



**MÁSTER
UNIVERSITARIO EN
INVESTIGACIÓN
Y MEDICINA
CLÍNICA**



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

TRABAJO FIN DE MÁSTER

Máster Universitario en Investigación en Medicina Clínica

“INFLUENCIA DEL ALELO *2 DEL CITOCROMO CYP2C19

EN LA AGREGABILIDAD PLAQUETAR DE PACIENTES

TRATADOS CON CLOPIDOGREL”

Alumna: GARCÍA SIMÓN, MARÍA SERGIA

Tutora: LUMBRERAS LACARRA, BLANCA

Curso 2015-2016

ÍNDICE:

1.	RESUMEN:	2
2.	ABSTRACT:	3
3.	INTRODUCCIÓN:	4
	3.1. Enfermedad Aterosclerótica	4
	3.2. Activación Plaquetaria	4
	3.3. Clopidogrel	5
	3.3.1. Mecanismo de Acción y Metabolismo	5
	3.3.2. Variabilidad de la respuesta farmacológica al clopidogrel	6
4.	HIPOTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO	9
5.	MATERIAL Y MÉTODOS	10
	5.1. Tipo de Diseño	10
	5.2. Ámbito	12
	5.3. Población de Estudio	12
	5.4. Variables del Estudio	14
	5.5. Sistemática y Recogida de Datos	18
	5.6. Análisis Estadístico	19
	5.7. Dificultades y Limitaciones	19
6.	ASPECTOS ÉTICOS	20
7.	PLAN DE TRABAJO	21
8.	EXPERIENCIA DEL EQUIPO INVESTIGADOR	24
9.	UTILIDAD Y APLICABILIDAD PRÁCTICA	26
10.	MEDIOS DISPONIBLES	27
11.	PRESUPUESTO	28
12.	BIBLIOGRAFÍA	30
13.	ANEXOS	32
	13.1. Anexo 1: Consentimiento Informado	32
	13.2. Anexo 2: Plantilla de Recogida de Datos	34
	13.3. Anexo 3: Plantilla de Seguimiento	35

1. RESUMEN:

Estudios previos han sugerido la influencia del polimorfismo CYP2C19*2 en el metabolismo de los fármacos inhibidores de los receptores P2Y₁₂ plaquetarios. Además, en los últimos años se han desarrollado dispositivos a “pie de cama” que permiten una estimación rápida de la reactividad plaquetar, como el sistema VerifyNow®. En el presente estudio proponemos como objetivo primario evaluar la prevalencia de elevada reactividad plaquetar pese a tratamiento con clopidogrel, definiendo el perfil del paciente pobre respondedor y el impacto del CYP2C19*2 en la pobre respuesta. Los objetivos secundarios son estudiar las implicaciones pronósticas de la elevada reactividad residual y del polimorfismo CYP2C19*2, así como la realización de una comparativa del polimorfismo respecto a variables clínicas.

Para ello desarrollaremos un estudio prospectivo de cohortes en el que reclutaremos pacientes con diagnóstico de síndrome coronario agudo derivados a intervencionismo coronario que se encuentren en tratamiento con clopidogrel. Se evaluará en todos los pacientes la agregabilidad plaquetar mediante el dispositivo VerifyNow®, lo que permitirá su clasificación como pobre o normo respondedores. Se determinará en ambos grupos la presencia del polimorfismo CYP2C19*2 para estimar su relación con la pobre respuesta a clopidogrel. También realizaremos una valoración pronóstica con seguimiento a un año, donde analizaremos la relación del alelo con la aparición de eventos adversos cardiovasculares mayores.

Palabras clave: isquemia miocárdica, plaquetas, genética, agregometría.

2. ABSTRACT:

Previous studies have suggested the influence of polymorphism CYP2C19*2 in the metabolism of inhibitors P2Y12 platelet receptors. Further, there are a few commercially available “bedside” systems to evaluate the response to antiplatelet therapy like VerifyNow®. With this study we propose as primary endpoint to evaluate the prevalence of platelet high reactivity despite clopidogrel treatment, defining the profile of the poor responder patient and the impact of CYP2C19 * 2 in the poor response. Study the prognostic implications of high residual reactivity and polymorphism CYP2C19*2, and performing a comparative polymorphism regarding clinical variables are the secondary endpoints.

We will develop a prospective cohort study in which recruit patients with acute coronary syndrome coronary undergoing cardiac catheterization and under treatment with clopidogrel. We will evaluate platelet aggregability by VerifyNow® device in all patients, allowing their classification as poor or normo responders. The presence of polymorphism CYP2C19*2 will be determined in both groups to estimate their relationship with poor response to clopidogrel. Also we will make a prognostic evaluation with one year follow up, where we will analyze the relationship of polymorphism with the occurrence of major adverse cardiovascular events.

Keywords: ischemic cardiac disease, platelets, genetics, aggregometry.

3. INTRODUCCIÓN:

3.1. Enfermedad Aterosclerótica

La aterosclerosis coronaria es la forma más común de enfermedad cardiovascular con graves manifestaciones clínicas como el infarto de miocardio, angina de pecho o incluso la muerte súbita.

El endotelio sano tiene propiedades antiagregantes y vasodilatadoras que aseguran una circulación fluida de la sangre por el interior de los vasos. Sin embargo, en la enfermedad aterosclerótica se produce un aumento de la permeabilidad del endotelio para lipoproteínas de bajo peso molecular (LDL), que atraviesan el endotelio y se fijan a la capa íntima de la arteria. Este aumento de la permeabilidad se debe a dos factores principales. Por un lado, el efecto directo del flujo vascular, haciendo especialmente susceptibles a la formación de placas de ateroma aquellas zonas vasculares donde hay una mayor turbulencia de flujo, como pueden ser en las bifurcaciones. El segundo factor es el biológico, compuesto por los factores de riesgo cardiovascular ampliamente descritos en la literatura, como el tabaco, dislipemias, diabetes mellitus, hipertensión arterial, etc. La combinación de estos dos factores aumenta, como se ha comentado, la permeabilidad endotelial a moléculas de colesterol-LDL, lo que provoca un engrosamiento de la pared vascular. Cuando la entrada de LDL es excesiva, estas moléculas lipídicas se oxidan, provocando una reacción quimiotáctica de los monocitos circulantes en sangre, que se adhieren a la pared endotelial mediante factores de adhesividad. El monocito comienza en este punto a fagocitar LDL oxidado, transformándose en macrófagos. El exceso de grasa fagocitada en forma de células espumosas provoca la formación de estría grasas en la pared vascular. Conforme el contenido lipídico va aumentando, se produce la apoptosis de los macrófagos cargados de grasa, lo que provoca la llegada de células multinucleadas que fagocitan los macrófagos apoptóticos, formándose la denominada placa vulnerable, con núcleo lipídico compuesto de lípidos y células multinucleadas con restos de macrófagos, todo ello rodeado por una capa fibrosa formada por tejido conectivo.

La ruptura de una placa de ateroma, es decir, fragmentación de la capa fibrosa y exposición del núcleo lipídico al torrente vascular, produce inmediatamente la activación plaquetar, que sufren un cambio conformacional.

3.2. Activación Plaquetaria

Podemos dividir el mecanismo de formación del trombo en diferentes etapas:

En primer lugar se produce la degranulación plaquetaria, con liberación de gránulos densos, gránulos alfa y lisosomales. El ADP contenido en los gránulos densos promueve la agregación plaquetaria al unirse a receptores específicos de la superficie plaquetaria (P2Y1 y P2Y12), pero también se une a receptores de ADP de plaquetas vecinas, provocando su activación. Además, la fosfolipasa A2 inicia la vía de activación del ácido araquidónico, que se convierte en TxA2 en una reacción catalizada por COX-1 (para formar prostaglandina G2/ H2) y tromboxano sintetasa (para formar TxA2)¹. El TxA2 se libera a la circulación, donde se une a los receptores TP de la superficie de plaquetas adyacentes y/o células inflamatorias circulantes y presentes en la placa aterosclerótica, lo que amplifica y perpetúa el proceso aterotrombótico. También se produce la translocación a la superficie de diversas proteínas de adhesión presentes en los gránulos alfa plaquetarios (P-selectina, GPIIb/IIIa, vWF, tromboespondina, fibrinógeno, fibronectina y vitronectina) que amplifican y perpetúan el proceso de adhesión plaquetaria y causan la interacción plaquetaria con células blancas. Por último, se produce un cambio de la membrana plaquetaria que favorece la exposición de componentes fosfolipoproteínicos ricos en fosfatidilserina. Ésta facilita la unión y la activación de los factores de la coagulación y la formación de trombina².

La trombina desempeña un papel central en la formación del coágulo, ya que es el nexo de unión entre la activación plaquetaria y la activación de la coagulación. Además, su acción sobre el fibrinógeno, transformándolo en fibrina, da estabilidad al coágulo.

