

Efecto de diferentes polimorfismos en el gen del OATP-C sobre la respuesta hipolipemiantre al tratamiento con pravastatina

R. Peña^a, J.M. Mostaza^a, C. Lahoz^a, E. Subirats^b, X. Pintó^c, F. Laguna^a, M.F. García-Iglesias^a, E. Torrecilla^a y grupo del estudio RAP

^aUnidad de Arteriosclerosis. Hospital Carlos III. Madrid. España.

^bServicio de Medicina Interna. Hospital de Puigcerdà. Puigcerdà. Girona. España.

^cUnidad de lípidos. Hospital de Bellvitge. L'Hospitalet de Llobregat. Barcelona. España.

Fundamento. Existe una gran variabilidad en la respuesta de los lípidos y lipoproteínas plasmáticas al tratamiento con estatinas, en parte debida a factores genéticos. Recientemente se han identificado diversos polimorfismos en el gen del OATP-C, transportador implicado en la internalización de la pravastatina en el hepatocito, que afectan a su actividad. El objetivo del presente estudio fue evaluar el efecto de diferentes polimorfismos en el gen del OATP-C sobre la respuesta de los lípidos y las lipoproteínas plasmáticas a la pravastatina.

Pacientes y métodos. Se seleccionó a 290 sujetos hipercolesterolemicos (el 56% mujeres, con una edad media de 57 años), con indicación de tratamiento farmacológico hipolipemiantre tras seguir una dieta baja en grasa saturada y colesterol. Las determinaciones de lípidos y lipoproteínas se realizaron de forma centralizada, antes y después de 16 semanas de tratamiento, con 20 mg/día de pravastatina.

Resultados. El polimorfismo T217C en el exón 2 del gen del OATP-C no se detectó en ningún sujeto de nuestra población. La distribución del

polimorfismo T521C en el exón 5 fue de un 70% el T/T, 29% el T/C y 1% el C/C. El polimorfismo T521C no tuvo ningún efecto sobre los valores basales de lípidos ni sobre su respuesta al tratamiento con pravastatina.

Conclusión. El polimorfismo T521C en el exón 5 del gen del OATP-C no influye sobre la respuesta hipolipemiantre a la pravastatina.

Palabras clave:
Polimorfismos genéticos. OATP-C. Pravastatina. Colesterol.

EFFECT OF DIFFERENT POLYMORPHISMS IN OATP-C GENE ON THE HYPOLIPIDEMIC RESPONSE TO PRAVASTATIN THERAPY

Background. Considerable variability exists in the plasma lipid and lipoprotein response to statin treatment due, in part, to genetic factors. Multiple polymorphisms in the OATP-C gene, a transporter involved in the hepatic uptake of pravastatin, some of which affect the transport activity, have recently been identified. The aim of the present study was to evaluate the effect of different polymorphisms in the OATP-C gene on the plasma lipoprotein response to pravastatin treatment.

Patients and methods. 290 subjects (56% women; mean age: 57 years) who were hypercholesterolemic despite a diet poor in saturated fat and cholesterol were selected for this study. Plasma lipids and lipoproteins were measured centrally, before and after 16 weeks of treatment with 20 mg/d of pravastatin.

Este proyecto ha sido financiado parcialmente con fondos procedentes de la Fundación para el Fomento y Desarrollo de la Investigación Clínica y de los proyectos FIS 98/0201 y 02/0815.

Correspondencia: Dr. J.M. Mostaza Prieto.

Unidad de Arteriosclerosis. Hospital Carlos III.
Sinesio Delgado, 10. 28029 Madrid. España.

Correo electrónico: jmostaza.hciii@salud.madrid.org

Recibido el 11 de mayo de 2004 y aceptado el 8 de septiembre de 2004.

Results. The T217C polymorphism in exon 2 of the OATP-C gene was not detected in our population. Distribution of the T521C polymorphism in exon 5 was 70% T/T, 29% T/C and 1% C/C. The T521C polymorphism neither influenced baseline lipid and lipoprotein levels nor their response to pravastatin therapy.

Conclusion. The T521C polymorphism in exon 5 of the OATP-C gene does not appear to influence the hypolipidemic effect of pravastatin treatment.

Key words:
Genetic polymorphisms. OATP-C. Pravastatin. Cholesterol.

