándose el paquete de análisis para la regresión logística y análisis de variables propuestas.

IX. Seguimiento de pacientes

Al identificar al paciente se tomarán datos básicos de filiación y número de contacto para poder realizar un seguimiento telefónico y control al mes de la toma de muestra y a los 2 meses donde en cada corte se tomará muestra de perfil lipídico y enzimas musculares.

X. Ética:

El estudio será sometido a evaluación por el comité de Ética del Hospital Nacional Arzobispo Loayza, la confidencialidad de los pacientes está asegurada bajo las normas internacionales de protección a la información en estudios clínicos y solo se trabajará bajo la autorización explícita y documentada bajo consentimiento informado del paciente.

XI. RECURSOS

RECURSO	DESCRIPCIÓN	COSTO UNITARIO	CANTIDAD	TOTAL	FINANCIAMIENTO
Examinadores	-	-	01	-	-
Termociclador	Termociclador	-	01	-	Proporcionado por laboratorio de UPCH
Primers	Primers para genes específicos	15.00 Euros	58	870 euros	Por examinador
Jeringas toma de muestra 5 ml	Jeringa para toma de muestra	S/ 3.00	58	S/ 174.00 por paciente	Por examinador
Papel bond	A4 80gr	S/ 10.00	3	S/ 30.00	Por examinador
Lapiceros	Tinta azul, 0.8	S/1.00	10	S/10.00	Por examinador
Ordenador	Laptop	-	-	-	Por examinador

XII. CRONOGRAMA

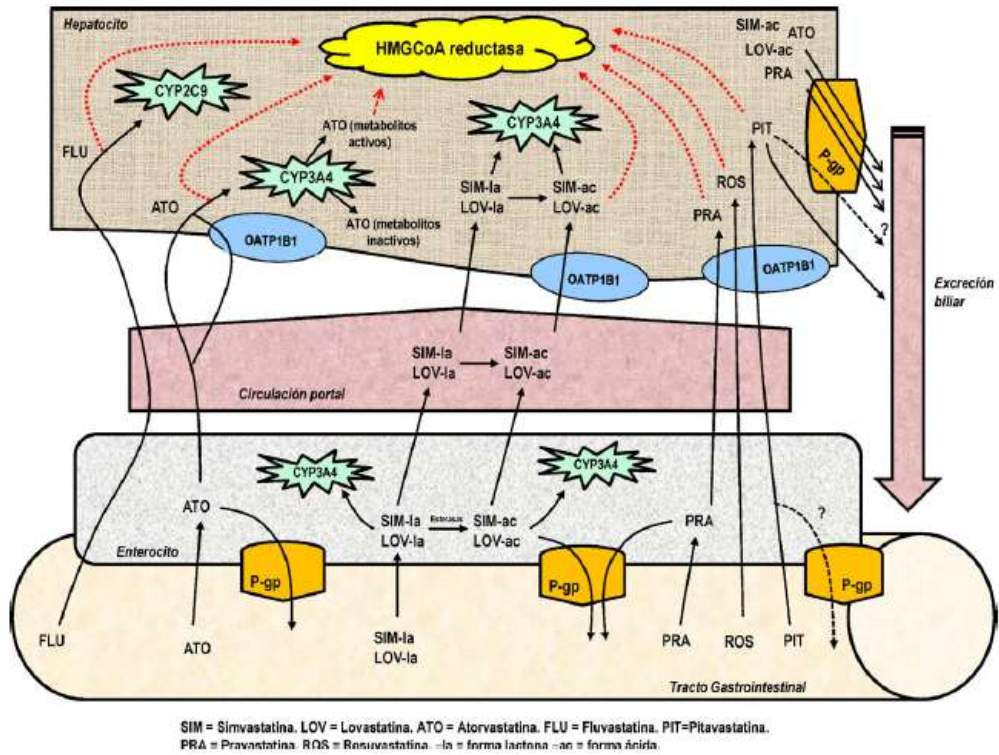
ETAPA	ENE RO	FEBRE RO	MAR ZO	ABR IL	MA YO	JUN IO	JUL IO	AGOS TO	SETIEM BRE	OCTUB RE	NOVIEM BRE	DICIEM BRE
DISEÑO DE INVESTIGACION	X											
BUSQUEDA BIBLIOGRAFICA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	
PROYECTO DE INVESTIGACION		X	X	X	X							
REGISTRO DEL PROYECTO					X							
APROBACION							X					
PRUEBA PILOTO							X					
EJECUCIÓN								X	X			
PROCESAMIENTO DE RESULTADOS										X		
INFORME FINAL											X	
SUSTENTACIÓN											X	
PUBLICACIÓN												X

XIII. Bibliografía:

1. Consideraciones específicas en la prescripción e intercambioterapéutico de estatinas A. García-Sabina, C. González-Juanatey
2. Oscarson M. Pharmacogenetics of drug metabolising enzymes: importance for personalised medicine. Clin Chem Lab 3. García Sabina A e-mecum. *Ayuda en la toma de decisiones farmacoterapéuticas*. Editorial Médica A.W.W.E.; 2009.
4. Neuvonen PJ, Niemi M, Backman JT. Drug interactions with lipid-lowering drugs: mechanisms and clinical relevance. Clin Pharmacol Ther. 2006;80:565---81. Med. 2003;41:573---80.
5. Weissberg P, Clesham GJ, Bennett MR. Is vascular smooth muscle cell proliferation beneficial? Lancet. 1996;347:305-7
6. Vaughan CJ, Murphy MB, Buckley BM. Statins do more than just lower cholesterol. Lancet. 1996;348:1079-82.
7. Cholesterol Treatment Trialists" (CTT) Collaborators. The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. Lancet. 2012;380:581-90.
8. Laufs U, La Fata V, Plutzky J, Liao JK. Upregulation of endothelial nitric oxide synthase by HMG CoA reductasa inhibitors. Circulation. 1998;47:1129-35.
- Link A, Ayadhi T, Böhm M, Nickening G. Rapid immunomodulation by rosuvastatin in patients with acute coronary syndrome. Eur Heart J. 2006;27:2945-55.
- Link A, Ayadhi T, Böhm M, Nickening G. Rapid immunomodulation by rosuvastatin in patients with acute coronary syndrome. Eur Heart J. 2006;27:2945-55.
11. Liem AH, Van Boven AJ, Veeger NJ, Withagen AJ, Robles de Medina RM, Tijssen JG, et al. Effect of fluvastatin on ischaemia following acute myocardial infarction: a randomized trial. Eur Heart J. 2002;23:1931-7.
12. Thompson PL, Meredith I, Amerena J, Campbell TJ, Sloman JG, Harris PJ. Effect of pravastatin compared with placebo initiated within 24 hours of onset of acute myocardial infarction or unstable angina: the Pravastatin in Acute Coronary Treatment (PACT) trial. Am Heart J. 2004;148:e2.
13. Schwart GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, et al. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary síndromes: the MIRACL study: a randomized trial. JAMA. 2001;285:1711-8.
14. De Lemos JA, Blazing MA, Wiviott SD, Lewis EF, Fox KA, White HD, et al. Early intensive vs delayed conservative simvastatin strategy in patients with acute coronary syndromes: phase Z of the A to Z trial. JAMA. 2004;292:1307-17.
15. Cannon CP, Braunwald E, McCabe CH, Rader DJ, Rouleau JL, Belder R, et al. Intensive vs moderate lipid lowering with statins after acute coronary síndromes. N Engl J Med. 2004;350:1495-504.
16. Pedersen TR, Faergeman O, Kastelein JJ, Olsson AG, Tikkanen MJ, Holme I, et al. High-dose atorvastatin vs usual-dose simvastatin for secondary prevention after myocardial infarction: the IDEAL study: a randomized controlled trial. JAMA. 2005;294:2437-45.
17. Blankenship JC, Haldis T, Feit F, Hu T, Kleiman NS, Topol EJ, et al. Angiographic adverse events, creatine kinase-MB elevation, and ischemic end points complicating percutaneous coronary intervention (a REPLACE-2 substudy). Am J Cardiol. 2006;97:1591-6.

18. Briguori C, Visconti G, Focaccio A, Golia B, Chieffo A, Castelli A, et al. Novel approaches for preventing or limiting events (Naples) II trial: impact of a single high loading dose of atorvastatin on periprocedural myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:2157-63.
19. Patti G, Pasceri V, Colonna G, Miglionico M, Fischetti D, Sardella G, et al. Atorvastatin pretreatment improves outcomes in patients with acute coronary syndromes undergoing early percutaneous coronary intervention: results of the ARMYDAACS randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2007;49:1272-8.
- Wang Z, Dai H, Xing M, Yu Z, Lin X, Wang S, et al. Effect of a single high loading dose of rosuvastatin on percutaneous coronary intervention for acute coronary syndromes. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2013;18:327-33.
- Kim JS, Kim J, Choi D, Lee CJ, Lee SH, Ko YG, et al. Efficacy of high-dose atorvastatin loading before primary percutaneous coronary intervention in ST-segment elevation myocardial infarction: the STATIN STEMI trial. *JACC Cardiovasc Interv* 2010;3:332-9.
22. Kim JW, Yun KH, Kim EK, Joe DY, Ko JS, Lee EM, et al. Effect of high dose rosuvastatin loading before primary percutaneous coronary intervention on infarct size in patients with ST-segment elevation myocardial infarction. *Korean Circ J*. 2014;44:76-81.
23. Navarese EP, Kowalewski M, Andreotti F, Van Wely M, Camaro C, Kolodziejczak M, et al. Meta-analysis of time-related benefits of statin therapy in patients with acute coronary syndrome undergoing percutaneous coronary intervention. *Am J Cardiol*. 2014;113:1753-64.
24. Reiner Z, Catapano AL, De Backer G, Graham I, Taskinen MR, Wiklund O, et al. ESC/ EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias. *Eur Heart J*. 2011;32:1769-818.
25. Di Sciascio G, Patti G, Pasceri V, Gaspardone A, Colonna G, Montinaro A. Efficacy of atorvastatin reload in patients on chronic statin therapy undergoing percutaneous coronary interventions: results of the ARMYDA-RECAPTURE (Atorvastatin for Reduction of Myocardial Damage During Angioplasty) randomized trial. *J Am Coll Cardiol*. 2009;54:558-65.

Anexo:



1