3.3. Clopidogrel

3.3.1. Mecanismo de Acción y Metabolismo

El clopidogrel, clásico representante de los bloqueadores del ADP, es un profármaco que se transforma en el hígado. El fármaco se absorbe rápidamente tras la administración de dosis orales únicas y repetidas de 75 mg/día y esta absorción del clopidogrel depende fundamentalmente de MDR1 a nivel intestinal. En los estudios farmacocinéticos del fármaco se observó que los niveles picos plasmáticos medios (entre 2,2 y 2,5 ng/ml tras 75 mg de clopidogrel administrados por vía oral en dosis única) aparecieron aproximadamente a los 45 minutos tras la administración. En función de la excreción urinaria de los metabolitos del clopidogrel, se estima que la absorción es de al menos el 50%³. El clopidogrel y su metabolito principal circulante (inactivo) se unen de forma reversible a proteínas plasmáticas humanas (98% y 94% respectivamente).

Alrededor del 85% del fármaco se metaboliza a su forma inactiva (ácido carboxílico) por la carboxilesterasa 1 (CES1) a nivel hepático. El resto se metaboliza a su forma activa por el citocromo P450 hepático en dos tiempos: el primero mediado por los CYP2C19, CYP2B6 y CYP1A2 que transforman el clopidogrel en 2-oxo-clopidogrel, y un segundo paso en el que intervienen los CYP3A4/5, CYP2B6, CYP2C9 y CYP2C19, que convierte el 2-oxo-clopidogrel en su forma activa, la cual es fragmentada por la PON1⁴⁻⁶. El metabolito activo se une rápidamente y de forma irreversible a receptores plaquetarios, inhibiendo entonces la agregación plaquetaria.

Tras una dosis de carga de 300 mg vía oral de clopidogrel se puede conseguir una concentración máxima doble de metabolismo activo que tras cuatro días de dosis de mantenimiento de 75 mg. En este caso, la concentración máxima aparece 30-60 minutos tras la administración.

3.3.2. Variabilidad de la respuesta farmacológica al clopidogrel

La variabilidad en la respuesta a los fármacos antiagregantes y muy en particular a los bloqueadores del receptor plaquetar del adenosín difosfato (ADP) es un tema de gran interés y controversia. Numerosos estudios previos han mostrado de forma concordante que la pobre inhibición o respuesta a clopidogrel —también llamada “elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento (ERPATC)”- condiciona una mayor probabilidad de eventos cardiovasculares adversos en diferentes ámbitos clínicos⁷⁻⁹.

Un largo listado de variantes o polimorfismos de proteínas o enzimas que participan en la absorción, metabolismo hepático y eliminación del clopidogrel puede influir en su efecto final. Se sabe además que el efecto neto de clopidogrel está determinado por un proceso multifactorial donde también influyen factores ambientales¹⁰⁻¹². En la revisión realizada por el grupo de Angiolillo¹¹ dividen en tres grupos diferentes los factores que pueden influir en la acción del metabolismo.

En el primero de ellos, el de los factores genéticos, incluyen genes que participan tanto en el metabolismo como en la absorción del fármaco. Dentro de este grupo se menciona el gen ABCB1, gen que codifica la proteína MDR1 y que participa en absorción intestinal del clopidogrel, y del que se describen dos variables alélicas que condicionan una mayor tasa de eventos cardiovasculares aunque no se ha podido relacionar de forma rotunda con los niveles de agregación plaquetaria. El polimorfismo C3435T es el más estudiado en cuanto a dicho gen. El alelo T es el más frecuente dentro de la población caucásica (55%), siendo portadores el 21%

de los africanos y el 42% de los asiáticos¹³. La mayoría de las publicaciones al respecto no han encontrado una asociación significativa el polimorfismo C3435T y la incidencia de MACE^{14,15}. Con respecto a lo relacionado con la transformación del clopidogrel en su metabolito activo, intervienen diversas isoenzimas del citocromo P450, más concretamente las isoenzimas CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9, CYP1A2, CYP2B6 y CYP2C19. Con respecto al citocromo CYP2C9 los alelos más estudiado son los *2 y *3, no habiendo mostrado la mayoría de ellos una relación significativa con el efecto del clopidogrel¹⁶. Sin embargo, otros autores como Harmsze¹⁸ encontraron una asociación entre la presencia del CYP2C9*3 y el desarrollo de trombosis del stent.

En el caso del CYP3A4, en todos los estudios publicados evaluando la agregación plaquetar no se ha encontrado asociación significativa entre los polimorfismos CYP3A4*1B y *1F y el riesgo de síndrome coronario agudo en pacientes pretratados con clopidogrel que habían tenido un SCA previo¹⁷ ni con el riesgo de trombosis del stent en pacientes revascularizados mediante angioplastia percutánea¹⁸.

Similar ausencia de asociación muestran los estudios entre los polimorfismo del CYP3A5 y eventos clínicos excepto en el estudio de Suh et al¹⁹. en el que observaron que la presencia de del genotipo *3/*3 resultó un predictor independiente de eventos aterotrombóticos.

Aunque sin duda el más estudiado con respecto a su asociación con el efecto del clopidogrel es el CYP2C19. El CYP2C19*1 se considera el alelo salvaje y el portador homocigoto de este alelo tiene una actividad normal del CYP2C19 (gran metabolizador). Aproximadamente el 30-50% de los asiáticos, el 11-16% de los caucásicos y el 14-25% de los afroamericanos tienen al menos uno de los alelos de pérdida de función del CYP2C19, denominados *2, *3, *4, *5, *6, *7 y *8. Por el contrario, el alelo CYP2C19*17 (alelo de ganancia de función) está presente en el 18-27% de los caucásicos y el 0.5-4% de los asiáticos. Aquellos que portan un alelo de pérdida de función se consideran metabolizadores intermedios, los que portan dos alelos son considerados pobre respondedores, y lo que poseen uno o dos alelos de ganancia de función se clasifican como metabolizadores ultrarápidos²⁰.

Finalmente, el gen PON-1 codifica la proteína PON-1, importante en el paso final del metabolismo del clopidogrel al transformarlo en su forma activa. Se han publicado diferentes estudios que relacionan la presencia del genotipo PON-1 QQ192 con un mayor riesgo de eventos adversos como la trombosis del stent²¹.

El segundo grupo descrito por Angiolillo¹¹ entre los factores condicionantes de la variabilidad de respuesta farmacológica del clopidogrel es el de los factores celulares, entre los que los autores destacan un recambio plaquetar acelerado, relacionado con una reducción de la capacidad de respuesta al clopidogrel; y una regulación al alza de las vías de señalización plaquetaria, especialmente con pacientes con diabetes mellitus, que podría influir en un respuesta farmacológica diferente.

El tercer grupo es el formado por los factores clínicos, determinándose como el más importante el cumplimiento terapéutico. Otros factores como la diabetes mellitus, la obesidad y la presencia de un síndrome coronario agudo se han relacionado con una disminución de la respuesta del clopidogrel. Por otro lado, se ha visto que el consumo de cigarrillos puede aumentar la transformación del clopidogrel al inducir la actividad de la isoenzima CYP1A2. También se ha señalado la posible interacción con otros fármacos, sobre todo estatinas, inhibidores de la bomba de protones o calcioantagonistas.



4. HIPOTESIS Y OBJETIVOS DEL ESTUDIO

Ya poco se discute acerca de la necesidad de la doble antiagregación en pacientes que han sido sometidos a revascularización percutánea, quedando sobradamente establecidos los beneficios del uso de clopidogrel en estos pacientes. Sin embargo, con el tiempo y la generalización de su uso, también ha quedado bien asentada la variabilidad de respuesta al fármaco y la aparición de elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel (ERPATC).

Aunque se han planteado diferentes causas que podrían explicar dicha variabilidad, el papel de la influencia genética cobra cada vez más fuerza, especialmente la presencia de algunos alelos relacionados con el metabolismo del clopidogrel.

Finalmente, pocos estudios han integrado la información proveniente de la historia clínica detallada, fácil de obtener, con aquella del estudio genético, compleja y cara.

Por todo esto nos planteamos la realización de este estudio, mediante el cual proponemos la **hipótesis** de que el principal polimorfismo relacionado con el metabolismo del clopidogrel (CYP2C19 *2) puede representar un factor determinante principal en la variabilidad de respuesta al fármaco; así como que la presencia de dicho polimorfismo podría representar un dato útil a la hora de establecer el pronóstico de los pacientes tomadores de clopidogrel.

Los **objetivos** principales de nuestro estudio son:

Objetivo principal

- Cuantificar la incidencia de la elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel en pacientes con cardiopatía isquémica, así como sus características clínicas y demográficas asociadas, incluyendo el papel del polimorfismo de CYP2C19*2.

Objetivos específicos

- Comparar el perfil clínico y demográfico del paciente con elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel, respecto a pacientes sin dicha reactividad.
- Estudiar las implicaciones en el pronóstico de la elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel del polimorfismo de CYP2C19*2.
- Establecer el valor comparativo del polimorfismo de CYP2C19*2 respecto a variables clínicas.