Introducción

Los inhibidores de la hidroximetil glutaril CoA reductasa, comúnmente conocidos como estatinas, han demostrado una gran eficacia en la disminución de los valores de colesterol plasmático y en la reducción del riesgo cardiovascular¹⁻³. Existe una amplia variabilidad interindividual en la respuesta hipolipemiante al tratamiento con estos fármacos^{4,5}, atribuida tanto a factores ambientales⁶⁻⁹ como genéticos¹⁰⁻¹⁴. Entre estos últimos se han identificado diversos polimorfismos en genes relacionados con el metabolismo lipídico, que codifican apolipoproteínas^{10,11,15}, receptores celulares^{12,16} y enzimas^{13,14} implicadas en diferentes vías metabólicas. En este sentido, el genotipo de la apolipoproteína E es probablemente el polimorfismo más ampliamente estudiado y el que ha demostrado tener una mayor influencia sobre el descenso del colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad (cLDL), en respuesta al tratamiento hipolipemiante^{5,10,17-19}.

Otros polimorfismos que también podrían tener un importante papel en la respuesta hipolipemiante serían los que afectan a genes implicados en la biodisponibilidad del fármaco. El citocromo P450 es un complejo enzimático implicado en el catabolismo de una gran variedad de sustancias entre las que se incluyen la mayor parte de las estatinas. Los polimorfismos en este complejo enzimático podrían contribuir a su mayor o menor eficacia y así explicar diferencias en la biodisponibilidad de las estatinas y, por tanto, en su eficacia hipolipemiante. La pravastatina es una estatina no lipofílica que no se metaboliza de forma apreciable por este complejo enzimático. Sin embargo, dado su carácter hidrofílico requiere de un mecanismo de transporte activo y específico que la internalice en el hepatocito.

El OATP-C humano (gen *SLC21A6*), también conocido como transportador específico del hígado-1 (LST-1)²⁰ o OATP2²¹, se expresa abundantemente

en la membrana basolateral de los hepatocitos y pertenece a una amplia familia de transportadores implicados en la captación hepática de una gran variedad de compuestos, entre los que se encuentra la pravastatina^{21,22}. El gen que codifica para este transportador se localiza en el cromosoma 12 y está formado por 14 exones²³. Recientemente se han identificado diversos polimorfismos de nucleótido simple (SNP) en el gen que codifica para el OATP-C^{24,25}. Algunos de estos SNP se han asociado con diferencias en su capacidad transportadora en estudios experimentales *in vitro*. Por tanto, al menos teóricamente, los sujetos con alguno de estos polimorfismos presentarían distinta captación intracelular de pravastatina y, por tanto, una diferente eficacia hipolipemiante.

El objetivo de este estudio fue valorar el efecto de 2 polimorfismos, el T521C en el exón 5 y el T217C en el exón 2 del gen del OATP-C sobre la respuesta hipolipemiante a la pravastatina.

Pacientes y métodos

Sujetos y diseño del estudio

Se seleccionó a 290 sujetos participantes en el estudio RAP (Respuesta Ambulatoria a Pravastatina), prospectivo, multicéntrico y de intervención en sujetos hipercolesterolemicos. En este estudio, los sujetos que, tras seguir una dieta baja en grasa saturada y colesterol durante 6 semanas, eran susceptibles de tratamiento farmacológico hipolipemiante, de acuerdo con las recomendaciones de la Sociedad Española de Arteriosclerosis, recibían tratamiento con 20 mg diarios de pravastatina durante 16 semanas. Los participantes eran seguidos por sus médicos de atención primaria. Se excluyó a los sujetos con hipercolesterolemias secundarias, a aquellos cuyos valores de triglicéridos plasmáticos eran superiores a 350 mg/dl y a todos los pacientes con enfermedades digestivas, renales o hepáticas graves. Se obtuvieron muestras de sangre antes y después de las 16 semanas de tratamiento farmacológico, para la determinación de los lípidos y lipoproteínas plasmáticas de forma centralizada y para la determinación de los polimorfismos genéticos. El estudio fue aprobado por el Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Carlos III.