5. MATERIAL Y MÉTODOS

5.1. Tipo de Diseño

Se trata de un estudio analítico, observacional y prospectivo de cohortes en el que pretendemos comparar las características, clínicas y genéticas, de pacientes con elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel (grupo de expuestos) frente a aquellos pacientes con respuesta normal al fármaco.

La selección de pacientes se realizará de manera prospectiva y consecutiva en la sala de hemodinámica del Hospital General Universitario Santa Lucía de Cartagena.

Allí se reclutarán a los pacientes con diagnóstico de SCA tomadores de clopidogrel que cumplan de manera escrupulosa los criterios de inclusión y se confirmará la ausencia de criterios de exclusión.

Una vez incluidos en el estudio, se realizará un test de agregabilidad plaquetar con el sistema VerifyNow®, lo que permitirá clasificar a los pacientes en dos grupos: pobre respondedores (aquellos que presenten elevada reactividad plaquetar) y buenos respondedores (aquellos con un nivel de inhibición plaquetar normal).

A cada miembro de los dos grupos se les determinará la presencia genética del polimorfismo CYP2C19*2, además de recoger diferentes variables clínicas y demográficas, con el fin de estudiar su relación con una elevada reactividad plaquetar.

Finalmente, se realizará un seguimiento de los pacientes con el fin de valorar el poder pronóstico de la estimación de la agregabilidad plaquetar con el sistema VerifyNow® en la aparición del eventos adversos. El periodo de seguimiento será de al menos 12 meses para cada uno de los pacientes incluidos en el estudio, con una duración estimada del mismo de 33 meses.

En la **Figura 1** se representa un esquema resumen de la metodología que se empleará para el desarrollo del estudio.

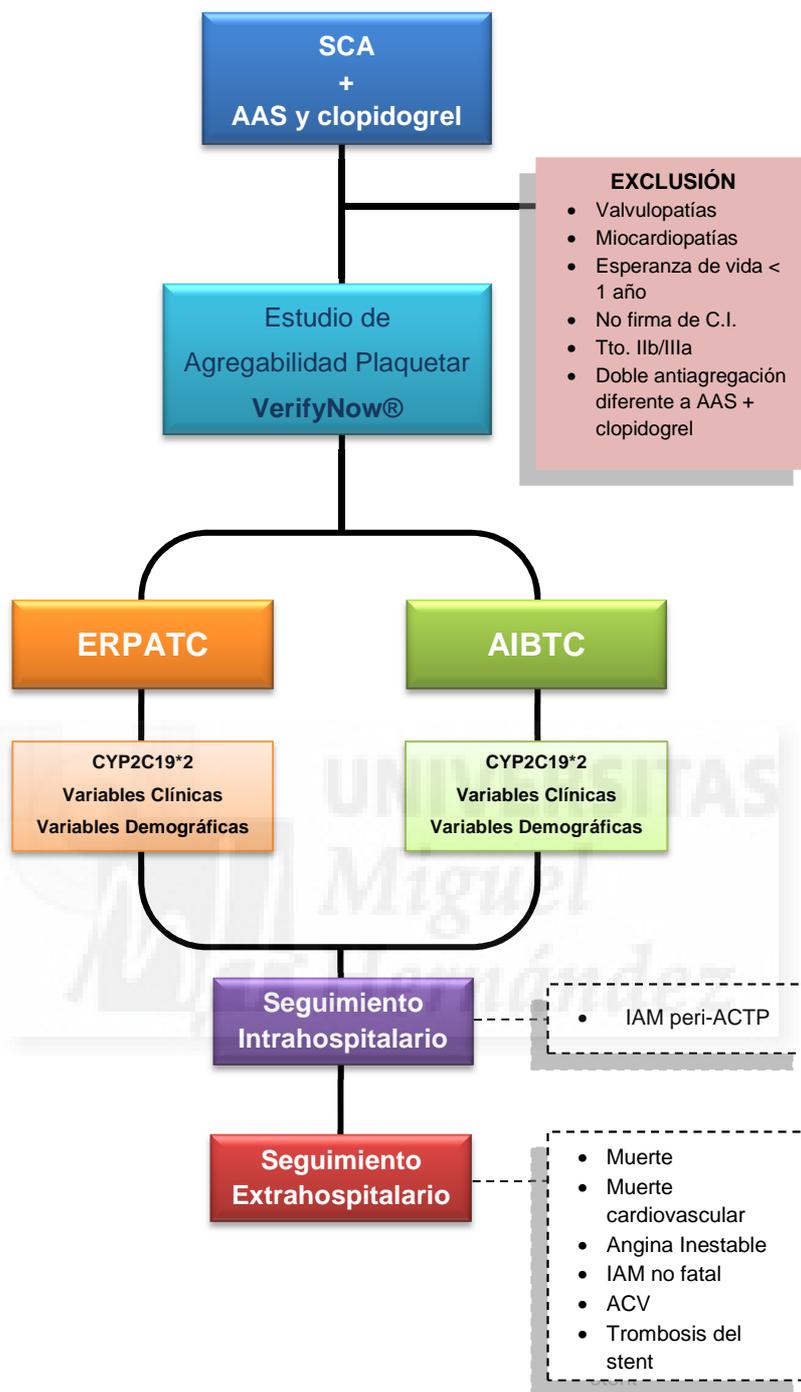


Figura 1. Esquema resumen de la metodología del estudio.

AAS = aspirina. ACV = accidente cerebrovascular. AIPC = adecuada inhibición plaquetar bajo tratamiento con clopidogrel. C.I.= consentimiento informado. ERPATC = elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel. IAM peri-ACTP = infarto periangioplastia. IAM = infarto agudo de miocardio. SCA = síndrome coronario agudo.

5.2. Ámbito

El estudio se llevará a cabo en el Hospital Universitario Santa Lucía situado en la localidad de Cartagena, centro de referencia del área 2 de salud de la Región de Murcia. El centro atiende a una población de 279.000 T.I.S. (tarjetas individuales sanitarias) y dispone de un total de 667 camas.

El reclutamiento de pacientes se llevará a cabo en la Sección de Hemodinámica del hospital, perteneciente al Servicio de Cardiología. La sección dispone de dos salas de hemodinámica, una de ellas de uso exclusivo para cardiología intervencionista, y la segunda compartida entre Hemodinámica (lunes y miércoles) y la Unidad de Arritmias (martes, jueves y viernes). La actividad asistencial se lleva a cabo en horario de mañana de 8 a 15 horas, realizándose tanto los casos programados como las emergencias que surjan en dicho horario. El número de cateterismos medio en el último año es de 5,2 casos/día.

5.3. Población de Estudio

Se incluirán todos los pacientes mayores de 18 años con diagnóstico de síndrome coronario agudo (SCA) que ingresen en nuestro centro para realización de coronariografía, y que se encuentren en tratamiento con clopidogrel a dosis estables.

Se considerará requisito imprescindible para la inclusión en el estudio, la aceptación y firma del consentimiento informado, así como el cumplimiento escrupuloso de los criterios de inclusión y la ausencia de criterios de exclusión que se detallan más adelante.

Se define SCA como: dolor torácico típico y elevación de marcadores de necrosis miocárdica o alteraciones de la onda T/segmento ST sugestivas de isquemia.

Consideraremos “dosis estables” de clopidogrel como: ≥ 6 horas desde la dosis de carga de 300 ó 600mg). En los pacientes en los que no se constate administración de dosis de carga de clopidogrel, se exigirá al menos 72 horas desde la primera dosis.

Criterios de Inclusión

- Tener 18 años o más.
- Remitido para coronariografía por diagnóstico de SCA.
- Tomador de clopidogrel a dosis estables.
- Aceptación y firma del consentimiento informado.

Criterios de Exclusión

- Valvulopatías o miocardiopatías significativas.
- Enfermedad concomitante con una esperanza de vida inferior a 1 año.
- Pacientes tratados con inhibidores de la glicoproteína IIb/IIIa.
- Haber recibido una pauta de doble antiagregación diferente a aspirina y clopidogrel.
- Incapacidad para llevar a cabo el seguimiento por incapacidad física o intelectual.

Determinación del Tamaño Muestral

Realizamos cálculo del tamaño muestral con intención de contrastar la hipótesis nula de que no existe asociación entre la presencia del polimorfismo CYP2C19*2 y un elevada reactividad plaquetar pese a tratamiento con clopidogrel mediante una prueba Chi cuadrado bilateral para dos muestras independientes. Para ello, establecemos un nivel de confianza del 95% y una potencia estadística del 80%.

En la revisión de la literatura encontramos una incidencia global de elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel en pacientes con síndrome coronario agudo revascularizados con stent del 35,5%²². Al diferenciar según la carga genética, encontramos una tasa de elevada reactividad plaquetar del 34% en aquellos pacientes portadores del genotipo salvaje (wild type) y del 49% en los portadores de al menos un alelo de pérdida de función, con una proporción de portadores de al menos un alelo *2 del 28% respecto del total de pacientes²³. Con esto datos estimamos un tamaño muestral total de 456 pacientes, 128 en el brazo de pobre respondedores y 328 pacientes con normal respuesta al clopidogrel. Asumiendo una tasa de abandonos y pérdidas por seguimiento del 10%, el tamaño muestral final del estudio debería ser de 506 pacientes (142 pacientes en el grupo de pobre respuesta y 364 pacientes normo-respondedores).

Según la actividad actual de sala de hemodinámica y el número de ingresos con diagnóstico de síndrome coronario agudo bajo tratamiento con clopidogrel en nuestro centro, estimamos un tiempo máximo de inclusión de pacientes según el cálculo de tamaño muestral previamente descrito de unos 18 meses.

5.4. Variables del Estudio

Variables Resultado

- Evaluación de la reactividad plaquetar: se llevará a cabo mediante el sistema VerifyNow® (Accumetrics, San Diego, USA). El sistema VerifyNow® es un sistema de diagnóstico inmediato que mide la agregación plaquetaria como un incremento de la transmitancia lumínica. El sistema se compone de un dispositivo turbodimétrico de detección óptica, dispositivos de ensayo de uso único y de un sistema de control de calidad. Hay tres tipos de análisis VerifyNow: aspirina, P2Y12 y IIb/IIIa (específicos para abciximab y eptifibatida). Cada dispositivo contiene una preparación liofilizada de perlas recubiertas de fibrinógeno humano y agonistas plaquetarios. El agonista plaquetario varía según el tipo de muestra. Cada análisis se basa en la avidéz de los receptores de la glicoproteína IIb/IIIa de las plaquetas activadas por enlazarse con las perlas recubiertas de fibrinógeno. Cuando las plaquetas activadas se exponen al fibrinógeno, se produce un fenómeno de aglutinación proporcional al número de receptores plaquetarios disponibles. El dispositivo está diseñado para medir esta aglutinación como un incremento en la transmitancia lumínica.

El analizador VerifyNow obtiene los siguientes parámetros para cada paciente (no proporcionada al cardiólogo responsable): (1) "PRU base" (P2Y12 reactivity units): Estimación de la reactividad plaquetar (basal) por agonistas del receptor la trombina; (2) "PRU": Reactividad plaquetar por agonistas del ADP; (3) "Porcentaje de inhibición": $(PRU - PRU_{base}) / PRU_{base} * 100$; y (4) "ARU": reactividad plaquetar por agonistas de la aspirina.

Para la definición del paciente "pobre respondedor" a clopidogrel (**Tabla 1**) emplearemos los puntos de corte especificados por el fabricante y por expertos en documentos de consenso²⁵: $PRU > 235$ U y/o porcentaje de inhibición $< 15\%$. Asimismo será $ARU > 550$ la definición empleada para pobre respuesta a salicilatos, según las especificaciones de los manuales de referencia del fabricante²⁶.

- Mortalidad por cualquier causa: se registrarán todos los fallecimientos de los pacientes del estudio, anotándose la causa en la plantilla de datos.

- Mortalidad por causa cardiovascular: se incluyen muerte por infarto agudo de miocardio, insuficiencia cardíaca o por accidente cerebrovascular que conlleve paro cardíaco.

- Infarto perangioplastia: elevación de marcadores miocárdicos (troponina T o I y/o creatinquinasa banda miocárdica) ≥ 5 veces el límite superior de referencia del laboratorio o

bien cualquier re-elevación sobre los valores previos normales tras el procedimiento²⁷. Por ello se determinará la troponina I y creatinquinasa isoforma MB en tres ocasiones dentro de las primeras 24 horas tras el intervencionismo.

Análisis de la Reactividad Plaquetar mediante el sistema VerifyNow®	
Determinación	Punto de corte para ERPATC/ERPATA
Basal	
PRU base	No Establecido
Inhibidores P2Y12	
PRU	> 235 U
% inhibición	< 15%
Aspirina	
ARU	> 550 U

Tabla 1. Puntos de corte de las determinaciones de VerifyNow®.

ARU= test reactividad mediada por ácido araquidónico; ERPATA= elevada reactividad plaquetar pese a la toma de aspirina; ERPATC= elevada reactividad plaquetar pese a la toma de clopidogrel; PRU= Reactividad a bloqueadores del receptor P2Y12.

- Angina inestable que requiere ingreso: síntomas sugestivos de SCA, sin elevación de biomarcadores de daño miocárdico, con o sin cambios en el electrocardiograma que puedan sugerir isquemia²⁸.
- Trombosis del stent: para su diagnóstico se requerirá confirmación angiográfica de presencia de trombo intravascular.
- Accidente cerebrovascular: se incluirán ictus (todo aquel síndrome clínico de origen vascular, caracterizado por el desarrollo rápido de signos de afección focal o global de las funciones cerebrales que duran más de 24 horas o lleva a la muerte) y accidente isquémico transitorio (episodio de disfunción cerebral focal o monocular de origen vascular que se resuelve de forma completa en 24 horas)²⁹.

Variables de Exposición

- Determinación del polimorfismo genético CYP2C19*2: se obtendrán muestras de sangre periférica del introductor arterial en tubos EDTA, extrayéndose el ADN mediante QIAamp DNA minikit y el extractor automático de ácidos nucleicos QiaCube (Qiagen, Hilden, Germany). El alelo del CYP2C19 *2 (rs4244285) se determinará en todos los pacientes mediante discriminación alélica²⁴ con sondas Drug-Metabolizing

TaqMan y TaqMan GTXpress Master Mix, aportados por Applied Biosystems (CA, USA). Se obtendrán tres posibles resultados: wt/wt (portadores homocigotos del alelo salvaje [*1]), wt/*2 (portadores heterocigotos del alelo *2) o *2/*2 (portadores homocigotos del alelo de pobre respuesta).

- Datos demográficos: se incluirán:
 - Edad: medida en años.
 - Sexo: se clasificará como *hombre o mujer*.
 - Peso: en kilogramos, medido en ropa ligera y sin zapatos. Precisión de 500 gramos.
 - Talla: medida en metros. Precisión de 1 centímetro.
 - Índice de masa corporal (IMC): se calculará según la fórmula $Peso / (Talla)^2$.
- Datos analíticos: serán recogidos en el momento de inclusión del paciente en el estudio. Se empleará la analítica más reciente del paciente, no pudiendo ser el tiempo entre analítica y recogida de datos superior a 8 horas. En caso de que así fuese, se recogerá una muestra para analizar en ese momento, incluyendo la información en la plantilla de recogida de datos una vez que se obtengan los resultados. Se recogerán la siguiente información:
 - Hemograma: hemoglobina (gr/dL), leucocitos (x1000), plaquetas (x1000).
 - Bioquímica: creatinina (mg/dL), colesterol LDL (mg/dL), colesterol HDL (mg/dL), triglicéridos (mg/dL).
- Función sistólica del ventrículo izquierdo: se cuantificará mediante ecocardiografía transtorácica empleando el método Simpson, expresándose mediante porcentaje. Dicha ecocardiografía se realizará durante el ingreso como parte del protocolo habitual del manejo del síndrome coronario agudo. Las ecocardiografías se realizarán con un ecógrafo Philips iE33 con sonda Philips X%-1 XMATRIX. El médico que realice la ecocardiografía no conocerá los resultados de los test de agregabilidad ni genético.
- Datos del procedimiento intervencionista: número de vasos enfermos, número de stent implantados, sumatorio de longitud de stent implantados en cada paciente.
- Factores de riesgo cardiovascular:

- Diagnóstico de hipertensión arterial: según el informe de la Clasificación del Joint National Committee VI y la reciente de la Organización Mundial de la Salud (OMS), se define HTA como cifras de presión arterial sistólica ≥ 140 mmHg y de presión arterial diastólica ≥ 90 mmHg en pacientes que no estén tomando medicación o bien necesidad de al menos 3 fármacos antihipertensivos (indistintamente de buen o mal control de TA con medicación).
 - Diagnóstico de diabetes mellitus: se considerará diabético a todo paciente con antecedentes de diabetes mellitus o que ya estuviera recibiendo tratamiento para ella. Para el diagnóstico de novo se requerirá presentar al menos dos valores consecutivos por encima del valor superior límite. Siguiendo las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud y de la American Diabetes Association, se utilizarán valores de HbA1c $\geq 6.5\%$, y glucosa en ayunas ≥ 126 mg/dL o glucemia tras dos horas en ayunas ≥ 200 mg/dL³⁰.
 - Diagnóstico de dislipemia: valores de colesterol total ≥ 200 mg/dl y/o Triglicéridos ≥ 150 mg/dl, o bien a cualquier paciente con antecedente de elevación del colesterol de las lipoproteínas de baja densidad (cLDL) (> 160 mg/dl) o ya estuvieran recibiendo tratamiento con dieta o hipolipemiantes³¹.
 - Hábito tabáquico: consumo de al menos un cigarrillo al mes.
 - Antecedente de EPOC: precisará de diagnóstico previo espirométrico con índice de Tiffeneau < 0.7 o datos clínicos de bronquitis y tratamiento con broncodilatadores.
 - Insuficiencia renal: antecedente de microalbuminuria (20-299 mg/24 h), proteinuria (≥ 300 mg/24 h) o creatinina sérica elevada ($> 1,2$ mg/dl en mujeres y $> 1,3$ mg/dl en varones) o bien valores de filtrado glomerular calculado según la técnica MDR estudio Modification of Diet in Renal Disease, por debajo de 60 mL/min³².
- Tratamiento al ingreso y al alta: se incluirán betabloqueantes, inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA), antagonistas del receptor de la angiotensina 2 (ARA-2), hipolipemiantes, protectores gástricos (inhibidores de la bomba de protones, antihistamínicos H2), calcioantagonistas. De cada uno de ellos se registrará tipo y dosis.