Determinación de lípidos y lipoproteínas

La extracción de sangre se realizó tras ayuno de 12 h. El colesterol total y los triglicéridos se midieron por métodos enzimáticos-colorimétricos colorimétricos (Roche Diagnostics, Germany). El colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad (cHDL) se determinó, tras precipitar las lipoproteínas ricas en apolipoproteína B con ácido fosfatúngstico y magnesio. El cLDL se calculó mediante la fórmula de Friedewald²⁶.

Determinación de los polimorfismos del gen del OATP-C

A partir de células blancas congeladas se extrajo el ADN genómico usando un kit comercial (Roche Diagnostics, Ger-

many). Se utilizó la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y corte con enzima de restricción para la determinación del polimorfismo T217C en el exón 2 del gen del OATP-C, y el método de PCR alelo-específica para el polimorfismo T521C en el exón 5.

Polimorfismo T217C en el exón 2

La secuencia de cebadores utilizada fue 5'-TGC CTA TTG ACA TTA TAT AGT CC-3' y 5'-GAT AAC CAG TGG TGT AAA GCAT-3'. El volumen final de la PCR fue de 25 µl con las siguientes condiciones: 1,5 mM de MgCl₂, 0,25 mM de dNtp y 2,5 U de Taq polimerasa. La amplificación se llevó a cabo tras 30 ciclos a 95 °C durante 30 s, a 60 °C durante 30 s y a 72 °C durante 1 min. Tras la digestión del producto de la PCR con la enzima de restricción HindIII, los fragmentos fueron separados por electroforesis en gel de poliacrilamida al 8%. Posteriormente, el gel fue tratado con bromuro de etidio, y los fragmentos de ADN se visualizaron con luz ultravioleta.

Polimorfismo T521C en el exón 5

Para la determinación de este polimorfismos se realizó la técnica de PCR alelo-específica, para la que se utilizaron las siguientes secuencias de cebadores: 5'-GTT AAA TTT GTA ATA GAA ATG C-3', 5'-GTA GAC AAA GGG AAA GTG ATC ATA-3', WT 5'-CAT ACA TGT GGA TAT ATG T-3' y MT 5'-CAT ACA TGT GGA TAT ATG C-3'. La reacción de PCR, con un volumen final de 25 µl, contenía 2,5 mM de MgCl₂, 0,5 mM de dNtp y 2,5 U de Taq polimerasa. La amplificación tuvo lugar tras 30 ciclos a 95 °C durante 30 s, a 56 °C durante 30 s y a 72 °C durante 1 min. El producto de la PCR fue separado por electroforesis en gel de poliacrilamida al 8% y tratado con bromuro de etidio para poder visualizar los fragmentos de ADN con luz ultravioleta.

Análisis estadístico

El análisis estadístico se llevó a cabo utilizando el paquete estadístico SPSS (Chicago, IL), versión 9.0 para Windows. Las variables cuantitativas se expresan como media ± desviación estándar y las cualitativas, como porcentaje. Para comprobar la normalidad de las variables cuantitativas se realizó el test de Kolmogorov-Smirnov. La frecuencia alélica se estimó mediante el método del recuento de alelos. El test de la χ^2 se usó para comprobar si las frecuencias alélicas observadas estaban de acuerdo con las esperadas según la ley de equilibrio de Hardy-Weinberg. La comparación entre los valores lipídicos antes y después del tratamiento se realizó mediante el test de la t de Student para muestras relacionadas. Para calcular el porcentaje de variación de los lípidos y lipoproteínas se utilizó la media de los cambios porcentuales individuales. El efecto del genotipo sobre la variación de los lípidos y lipoproteínas plasmáticas al tratamiento con pravastatina se llevó a cabo mediante un test de la t de Student para muestras independientes. El ajuste por sexo, edad, índice de masa corporal (IMC) y valores basales de lípidos se realizó mediante un análisis de la covariancia (ANCOVA). En todos los casos se consideró que existían diferencias estadísticamente significativas si la p era menor de 0,05.

Resultados

El 56% de los 290 sujetos participantes en el estudio eran mujeres y la edad media del total de la población fue de 57,3 ± 11,7 años. Sus características generales se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Características generales de la población de estudio

Edad (años)	57,3 ± 11,7
Sexo (% mujeres)	56
IMC (kg/m ²)	27,3 ± 3,6
Perímetro cintura (cm)	90,7 ± 11,1
Tabaquismo (%)	22
Hipertensión (%)	39
Enfermedad vascular* (%)	10

*Incluye cardiopatía isquémica, enfermedad cerebrovascular y/o arteriopatía periférica.

IMC: índice de masa corporal.

Tabla 2. Distribución del polimorfismo T521C del gen del OATP-C y de su frecuencia alélica en la población del estudio

Frecuencia genotipo, n (%)	Frecuencia alélica (%)		
T/T 202 (70)	T	84	
T/C 84 (29)			
C/C 4 (1)	C	16	

Tabla 3. Concentraciones de lípidos y lipoproteínas plasmáticas basales, expresadas en mg/dl (media ± desviación estándar), en el total de la población y separada según el polimorfismo T521C del gen del OATP-C

	Total (n = 290)	T/T (n = 202)	T/C y C/C (n = 88)	p*
Colesterol total	280 ± 41	280 ± 41	282 ± 41	0,652
cLDL	199 ± 39	199 ± 39	201 ± 41	0,570
cHDL	53 ± 14	53 ± 14	52 ± 13	0,487
Triglicéridos	142 ± 68	141 ± 70	145 ± 65	0,665

*Diferencia entre los genotipos mediante el test de la t de Student para muestras independientes.

cLDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; cHDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad.

Tabla 4. Porcentaje de variación en la concentración de lípidos y lipoproteínas después del tratamiento, separados por genotipos del polimorfismo T521C del gen del OATP-C

	T/T (n = 202)	T/C y C/C (n = 88)	p*	p**
Colesterol total	-15 ± 12	-17 ± 11	0,248	0,361
cLDL	-20 ± 16	-21 ± 15	0,406	0,661
cHDL	+4 ± 19	+3 ± 21	0,760	0,328
Triglicéridos	-3 ± 33	-7 ± 33	0,352	0,433

Diferencia entre los genotipos mediante el test de la t de Student:

*para muestras independientes; **mediante análisis de la covariancia (ANCOVA), tras ajustar por edad, sexo, índice de masa corporal y valores basales de lípidos.

cLDL: colesterol ligado a lipoproteínas de baja densidad; cHDL: colesterol ligado a lipoproteínas de alta densidad.

El polimorfismo T217C en el exón 2 del gen del OATP-C no se detectó en ningún sujeto de nuestra población. La distribución del polimorfismo T521C en el exón 5 del gen del OATP-C y su frecuencia alélica aparece representada en la tabla 2. Las frecuencias encontradas para este genotipo estaban en equilibrio de Hardy-Weimberg ($\chi^2 = 2,103$; grados de libertad 1; $p = 0,147$). Dada la baja frecuencia del genotipo C/C de este polimorfismo, en análisis posteriores los sujetos fueron divididos en 2 grupos: portadores o no del alelo C. No se encontraron diferencias significativas en cuanto al sexo, la edad, el IMC, la presencia de enfermedad vascular y el porcentaje de hipertensos o de fumadores entre los 2 grupos.

Los valores basales de lípidos en el total de la población y agrupados según el polimorfismo T521C se muestran en la tabla 3. No hubo diferencias significativas en las concentraciones basales de colesterol total, cLDL, cHDL o triglicéridos entre ellos.

El tratamiento con 20 mg/día de pravastatina durante 16 semanas redujo significativamente los valores de colesterol total ($-15 \pm 12\%$; $p < 0,001$), cLDL ($-20 \pm 16\%$; $p < 0,001$) y triglicéridos ($-4 \pm 33\%$; $p < 0,001$); el aumento de las concentraciones de cHDL no alcanzó significación estadística ($+4 \pm 12\%$; $p = 0,305$). No encontramos diferencias entre los genotipos del polimorfismo T521C en el porcentaje de variación de los lípidos y lipoproteínas con el tratamiento hipolipemiante (tabla 4). Al repetir el análisis ajustando por sexo, edad, IMC y valores basales de lípidos, los resultados se mantuvieron similares.

Discusión

Es bien conocido que diferentes pacientes responden de diferente forma a la misma medicación. Estas variaciones en la respuesta se han relacionado parcialmente con la diversidad genética, aunque factores de origen no genético^{6,9} pueden influir en ella. Se estima que entre el 20 y el 95% de la variabilidad del efecto farmacológico pudiera deberse a la genética²⁷.