En el caso de los fármacos que el paciente tomaba en el momento de inclusión puede determinar la severidad de la enfermedad coronaria, y por ende, su pronóstico. Con respecto al tratamiento al alta, puede condicionar la aparición de eventos adversos en el seguimiento.

5.5. Sistemática y Recogida de Datos

Los datos de filiación se recogerán únicamente con fines de investigación y se respetará el anonimato de todos los pacientes. Incluirán: nombre, apellidos, número de historia clínica, número de identificación autonómico y/o de la seguridad social, número de teléfono.

Una vez el paciente sea apto para participar en el estudio, se le informará de manera verbal de las características del estudio, el uso que podrá hacer de la información obtenida y de los riesgos potenciales. También se le entregará una copia del consentimiento informado (**Anexo 1**), que el paciente deberá firmar en caso de querer participar. Si es así, el paciente quedará incluido en el estudio y se procederá a la recogida de datos en una plantilla estandarizada (**Anexo 2**) donde además de los datos de filiación y contacto, se recogerá información clínica y analítica, junto con datos del procedimiento, tratamiento médico al ingreso y al alta, y resultados de la prueba de agregabilidad y estudio genético.

Tras iniciar el procedimiento intervencionista, se obtendrán del introductor arterial dos muestras de sangre. Una de ellas será enviada al laboratorio del centro, donde se determinará la presencia del polimorfismo *2 del citocromo CYP2C19. La segunda muestra se empleará para la medición en la misma sala de hemodinámica de la reactividad plaquetar mediante el sistema VerifyNow® (Accumetrics, San Diego, USA).

El seguimiento se realizará a los 3, 6 y 12 meses de la inclusión en el estudio a través visitas concertadas en consulta mediante llamada telefónica. En los casos en los que no sea posible el desplazamiento del paciente, el seguimiento se realizará vía telefónica. Aquellos pacientes con los que no sea posible contactar, se realizará revisión de historia clínica a través del depósito informático del hospital. En el seguimiento se registrarán los siguientes eventos (se describen con más detalle en el siguiente apartado): infarto periangioplastia, muerte por cualquier causa, muerte de origen cardiovascular, angina inestable que requiera ingreso, trombosis del stent, accidente cerebrovascular.

Los datos de seguimiento serán introducidos en la plantilla estandarizada de seguimiento (**Anexo 3**), incluyéndose la fecha del evento que se pasarán a formato electrónico en una base de datos creada en el programa SPSS® (IBM, USA).

5.6. Análisis Estadístico

Para el análisis estadístico emplearemos el programa Statistical Package for the Social Science® (SPSS) v20.0 (IBM, USA) y EPIDAT v3.1.

Las variables continuas se presentarán como media y desviación típica, o mediana y rango intercuartílico según lo apropiado. Las variables categóricas se presentarán como porcentaje. El análisis univariado se realizará mediante test T de Student o Mann-Whitney. Para variables categóricas se empleará el test Chi-cuadrado. Se realizará un modelo de regresión logística binaria para identificar a aquellas variables predictoras de “pobre respuesta a clopidogrel” (PRU>235). Se considerarán covariables aquellas que hubieran demostrado asociación en el univariado ($p < 0.05$) o en estudios previos. Se presentará el riesgo relativo (RR) y su intervalo de confianza (IC) al 95%.

Para el análisis de supervivencia emplearemos el método de Kaplan-Meier. El modelo de regresión de Cox (método introducir) se utilizará para estudiar los predictores de eventos adversos y evaluar la asociación ajustada entre el polimorfismo y un desenlace adverso. Se calculará el hazard ratio (HR) no ajustado considerando la presencia del polimorfismo como variable independiente y como confusora aquella variable/s que condicionen una variación del $HR \geq 20\%$ respecto de la estimación univariada³³. La/s variables que cumplan este criterio se irán incorporando al modelo.

5.7. Dificultades y Limitaciones

Dado que se trata de un estudio analítico, observacional y prospectivo, las principales limitaciones serán las propias de este tipo de estudios: por un lado, un mayor coste, acompañado de un mayor tiempo y dificultad para el reclutamiento de los pacientes. Este tipo de estudios también supone un mayor riesgo de pérdida de seguimientos.

Aunque el protocolo describe un seguimiento presencial en consulta, también se contempla la posibilidad de seguimiento vía telefónica o mediante revisión de historia clínica (electrónica o en papel) lo que puede suponer un sesgo de información.

Aunque se harán revisiones sistemáticas de las diferentes técnicas empleadas en la estimación de la agregabilidad plaquetar y la determinación genética con el fin de minimizar los posibles errores de medición, no dispondremos de la agregometría de transferencia óptica, considerada el patrón oro.

6. ASPECTOS ÉTICOS

En primer lugar se realizará una entrevista previa con el investigador o un miembro del equipo de investigación donde se explique al paciente de manera comprensible y adaptada a su condición sociocultural, los objetivos del ensayo, así como las condiciones en las que se llevará a cabo, y después de haber sido informado de su derecho a retirarse del ensayo en cualquier momento sin que ello le ocasione perjuicio alguno. Tras ello, se le entregará el consentimiento informado (**Anexo 1**), que deberá firmar. En todo momento la información se tratará siguiendo los principios de la declaración de Helsinki (Edinburgh, 2000), y el estudio se realizará siempre cumpliendo la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica, tras su aprobación por el comité ético hospitalario (Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena).

El estudio se realizará según las recomendaciones de la OMS y de la Ley 16/2003 de 28 de mayo de Cohesión y Calidad del Sistema Nacional de Salud. De igual modo, se establecen las condiciones precisas que garanticen el cumplimiento de la Ley Orgánica de 15/1999 de 13 de diciembre que hace referencia a la Protección de datos de carácter personales, y que establece que los datos de carácter personal objeto de tratamiento no se podrán usar con finalidad incompatible con aquellas para las que los hubieran sido recogidos. Los datos serán cancelados y eliminados cuando hayan dejado de ser necesarios o pertinentes para la finalidad para la cual hubieran sido recabados y/o registrados. Estos datos no serán conservados y se evitará la recogida de datos por medios fraudulentos, desleales o ilícitos. Además, todos los participantes en el estudio están obligados a mantener la confidencialidad sobre la información a la que se tiene acceso por su parte mediante el transcurso de este estudio.

7. PLAN DE TRABAJO

1) Inicio del proyecto: Septiembre de 2016.

Hasta dicha fecha se procederá a la conclusión del protocolo y documentación del estudio. También se cumplirán los trámites pertinentes con el Comité Ético de Investigación Clínica de nuestro centro para la aceptación del estudio. Una vez aceptado el proyecto, se procederá a la solicitud de subvenciones y ayudas en forma de becas y aportaciones privadas. Esta primera etapa “pre-estudio” será llevada a cabo por la **investigadora principal**, Dña. María Sergia García Simón, que se encargará de dirigir la investigación, la elaboración de criterios y protocolos del proyecto, así como de realizar la búsqueda de financiación y de los trámites legales necesarios para el desarrollo del estudio. Supervisará además el adecuado manejo de la información y dará el visto bueno a la redacción del consentimiento informado y la plantilla de recogida de datos que se emplearán durante el estudio, que serán elaborados por el **especialista becado**.

2) Meses 1º a 18º (duración aproximada): inclusión de pacientes hasta completar el número de pacientes determinado según cálculo de tamaño muestral. Durante este periodo se realizará también la inclusión de los datos en la base de datos.

Como se ha mencionado previamente, la inclusión del paciente se llevará a cabo en la sala de hemodinámica. Allí se informará al paciente y se procederá a la firma del consentimiento informado. Esto será requisito indispensable para proceder a la recolección de datos.

En ese momento se tomarán los datos de filiación y demográficos, junto con los datos analíticos de que se dispongan. Los datos referentes al intervencionismo se recogerán al finalizar el mismo o posteriormente, revisando informe clínico, en un plazo no superior a 7 días.

Los datos recogidos de cada paciente serán pasados a soporte informático (programa SPSS®) en un plazo máximo de 7 días desde la inclusión del paciente en el estudio. Se recomendará asignar un día fijo de la semana para dicha tarea, aunque se dejará a criterio de la persona encargada.