Uno de los principales objetivos de la farmacogenómica es la identificación de variantes genéticas que modulen la respuesta terapéutica. Se han identificado más de un millón de SNP al secuenciar el genoma humano²⁸. Los SNP consisten en variaciones en la secuencia de ADN en una única base y están presentes con una frecuencia aproximada de 1 por cada 1.000 pares de bases. Algunos de estos SNP se han asociado con diferencias interindividuales en la respuesta a fármacos, debido a

que afectan a la secuencia de genes que codifican transportadores, receptores o enzimas implicadas en su metabolismo, con lo que alteran su eficacia y pueden modificar su toxicidad^{29,30}. Así, varios polimorfismos de genes implicados en el metabolismo lipoproteínico se han relacionado con variaciones tanto en los valores lipídicos basales^{11,31} como en la respuesta hipolipemiante a fármacos^{5,11,13}.

La acción principal de las estatinas se lleva a cabo en el citoplasma celular, por lo que es necesaria la entrada del fármaco en el interior celular. Mientras que muchos compuestos lipofílicos son captados mediante difusión pasiva, otros requieren de mecanismos activos de transporte. El transportador OATP-C ha sido reconocido como el mecanismo de transporte activo y específico para la internalización de la pravastatina²¹, además de otros compuestos^{20,21}. Recientemente, se han identificado diversos polimorfismos genéticos en el gen del transportador OATP-C, algunos de los cuales se han asociado con alteraciones *in vitro* en su capacidad transportadora^{24,25,32}. Tirona et al²⁴, tras analizar la actividad de 16 variantes del OATP-C en células de hepatocito humanas, describen que los polimorfismos T217C del exón 2, el T521C del exón 5, el T1058C del exón 6, el G1463C del exón 9 y el A1964G del exón 10 se asocian con una reducción significativa en su actividad en comparación con la actividad del transportador considerado original (*wild-type*).

En el presente estudio hemos analizado el efecto de 2 polimorfismos en el gen del OATP-C, el polimorfismo T521C y el polimorfismo T217C, sobre la respuesta de los lípidos y las lipoproteínas plasmáticas al tratamiento con pravastatina. Se seleccionaron aquellos polimorfismos que se habían asociado con una mayor alteración en la función del transportador y que estuvieran presentes en sujetos de ascendencia europea²⁴. A pesar de ello, no encontramos ningún sujeto con el polimorfismo T217C en los 290 sujetos analizados. Tirona et al²⁴ describen, para este polimorfismo, una frecuencia del 2% en sujetos americanos de ascendencia europea y no detectan ninguno entre los sujetos de ascendencia africana.

Por el contrario, la frecuencia del polimorfismo T521C en nuestra población fue del 16%, igual a la encontrada en Japón (16%) y en Estados Unidos para sujetos de ascendencia europea (14%). Teóricamente, los sujetos que presentan este polimorfismo deberían mostrar una menor respuesta al tratamiento, ya que se ha asociado con una menor actividad trasportadora *in vitro*²⁴. A pesar de ello, no hemos encontrado que este polimorfismo tenga ningún efecto sobre la respuesta hipolipemiante.

Nazawa et al²⁵ han descrito recientemente que el transportador OATP-C con el polimorfismo T521C expresado en células embrionarias humanas de riñón no presenta alteración en su actividad transportadora, lo que contrasta con los resultados previamente publicados y justificaría nuestros resultados negativos. Con la distribución de genotipos hallada en nuestra muestra, habríamos necesitado incluir a 60.000 sujetos para que las diferencias encontradas en la respuesta hipolipemiante fueran estadísticamente significativas, con un poder del 80% y para una significación < 0,05.

Los resultados de este estudio muestran que el polimorfismo T521C en el exón 5 del gen del OATP-C parece no influir en la respuesta hipolipemiante al tratamiento con 20 mg diarios de pravastatina, en una población de sujetos hipercolesterolemicos seguidos de forma ambulatoria. Es necesario identificar polimorfismos que claramente influyan en la actividad enzimática para que pueda evaluarse su utilidad como marcador de respuesta clínica.

Agradecimientos

Queremos expresar nuestro agradecimiento a la excelente labor técnica de Luisa Elez.

Grupo del estudio RAP

El grupo de estudio RAP está formado por 195 médicos de atención primaria distribuidos en 17 provincias españolas y coordinados por las siguientes personas: Enric Subirats (Hospital de Puigcerdà, Girona), Antonio Robles (Hospital de Requena, Valencia), Alberto Miján (Hospital General Yagüe, Burgos), José María Pascual Izuel (Hospital de Sagunto, Valencia), Fernando Carrasco Miras (Hospital Comarcal La Inmaculada, Huercal Overa, Almería), Pedro Valdivielso (Hospital Virgen de la Victoria, Málaga), Alfredo Suárez (Hospital Virgen Blanca, León), Clotilde Morales (Hospital de Manresa, Barcelona), Justo Colchero (Hospital Juan Ramón Jiménez, Huelva), Joima Panisello (Hospital de Igualada, Barcelona), Isabel Camps (Hospital Arnau de Vilanova, Lérida), Antonio Espino (Hospital de Osuna, Sevilla), Francisca Montaner (Hospital de Martorell, Barcelona), Manuel Zúñiga (Hospital Marqués de Valdecilla, Santander), José Puzo (Hospital San Jorge, Huesca), Pedro Sáenz de Aranzubia (Hospital de Mérida, Badajoz), Albert de Luis (Hospital de Calella, Barcelona), José Ignacio Ruiz Díaz (Hospital General de Baza, Granada), Jacinto Fernández Pardo (Hospital General, Murcia), Javier Cazo (Hospital García Orcoyen, Estella, Navarra) y Ángel Brea (Hospital de San Pedro, Logroño).

Bibliografía

- The Long-Term Intervention with Pravastatin in Ischaemic Disease (LIPID) Study Group. Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels. *N Engl J Med* 1998; 339:1349-57.
- Sacks FM, Pfeffer MA, Moye LA, Rouleau JL, Rutherford JD, Cole TG, et al. The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators. *N Engl J Med* 1996;335:1001-9.
- Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, Isles CG, Lorimer AR, MacFarlane PW, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333: 1301-7.
- Influence of pravastatin and plasma lipids on clinical events in the West of Scotland Coronary Prevention Study (WOSCOPS). *Circulation* 1998;97:1440-5.
- 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;158:183-93.
- Nakajima K. Sex-related differences in response of plasma lipids to simvastatin: the Saitama Postmenopausal Lipid Intervention Study. S-POLIS Group. *Clin Ther* 1999;21:2047-57.
- Cobb MM, Teitelbaum HS, Breslow JL. Lovastatin efficacy in reducing low-density lipoprotein cholesterol levels on high- versus low-fat diets. *JAMA* 1991;265:997-1001.
- Miserez AR, Rossi FA, Keller U. Prediction of the therapeutic response to simvastatin by pretreatment lipid concentrations in 2.082 subjects. *Eur J Clin Pharmacol* 1994;46:107-14.
- Drmanac S, Heilbron DC, Pullinger CR, Jafari M, Gietzen D, Ukrainczyk T, et al. Elevated baseline triglyceride levels modulate effects of HMGCoA reductase inhibitors on plasma lipoproteins. *J Cardiovasc Pharmacol Ther* 2001;6:47-56.
- Ordovas JM, López-Miranda J, Pérez-Jiménez F, Rodríguez C, Park JS, Cole T, et al. Effect of apolipoprotein E and A-IV phenotypes on the low density lipoprotein response to HMG CoA reductase inhibitor therapy. *Atherosclerosis* 1995;113:157-66.
- Lahoz C, Peña R, Mostaza JM, Jiménez J, Subirats E, Pinto X, et al. Apo A-I promoter polymorphism influences basal HDL-cholesterol and its response to pravastatin therapy. *Atherosclerosis* 2003; 168:289-95.
- Leitersdorf E, Eisenberg S, Eliav O, Friedlander Y, Berkman N, Dann EJ, et al. Genetic determinants of responsiveness to the HMG-CoA reductase inhibitor fluvastatin in patients with molecularly defined heterozygous familial hypercholesterolemia. *Circulation* 1993;87:III35-44.
- Zambon A, Deeb SS, Brown BG, Hokanson JE, Brunzell JD. Common hepatic lipase gene promoter variant determines clinical response to intensive lipid-lowering treatment. *Circulation* 2001;103: 792-8.
- Jukema JW, Van Boven AJ, Groenemeyer B, Zwinderman AH, Reiber JH, Bruschke AV, et al. The Asp9Asn mutation in the lipoprotein lipase gene is associated with increased progression of coronary atherosclerosis. REGRESS. (Regression Growth Evaluation Statin Study). *Circulation* 1996;94: 1913-8.
- Corsini A, Mazzotti M, Fumagalli R, Catapano AL, Romano L, Romano C. Poor response to simvastatin in familial defective apo-B-100 [carta]. *Lancet* 1991;337:305.
- Jeenah M, September W, Graadt van Roggen F, De Villiers W, Seftele H, Marais D. Influence of specific mutations at the LDL-receptor gene locus on the response to simvastatin therapy in Afrikaner patients with heterozygous familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis* 1993;98:51-8.
- Ballantyne CM, Herd JA, Stein EA, Ferlic LL, Dunn JK, Gotto AM, et al. Apolipoprotein E genotypes and response of plasma lipids and progression-regression of coronary atherosclerosis to lipid-lowering drug therapy. *J Am Coll Cardiol* 2000;36: 1572-8.
- Nestruck AC, Bouthillier D, Sing CF, Davignon J. Apolipoprotein E polymorphism and plasma cholesterol response to probucol. *Metabolism* 1987;36:743-7.
- Eto M, Sato T, Watanabe K, Iwashima Y, Makino I. Effects of probucol on plasma lipids and lipoproteins in familial hypercholesterolemic patients with and without apolipoprotein E4. *Atherosclerosis* 1990;84:49-53.

20. Abe T, Kakyo M, Tokui T, Nakagomi R, Nishio T, Nakai D, et al. Identification of a novel gene family encoding human liver-specific organic anion transporter LST-1. *J Biol Chem* 1999;274:17159-63.
21. Hsiang B, Zhu Y, Wang Z, Wu Y, Sasseville V, Yang WP, et al. A novel human hepatic organic anion transporting polypeptide (OATP2). Identification of a liver-specific human organic anion transporting polypeptide and identification of rat and human hydroxymethylglutaryl-CoA reductase inhibitor transporters. *J Biol Chem* 1999;274:37161-8.
22. Nakai D, Nakagomi R, Furuta Y, Tokui T, Abe T, Ikeda T, et al. Human liver-specific organic anion transporter, LST-1, mediates uptake of pravastatin by human hepatocytes. *J Pharmacol Exp Ther* 2001;297:861-7.
23. Jung D, Hagenbuch B, Gresh L, Pontoglio M, Meier PJ, Kullak-Ublick GA. Characterization of the human OATP-C (SLC21A6) gene promoter and regulation of liver-specific OATP genes by hepatocyte nuclear factor 1 alpha. *J Biol Chem* 2001;276:37206-14.
24. Tirona RG, Leake BF, Merino G, Kim RB. Polymorphisms in OATP-C: identification of multiple allelic variants associated with altered transport activity among European- and African-Americans. *J Biol Chem* 2001;276:35669-75.
25. Nozawa T, Nakajima M, Tamai I, Noda K, Nezu J, Sai Y, et al. Genetic polymorphisms of human organic anion transporters OATP-C (SLC21A6) and OATP-B (SLC21A9): allele frequencies in the Japanese population and functional analysis. *J Pharmacol Exp Ther* 2002;302:804-13.
26. 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.
27. Kalow W, Tang BK, Endrenyi L. Hypothesis: comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics* 1998;8:283-9.
28. Sachidanandam R, Weissman D, Schmidt SC, Kakol JM, Stein LD, Marth G, et al. A map of human genome sequence variation containing 1.42 million single nucleotide polymorphisms. *Nature* 2001;409:928-33.
29. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* 1999;286:487-91.
30. Meyer UA, Zanger UM. Molecular mechanisms of genetic polymorphisms of drug metabolism. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1997; 37:269-96.
31. Sing CF, Davignon J. Role of the apolipoprotein E polymorphism in determining normal plasma lipid and lipoprotein variation. *Am J Hum Genet* 1985;37:268-85.
32. Michalski C, Cui Y, Nies AT, Nuessler AK, Neuhaus P, Zanger UM, et al. A naturally occurring mutation in the SLC21A6 gene causing impaired membrane localization of the hepatocyte uptake transporter. *J Biol Chem* 2002;277:43058-63.