En esta segunda fase, serán los **investigadores clínicos** (Dres. XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX, XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX y XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX) los encargados de la inclusión de los pacientes en el estudio, informándoles del protocolo y posibles riesgos, y entregarles

el consentimiento informado, que recogerán firmado y archivarán según se determine. Realizarán también la recogida de muestras de sangre, realizando el análisis de agregabilidad y enviando la muestra correspondiente al laboratorio para la determinación genética. Tendrán el apoyo de un **especialista becado** que completará los datos que puedan faltar en la plantilla de recogida de datos y será el encargado de pasar los datos a soporte informático en el programa SPSS®.

- 3) Meses 19º a 30º (variable, según duración de fase previa): es la fase de seguimiento. Se programarán las citas de revisión para cada uno de los pacientes a los 3, 6 y 12 meses tras la inclusión en el estudio.

En el caso de las revisiones presenciales, realizadas por los **investigadores clínicos**, se deberán llevar a cabo por la misma persona que reclutó al paciente al inicio, pudiendo ser sustituido en caso de necesidad por otro investigador clínico. La entrevista se hará en una consulta acondicionada para ello, donde se llevará a cabo una anamnesis dirigida con la que se completará la plantilla de seguimiento. La cita para la consulta se le dará, bien en una consulta previa, bien vía telefónica con al menos 15 días de antelación. Se permitirá un margen de +/- 7 días con respecto a la fecha teórica de revisión, con el fin de facilitar al paciente el acudir a la cita.

Los seguimientos por vía telefónica o mediante revisión de historia clínica, llevadas a cabo por el **especialista becado**, se limitarán exclusivamente a los casos en los que no es posible concertar una cita con el paciente, ya sea por no poder contactar con él, o bien, por imposibilidad para desplazamiento o disponibilidad de fechas por parte del paciente. Aquellos datos obtenidos de la historia clínica deberán confirmarse siempre que sea posible mediante contacto telefónico. Al igual que en el caso presencial, los datos obtenidos se incorporarán a la plantilla de seguimiento (anexo 3).

- 4) Meses 31º a 33º: análisis de datos y obtención de resultados.

La **investigadora principal** llevará a cabo el análisis estadístico de los datos para obtención de resultados, que se emplearán por los **investigadores clínicos** en la elaboración de uno o varios manuscritos, que previa supervisión por la **investigadora principal**, se presentarán a los congresos, revistas y/o reuniones científicas oportunas, con el fin de difundir los hallazgos, ya sea en forma de artículos, cartas al director, comunicaciones orales o pósteres.

En la Figura 2 se resume el plan de trabajo y distribución de tareas del estudio.

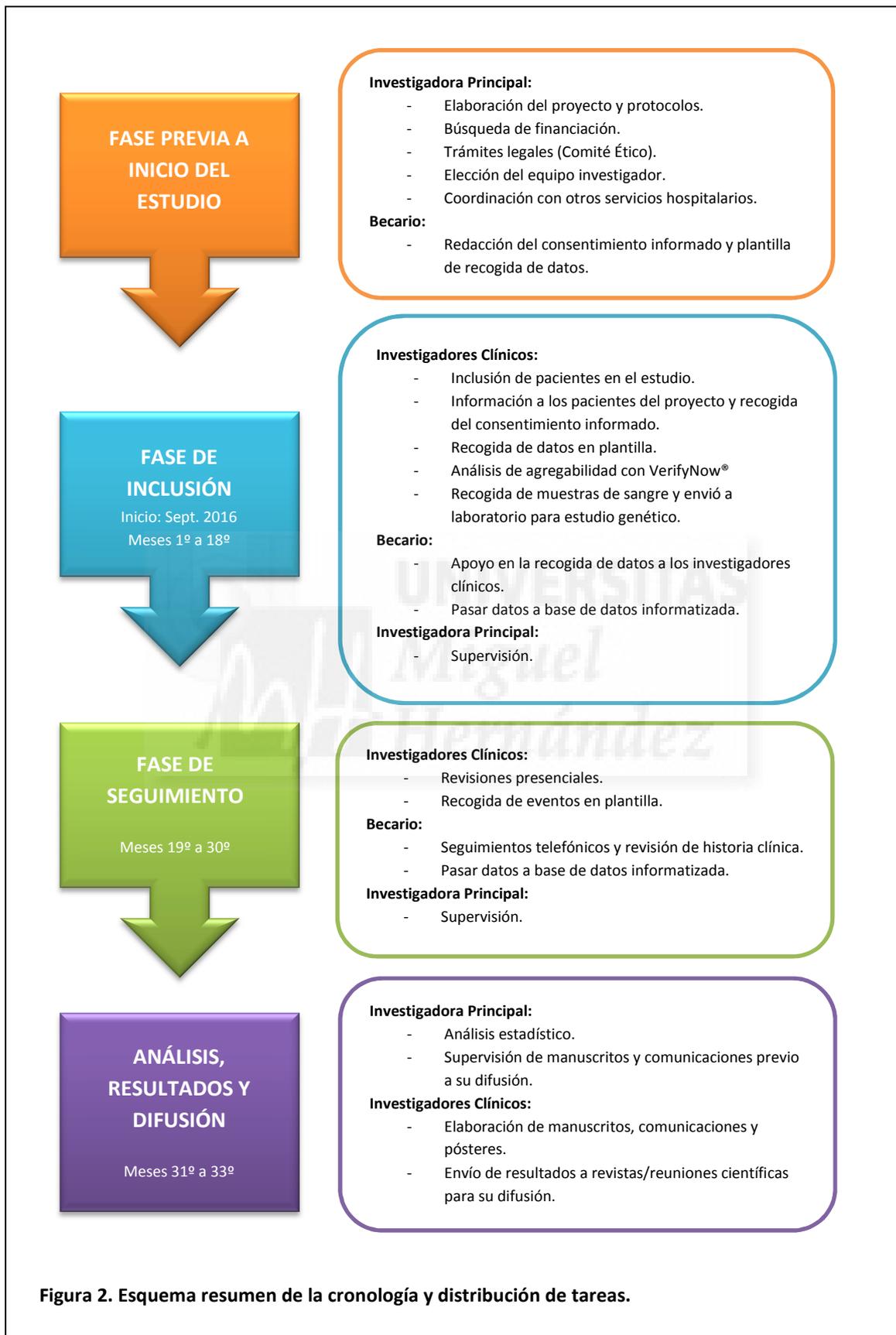


Figura 2. Esquema resumen de la cronología y distribución de tareas.

8. EXPERIENCIA DEL EQUIPO INVESTIGADOR

Investigadora Principal:

Dña. María Sergia García Simón.

- Licenciada en Farmacia por la Universidad de Granada.
- Especialidad de Farmacia Hospitalaria realizada en el Hospital Universitarios Santa María del Rosell de Cartagena.
- Máster Oficial en Atención Farmacéutica EUROPHARMNES. Universidad de Granada.
- Máster en Farmacia Clínica y Asistencial en el entorno Pharmaceutical Care. Universidad de Valencia.
- 3 años de beca de investigación por la Fundación F.I.S. en el campo de Farmacocinética y Farmacogenética Clínica.
- Ayuda personal concedida por la Función F.I.S. para el desarrollo del proyecto de investigación "Estudio farmacogenético de enfermedades reumáticas".
- Publicaciones nacionales e internacionales especialmente en el campo de monitorización farmacológica, así como numerosos pósteres y comunicaciones a reuniones científicas especializadas.

Investigadores Clínicos:

Dr. XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

- Licenciado en Medicina por la Universidad Complutense de Madrid.
- Especialidad de Cardiología realizada en el Hospital Universitario Santa María del Rosell/Santa Lucía de Cartagena.
- Especialista en Hemodinámica y Cardiología Intervencionista, acreditado por la Sección de Hemodinámica de la Sociedad Española de Cardiología.
- Doctorado en Ciencias Clínicas en Medicina. Universidad de Murcia.
- Máster universitario de Metodología en Investigación Clínica. Universidad de Barcelona.
- Máster universitario de Avances en Cardiología. Universidad Católica de Murcia.
- Beca de la Fundación F.I.S. para el proyecto de investigación "Análisis de la respuesta al tratamiento farmacológico en cardiopatía isquémica".
- Publicaciones nacionales e internacionales en el campo de cardiopatía isquémica, así como numerosos pósteres y comunicaciones a reuniones científicas especializadas.

Dña. XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

- Licenciada en Farmacia por la Universidad de Murcia.
- Actualmente Farmacéutica Interna Residente en el Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena.
- Curso de Monitorización de Fármacos en la Práctica Clínica. Universidad de Salamanca.
- Curso de Farmacia Clínica Joaquín Bonal. Hospital de la Santa Creu i Sant Pau en Barcelona.
- Publicaciones nacionales en el campo de farmacología clínica, así como pósteres y comunicaciones a reuniones científicas especializadas.

D. XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

- Licenciado en Medicina por la Universidad de Murcia.
- Actualmente Médico Interno Residente en la especialidad de Cardiología en el Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena.
- Máster Oficial de Investigación en Medicina Clínica. Universidad Miguel Hernández.
- Curso de Manejo Farmacológico en Cardiopatía Isquémica. Hospital La Paz de Madrid.
- Curso de Fisiopatología Cardiovascular: del Síntoma a los Genes. Centro Nacional de Investigaciones Cardiovasculares de Madrid.
- Jornadas de Anticoagulación y Antiagregación. Hospital Universitario Virgen de la Arrixaca (Murcia), organizado por la Sociedad Murciana de Cardiología.
- Publicaciones nacionales en el campo de cardiología clínica, así como pósteres y comunicaciones a reuniones científicas especializadas.

Becario:

En proceso de selección.

Se le requerirán los siguientes conocimientos mínimos:

- Licenciatura o Grado de Farmacia por una Universidad reconocida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte. En caso de que la titulación se haya obtenida en un centro fuera de España, se requerirá convalidación del título de manera oficial por el citado ministerio.
- Se considerará valor añadido haber finalizado la especialización mediante el sistema de Farmacéutico Interno Residente.
- Conocimientos en el campo de la farmacogenética y monitorización de fármacos acreditados mediante la presentación de títulos de cursos impartidos en el ámbito universitario u hospitalario. Los cursos de carácter privado no se considerarán en el proceso de selección.
- Se valorarán las publicaciones y comunicaciones realizadas sobre farmacogenética y farmacología clínica en el campo de la cardiología.
- Al menos nivel medio de inglés, escrito y hablado. Se considerará un valor añadido la titulación por una escuela oficial de idiomas.

9. UTILIDAD Y APLICABILIDAD PRÁCTICA

El conocimiento de la prevalencia de elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel en pacientes con síndrome coronario agudo en nuestro medio nos puede dar una idea de la magnitud de posibles eventos adversos en pacientes con una patología tan frecuente como es la cardiopatía isquémica.

Mediante el presente estudio se podrían determinar factores clínicos, demográficos y genéticos relacionados con una falta de respuesta a tratamiento antiagregante, y por ende, una peor evolución en pacientes con elevada reactividad plaquetar.

El reconocimiento de estos factores nos podría ayudar a prever eventos de mal pronóstico, permitiendo un ajuste terapéutico y una monitorización y seguimiento de pacientes con mayor riesgo.

Si se confirma la relación entre la presencia del alelo *2 del CYP2C19 y/o factores clínicos con una pobre respuesta a clopidogrel, su determinación permitiría el reconocimiento precoz de pacientes de alto riesgo, a los que se les podría realizar ajuste de tratamiento monitorizado mediante sistemas de medida de agregabilidad plaquetar como el VerifyNow®.

Desde un punto de vista clínico, ello permitiría una mejoría del pronóstico de los pacientes con síndrome coronario agudo, que recibirían un tratamiento individualizado en base a sus características personales.

Desde un punto de vista económico, podría suponer un importante ahorro al evitar tasa de reingresos, tasa de UCI como de planta de hospitalización, y necesidad de nuevos procesos intervencionistas, con el alto coste que ellos tienen.

10. MEDIOS DISPONIBLES

Para la realización del proyecto disponemos de los siguientes medios:

- Personal médico y de enfermería, que colaborarán de manera altruista en el desarrollo del estudio.
- Consultas con todo el material necesario para una correcta exploración y anamnesis.
- 3 despachos acondicionados donde investigadores y becario podrán llevar a cabo sus labores de investigación.
- 3 ordenadores personales para uso exclusivo de este proyecto. En ellos se incluyen los programas informáticos, con sus correspondientes licencias, para el correcto tratamiento de los datos. El acceso a estos ordenadores está limitado por una contraseña que impida el acceso a cualquier persona ajena al proyecto.
- Servicio de Farmacia Hospitalaria donde, aparte de sus labores habituales de suministro, elaboración, monitorización y distribución de fármacos, se encontrarán las consultas, despachos y ordenadores citados previamente. Se considerará lugar de referencia del estudio, empleándose como destino en caso de necesitar recepcionar cualquier tipo de material o documento intra o extrahospitalario.
- Línea telefónica con comunicación exterior para contacto con los pacientes si es preciso.
- Sala de hemodinámica, donde se reclutarán los pacientes.
- Sistema de medida de agregabilidad plaquetar VerifyNow®.
- Laboratorio de análisis clínicos y microbiología para el análisis de muestras.
- Archivo de historias clínicas físicas y sistema de informático de historia clínica electrónica.
- Servicio de Urgencias y Unidad de Cuidados Intensivos en el centro para posibles complicaciones de los pacientes.

11. PRESUPUESTO

- Gasto de Personal:

- Becario: 10.000 euros (gasto fijo*).

Debido a que los investigadores clínicos deben continuar su labor asistencial habitual, y teniendo en cuenta la carga asistencial que soporta nuestro centro, consideramos recomendable la contratación de un becario que ayude en el desarrollo del proyecto, permitiendo una adecuada compaginación de la labor asistencial e investigadora.

- Gastos Materiales:

- Material fungible VerifyNow®: 6.000 euros (gasto fijo*).
- Sondas para determinación genética: 6.000 euros (gasto fijo*).

En el caso del sistema VerifyNow®, el análisis requiere unos dispositivos de ensayo de uso único. Aunque la adquisición del dispositivo incluye varios kits de muestra gratuitos, será necesaria la compra de aproximadamente 300 dispositivos de ensayo para recoger todas las muestras necesarias.

De igual manera, para determinación genética será necesaria la adquisición de sondas para el sistema de PCR.

- Gastos de Publicación:

- Impresión y envío: 500 euros (gasto variable[‡]).

Gastos destinados a impresión de plantillas de recogidas de datos y copias del consentimiento informado. También se incluyen los gastos derivados de impresión de pósteres y envío de los resultados a revistas y congresos científicos para su divulgación.

- Gastos de Congresos:

- Inscripción y viajes: 1000 euros (gasto variable[‡]).

Se incluyen los gastos correspondientes a la inscripción de congresos y/o reuniones científicas donde sean aceptadas las comunicaciones o pósteres de nuestro estudio, así como los gastos de desplazamiento a dichos eventos. En este concepto no se incluyen los gastos de alojamiento ni dietas, para los que se buscará subvención ajena al estudio o serán abonados por el servicio.

- Becas de investigación:

- o Subvencionada por la fundación XXXXXXXXXXXX: -12.000 euros (ingreso).

Se presentó el proyecto a la fundación para optar a las becas que oferta de forma pública. Previamente estudiamos en detalles los requisitos formulados por la fundación para ajustar el desarrollo del proyecto a dichos imperativos. Actualmente el estudio ha sido incluido dentro de la lista de aceptados para beca, pendiente de aceptación definitiva una vez finalizado el tiempo de reclamaciones.

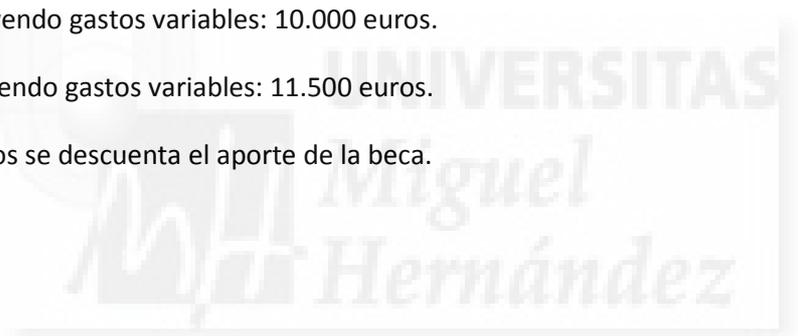
(*) Gasto fijo: se trata de gastos necesarios para el adecuado desarrollo del proyecto de investigación.

(†) Gasto variable: dependerán del grado de difusión que adquieran los resultados del estudio. La cifra mostrada es el máximo de gasto permitido en cada concepto, pudiendo ser menor o nulo.

Total de gastos:

- Excluyendo gastos variables: 10.000 euros.
- Incluyendo gastos variables: 11.500 euros.

En ambos casos se descuenta el aporte de la beca.



12. BIBLIOGRAFÍA

1. Badimon L, Vilahur G. Mecanismos de acción de los diferentes agentes antiplaquetarios. *Rev Esp Cardiol Supl.* 2013;13:8-15.
2. Xiao Z TP. Clopidogrel inhibits platelet-leukocyte interactions and thrombin receptor agonist peptide-induced platelet activation in patients with an acute coronary syndrome. *J Am Coll Cardiol.* 2004;43:1982-8.
3. Ficha técnica de Plavix® (Clopidogrel) publicada por la Agencia Española del Medicamento. http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000174/WC500042189.pdf.
4. Camilleri E, Jacquin L, Paganelli F, et al. Personalized antiplatelet therapy: review of the latest clinical evidence. *Curr Cardiol Rep.* 2011;13:296-302.
5. Cavallari LH, Jeong H, Bress A. Role of cytochrome P450 genotype in the steps toward personalized drug therapy. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2011;4:123-36.
6. Donohue MM, Tirschwell DL. Implications of pharmacogenetic testing for patients taking warfarin or clopidogrel. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2011;11:52-60.
7. Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, et al. Adjusted clopidogrel loading doses according to vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation index decrease rate of major adverse cardiovascular events in patients with clopidogrel resistance. *J Am Coll Cardiol.* 2008;51:1404-11.
8. Sibbing D, Braun S, Morath T, et al. Platelet reactivity after clopidogrel treatment assessed with point-of-care analysis and early drug-eluting stent thrombosis. *J Am Coll Cardiol.* 2009;53:849-56.
9. Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA.* 2010;303:754-62.
10. Ferreiro JL, Angiolillo DJ. Clopidogrel response variability: current status and future directions. *Thromb Haemost.* 2009;102:7-14.
11. Angiolillo DJ, Ferreiro JL. Inhibición del receptor plaquetario P2Y12 de adenosina difosfato plaquetario: efectos beneficiosos y limitaciones de las estrategias terapéuticas actuales y perspectivas futuras. *Rev Esp Cardiol.* 2010;63:60-76.
12. Angiolillo DJ. Variability in responsiveness to oral antiplatelet therapy. *Am J Cardiol.* 2009;103:27-34.
13. Close SL. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of thienopyridines: clinically relevant? *Fundam Clin Pharmacol.* 2012;26:19-26.
14. Su J, Xu J, Li X et al. ABCB1 C3435T polymorphism and response to clopidogrel treatment in coronary artery disease patients: a meta-analysis. *PLoS ONE.* 2012;7: e46366.
15. Luo M, Li J, Xu X, et al. ABCB1 C3435T polymorphism and risk of adverse clinical events in clopidogrel treated patients: a meta-analysis. *Thromb Res.* 2012;129:754-9.
16. Mega JL, Close SL, Wiviott SD, et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med.* 2009;360:354-62.

17. Brackbill ML, Kidd RS, Abdoo AD, Warner JG, et al. Frequency of CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19 variant alleles in patients receiving clopidogrel that experience repeat acute coronary syndrome. *Heart Vessels*. 2009;24:73-8.
18. Harmsze AM, van Werkim JW, ten Berg JM et al. CYP2C19*2 and CYP2C9*3 alleles are associated with stent thrombosis: a case-control study. *Eur Heart J*. 2010;31:3046-53.
19. Suh JW, Koo BK, Zhang SY et al. Increased risk of atherothrombotic events associated with cytochrome P450 3A5 polymorphism in patients taking clopidogrel. *CMAJ*. 2006;174:1715-22.
20. Ned RM. Genetic testing for CYP450 polymorphisms to predict response to clopidogrel: current evidence and test availability. *PloS Curr*. 2010; 2(pii),RRN1180.
21. Bouman HJ, Schömig E, van Werkum JW, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat Med*. 2011;17:110-6.
22. Collet JP, Cuisset T, Rangé G, et al. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med*. 2012;367:2100-9.
23. Bouman HJ, Harmsze AM, van Werkum JW, et al. Variability in on-treatment platelet reactivity explained by CYP2C19*2 genotype is modest in clopidogrel pretreated patients undergoing coronary stenting. *Heart*. 2011;97:1239-44.
24. The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. <http://www.cypalleles.ki.se/>.
25. Bonello L, Tantry US, Marcucci R, et al. Consensus and future directions on the definition of high on-treatment platelet reactivity to adenosine diphosphate. *J Am Coll Cardiol*. 2010;56; 919-33.
26. VerifyNow® System (User Manual). Accumetrics. San Diego, CA, 2013.
27. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Documento de consenso de expertos. Tercera definición universal de infarto de miocardio. *Rev Esp Cardiol*. 2013;66:132.e1-e15.
28. Reeder GS, Kennedy HL. Criteria for the diagnosis of acute myocardial infarction. Published in: <http://www.uptodate.com/contents/criteria-for-the-diagnosis-of-acute-myocardial-infarction?topicKey=CARD%2F52&elapsedTimeMs=0&source=seelink&view=print&displayedView=full>.
29. Longo DL, Dennis K, Kasper J, et al. Harrison - Principios de Medicina Interna. 18 ed. McGraw-Hill Interamericana Editores. Méjico. 2012.
30. Ryde'n L, Grant PJ, Anker SD, et al. ESC Guidelines on diabetes, pre-diabetes, and cardiovascular diseases. *Eur Heart J* 2013; 3035-87.
31. Grundy SM, Becker D, Clark LT, et al. 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;106:3143-421.
32. Mancia G, Fagard R, Narkiewicz K, et al. 2013 ESH/ESC Guidelines for the management of arterial hypertension. *Blood Press*. 2014;23:3-16.
33. Maldonado G, Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. *Am J Epidemiol*. 1993;138:923-36.

13. ANEXOS

13.1. Anexo 1: Consentimiento Informado

CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA EL PROYECTO:

INFLUENCIA DEL ALELO *2 DEL CITOCROMO CYP2C19 EN LA AGREGABILIDAD PLAQUETAR DE PACIENTES TRATADOS CON CLOPIDOGREL

El presente documento tiene como objetivo informarle del proyecto de investigación que estamos realizando y solicitar su autorización para el uso de los datos contenidos en su historial clínico con fines estadísticos.

El proyecto de investigación consiste en valorar la utilidad de la determinación sistemática de la agregabilidad plaquetar y de la determinación del alelo *2 del citocromo CYP2C19 (relacionado con el metabolismo del clopidogrel) en pacientes con síndrome coronario agudo tomadores de clopidogrel, con el fin de determinar la influencia de dichas determinaciones en el desarrollo de futuros eventos adversos.

Los datos recogidos de su historial se tratarán en todo momento de forma confidencial. Los datos de filiación recogidos durante la inclusión del estudio se emplearán exclusivamente para completar el seguimiento y contactar con usted si se precisa. Tendrá derecho a decidir ser o no informado de los resultados de la investigación. En ningún caso su nombre y/o datos personales se harán públicos ni se emplearán con fines comerciales.

De su inclusión en este proyecto de investigación usted no obtendrá ningún beneficio económico; sin embargo, si las investigaciones tuvieran éxito, podría ayudar en el futuro al mejor manejo de estos pacientes por parte de los clínicos responsables.

La inclusión en el estudio no supondrá para usted un riesgo añadido al inherente a los procedimientos que se realizan habitualmente en caso de síndrome coronario agudo y que se detallan en el consentimiento informado específico de cada prueba o intervención. La participación en el proyecto es totalmente voluntaria y el consentimiento podrá ser revocado en cualquier momento del estudio.

AUTORIZACIÓN:

Yo, con DNI
estoy de acuerdo con lo arriba expuesto y doy mi consentimiento para utilizar mis datos personales, siguiendo las normas de confidencialidad de datos, según la ley 15/99 de Protección de datos de carácter privado, para la realización de este proyecto científico.

Firma del paciente

Firma del médico investigador

AUTORIZACIÓN DEL REPRESENTANTE LEGAL:

Yo, con DNI,
representante legal de, con DNI,
estoy de acuerdo con lo arriba expuesto y doy mi consentimiento para la utilización de los
datos personales del representado, siguiendo las normas de confidencialidad de datos, según
la ley 15/99 de Protección de datos de carácter privado ,para la realización de este proyecto
científico.

Firma del representante legal

Firma del médico investigador

REVOCACIÓN:

Yo, con DNI
revoco el consentimiento para la participación en el proyecto científico arriba detallado

En caso de incapacidad del paciente, nombre y DNI del representante legal que realiza la
revocación.

Firma del paciente/representante

Firma del médico investigador

En Cartagena, el..... de..... de 20....

Se informa que los datos relativos a su salud deben ser tratados únicamente por profesionales
sanitarios (art. 7.6 de la Ley 15/1999) bajo criterio de estricta confidencialidad y sin que, en
ningún caso, puedan usarse con fines discriminatorios, ni en perjuicio del paciente.

Normativa aplicable:

-Ley 15/1999, de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal

-Ley 5/1992, de 29 de Octubre, de Regulación del Tratamiento Automatizado de los Datos de
Carácter Personal

-Ley 31/1995, de 8 de Noviembre, de Prevención de Riesgos Laborales

-Ley 14/1986, de 25 de Abril, General de Sanidad.

13.3. Anexo 3: Plantilla de Seguimiento

Seguimiento 1 (3 meses) → Fecha: _____
Seguimiento 2 (6 meses) → Fecha: _____
Seguimiento 3 (12 meses) → Fecha: _____
Otros → Fecha: _____

Evento	Si/No	Fecha
Infarto periangioplastia		
Muerte por cualquier causa		
Muerte cardiovascular		
Angina inestable (requiere ingreso)		
Trombosis del stent		
Accidente cerebrovascular		

Notas y comentarios:

