



# **UNIVERSIDAD DE MURCIA**

## **FACULTAD DE MEDICINA**

Impacto de la Evaluación de la Reactividad Plaquetar y  
de la Presencia de Polimorfismos del Citocromo P450  
2C19 y Paraoxonasa 1 en Pacientes Remitidos para  
Intervencionismo Percutáneo Sometidos Doble  
Antiagregación

**D. Pedro Cano Vivar**  
2016





**IMPACTO DE LA EVALUACIÓN DE LA REACTIVIDAD PLAQUETAR Y DE LA  
PRESENCIA DE POLIMORFISMOS DEL CITOCROMO P450 2C19 Y  
PARAOXONASA 1 EN PACIENTES REMITIDOS PARA INTERVENCIONISMO  
PERCUTÁNEO SOMETIDOS A DOBLE ANTIAGREGACIÓN**

---

Tesis para optar al grado de Doctor en Medicina y cirugía

Presentada por:  
**Pedro Cano Vivar**

Dirigida por:  
Prof.Dr. D. Federico Soria Arcos  
Dr. D. Luciano Consuegra Sánchez

Universidad de Murcia  
Programa de Doctorado de Facultad de Medicina

Murcia, 2016



El Prof. Dr. FEDERICO SORIA ARCOS, Profesor Titular de la Universidad de Murcia y Facultativo Especialista de Área en Cardiología en el Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena, y el Dr. LUCIANO CONSUEGRA SÁNCHEZ, Facultativo Especialista de Área en Cardiología en el Hospital Universitario Santa Lucía de Cartagena.

AUTORIZAN: La presentación de la Tesis Doctoral titulada **“Impacto de la evaluación de la reactividad plaquetar y de la presencia de polimorfismos del citocromo P450 2C19 y paraoxonasa 1 en pacientes remitidos para intervencionismo percutáneo sometidos a doble antiagregación”**, realizada por **Pedro Cano Vivar**, bajo nuestra dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 9 de Noviembre de 2015

Los Directores de la tesis

Federico Soria Arcos

Luciano Consuegra Sánchez

## Agradecimientos

En primer lugar, gracias a mis directores Federico y Luciano. Porque sin vuestra ayuda nunca hubiese podido terminar esta tesis. Gracias por vuestra paciencia y por haberme obligado a continuar con algo que parecía no tener fin.

Gracias a los compañeros del Servicio de Cardiología del Hospital Santa Lucía de Cartagena. Porque habéis conseguido que me sienta como en casa cuando estaba a cientos de kilómetros de ella. A los compañeros, porque me habéis enseñado cardiología día a día. A los amigos, porque me habéis enseñado que en el día a día hay algo más que cardiología.

Gracias a mis padres, Pedro y Sagrario, porque siempre habéis estado a mi lado, siempre habéis ayudado a que me levante cuando he caído y siempre estáis ahí para celebrarlo cuando lo he conseguido. Y a mi hermano, Alberto, porque siempre ha sabido sacarme una sonrisa, incluso en los momentos más duros.

Gracias a mi mujer, Mari Sergia, porque solo ella ha sido capaz de darme lo más bonito de la vida. Porque es mi apoyo, mis ojos, mis manos, mi vida. Por lo que somos, y sobre todo, por lo que tenemos pendiente.

# Índice

# Índice

---

ÍNDICE.....	I
MENCIONES.....	V
ABREVIATURAS.....	IX
RESUMEN.....	XI
ABSTRACT.....	XV
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Enfermedad Aterosclerótica.....	2
1.2. Síndrome Coronario Agudo. Clasificación y Diagnóstico.....	4
1.3. Manejo del Síndrome Coronario Agudo.....	10
1.3.1. Reperusión Coronaria. Tipos.....	10
1.3.1.1. Cateterismo Cardíaco. Angioplastia Coronaria Percutánea.....	11
1.3.1.2. Fibrinólisis.....	16
1.3.1.3. Cirugía de Revascularización Coronaria.....	18
1.3.2. Recomendaciones de Reperusión según las Guías de Práctica Clínica.....	20
1.3.3. Manejo Farmacológico del Síndrome Coronario Agudo.....	22
1.4. Metabolismo del Clopidogrel.....	28
1.5. Variabilidad de la Respuesta Farmacológica al Clopidogrel.....	29
1.5.1. Variabilidad Genética.....	32
1.6. Estimación de la Agregabilidad Plaquetar.....	38
2. HIPÓTESIS Y JUSTIFICACIÓN DE LA TESIS.....	42
3. OBJETIVOS.....	45
4. MATERIAL Y MÉTODO.....	47
4.1. Pacientes.....	48
4.2. Determinación de los polimorfismos genéticos CYP2C19*2 y *17 Y PON-1 Q192R.....	50
4.3. Evaluación de la reactividad plaquetar con VerifyNow®.....	50
4.3.1. Análisis de inhibidores P2Y12.....	51
4.3.2. Análisis de aspirina.....	52
4.3.3. Procedimiento.....	54
4.4. Evaluación de la reactividad plaquetar con Multiplate®.....	55
4.4.1. Toma de muestras y procesado.....	55

# Índice

---

4.4.2. Reactivos.....	57
4.4.2.1. ADPtest.....	57
4.4.2.2. ASPItest.....	57
4.4.2.3. TRAPtest.....	58
4.4.2.4. Prostaglandina E1 (ADPhs test).....	59
4.4.3. Parámetros.....	59
4.5. Definición de elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel.....	60
4.6. Análisis estadístico.....	60
4.7. Seguimiento intra y extrahospitalario. Otras definiciones.....	62
5. RESULTADOS DEL ESTUDIO PRINCIPAL.....	64
5.1. Características basales de la muestra.....	65
5.1.1. Medicación concomitante a la toma de clopidogrel.....	65
5.1.2. Tratamiento al alta. Recomendaciones para clopidogrel.....	66
5.2. Polimorfismos. Frecuencia e impacto sobre la reactividad plaquetar.....	66
5.3. Perfil del paciente con elevada reactividad plaquetar pese a tratamiento con clopidogrel (ERPATC).....	67
5.4. Influencia pronóstica de los polimorfismos CYP2C19*2/*17 y PON1-Q192R...	69
5.4.1. Eventos adversos intrahospitalarios.....	69
5.4.2. Eventos adversos tras el alta.....	69
6. RESULTADOS DEL SUBESTUDIO.....	71
6.1. Antiagregantes y porcentaje de sujetos pobres respondedores.....	72
6.2. Concordancia del diagnóstico entre Multiplate® frente a VerifyNow® a través del cálculo del estadístico kappa.....	73
6.3. Concordancia del diagnóstico entre Multiplate® frente a VerifyNow® a través del estudio de las diferencias (método de Bland-Altman).....	73
6.4. Discriminación de Multiplate® frente a VerifyNow® en el infarto periACTP.....	74
6.5. Discriminación de Multiplate® frente a VerifyNow® en el evento combinado total.....	75
6.6. Rendimiento pronóstico para eventos adversos en el seguimiento.....	75
7. DISCUSIÓN.....	77
	101

# Índice

---

8. LIMITACIONES Y FORTALEZAS.....	
9. CONCLUSIONES.....	103
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	106
11. LEYENDA DE TABLAS Y FIGURAS.....	124

## Menciones

**1. Esta investigación ha sido presentada en el Congreso Nacional de Cardiología de los años 2011 y 2012.**

**1.1 Cano P, Consuegra Sánchez L, Conesa P, García Gómez J, Torres Moreno D, García Teruel E, Picó F, Villegas V.** Valor pronóstico comparativo del estado de antiagregación evaluado mediante los equipos verifynow y multiplate en paciente con cardiopatía isquémica doblemente antiagregados. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología. Sevilla 18-20 Octubre 2012. Rev Esp Cardiol 1012;65(Supl.3):1-511.

**1.2 Cano P, Consuegra-Sánchez L, Conesa P, Núñez J, Dau D, Mármol R, Villegas M, Picó F.** Efecto de los inhibidores de la bomba de protones sobre la respuesta a clopidogrel evaluado mediante el sistema VerifyNow®. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología. Maspalomas (Gran Canaria) 20-22 Octubre 2011.

**1.3 Consuegra-Sánchez L, Cano P, Conesa P, Sanchís J, Cascón JD, Castillo JA, Villegas M, Picó F.** El uso de estatinas podría conferir un efecto antiplaquetario adicional al propio del clopidogrel. Resultados de un estudio observacional “in vivo”. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología. Maspalomas (Gran Canaria) 20-22 Octubre 2011.

**1.4 Consuegra-Sánchez L, Conesa P, Cano P, Torres-Moreno D, Sanchos D, Valverde MJ, Picó F, Villegas V.** Influencia pronóstica de los polimorfismos del CYP2C19\*2, PON1 e ITGB3 en paciente con cardiopatía isquémica remitidos para cateterismo cardíaco.

## Menciones

---

Implicaciones en la reactividad plaquetar. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología. Sevilla 18-20 Octubre 2012.

**1.5** Consuegra-Sánchez L, Cano P, Conesa P, Sanchís J, Cascón JD, Castillo JA, Villegas M, Picó F. El uso de estatinas podría conferir un efecto antiplaquetario adicional al propio del clopidogrel. Resultados de un estudio observacional “in vivo”. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología. Maspalomas (Gran Canaria) 20-22 Octubre 2011.

**1.6** Dau D, Consuegra-Sánchez L, Conesa P, Jaulent L, Cano P, Cascón JD, Picó F y Villegas F. Relación entre la reactividad plaquetar a clopidogrel y aspirina e incidencia del infarto tras angioplastia coronaria. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología. Sevilla 18-20 Octubre 2012.

**1.7** Jaulent L, Consuegra-Sánchez L, Cano P, Dau D, García Urruticoechea P, Clemente A, Picó F y Villegas M. Pobre concordancia del diagnóstico de respuesta insuficiente a aspirina y clopidogrel con verifynow y multiplate. Resultados en 227 pacientes. Congreso Nacional de la Sociedad Española de Cardiología. Sevilla 18-20 Octubre 2012.

**(2) Esta investigación ha sido publicada en las revistas indexadas con impacto:**

**2.1** Cano P, Consuegra-Sánchez L, Conesa P, Torres-Moreno D, Jaulent L, Dau D, Picó F, Villegas M. Impacto de *CYP2C19\*2* en la reactividad plaquetar en pacientes con

## Menciones

---

síndrome coronario agudo tratados con clopidogrel. Med Clin (Barc). 2014 Jul 7;143(1):6-12. (Factor de impacto 1,38).

**2.2** Consuegra-Sánchez L, López-Palop R, Cano P, Carrillo P, Picó F, Villegas M, Sanchis J, Kaski JC. Assessment of high on-treatment platelet reactivity in patients with ischemic heart disease: concordance between the Multiplate and VerifyNow assays. J Thromb Haemost. 2013;11:379-81. (Facto de impacto 5,73).

**(3) La presente investigación ha sido financiada por:**

**3.1** Beca Competitiva FFIS-Caja Murcia 10/006, concedida 16 de Marzo de 2011.

## **Abreviaturas**

# Abreviaturas

---

ACTP: Angioplastia coronaria percutánea.

ACV: Accidente cerebrovascular.

ADP: Adenosin difosfato.

ARA2: Bloqueador del receptor tipo 1 de la angiotensina 2.

ABC: Área bajo la curva.

DE: Desviación estándar.

ERPATC: Elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel.

HR: Hazard ratio.

IBP: Inhibidores de la bomba de protones.

IC: Intervalo de confianza.

IECA: Inhibidor del enzima convertidor de angiotensina.

IGP IIb/IIIa: Inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa.

IM: Infarto (agudo) de miocardio.

MACE: Major Adverse Cardiovascular Events.

MDRD: Modification of Diet in Renal Disease (abreviada)

OR: Odds ratio.

PRU: Platelet reactivity units (unidades de reactividad plaquetar).

SCA: Síndrome coronario agudo.

SCACEST: Síndrome coronario agudo con elevación del segmento ST.

SCASEST: Síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST.

## Resumen

**Fundamento y objetivos.** El valor de los polimorfismos PON1-Q192R, CYP2C19\*2 y \*17 en la identificación del paciente pobre respondedor a clopidogrel es controvertido. Evaluamos la relación de estos polimorfismos con la reactividad plaquetar y el pronóstico a medio plazo en pacientes con síndrome coronario agudo sometidos a doble antiagregación remitidos para cateterismo cardíaco. Además, con intención de valorar la utilidad clínica de los dispositivos “a pie de cama” de medición de agregabilidad plaquetaria, realizamos un subestudio comparativo entre los dos principales dispositivos de medida de agregabilidad plaquetar: VerifyNow y Multiplate.

**Material y métodos.** Se incluyeron prospectivamente 247 pacientes con síndrome coronario agudo. En todos se dispuso del genotipo (*CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*17*, *PON1-Q192R*). Medimos la reactividad plaquetar con VerifyNow. Se registraron eventos adversos intrahospitalarios (muerte e infarto periprocedimiento) y durante el seguimiento (muerte, infarto miocardio, angina, accidente cerebrovascular y trombosis del stent). Para el subestudio se reclutaron 168 pacientes de nuestro centro y 83 en el Hospital de San Juan (Alicante) con diagnóstico de síndrome coronario agudo o angina estable a los que se les realizó medida de actividad plaquetar mediante los sistemas VerifyNow y Multiplate. El seguimiento y los eventos adversos registrados durante el mismo fueron similares a los del estudio principal.

**Resultados.** Los portadores de alelos \*2 de *CYP2C19* presentaron una mayor reactividad plaquetar residual (PRU, media [DE], 252[76] vs. 287[74],  $p=0.002$ ). Los portadores de alelos \*17 de *CYP2C19\*17* o de alelos T (Q) de *PON1-Q192R* no presentaron una reactividad distinta ( $p>0.05$ ). En un modelo multivariado para la predicción de pobre respuesta a clopidogrel, la contribución de *CYP2C19\*2* fue

## Resumen

---

modesta (Wald=7.5; OR para  $\geq 1$  alelo \*2 = 2.786, IC 95% 1.337-5.808). Fueron factores protectores independientes la hemoglobina basal (g/dL, OR 0.666, IC 95% 0.555-0.801) y el uso concomitante de estatinas (OR=0.376, IC95% 0.162-0.873). El índice de masa corporal fue un factor de riesgo (OR=1.074, IC 95% 1.005-1.148). Los polimorfismos estudiados no predijeron eventos adversos.

En el caso del subestudio comparativo, identificamos como pobres respondedores a 173 (68.9%) pacientes con PRU > 235 U y 147 (58.6%) con porcentaje de inhibición < 15%, mediante VerifyNow®; mientras con Multiplate®, identificamos a 48 (19.1%) con ABC del ADP test > 53 y 89 (35.5%) con ABC del ADPhs test > 31. La proporción de pacientes no inhibidos fue significativa y sustancialmente más alta con VerifyNow® respecto a su comparador ( $p < 0.05$ ). En el caso de la aspirina, se identificaron a 38 (15.3%) pacientes no inhibidos mediante ARU > 550 y sólo 6 (2.4%) mediante ABC del Aspi Test > 74. Respecto de los tests de respuesta a clopidogrel, la concordancia mayor fue la del porcentaje de inhibición (VerifyNow®) y el ADPhs Test (Multiplate®) siendo  $\kappa$  de -0.266 ( $p < 0.001$ ). En el resto de las comparaciones el valor de  $\kappa$  fue inferior a 0.2. Para los salicilatos, la concordancia observada entre los dos analizadores fue igualmente baja ( $\kappa = 0.194$ ,  $p = 0.001$ ). En cuanto al evento combinado, tan solo PRU base y TRAP test mostraron un ABC ROC significativamente distinta del 0.5 (ABC ROC = 0.66, IC 95% 0.55-0.76 y 0.66, IC 95% 0.54-0.77 respectivamente).

**Conclusiones.** El polimorfismo de *CYP2C19\*2* influyó la respuesta a clopidogrel de forma modesta, pero no condicionó un pronóstico distinto en pacientes con síndrome coronario agudo. Los polimorfismos de *PON1-Q192R* y *CYP2C19\*17* no influenciaron la reactividad plaquetar ni el pronóstico. En cuanto al subestudio comparativo, el grado

## Resumen

---

de acuerdo en el diagnóstico de pobre respuesta a la aspirina y clopidogrel entre los sistemas VerifyNow® y Multiplate® fue globalmente pobre. La mayor reactividad plaquetar "basal" se asoció con una mayor ocurrencia de eventos adversos.

**Palabras clave:** Isquemia miocárdica, plaquetas, genética, agregometría.

## **Abstract**

## Abstract

---

**Background and objectives.** Previous studies have shown that the metabolism of P2Y<sub>12</sub> receptor blockers is influenced not only by CYP2C19\*2 but also by PON1-Q192R alleles. We aimed to evaluate the impact of CYP2C19\*2 and PON1-Q192R polymorphisms carriage in platelet reactivity and clinical outcome in patients with ischemic heart disease undergoing cardiac catheterization. In addition, intending to evaluate the clinical utility of the devices "bedside " measuring platelet aggregation , we conducted a sub-study comparison between the two main measurement devices platelet aggregability: VerifyNow and Multiplate

**Methods.** We recruited prospectively patients with acute coronary syndrome undergoing cardiac catheterization (n=247). We evaluated the genotype (*CYP2C19\*2*, *CYP2C19\*17*, *PON1-Q192R*) with TaqMan assay and platelet aggregometry in all patients. We assessed both in and out-of-hospital events (unstable angina, periprocedural and spontaneous myocardial infarction, myocardial infarction, all-cause death, stent thrombosis and stroke) during follow-up. For the substudy 168 patients of our hospital and 83 patients in the San Juan Hospital (Alicante) were enrolled with acute coronary syndrome or stable angina who underwent platelet activity measured by the VerifyNow and Multiplate systems. Monitoring and adverse events recorded during the same were similar to those of the main study.

**Results.** Carriers of *CYP2C19\*2* alleles showed a significant higher residual platelet reactivity (PRU, mean [SD], 252[76] vs. 287[74], p=0.002). Carriers of *PON1-Q192R* CT (RQ) and TT(QQ) alleles and *CYP2C19\*17* did not present a different response to clopidogrel. In a multivariable setting for the prediction of platelet reactivity, the contribution of *CYP2C19\*2* was modest (Wald=7.5; OR para  $\geq 1$  alelo \*2 = 2.786, 95%

## Abstract

---

CI 1.337-5.808). Independent predictors were baseline hemoglobine levels (g/dL, OR 0.666, 95% CI 0.555-0.801) and the use of statins (OR=0.376, 95% CI 0.162-0.873). Body mass index was a risk factor (OR=1.074, CI 95% 1.005-1.148). Studied polymorphisms did not predict an adverse outcome.

In the case of comparative sub-study, we identified as poor responders to 173 (68.9%) patients with PRU > 235 U and 147 (58.6%) percent inhibition with <15% by VerifyNow®; while with Multiplate®, we identified 48 (19.1%) with ABC ADP test > 53 and 89 (35.5%) with ABC test ADPhs > 31. The proportion of patients was not inhibited significantly and substantially higher with respect to VerifyNow® the comparator ( $p < 0.05$ ). In the case of aspirin, they were identified 38 (15.3%) patients not inhibited by ARU > 550 and only 6 (2.4%) by ABC Aspi Test > 74. Regarding tests response to clopidogrel, as agreement was the percent inhibition (VerifyNow®) and ADPhs Test (Multiplate®) being  $\kappa$  of -0.266 ( $p < 0.001$ ). In other comparisons  $\kappa$  value was less than 0.2. To salicylates, the observed agreement between the two analyzers was also low ( $\kappa = 0.194$ ,  $p = 0.001$ ). As for the combined event, just PRU base and TRAP test they showed significantly different ABC 0.5 ROC (AUC ROC = 0.66, 95% CI 0.55 to 0.76 and 0.66, 95% CI from 0.54 to 0.77 respectively)

**Conclusions.** *CYP2C19\*2* polymorphism influenced moderately platelet reactivity but did not show an impact on clinical outcome in patients with acute coronary syndrome. *CYP2C19\*17* nor *PON1-Q192R* polymorphisms showed an impact upon platelet reactivity or outcome. As for the comparative substudy, the degree of agreement in the diagnosis of poor response to aspirin and clopidogrel among VerifyNow® and

## Abstract

---

Multiplate® systems was generally poor. Most platelet reactivity "basal" was associated with an increased occurrence of adverse events.

**Key words.** Ischemic cardiac disease, platelets, genetics, aggregometry.

# **1. Introducción**

## 1.1 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

## Introducción

---

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 plaquetaria, que sufren un cambio conformacional. Por un lado 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. Por otro lado, la fosfolipasa A<sub>2</sub> inicia la vía de activación del ácido araquidónico, que se convierte en TXA<sub>2</sub> en una reacción catalizada por COX-1 (para formar prostaglandina G<sub>2</sub>/H<sub>2</sub>) y tromboxano sintetasa (para formar TXA<sub>2</sub>)<sup>1</sup>. El TXA<sub>2</sub> se libera a la circulación, donde se une a los receptores del TXA (receptores TP) en 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, FvW, 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

# Introducción

---

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 trombina<sup>2</sup>.

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.

## **1.2 Síndrome Coronario Agudo. Clasificación y Diagnóstico.**

Todo el proceso descrito previamente acaba produciendo una limitación aguda del flujo coronario, dando lugar a una isquemia miocárdica. Se define como síndrome coronario agudo (SCA) al conjunto de síntomas clínicos compatibles con isquemia miocárdica<sup>3</sup>. Se diferencian tres tipos de SCA: con elevación del segmento ST del electrocardiograma (SCACEST), sin elevación del segmento ST (SCASEST) y angina inestable. Los dos primeros se caracterizan por elevación de biomarcadores de daño miocárdico y se clasifican como infarto agudo de miocardio (IAM).

Durante muchos años, el diagnóstico de IAM se basó en los criterios epidemiológicos establecidos por la Organización Mundial de la Salud en 1979<sup>4</sup>. En el año 2000<sup>5</sup>, un comité conjunto de la Sociedad Europea de Cardiología y del Colegio Americano de Cardiología propuso una definición basada en la clínica del IM agudo, en evolución o reciente. En 2007, la Joint Task Force de la Sociedad Europea de Cardiología, el Colegio Americano de Cardiología, la Asociación Americana del Corazón y la Federación Mundial del Corazón (ESC/ACC/AHA/WHF) refinaron los criterios de 2000 y definieron el IAM como evento clínico evento secundario a la muerte de los miocitos cardíacos

# Introducción

---

(necrosis miocárdica) que es causada por la isquemia (a diferencia de otras etiologías tales como miocarditis o el traumatismo)<sup>6</sup>. Esta definición no se ha modificado fundamentalmente en la tercera definición universal de MI lanzado en 2012 por ESC/ACC/AHA/WHF<sup>7,8</sup>.

De acuerdo con la tercera definición universal, se definen los siguientes criterios para **infarto de miocardio** (se requiere uno para establecer el diagnóstico):

- Detección ascenso y/o descenso del valor de los marcadores cardiacos (preferiblemente troponina cardiaca [cTn]) con al menos un valor por encima del percentil 99 del límite superior de referencia y con al menos uno de los siguientes:
  - o Síntomas de isquemia.
  - o Desarrollo de onda Q patológicas en el electrocardiograma.
  - o Nuevos o presumiblemente nuevos cambios en el segmento ST o nuevo bloqueo completo de rama izquierda.
  - o Identificación de trombo intracoronario mediante angiografía o autopsia.
  - o Evidencia en imagen de pérdida viabilidad miocárdica o nueva anomalía de la contractilidad regional de la pared ventricular.
- Muerte cardiaca con síntomas sugestivos de isquemia miocárdica y presumibles nuevos cambios isquémicos en el electrocardiograma o aparición de nuevo bloqueo de rama izquierda, ocurriendo la muerte antes de la obtención de biomarcadores de daño miocárdico o antes de que éstos puedan aumentar.

## Introducción

---

- IM relacionado con intervencionismo coronario percutáneo: se define como elevación de biomarcadores (cTn) por el encima de 5 veces el percentil 99 del límite alto de la normalidad en paciente con cifras previas normales, o un aumento mayor del 20% en aquellos pacientes que ya presentaban cifras elevadas (estables o en descenso). Adicionalmente deben presentar (al menos uno de los siguientes):
  - o Síntomas sugestivos de isquemia miocárdica.
  - o Nuevos cambios isquémicos en el electrocardiograma o nuevo bloqueo de rama izquierda.
  - o Pérdida angiográfica de la permeabilidad de una arteria coronaria principal o una rama lateral, o persistencia de flujo lento o ausencia de flujo, o embolización.
  - o Evidencia en imagen de pérdida viabilidad miocárdica o nueva anomalía de la contractilidad regional de la pared ventricular.
- IM asociado a trombosis del stent, detectada mediante angiografía coronaria o autopsia en el contexto de isquemia miocárdica y con aumento y/o descenso de biomarcadores cardiacos con al menos un valor por encima del percentil 99 del límite alto de la normalidad.
- IM asociado a cirugía de by-pass aortocoronario: se definió como elevación de biomarcadores mayor 10 veces el percentil 99 del límite superior de la normalidad en pacientes con valores normales previamente. Adicionalmente deben presentar (al menos uno de los siguientes):
  - o Nuevas ondas Q patológicas o nuevo bloqueo de rama izquierda.

# Introducción

---

- Nueva oclusión de injerto o arteria nativa demostrada angiográficamente.
- Imagen de pérdida viabilidad miocárdica o nueva anomalía de la contractilidad regional de la pared ventricular.

De esta manera, se definieron 5 tipos de IM de acuerdo a su probable origen:

- Tipo 1 (IM espontáneo): secundario a proceso patológico en la pared de la arteria coronaria (rotura o erosión de placa, fisura, disección...) que conduce a la aparición de un trombo intraluminal.
- Tipo 2 (secundario a un desequilibrio isquémico): IM debido a un aumento de la demanda de oxígeno o una disminución de su aporte (disfunción endotelial, espasmo coronario, taqui/bradiarritmia, anemia...).
- Tipo 3 (IM resultante en muerte cuando no se dispone del valor de los biomarcadores): se define como muerte inesperada antes de que se puedan extraer las muestras de sangre para los biomarcadores o antes de que estos aparezcan en sangre.
- Tipo 4a: IM relacionado con intervencionismo coronario percutáneo.
- Tipo 4b: IM relacionado con trombosis del stent.
- Tipo 5: IM relacionado con cirugía de bypass aortocoronario.

Por otro lado, la angina inestable se define como síntomas sugestivos de síndrome coronario agudo, sin elevación de biomarcadores de daño miocárdico, con o sin cambios en el electrocardiograma que puedan sugerir isquemia. Debido a la falta de sensibilidad de la fracción MB de la creatinin-quinasa (CK-MB) comparada con la

troponina, el hallazgo de cifras normales de CK-MB no excluye completamente el diagnóstico de IM según esta definición<sup>8</sup>.

La angina inestable y el síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST son frecuente indistinguibles en la evaluación inicial. Los cambios del segmento ST o de la onda T a menudo son persistentes en el SCASEST, mientras en la angina inestable es habitual que sean transitorios. Independientemente de la categoría, los cambios del segmento ST determinan una mayor riesgo<sup>9</sup>.

Pero para la clasificación del síndrome coronario agudo, no debemos tener en cuenta únicamente los criterios clínicos descritos hasta el momento. También es importante reconocer los diferentes patrones electrocardiográficos que, además una correcta nomenclatura, nos permitirán un manejo precoz y adecuado de los pacientes. De esta manera encontraremos:

- **SCA con elevación del segmento ST:**
  - o Inicialmente se produce una elevación del punto J y el segmento ST conserva una configuración cóncava.
  - o Con el tiempo, la elevación del segmento ST se hace más pronunciada y el segmento ST se hace más cóncavo o redondeado hacia arriba.
  - o El segmento ST puede ocasionalmente ser indistinguible de la onda T; en realidad, el completo QRS-T puede parecerse a un potencial de acción monofásico.

# Introducción

---

De esta manera, el consorcio de sociedad científicas formadas por la ESC/ACC/AHA/WHF definieron los siguientes criterios de SCACEST<sup>7,10</sup>:

- Nueva elevación del segmento ST en el punto J en dos derivaciones contiguas  $> 0.1$  mV en las derivaciones diferentes a V2-V3.
- Para las derivaciones V2 y V3, la elevación debe ser mayor de 0.2 mV para hombres  $\geq 40$  años,  $\geq 0.25$  mV en hombres  $< 40$  años, o  $\geq 0.15$  mV en mujeres.

- **SCA sin elevación del segmento ST:**

El SCASEST se manifiesta por depresión del segmento ST y/o inversión de la onda T sin elevación del segmento ST ni ondas Q patológicas. Estos cambios del ST o de la onda T pueden presentarse de forma difusa en muchas derivaciones, aunque lo más común es que lo hagan en las derivaciones que se corresponden con la zona de miocárdio isquémico. Como se ha mencionado, en las fases iniciales, tanto el SCA sin elevación de ST como la angina inestable son indistinguibles (previo al ascenso de marcadores de daño miocárdico) aunque normalmente los cambios del electrocardiograma suelen ser más persistentes (varios días) en el SCASEST sin formación de ondas Q patológicas. En el caso de la angina inestable, los cambios suelen revertir completamente.

El consorcio de las sociedades científicas ESC/ACC/AHA/WHF lo definieron como:

- Nueva depresión horizontal o con pendiente descendente del segmento ST  $\geq 0.05$  mV en dos derivaciones contiguas y/o inversión de la onda T  $\geq 0.1$  mV en dos derivaciones contiguas con onda R prominente o ratio R/S  $> 1$ .

### **1.3 Manejo del Síndrome Coronario Agudo.**

Una vez establecido el diagnóstico de síndrome coronario agudo, su manejo debe iniciarse de manera inmediata y en el mismo lugar donde se produce el primer contacto médico. Según recomiendan las últimas guías de práctica clínica publicadas por la Sociedad Europea de Cardiología<sup>11</sup>, se debe obtener un ECG de 12 derivaciones lo antes posible en el lugar del primer contacto médico, así como llevar a cabo una monitorización lo más precoz posible una vez establecido el diagnóstico de sospecha. Se recomienda además tomar una muestra de sangre de forma rutinaria para determinación de marcadores séricos en la fase aguda, aunque no hay que esperar los resultados para iniciar el tratamiento. Dentro de este manejo inicial se incluye el uso de analgesia, incluidos los opiáceos, el uso de oxígeno en pacientes con hipoxia, disnea o insuficiencia cardíaca, y se puede considerar la administración de tranquilizantes en pacientes con ansiedad.

#### **1.3.1 Reperusión Coronaria. Tipos.**

Existe una escala sencilla que permite, de una manera rápida y universal, la descripción de la corriente sanguínea a través de la arteria coronaria cuando ha sido visualizada por angiografía, el sistema de gradación de trombolisis en el infarto de miocardio

(*thrombolysis in myhocardial infarction*, TIMI<sup>12</sup>). En función del flujo de sangre a través de la arteria, esta escala diferencia: TIMI 3 para aquellas arterias permeables con flujo normal; TIMI 2 para las arterias abiertas y permeables pero que presentan un relleno lento (flujo enlentecido); el flujo TIMI 1 se refiere aquellos casos en los que el contraste tan solo infiltra el vaso, sin perfundir distalmente al mismo; y finalmente TIMI 0 que hace referencia a que la arteria se encuentra completamente ocluida. El objetivo de la revascularización es alcanzar un flujo final TIMI 3 que limite el área afectada por infarto, ayude al mantenimiento de la función ventricular y disminuya la mortalidad. Para ello se dispone actualmente de tres opciones terapéuticas cuyo objetivo es la repermeabilización coronaria y el restablecimiento del aporte de oxígeno al músculo cardíaco.

### **1.3.1.1 Cateterismo Cardíaco. Angioplastia Coronaria Percutánea.**

Esta técnica implica el uso de catéteres que, a través de un acceso arterial periférico (femoral, radial, cubital, braquial...), se posicionan de tal forma que el extremo distal queda embocado en el origen de las arterias coronarias. El procedimiento se lleva a cabo con el paciente en ayunas con la administración de anestésico subcutáneo (local) en el lugar donde se va a llevar a cabo la punción para canalización de la arteria. En algunos casos, y siempre que no haya contraindicación, se pueden administrar al paciente dosis bajas de sedantes que disminuyan el componente ansioso que puede producir la realización de la prueba.

Antes de comenzar el procedimiento se debe conocer, siempre que sea posible y cuando lo permita la urgencia de la situación, la función renal (aclaramiento de

## Introducción

---

creatinina o filtrado glomerular) y el estado coagulador del paciente. El primero de ellos por la nefrotoxicidad potencial de los contrastes empleados durante la prueba, requiriendo una adecuada hidratación previa, incluso intravenosa cuando sea preciso. Con respecto a la coagulación, si el paciente se encuentra anticoagulado con warfarina o acenocumarol previo al procedimiento, se debe suspender el tratamiento haciendo una terapia puente con heparina hasta normalización del INR (international normalized ratio). Esto se justifica porque durante el procedimiento, como se verá más adelante, se emplean fármacos anticoagulantes y potentes antiagregantes que, unidos a anticoagulación previa, pueden aumentar de forma muy significativa el riesgo de sangrado.

Con el paciente en decúbito prono, tras las adecuadas medidas de asepsia exigibles a un procedimiento intervencionista y perfectamente monitorizado mediante un electrocardiograma continuo, se procede al anestesiado de la zona de punción. En el caso de punción radial, cubital o radial se empleará una aguja subcutánea; si por el contrario se opta por el acceso femoral, se recomienda el uso de agujas intramusculares al encontrarse la arteria a mayor profundidad con respecto a la superficie cutánea. Tras la anestesia, se emplea un trocar con el que se alcanza el lumen del vaso. Cuando se observa un adecuado flujo sanguíneo a través del trocar, introducimos por él una fina guía metálica de punta flexible que, tras la retirada del trocar, nos dará soporte para la colocación de un introductor de acceso vascular (técnica de Seldinger<sup>13</sup>). En el mercado están disponibles introductores de diferentes grosores para diferentes vías de acceso y usos. Los más utilizados en intervencionismo coronario son de 4-7 French. El introductor posee una vía lateral y un extremo

## Introducción

---

proximal compuesto por una boca valvulada, a través de la cual se introducirá una guía metálica más larga que la utilizada inicialmente y cuyo extremo distal se avanzará hasta los velos de la válvula aórtica, llegando hasta allí por vía retroaórtica. Esta guía servirá como apoyo para el avance de los catéteres.

Los catéteres están disponibles en diferentes diámetros y presentan en su extremo distal una curva preformada y estandarizada que permite su embocadura en el origen de las arterias coronarias. Para la parte inicial del cateterismo, cuyo objetivo es la visualización del árbol coronario (cateterismo diagnóstico), se suelen emplear catéter de menor grosor (4 French). Tras colocar el catéter en el plano valvular, se conecta un sistema de medida de presión que permite un registro continuo de presiones vasculares durante el proceso, y al sistema de inyección de contraste (manual o a través de bomba mecánica). Mediante un sistema de fluoroscopia con un arco móvil podemos visualizar el avance del contraste radiopaco a través de las arterias coronarias desde diferentes proyecciones, lo que permite la localización de la zona con estenosis u ocluida causante del cuadro. También se dispone de catéteres que nos permiten la realización de aortografías y ventriculografías que ayudan a completar el estudio.

Para realizar la angioplastia se emplean otros catéteres de mayor grosor (6 o 7 French los más comúnmente empleados) que además presenten una mayor rigidez por la presencia de una maya metálica en el interior de su pared que le aporta mayor soporte y resistencia. El intercambio de catéteres se realiza siempre con el apoyo de una guía intravascular. Tras colocar el catéter de angioplastia en el ostium de la arteria, se introduce una guía metálica muy fina (diámetros menores 0.4 mm) de punta flexible por el interior de la arteria, que atraviesa la zona estenótica u ocluida y alcanza la

## Introducción

---

porción distal del vaso. Las características de la placa estenótica u oclusión determinará las características de las guías a utilizar (gramaje, hidrofilia, torque...) e incluso de uso de materiales adicionales como microcatéteres, extensiones de catéteres, etc.

Llegados a este punto son varias las posibilidades de abordaje de la lesión a tratar. La **angioplastia con balón** técnica clásica consistente en el avance de un balón de material plástico plegado hasta la zona estenótica que se infla mediante un jeringa infladora a presiones variables según criterio del operador y de las características de la placa. Aunque es una técnica que ha demostrado gran adaptabilidad anatómica con buenos resultados, hay algunas lesiones donde su efectividad es escasa (especialmente en lesiones muy calcificadas o con trombo). Las complicaciones más habituales de la angioplastia con balón son la restenosis de los segmentos dilatados y la disección de la capa íntima de la arteria coronaria, que puede llevar incluso a la oclusión total de la misma.

Una segunda opción de abordaje es la **angioplastia con stent**. Los stent son endoprótesis metálicas que sirven como andamiaje para mantener la apertura de la arteria. Su conformación es un maya metálica plegada sobre un balón similar a los utilizados en la angioplastia con balón. Cuando el dispositivo se sitúa en la zona estenótica, se procede al inflado del balón que expande a su vez la maya metálica hasta llevarla a su diámetro original. Esta técnica evita la retracción elástica de la pared y disminuye el riesgo de disección de la íntima, pudiendo controlarla mediante el implante de un nuevo stent en caso de que se produzca. Desde que se aprobaron los primeros stent por la FDA en 1994 esta tecnología pasó a ser ampliamente aceptada,

## Introducción

---

especialmente después del ensayo Belgian Netherlands Stent, que mostró la superioridad de la angioplastia con stent metálico frente a la opción de angioplastia con balón<sup>14</sup>. Sin embargo se observó una importante incidencia de trombosis aguda (en las primeras 24 horas tras implantación) y subaguda (hasta 14 días tras implante) que mejoró con la incorporación de doble antiagregación al tratamiento del paciente. Desde entonces se han empleado multitud de metales para la conformación del stent con el fin de conseguir aquel más biocompatible y con menores tasas de trombosis y restenosis. Supuso un gran avance en este aspecto la adición a partir de 2004 de una cobertura de fármaco fijada a la matriz metálica mediante un polímero que modula la formación de neoíntima. Los resultados en cuanto a restenosis del stent de los primeros ensayos realizados fueron contundentes y pronto los stents liberadores de fármacos sustituyeron a los stents metálicos<sup>15,16</sup>. Sin embargo, poco después comenzaron a aparecer estudios que relacionaron la presencia de los polímeros permanentes sobre los que iba fijado el fármaco con la aparición de reacciones de hipersensibilidad local, disfunción endotelial y retraso de la endotelización que obligaron al mantenimiento más prolongado del tiempo de doble antiagregación<sup>17,18</sup>. Para evitar estos efectos negativos se han desarrollado stents con polímeros biodegradables, que facilitan la liberación del fármaco hacia la pared vascular y posteriormente se absorben sin dejar secuelas, y stents liberadores de fármacos sin polímero, liberándose el fármaco desde una superficie micro o nanoporosa del stent<sup>19</sup>. La comercialización de stents bioabsorbibles supone un paso más en el avance de esta técnica. Se basa en la sustitución de la matriz metálica por un polímero bioabsorbible encargado de la liberación del fármaco y que desaparece progresiva y completamente

con el tiempo. Estudios publicados han mostrado que los pacientes tratados con este tipo de stent presentaron una recuperación de la arteria de su capacidad de respuesta al remodelado y un agrandamiento tardío de la luz una vez degradada la estructura<sup>20</sup>.

### **1.3.1.2 Fibrinólisis**

El objetivo del tratamiento fibrinolítico es la repermeabilización de la arteria afecta a través de la lisis del trombo oclusivo mediante la administración de fibrinolíticos sistémicos que estimulen la conversión de plasminógeno en plasmina, la cual ejerce una acción lítica sobre los trombos de fibrina. Los fármacos empleados actualmente en la fibrinólisis en el síndrome coronario agudo son la estreptoquinasa (SK), alteplasa (tPA), reteplasa (r-PA) y tenecteplasa (TNK-tPA). Todas ellas se administran por vía intravenosa.

Pese a la efectividad del tratamiento fibrinolítico en algunos casos, su uso ha quedado relegado únicamente a los casos de SCACEST en las primeras 12 horas desde el inicio de los síntomas en pacientes que no presenten contraindicaciones para realización de trombolisis y que no se les pueda realizar angioplastia primaria en los 120 minutos tras el primer contacto médico<sup>11</sup>. También se puede considerar su uso en pacientes con presentación temprana de los síntomas (menos de 2 horas en el momento del primer contacto médico) que presenten un infarto de gran tamaño y bajo riesgo hemorrágico si el tiempo entre el primer contacto médico y el inflado del balón se prevé que sea mayor de 90 minutos. En ambos casos, se debe considerar la posibilidad de iniciar el tratamiento de manera prehospitalaria.

# Introducción

---

El tratamiento fibrinolítico está contraindicado de manera absoluta en los siguientes casos<sup>11</sup>:

- Hemorragia intracraneal previa o accidente cerebrovascular de origen desconocido en cualquier momento.
- Accidente cerebrovascular isquémico en los 6 meses precedentes.
- Daño en el sistema nervioso central o neoplasia o malformación arteriovenosa.
- Trauma/cirugía/lesión craneal importante reciente (3 semanas precedentes).
- Hemorragia gastrointestinal en el último mes.
- Trastorno hemorrágico conocido (excluida la menstruación).
- Disección de aorta.
- Punciones no compresibles en las últimas 24 horas (como biopsias hepáticas o punciones lumbares).

Las guías también describen las siguientes contraindicaciones relativas<sup>11</sup>:

- Accidente isquémico transitorio en los 6 meses precedentes.
- Tratamiento anticoagulante oral.
- Gestación o primera semana postparto.
- Hipertensión severa o estadio 3 (presión arterial sistólica > 180 mmHg o presión arterial diastólica > 110 mmHg).
- Enfermedad hepática avanzada.
- Endocarditis infecciosa.
- Úlcera péptica activa.
- Reanimación prolongada o traumática.

### **1.3.1.3 Cirugía de Revascularización Coronaria**

Este tipo de cirugía consiste en la anastomosis de una o ambas arterias mamarias con la arteria coronaria afectada, en la porción distal a la estenosis. En ocasiones, hay que revascularizar varias arterias coronarias por la presencia de otras obstrucciones. En esos casos se opta por injertos de arteria radial o bien injertos venosos (generalmente safena) que se anastomosan proximalmente con la aorta y distalmente con la arteria coronaria (distal a la lesión obstructiva).

Fue Garrett en 1964 el que llevó a cabo el primer injerto de derivación coronaria siendo Kolessov en 1967 y Green en 1970 los que utilizaron por primera vez la arteria mamaria interna para el injerto.

La cirugía se realiza bajo anestesia general y la vía de acceso es mediante esternotomía media. Tras una adecuada anticoagulación se procederá a iniciar la circulación extracorpórea. Esto permitirá mantener una adecuada oxigenación de la sangre y de los tejidos al margen del corazón. La sangre venosa que procede de las venas cavas pasa, propulsada por una bomba, a través de un intercambiador (que permitirá enfriar o calentar la sangre) y posteriormente a través de un oxigenador de membrana o burbuja, volviendo oxigenada al torrente vascular del paciente por la aorta. Este “aislamiento” circulatorio del corazón permite la cardioplejia, es decir, detención de la actividad mecánica y eléctrica del corazón en diástole durante el proceso quirúrgico, lo que disminuye el daño de los tejidos durante la intervención. Aunque en la mayoría de los hospitales la esternotomía convencional sigue constituyendo la normal, la derivación aortocoronaria “sin bomba”, con el corazón latiendo, puede eliminar la

## Introducción

---

isquemia miocárdica global intraoperatoria y suponer una opción quirúrgica aceptable para los pacientes que han sufrido un infarto de miocardio<sup>21</sup>.

Cada vez es más frecuente el uso de abordajes menos invasivos realizándose toracotomías anteriores y laterales, esternotomías parciales e incisiones epigástricas<sup>22</sup>. Este tipo intervenciones mínimamente invasivas puede realizarse con circulación extracorporea o sin ella.

Pese a tratarse de una cirugía compleja, la mortalidad es inferior al 1%<sup>23</sup> cuando es realizada por un equipo experimentado, aunque hay factores que condicionan un aumento de la mortalidad como pueden ser la edad avanzada, las comorbilidades o el grado de disfunción ventricular que el paciente presenta en el momento de la cirugía.

Con vistas a la revascularización a largo plazo, los injertos arteriales presentan una clara mayor durabilidad que los venosos, por lo que los injertos arteriales se suelen realizar sobre las arterias con mayor trayecto y que aportan perfusión al mayor territorio miocárdico (típicamente, arteria mamaria izquierda anastomosada a descendente anterior, rama de la coronaria izquierda). Aunque no hay duda sobre los beneficios de un único injerto de arteria mamaria respecto a un injerto de vena safena sola, está menos aceptada la superioridad de los injertos de arteria mamaria bilaterales respecto a un único injerto de arteria mamaria y un injerto de safena<sup>21,24</sup>. La aparición de complicaciones postoperatorias como hemorragias, infecciones o necesidad de soporte ventilatorio prolongado han hecho surgir dudas acerca del uso del doble injerto de mamaria.

Porque muchas veces la elección de manejo intervencionista o quirúrgico no está exento de polémica, se recomienda la formación de un equipo multidisciplinar (*Heart Team* o Equipo del Corazón) formado por cardiólogos clínicos, hemodinamistas y cirujanos que estudien cada caso de manera individualizada y decidan la mejor actitud. En el caso del SCACEST la indicación de cirugía de revascularización queda relegada a los casos en los que la arteria responsable del infarto permanezca abierta y la anatomía coronaria no sea favorable para tratamiento intervencionista habiendo una zona importante de miocardio en juego, pudiendo valorarse también esta opción en caso de requerirse reparación de complicación mecánica o si el paciente presenta shock cardiogénico y anatomía no favorable para tratamiento percutáneo. Surge más controversia sin embargo en el caso del SCASEST o de la enfermedad coronaria estable. En estos casos queda clara la indicación quirúrgica en aquellos casos en los que se encuentre enfermedad severa de tronco común izquierdo o de tres vasos con un valor de la escala SYNTAX<sup>25</sup> mayor de 22. De igual manera, también se puede optar por esta opción en lesiones que afecten a uno o dos vasos siendo uno de ellos la porción proximal de la arteria descendente anterior<sup>26</sup>.

### **1.3.2 Recomendaciones de Reperusión según las Guías de Práctica Clínica.**

Según recomiendan las guías de práctica clínica<sup>11</sup>, en pacientes con una presentación clínica del **SCACEST** dentro de las primeras 12 horas desde el inicio de los síntomas, y con elevación persisten del segmento ST o bloqueo de rama nuevo, se debe realizar una reperusión mecánica precoz o farmacológica lo antes posible. El uso de una u otra

## Introducción

---

terapia de reperfusión depende las posibilidades técnicas del centro sanitario donde nos encontremos. La angioplastia primaria es la estrategia de reperfusión preferida ya que ha demostrado unas menores tasas de mortalidad evitando los riesgos de sangrado propios de la fibrinólisis. Si bien, el intento de repermeabilización de la arteria no debe prologar el tiempo de espera. Por ello, en los casos en lo que no se pueda realizar angioplastia primaria en los primeros 120 minutos, se debe considerar la opción de fibrinólisis. Las guías hacen un especial hincapié en este punto en que todos estos procedimientos se deben realizar por personal bien entrenado y con un equipo técnico y personal de apoyo completo, especialmente cuando se hablamos de la realización de una angioplastia primaria. Existe una tercera opción terapéutica consistente en la cirugía coronaria. En el caso de SCACEST, el número de pacientes que requiere cirugía es muy bajo aunque puede ser necesaria en aquellos casos con anatomía coronaria no apta para revascularización percutánea o en aquellos pacientes que presentan complicaciones durante la angioplastia.

Cuando nos referimos al **SCASEST**, la revascularización alivia los síntomas, acorta el ingreso hospitalario y mejora el pronóstico, aunque las indicaciones y el momento para la revascularización miocárdica y la elección del manejo adecuado (angioplastia o cirugía) dependen de muchos factores, como el estado del paciente, la presencia de características de riesgo, las comorbilidades y la extensión y la gravedad de las lesiones identificadas por angiografía coronaria<sup>27</sup>. Aunque excluidos en la mayoría de los estudios, se acepta la realización angioplastia inmediata a aquellos pacientes con SCASEST de muy alto riesgo. Dentro de este grupo se incluyen a aquellos con inestabilidad hemodinámica, que presenten alteraciones arrítmicas que supongan un

riesgo vital, o bien angina refractaria a tratamiento o insuficiencia cardiaca grave. En ellos se recomienda realización de intervencionismo coronario percutánea en menos de 2 horas. Por otro lado, estudios como el TIMACS<sup>28</sup> o el ACUITY<sup>29</sup> se unen a otros estudios que apoyan la idea de un mayor beneficio de la estrategia invasiva antes de 24 horas en paciente de alto riesgo. Según indican la guías<sup>27</sup>, en subgrupos de más bajo riesgo con una clasificación GRACE<sup>30</sup> menor de 140 pero con al menos un criterio de alto riesgo, se puede retrasar la evaluación invasiva sin aumentar el riesgo, pero debe realizarse durante el ingreso hospitalario, preferiblemente dentro de las primeras 72 horas del ingreso. En cuanto a la opción de revascularización quirúrgica, en los pacientes estabilizados después de un episodio de SCA, la selección de la modalidad de la revascularización puede hacerse como en la cardiopatía isquémica estable<sup>31</sup>. Una vez visualizado el árbol coronario, especialmente en los casos de enfermedad de multivaso, habrá que elegir entre tratar la lesión causal o todas las lesiones y hacerlo de manera intervencionista, quirúrgica o combinada. Un grupo de especialistas multidisciplinario (*Heart Team*) deberá estudiar de manera individualizada el caso y decidir la mejor actitud terapéutica que suponga un mayor beneficio y menor riesgo para el paciente.

### **1.3.3 Manejo Farmacológico del Síndrome Coronario Agudo**

Desde el punto de vista farmacológico, ha quedado sobradamente demostrada la efectividad de la doble antiagregación en el manejo del síndrome coronario agudo.

En el caso del **SCACEST**<sup>11</sup>, el paciente debe recibir una combinación de doble antiagregación plaquetaria con aspirina y un antagonista del receptor de adenosina

## Introducción

---

difosfato (ADP) de la manera más precoz posible, antes de la angiografía, y un anticoagulante parenteral. Se recomienda la administración de 150-300 mg de aspirina por vía oral. En el caso de los antagonistas del receptor de adenosina difosfato se puede emplear clopidogrel (dosis de carga recomendada de 600 mg vía oral, dosis de mantenimiento 75 mg/24 horas), ticagrelor (dosis de carga 180 mg vía oral, dosis de mantenimiento 90 mg/12 horas) o prasugrel (dosis de carga 60 mg vía oral, dosis de mantenimiento 10 mg/24 horas). Las opciones de anticoagulación para la angioplastia primaria incluyen heparina no fraccionada, enoxaparina y bivalirudina, ajustando cada una de ellas en función de peso y función renal si procede. También se puede considerar el uso de la familia farmacológica de los inhibidores de la glicoproteína IIb/IIIa (IGP IIb/IIIa) en los casos en los que durante la angioplastia se observe la presencia de trombo masivo, flujo lento, no-reflujo o complicación trombótica, así como su uso rutinario en como tratamiento coadyuvante en caso de angioplastia primaria llevada a cabo con heparina no fraccionada, siempre y cuando no haya contraindicaciones<sup>32,33</sup>. También se puede considerar el uso de IGP IIb/IIIa previo a la angioplastia en aquellos pacientes de alto riesgo.

En el caso de emplear tratamiento fibrinolítico, se mantiene la recomendación de doble antiagregación con aspirina (150-300 mg por vía oral como dosis inicial) y clopidogrel (dosis de carga 300 mg por vía oral seguido de 75 mg/día como dosis de mantenimiento). El prasugrel y el ticagrelor no se han investigado como tratamiento coadyuvante en la fibrinólisis, por lo que no deben emplearse. Tampoco hay muchos estudios que respalden el uso de IGP IIb/IIIa. En el caso de la anticoagulación, se puede emplear heparina no fraccionada y enoxaparina, ambas con estrecha vigilancia por el

## Introducción

---

riesgo hemorrágico, y ajustando dosis si es preciso, especialmente en el caso de la enoxaparina en pacientes > 75 años y/o con disfunción renal.

En el caso del **SCASEST**, las recomendaciones farmacológicas de las guías difieren de escasos aspectos con respecto a las establecidas en las guías para el manejo del SCACEST. Con una indicación clase I y nivel de evidencia A<sup>27</sup>, se debe administrar aspirina a todos los pacientes que no tengan contraindicaciones para una dosis de carga inicial de 150-300 mg y una dosis de mantenimiento de 75-100 mg diarios a largo plazo independientemente de la estrategia de tratamiento. Igualmente categóricos se muestran con la necesidad de asociación de un antagonista del receptor de adenosina difosfato de la manera más precoz posible. Se contempla el uso de ticagrelor (dosis de carga de 180 mg por vía oral seguido de una dosis de mantenimiento de 90 mg/12 horas), prasugrel (dosis de carga de 60 mg vía oral, dosis de mantenimiento 10 mg cada 24 horas) y clopidogrel (dosis de carga de 300 mg vía oral, o 600 mg si van a ser sometidos a intervencionismo coronario percutáneo, seguido de una dosis de mantenimiento de 75 mg al día). La duración de la asociación de los dos antiagregantes debe ser durante al menos un año siempre que el riesgo hemorrágico del paciente valorado de manera individual lo permita, procediendo a la suspensión del antagonista del ADP transcurrido este tiempo y permaneciendo de manera indefinida, siempre que no haya contraindicación, con aspirina.

En el caso de los inhibidores de la glicoproteína IIb/IIIa (eptifibatida, tirofiban), la decisión de combinarlos con fármacos antiplaquetarios y anticoagulantes debe tomarse en relación con el riesgo de episodios isquémicos y hemorrágicos. Si el

## Introducción

---

paciente ya está tomando doble terapia con antiagregantes, en los casos de los que la angioplastia muestre la presencia de abundante trombo o haya una importante elevación de troponinas, se puede asociar el uso de IGP IIb/IIIa siempre y cuando el riesgo hemorrágico sea bajo. Igualmente se debe considerar el uso de IGP IIb/IIIa antes de la coronariografía en SCASEST de alto riesgo que no hayan recibido la dosis de carga de clopidogrel, prasugrel o ticagrelor. También se puede considerar la administración de eptifibatida o tirofiban a pacientes de alto riesgo que ya reciben antiagregación plaquetaria doble, antes de la angiografía precoz, si hay isquemia en curso y el riesgo hemorrágico es bajo<sup>27</sup>.

En cuanto al tratamiento anticoagulante, está recomendado su uso en todos los pacientes con SCASEST asociado a tratamiento antiplaquetario. La elección del tipo de anticoagulante se debe realizar en base al riesgo hemorrágico e isquémico, y según el perfil de seguridad y eficacia el fármaco seleccionado. Los tratamientos anticoagulantes aceptados en las guías de práctica clínica son fondaparinux, heparina de bajo peso molecular, heparina no fraccionada y bivalirudina.

El fondaparinux es el único inhibidor selectivo del factor X activado disponible para uso clínico y la dosis recomendada en los SCA es de 2,5 mg al día<sup>34,35</sup>. En el caso de uso de fondaparinux, se debe utilizar un bolo de dosis estándar de heparina no fraccionada durante la angioplastia.

Las heparinas de bajo peso molecular, especialmente la enoxaparina por tener mayor número de estudios que avalan su efectividad, son otra opción terapéutica anticoagulante en el SCASEST. La administración suele ser subcutánea y dos veces al día, y la dosis varía en función del peso corporal del paciente (en el caso de la

## Introducción

---

enoxaparina, la dosis aceptada es de 1-1,25 mg/kg dos veces al día). Sin embargo, la actividad de la enoxaparina no se puede monitorizar como ocurre con la heparina no fraccionada. Por este motivo, cuando angioplastia se realiza en las 8 horas siguientes a la última administración subcutánea, no se recomienda una dosis adicional durante el intervencionismo, mientras que se recomienda un bolo adicional intravenoso de 0,3 mg/kg cuando hayan pasado más de 8 horas desde la última administración.

La heparina no fraccionada presenta una ventana terapéutica estrecha, lo que obliga a una monitorización estrecha que nos permita un ajuste adecuado. Esta monitorización se realiza mediante el tiempo de tromboplastina activado (TTPA), cuyo valor objetivo debe ser entre 50 y 75 segundos (valores por debajo 50 segundos implicarían un bajo nivel antitrombótico y valores mayores de 75 aumentan de manera considerable el riesgo hemorrágico). Este tipo de heparinas presenta una mala absorción por vía subcutánea, por lo que la vía de administración preferida es la intravenosa. Al igual que en el caso de las no fraccionadas, la dosis debe ser ajustada según el peso del paciente. Se recomienda un bolo inicial de 60-70 UI/kg (hasta un máximo de 5.000 UI) seguido de una infusión inicial de 12-15 UI/kg (hasta un máximo de 1.000 UI/h) que se irá ajustando según valores de TTPA<sup>36</sup>. En el contexto del intervencionismo coronario percutáneo, la heparina no fraccionada se administra como bolo intravenoso, ya sea guiado por el tiempo de activación de la coagulación -ACT- (tiempo de activación de la coagulación en 250-300 segundos o 200-250 segundos si se administra un inhibidor del receptor de la glicoproteína IIb/IIIa) o ajustado por el peso (normalmente 70-100 UI/kg o 50-60 UI/kg en combinación con inhibidor del receptor de la glicoproteína IIb/IIIa)<sup>27,36</sup>. Se deberá ajustar la dosis de bolo inicial de heparina no fraccionada según

## Introducción

---

el valor del tiempo de activación de la coagulación en aquellos casos en los que el paciente llegue al laboratorio de hemodinámica con la perfusión de heparina intravenosa.

La bivalirudina es un inhibidor directo de la trombina y es el único aceptado actualmente para su uso en el contexto de intervencionismo coronario percutáneo y síndrome coronario agudo. Su efecto anticoagulante es más predecible que otros fármacos antiacoagulantes debido a que no se unen a proteínas plasmáticas. Aun así, su actividad se puede monitorizar mediante valores de TTPA y tiempo de activación de la coagulación. En el estudio ACUITY<sup>37</sup> se aleatorizaron un total de 13819 pacientes con SCA de riesgo moderado o alto, que se distribuyeron en tres brazos en función de la medicación recibida en el momento del intervencionismo: heparina (no fraccionada o enoxaparina) junto con inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa, bivalirudina junto con inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa, o bivalirudina sola. Se evaluaron la aparición a 30 días de eventos adversos de tipo isquémico y hemorrágico. Al comparar el tratamiento con bivalirudina + GPI versus heparina + GPI, no encontraron diferencias en aparición de eventos isquémicos ni hemorrágicos entre los grupos. Si bien, al comparar el grupo de bivalirudina sola frente al grupo de heparina más inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa, se obtuvieron resultados similares en cuanto a eventos isquémicos con una menor tasa de hemorragias mayores en el primer grupo<sup>37</sup>. En el estudio HORIZONS-AMI<sup>38</sup> también se comparó el tratamiento con bivalirudina frente a heparina más inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa, esta vez en pacientes con infarto agudo de miocardio con elevación persistente de ST y que iban a ser sometidos a angioplastia primaria. Tras estudiar a 3602 pacientes observaron una reducción de las tasas de

sangrado mayor (RR = 0,60,  $p < 0.001$ ) y de eventos clínicos netos (RR = 0.76,  $p = 0.005$ ) a favor del brazo de la bivalirudina. Similares resultados se obtuvieron en el estudio EUROMAX<sup>39</sup> en el que se reclutaron un total de 2198 pacientes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio y que fueron randomizados durante transporte sanitario a tratamiento con bivalirudina o heparina (en este último grupo se permitió la asociación de un inhibidor de la glicoproteína IIb/IIIa según criterio del operador). Observaron que el uso de bivalirudina, iniciada durante el transporte sanitario para angioplastia primaria, reduce los eventos de sangrado mayor comparado el uso de heparina asociada a inhibidor de la glicoproteína (tanto de rutina como de rescate).

### **1.4 Metabolismo del Clopidogrel**

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* (proteína ATP-dependiente codificada en el gen *ABCB1* y localizada en la pared celular del epitelio a nivel intestinal responsable de la resistencia a diferentes fármacos). 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%<sup>40</sup>. 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 paraoxonasa-1 (*PON1*)<sup>41-43</sup>. 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.

### **1.5 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 adenosin 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 clínicos<sup>44-46</sup>.

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

## Introducción

---

efecto final. Se sabe además que el efecto neto de clopidogrel está determinado por un proceso multifactorial donde también influyen factores ambientales<sup>47-49</sup>. En la revisión realizada por el grupo de Angiolillo<sup>48</sup> 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 asiáticos<sup>50</sup>. La mayoría de las publicaciones al respecto no han encontrado una asociación significativa del polimorfismo *C3435T* y la incidencia de MACE<sup>51,52</sup>. 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 estudiados son los \*2 y \*3, no habiendo mostrado la mayoría de ellos una relación significativa con el efecto del clopidogrel<sup>53</sup>. Sin embargo, otros autores como Harmsze<sup>54</sup> encontraron una asociación entre la presencia del *CYP2C9*\*3 y el desarrollo de trombosis del stent.

## Introducción

---

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 previo<sup>55</sup> ni con el riesgo de trombosis del stent en pacientes revascularizados mediante angioplastia percutánea<sup>54</sup>.

Similar ausencia de asociación muestran los estudios entre los polimorfismo del *CYP3A5* y eventos clínicos excepto en el estudio de Suh et al<sup>56</sup>. en el que observaron que la presencia 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 ultrarápidos<sup>57</sup>.

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 stent<sup>58</sup>.

El segundo grupo descrito por Angiolillo<sup>48</sup> 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 insoenzima *CYP1A2*. También se ha señalado la posible interacción con otros fármacos, sobre todo estatinas, inhibidores de la bomba de protones o calcioantagonistas.

### 1.5.1 Variabilidad Genética

Se cree que aproximadamente una de cada cuatro prescripciones farmacológicas puede estar condicionada por polimorfismos genéticos<sup>59</sup>. Así estas variantes genéticas pueden afectar a la seguridad y eficacia de los fármacos, sin embargo su aplicación es

## Introducción

---

actualmente limitada en la práctica diaria<sup>60</sup>. Como se ha mencionado, el clopidogrel es un fármaco que experimenta una transformación en dos pasos que tienen lugar en el hígado antes de ejercer una inhibición irreversible sobre el receptor plaquetario del adenosin-difosfato (ADP) P2Y<sub>12</sub><sup>61</sup>. En esta biotransformación las isoenzimas del grupo P450, como la familia *CYP2C19*, desempeñan un papel principal como demostraron, entre otros, Hulot y su equipo<sup>62</sup>. Para ello realizaron un estudio con 28 sujetos jóvenes sanos, no fumadores y con un estado físico y analítico normal, además de un recuento y función plaquetaria normales. Se procedió a la determinación de las diferentes isoenzimas relacionadas con el metabolismo del clopidogrel que habían sido descritas hasta el momento. Tras estudiar la relación de los polimorfismos con la respuesta al clopidogrel, no se observó influencia de *CYP2B6*, *CYP3A5* ni *CYP1A2* en la respuesta al clopidogrel. Sin embargo, sí se observó una fuerte influencia del *CYP2C19*, encontrando que los sujetos portadores del alelo *CYP2C19\*1* (o *wild type*) presentaban una disminución progresiva de la agregación plaquetaria conforme mantenían el tratamiento con clopidogrel, mientras que los portadores heterocigotos del alelo *\*2* (no hubo ningún sujeto homocigoto *\*2/\*2* en la muestra) no presentaron cambios en la agregabilidad pese al tratamiento. Otros muchos estudios publicados muestran la relación encontrada en la presencia de alelos de pérdida de función (*\*2*) del *CYP2C19* con una respuesta atenuada a clopidogrel. Simon et al<sup>63</sup>. reclutaron a 2208 pacientes con infarto agudo de miocardio que recibían tratamiento con clopidogrel a los que se les realizó un análisis de las variantes alélicas relacionadas, tanto con la absorción (*ABCB1*) , como con la activación metabólica (*CYP3A5* y *CYP2C19*) y la actividad biológica (*P2RY12* [gen que codifica el receptor de ADP] e *ITGB3* [gen que codifica el

## Introducción

---

receptor de la glicoproteína IIb/IIIa]). El objetivo primario del estudio fue establecer la relación entre dichos alelos y el riesgo de muerte por cualquier causa, ictus no fatal o infarto de miocardio durante el primer año de seguimiento. No se encontraron datos sugestivos de asociación entre eventos adversos y los polimorfismos de *CYP3A5*, *P2RY12* o *ITGB3*. Sin embargo, la presencia de dos variantes alélicas del *ABCB1* (TT) tuvo una mayor tasa de eventos cardiovasculares que aquellos con el genotipo nativo (CC). De igual manera, los portadores de dos alelos de pérdida de función del *CYP2C19* (\*2, \*3, \*4 o \*5) presentaron un mayor número de eventos adversos que los no portadores. De hecho, de los 1535 que fueron sometidos a intervencionismo coronario durante la hospitalización, los portadores de dos alelos de pérdida de función presentaron una tasa de eventos cardiovasculares 3.58 veces mayor que los no portadores (IC 95% 1.71-7.51). Similares resultados obtuvo Collet y su equipo<sup>64</sup> cuando determinaron la presencia del *CYP2C19*\*2 a los 259 pacientes que habían sufrido un infarto agudo de miocardio y se encontraban bajo tratamiento con clopidogrel. El objetivo del estudio fue el compuesto por muerte, infarto de miocardio y necesidad de revascularización urgente durante el tratamiento con clopidogrel. También analizaron la incidencia de trombosis del stent. Tras la obtención y análisis de datos, encontraron que el evento primario se produjo de manera más frecuente (HR 3.69, IC 95% 1.69-8.05, p = 0.0005) en el grupo de portadores del alelo \*2, al igual que ocurría en el caso de trombosis del stent (HR 6.02, IC 95% 1.81-20.04, p = 0.0009), manteniéndose ese descenso de actividad del clopidogrel desde los 6 meses del inicio de tratamiento hasta el final del seguimiento. Tras la realización de análisis multivariado, tan solo la presencia del *CYP2C19*\*2 resultó predictor independiente de eventos cardiovasculares

## Introducción

---

(HR 4.04, IC 95% 1.81-9.02,  $p = 0.0006$ ). En el caso del estudio de Mega<sup>53</sup> se analizaron las variantes genéticas del citocromo P450, la concentración plasmática de metabolito activo del clopidogrel y la inhibición plaquetaria en respuesta al fármaco de 162 sujetos sanos. Los datos obtenidos se utilizaron para analizar la asociación entre las variaciones genéticas y los eventos cardiovasculares de una cohorte 1477 pacientes participantes en el estudio TRITON-TIMI 38. Observaron que en el grupo de sujetos sanos, los portadores de al menos un alelo de pérdida de función de *CYP2C19* presentaban un 32.4% menos de metabolito activo de clopidogrel en plasma así como una reducción de la inhibición plaquetar en respuesta a clopidogrel. En el caso de los sujetos tratados con clopidogrel pertenecientes al estudio TRITON-TIMI 39, los portadores del alelo de pérdida de función mostraron un aumento relativo del 53% en el evento primario compuesto de muerte por causa cardiovascular, infarto de miocardio o ictus en comparación con los no portadores (HR 1.53, IC 95% 1.07-2.19,  $p = 0.01$ ) multiplicando por 3 el riesgo de trombosis del stent. Similares resultados obtuvieron Shuldiner y su grupo<sup>65</sup> en su estudio PAPI (Pharmacogenomics of Antiplatelet Intervention) en el que administraron clopidogrel durante 7 días a 429 individuos sanos a los que se les realizó test de agregometría además de estudio genético en busca del alelo de pérdida de función *CYP2C19*\*2. Con dichos resultados, se amplió el estudio para analizar la relación de dicho alelo con la incidencia de eventos cardiovasculares en 227 pacientes que iban a ser sometidos a intervencionismo coronario. Los autores encontraron un importante componente hereditario en la respuesta al clopidogrel ( $h^2 = 0.73$ ,  $p < 0.001$ ), asociando 13 polimorfismos dentro del cromosoma 10q24 con una dismunción de respuesta a

## Introducción

---

clopidogrel, especialmente con el polimorfismo *CYP2C19\*2*, en el que se observó una variabilidad del 12% de la agregación plaquetaria. Esta relación entre el polimorfismo y la agregabilidad plaquetaria se mantuvo en el grupo tratado con clopidogrel que fue sometido a angioplastia coronaria, que además presentaron una mayor tasa de eventos isquémicos cardiovasculares o muerte durante el primer año de seguimiento.

Contrariamente, la presencia de alelos de ganancia de función (*\*17*) puede conllevar un mayor efecto del mismo. Estudios como el de Sibbing et al<sup>66</sup>. van a favor de esta teoría. Incluyeron a 1524 pacientes sometidos a intervencionismo coronario percutáneo pre-tratados con 600 mg de clopidogrel. El genotipado se realizó mediante sonda TaqMan<sup>®</sup> y la agregación plaquetaria se midió mediante el analizador Multiplate<sup>®</sup>. Los objetivos primarios de seguridad y eficacia fueron la incidencia de sangrado según criterios TIMI y de trombosis del stent a los 30 días respectivamente. Los resultados mostraron que la presencia del alelo *\*17* en su forma homo (*\*17/\*17*) o heterocigota (*\*1/\*17*) implicaba una menor agregación plaquetaria inducida por ADP frente a los portadores homocigotos del alelo nativo (*\*1/\*1*), así como un mayor riesgo de sangrado, siendo especialmente mayor para las presentaciones homocigotas del *\*17*. En el análisis multivariado se confirmó la asociación independiente entre el alelo *CYP2C19\*17* con la agregación plaquetaria ( $p < 0.001$ ) y con la incidencia de sangrado ( $p = 0.006$ ). No se encontró asociación con la aparición de trombosis del stent ( $p = 0.79$ ).

Igualmente se ha sugerido que la paroxonasa 1 (PON-1) podría influir también en el metabolismo de clopidogrel tal y como publica Bouman<sup>67</sup>. Llevaron a cabo un estudio de casos-control con individuos diagnosticados de enfermedad coronaria que fueron

## Introducción

---

sometidos a angioplastia coronaria percutánea y recibieron tratamiento con clopidogrel. Su intención era relacionar la presencia y actividad del polimorfismo *PON-1 Q192R*, la actividad del enzima *PON-1*, la farmacocinética del clopidogrel, la respuesta plaquetar y el riesgo de trombosis del stent. Para ello compararon 41 casos de trombosis de stent frente a 71 sujetos sin trombosis elegidos al azar de una cohorte de 7719 individuos, con un seguimiento de 18 meses. La presencia de individuos homocigotos *QQ192* fue más frecuente en el grupo de trombosis del stent que en el grupo control (OR 3.6, IC 95% 1.6-7.9,  $p = 0.003$ ), de igual manera que la trombosis temprana se observó de manera significativamente más frecuente en este grupo que en los portadores *QR192* o *RR192*. En este caso, las variantes genéticas de *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP3A4*, *CYP3A5* y *ABCB1* no se relacionaron de manera significativa con la trombosis del stent como otros estudios ya citados. En el estudio multivariable, el genotipo *PON-1 Q192R* fue el único factor que se relacionó de manera independiente con la incidencia de trombosis del stent. También se observó que tras la administración de 600 mg de clopidogrel, los individuos que sufrieron trombosis del stent durante el seguimiento presentaron menor concentración plasmática de metabolito activo, una mayor concentración de 2-oxo-clopidogrel y una menor inhibición de la agregación plaquetaria comparado con los participantes que no sufrieron trombosis del stent. Los parámetros de actividad del clopidogrel presentaron similar valor predictivo que el genotipo *PON-1 Q192R* para riesgo de trombosis del stent tanto en el análisis univariado como el mutivariado. Al realizar el ajuste individual de las variables de actividad del clopidogrel se observó una fuerte interacción entre el genotipo *PON-1* y los marcadores de actividad del fármaco. A la vista de los resultados,

y con intención de confirmar los hallazgos, ampliaron el estudio con una cohorte prospectiva de 1982 individuos con síndrome coronario agudo y realizaron un seguimiento de 12 meses. Los resultados confirmaron lo encontrado en el estudio de casos-control con un hazard ratio ajustado de trombosis del stent fatal y no fatal en los individuos *PON-1 QQ192* versus *PON-1 RR192* de 10.20 (IC 95% 4.39-71.43,  $p < 0.001$ ). También significativo desde el punto de vista estadístico pero no de forma tan fuerte fue el riesgo encontrado para los endpoints secundarios de infarto de miocardio y el compuesto de muerte vascular, infarto de miocardio no fatal e ictus isquémico no fatal.

Sin embargo el problema de la variabilidad interindividual del efecto de clopidogrel es complejo, todavía incompletamente conocido y precisa de una mayor investigación. En esta línea, estudios indican que en su conjunto la dieta, medicación concomitante, tabaquismo, ingesta de alcohol, adherencia terapéutica, factores demográficos y una batería de polimorfismos genéticos (entre los que se incluyen a *CYP2C19* y *PON-1*) sólo justificarían una parte pequeña de dicha variabilidad interindividual<sup>65</sup>, lo que se ha cuantificado en un 18%<sup>68</sup>.

### **1.6 Estimación de la Agregabilidad Plaquetar**

Por otra parte el objetivo de lograr una terapia antiagregante ajustada en forma y dosis para cada paciente y basada en la información obtenida de estos analizadores ha propulsado el desarrollo de múltiples estudios. Sin embargo, a pesar de la importancia de la cuantificación de la magnitud del efecto antiagregante, no existe en la actualidad

## Introducción

---

consenso acerca del método de elección a este respecto y pocos son los estudios que han comparado los distintos sistemas de medición del efecto antiagregante existentes en la actualidad. Además investigadores han señalado que podría existir una baja correlación entre las pruebas de función plaquetaria<sup>69,70</sup>, así como una no uniforme asociación con eventos clínicos adversos<sup>46</sup>. En el estudio GRAVITAS<sup>70</sup> (Gaunging Responsiveness With A VerifyNow P2Y12 Assay: Impact on Thrombosis and Safety) se reclutaron un total de 2800 pacientes que había recibido tratamiento con clopidogrel a las dosis estándar, de los que se obtuvieron datos de función plaquetar medida mediante el sistema VerifyNow® (Accumetrics, San Diego, CA) a las 12-24 horas y 30±7 tras intervencionismo coronario percutáneo. Se estableció como objetivo primario el combinado de muerte cardiovascular, infarto de miocardio no fatal y trombosis del stent. Tras ajustar por otros predictores significativos, se observó que unidades de reactividad del P2Y12 <208 se relacionaban con el objetivo primario a los 60 días (hazard ratio 0.23, intervalo de confianza 95% 0.05-0.98; p 0.047) con tendencia a la asociación a los 6 meses de seguimiento (hazard ratio ajustado 0.54, intervalo de confianza 95% 0.28-1.04; p 0.065). Breet et al.<sup>46</sup> analizaron un total de 1069 pacientes a los que realizaron diferentes test de función plaquetaria, que incluían el sistema VerifyNow® además de agregometría por transmitancia lumínica, el sistema Plateletworks® (Helena Laboratories, Beaumont, Texas), el sistema Impact-R® (Matis Medical, Bélgica) y el sistema Platelet Function Analyzer-100® (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Deerfield, IL). Definieron el end-point primario como el combinado de muerte por cualquier causa, infarto agudo de miocardio no fatal, trombosis del stent e ictus isquémico. El objetivo primario de seguridad incluyó los criterios TIMI

## Introducción

---

(Thrombolysis In Myocardial Infarction) de sangrado mayor y menor. Tras un año de seguimiento concluyeron que tan solo la agregometría por transmitancia lumínica y los sistemas VerifyNow® y Plateletworks® se relacionaron con el objetivo primario aunque la capacidad predictiva para estos eventos fue únicamente moderada. Ninguno de los test aportó capacidad pronóstica para identificar el riesgo de sangrado tras implantación de stent. Diferentes resultados encontró Michelson<sup>41</sup> al comparar múltiples métodos de medida de función plaquetaria: agregometría plaquetaria; agregometría por impedancia; VerifyNow® (Accumetrics, San Diego, CA); PlateletWorks® (Helena Laboratories, Beaumont, TX); P-selectina de la superficie plaquetar, glicoproteína IIb/IIIa activada de la superficie plaquetar y agregados leucocito-plaqueta; TEG Platelet Mapping system® (Haemoscope, Niles, IL); Impact cone and plate(let) analyzer (DiaMed, Cressier, Switzerland); Platelet Function Analyzer-100 (Siemens Healthcare Diagnostics, Inc., Deerfield, IL); fosforilación de la fosfoproteína estimulada por vasodilatadores; tromboxano B(2) sérico; y el 11-dehidro tromboxano B(2) urinario. Algunos de los factores que diferenciaron estas pruebas fueron los requisitos de volumen de muestra, el uso de sangre total, el establecimiento de puntos de corte, la necesidad de un técnico y los gastos, no pudiéndose establecer relación clara con la presentación de eventos adversos.

Los sistemas VerifyNow® y Multiplate® constituyen probablemente los analizadores “a la cabecera del enfermo” (*point-of-care*) de uso más extendido en nuestro medio ya que ofrecen sus resultados de forma rápida, son reproducibles, se pueden manejar de forma relativamente sencilla y por personal no necesariamente de laboratorio.

## Introducción

---

En un contexto pronóstico, si la medición de la elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel<sup>71-73</sup> y/o la detección de polimorfismos implicados en el metabolismo de clopidogrel<sup>74-76</sup> son útiles para predecir el futuro de nuestros pacientes sigue sin estar totalmente esclarecido ya que los resultados de los estudios son contradictorios<sup>71-76</sup>.

En pacientes sometidos a intervencionismo coronario, estudios previos<sup>77,78</sup> han reportado asociación entre la elevada reactividad plaquetar y la aparición de infarto de miocardio (IM) periprocedimiento, a pesar de tratarse de un evento multifactorial como es sabido<sup>79</sup>.

Se trata por lo tanto de un escenario clínico de gran importancia y con potenciales consecuencias en el manejo diario de nuestros pacientes.

## **2. Hipótesis y** **Justificación de la Tesis**

## Hipótesis y Justificación

---

La elevada prevalencia de la enfermedad aterosclerótica junto con las implicaciones, tanto clínicas como económicas, de patologías frecuentes como el SCA obligan al estudio continuo de la fisiopatología y terapéutica de estas enfermedades con el fin de disminuir su incidencia y sus complicaciones.

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 pese a la toma de clopidogrel (ERPATC).

Aunque se han planteado diferentes variables 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.

Por todo esto, mediante el presente estudio nos planteamos la hipótesis de la variabilidad de respuesta al clopidogrel en función de la presencia o ausencia de los alelos más estudiados relacionados con el metabolismo del fármaco (CYP2C19 \*2, CYP2C19 \*17 y PON-1); así como que la presencia de dichos polimorfismos podría representar un dato útil a la hora de establecer el pronóstico de los pacientes tomadores de clopidogrel y suponer un punto clave en la definición de pacientes con ERPATC.

Con el fin de reconocer fácilmente a esos pacientes poco respondedores al clopidogrel se han desarrollado en los últimos años diferentes dispositivos, algunos de ellos “a pie

## Hipótesis y Justificación

---

de cama” que pretenden cuantificar la actividad plaquetar de manera rápida, mediante sistemas poco voluminosos, fáciles de manejar y que tan solo requieren un muestra de sangre. Entre ellos cabría destacar los sistemas VerifyNow® y Multiplate® como dos de los más utilizados.

Sin embargo, aunque ambos comparten el hecho de ser sistemas rápidos y técnicamente accesibles, en la literatura no queda clara la correlación entre los resultados de ambos dispositivo y, por tanto, su aplicabilidad clínica.

Por ello decidimos llevar a cabo un **subestudio comparativo** en el que, realizando ambas técnicas a todos los pacientes, planteamos la hipótesis de la existencia de correlación entre los resultados obtenidos con ambos dispositivos así como una correlación pronóstica, es decir, la relación entre los resultados de cada uno de ellos con los diferentes eventos adversos acaecidos en el seguimiento.

### **3. Objetivos**

# Objetivos

---

Los objetivos principales de nuestro estudio son:

## OBJETIVOS PRIMARIOS

- Cuantificar la prevalencia de la elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel (ERPATC) en pacientes con cardiopatía isquémica.
- Valorar el impacto de los polimorfismos de *CYP2C19\*2 Y \*17* y *PON1-192QR* en la ERPATC.
- Definir el perfil del paciente con ERPATC.
- Identificar los principales factores que condicionan una ERPATC.

## OBJETIVOS SECUNDARIOS

- Establecer el valor comparativo de los polimorfismos de *CYP2C19\*2 Y \*17* y *PON1-192QR* respecto a variables clínicas.
- Estudiar las implicaciones en el pronóstico de la ERPATC y de los polimorfismos de *CYP2C19\*2 Y \*17* y *PON1-192QR*.
- Valorar la concordancia del diagnóstico de ERPATC con los analizadores VerifyNow® y Multiplate®.
- Cuantificar la prevalencia de la elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con aspirina (ERPATA) en pacientes con cardiopatía isquémica.

## **4. Material y Métodos**

### 4.1 Pacientes.

Desde Junio/2011 a Diciembre/2011 se reclutaron de forma prospectiva y consecutiva los pacientes con diagnóstico de síndrome coronario agudo (SCA) definido como dolor torácico típico y elevación de marcadores de necrosis miocárdica o alteraciones de la onda T/segmento ST sugestivas de isquemia, que estuvieran recibiendo clopidogrel en “dosis estables” (se consideraron “dosis estables”  $\geq$  4 horas desde la dosis de carga de 300 ó 600mg) remitidos para coronariografía. En los pacientes en los que no se constató que hubieran recibido dosis de carga de clopidogrel, se exigió al menos 24 horas desde la primera dosis. En la **Figura 1** se esquematiza el proceso metodológico seguido para el desarrollo del estudio principal.

Para el subestudio comparativo se utilizaron los mismos criterios de inclusión que para la muestra principal, es decir, pacientes con síndrome coronario agudo bajo tratamiento con clopidogrel según los criterios mencionados previamente. Además, se incluyeron también a los pacientes con diagnóstico de angina estable definida como dolor torácico atribuible a isquemia miocárdica transitoria que se relaciona con el esfuerzo y que no ha presentado cambios en su patrón de presentación en el último mes de evolución<sup>80</sup>, siendo necesaria para su inclusión la presencia de un test objetivo de isquemia. En el caso de los pacientes con angina estable también se requirió la toma previa de clopidogrel en “dosis estables”. Para este subestudio se reclutaron pacientes en nuestro centro (Hospital Universitario de Santa Lucía de Cartagena) y paralelamente en el Hospital Universitario de Alicante. En ambos centros se establecieron protocolos para que la inclusión de los pacientes y la recogida de datos se realizasen de manera uniforme y veraz. El análisis de la reactividad plaquetar se

## Material y Métodos

---

llevó a cabo en los dos centros con equipos similares y siguiendo directrices únicas marcadas por las casas comerciales de los dispositivos VerifyNow® y Multiplate®. En la **Figura 2** se esquematiza la metodología seguida para el desarrollo del subestudio comparativo.

Con intención de evitar los sesgos de información se elaboró una plantilla de recogida de datos donde además de los datos de filiación y contacto, se recogía información clínica analítica, junto con un apartado de seguimiento que se completaba en una etapa posterior (ver apartado 4.7).

Los criterios de exclusión fueron la presencia de valvulopatías o miocardiopatías significativas (n=47), las enfermedades concomitantes con esperanza de vida < 1año (n=37), aquellos pacientes que no firmaron el consentimiento informado (n=10) y los pacientes que fueron tratados con inhibidores endovenosos del receptor IIb-IIIa de la plaqueta (n=57). Los pacientes excluidos en el subestudio comparativo con estos criterios fueron 80, 42, 12 y 75 respectivamente. De igual manera, se excluyeron en ambos casos aquellos pacientes sometidos a doble antiagregación con un fármaco diferente al clopidogrel.

El estudio fue aprobado por el comité ético local de nuestro centro y cumple con la Declaración de Helsinki de 1975 y sus actualizaciones posteriores.

### **4.2 Determinación de los polimorfismos genéticos *CYP2C19*\*2 Y \*17 y *PON1*-*Q192R*.**

Obtuvimos muestras de sangre periférica del introductor arterial en tubos con EDTA y el ADN se extrajo mediante QIAamp DNA minikit y el extractor automático de ácidos nucleicos QiaCube (Qiagen, Hilden, Germany). Los alelos del *CYP2C19* \*2 (rs4244285), \*17 (rs12248560) y *PON1*-*Q192R* (rs662) se determinaron en todos los pacientes del estudio principal mediante discriminación alélica del correspondiente polimorfismo de nucleótido simple<sup>81</sup> mediante sondas Drug-Metabolizing TaqMan y TaqMan GTXpress Master Mix, aportados por Applied Biosystems (CA, USA).

### **4.3 Evaluación de la reactividad plaquetar con VerifyNow®**

El sistema VerifyNow® (Accumetrics, San Diego, USA) 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 turbidimétrico 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 eptifibatide). 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.

### **4.3.1 Análisis de inhibidores P2Y12**

El efecto antiplaquetario de los inhibidores P2Y12 se basa en la inhibición de la activación plaquetaria mediada por adenosina difosfato (ADP). La activación plaquetar por ADP desempeña un papel clave en el desarrollo de la trombosis arterial. Cuando se libera ADP de las plaquetas activadas, éste produce la activación de otras plaquetas en circulación a través de dos receptores P2 unidos a proteína G, P2Y1 y P2Y12. Los inhibidores P2Y12 inhiben de manera irreversible la unión del ADP al receptor P2Y12 en la superficie plaquetar. Mediante el bloqueo de este receptor, estos agentes interfieren en la activación adicional de plaquetas, la degranulación y, mediante la inhibición de la modificación del receptor de la glicoproteína IIb/IIIa, la agregación.

El sistema VerifyNow® para P2Y12 realiza un análisis de sangre completa usado en laboratorios y centros sanitarios para medir el bloqueo de los receptores P2Y12. El dispositivo incorpora el agonista ADP para activar las plaquetas. También utiliza prostaglandina E1 (PGE1) para incrementar el adenosin monofosfato cíclico (AMPC) y reducir la contribución del receptor P2Y1 en la activación. Esto hace que el sistema sea más específico para el efecto del ADP en el receptor P2Y12. Mide la función plaquetar basándose en la avidéz de las plaquetas activadas por el fibrinógeno. La agregación de las micropartículas revestidas de fibrinógeno en sangre completa es proporcional al número de receptores GP IIb/IIIa de las plaquetas activadas, por lo que si se está produciendo la inhibición del P2Y12, el efecto antiplaquetario, y por tanto la

## Material y Métodos

---

agregabilidad, estarán reducidas. El sistema VerifyNow P2Y12® informa de la medida de agregación plaquetaria en “P2Y12 reaction units” (PRU) y porcentaje de inhibición. PRU informa de la cantidad de agregación mediada por ADP específica para el receptor plaquetario P2Y12, y se calcula como una función de la velocidad y extensión de la agregación plaquetaria en el canal de ADP. El porcentaje de inhibición (%) representa el cambio de agregación con respecto a la línea de base y se calcula a partir del PRU y una medida base. Esta medida base es una medida independiente basada en la velocidad y el grado de agregación plaquetaria a partir de los receptores de trombina, específicamente los receptores PAR-1 y PAR-4. Para activar las plaquetas, el canal base incorpora péptido activador de los receptores de trombina (iso-TRAP) y péptido activador de PAR-4 para los canales PAR-1 y PAR-4 respectivamente. Se obtendrán altos porcentajes de inhibición si el fármaco (clopidogrel) está produciendo el efecto antiplaquetario esperado.

### **4.3.2 Análisis de Aspirina**

El ácido araquidónico es un ácido graso omega-6 que se encuentra en muchas de las paredes celulares del cuerpo. La conversión del ácido araquidónico a tromboxano es regulada por la enzima ciclooxigenasa (COX). Existen dos isoformas de esta enzima: COX-1 que es la forma constitutiva que se encuentra en todos los tejidos y COX-2 que es inducida en los procesos inflamatorios. Sólo COX-1 está presente en las plaquetas y es fácilmente inhibida por el ácido acetilsalicílico a dosis bajas, que desactiva una enzima clave implicada en el metabolismo del araquidonato. El ácido acetilsalicílico acetila el residuo de serina en la posición 529 de la cadena de polipéptidos de la

## Material y Métodos

---

prostaglandina H sintasa (PGH sintasa), inhibiendo así la producción de PGH<sub>2</sub> que es precursor directo del tromboxano. Debido a que las plaquetas son anucleadas no regeneran fácilmente las proteínas. El efecto del ácido acetilsalicílico sobre la COX-1 es irreversible y perdura toda la vida de la plaqueta, por lo que la velocidad de generación de nuevas plaquetas para recuperar la actividad de la ciclooxigenasa es de aproximadamente un 10% al día en sujetos normales sanos. El ácido acetilsalicílico a dosis bajas es suficiente para suprimir más del 95% de la producción de tromboxano por la COX-1 y dicha supresión es capaz de inhibir la agregación plaquetaria. Sin embargo, las plaquetas afectadas por el ácido acetilsalicílico todavía pueden agregarse en presencia de potentes agonistas plaquetarios como el colágeno y la trombina. El ácido araquidónico por sí solo no activa las plaquetas por lo que constituye el método ideal para determinar el grado de actividad de la COX-1 en las plaquetas. Si la actividad de la COX-1 es inhibida por el ácido acetilsalicílico o por otros agentes similares esteroides o no esteroides, la agregación resultante será reducida o nula. Dado que la agregación plaquetaria se consigue gracias a la unión plaqueta-fibrinógeno en los puntos receptores de la glicoproteína GPIIb/IIIa, la agregación plaquetaria inducida por el ácido araquidónico puede ser reducida o nula en presencia de antagonistas del receptor GPIIb/IIIa o por una deficiencia de receptores GPIIb/IIIa como la que se encuentra en la trombastenia de Glanzmann.

El sistema VerifyNow<sup>®</sup> para aspirina es un test cualitativo que ayuda a la detección disfunción plaquetaria en sangre fresca debida a ingestión de aspirina, utilizable tanto como diagnóstico directo como en laboratorios específicos. El sistema incluye agonistas del ácido araquidónico para activar las plaquetas de la muestra, y mide la

función plaquetaria basándose en la afinidad de las plaquetas para unirse al fibrinógeno. Micropartículas recubiertas de fibrinógeno se agregan en sangre fresca en función del número de receptores de la glicoproteína IIb/IIIa de proteínas activadas presentes. Si la aspirina produce el efecto antiplaquetario esperado, la agregación se reducirá. El sistema informa del grado de agregación plaquetaria como “aspirin reaction units” (ARUs). Valores de ARU menores de 550 (según informes del fabricante) indicarían adecuada una inhibición de la función plaquetaria mediada por aspirina.

### **4.3.3 Procedimiento**

Se extrajeron 15cc de sangre periférica del introductor arterial antes del uso de anticoagulantes en la sala de hemodinámica. Se rellenaron dos tubos de citrato sódico 3.2% (Vacurette®, VerifyNow®). Tras invertir suavemente el tubo cinco veces, se almacenaron las muestras hasta cumplir el tiempo de incubación especificado según instrucciones del fabricante: aspirina 30 minutos (rango: 30 minutos-4 horas), P2Y12 10 minutos (rango: 10 minutos-4 horas).

Al comenzar la prueba, el dispositivo de análisis se introduce en la máquina y el tubo con la muestra de sangre se invierte suavemente clavándose en el dispositivo de análisis sin necesidad de retirar la tapa del tubo. La máquina automáticamente pasa sangre desde el tubo hasta el dispositivo de análisis y procede al análisis de la muestra. El dispositivo utilizado, una vez finalizado el análisis, se retira y se desecha. Los resultados se obtienen en 2-5 minutos dependiendo del tipo de análisis.

## Material y Métodos

---

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 y (3) “Porcentaje de inhibición”:  $(PRU-PRU_{base})/PRU_{base} \times 100$ .

### **4.4 Evaluación de la reactividad plaquetar con Multiplate®.**

Multiplate® (Dynabite, Munich, Alemania), analizador de función plaquetaria, es un equipo diseñado para el diagnóstico in vitro en hospitales y otros centros médicos y científicos, que determina la función plaquetaria en sangre total y ofrece múltiples canales y opciones analíticas, y sensores duplicados en cada celda de medición. Ello permite la detección de la influencia de los inhibidores y de los activadores plaquetarios.

El sistema está compuesto de una consola principal que dispone de una pantalla a color para información del proceso de análisis y obtención de resultados, una pipeta electrónica y una placa perforada para colocación de las muestras.

#### **4.4.1 Toma de muestra y procesado**

A través de introductor arterial se obtiene una muestra de sangre fresca de 15 cc. Ésta se introduce un tubo de hirudina (Hirudin blood and andom-wall, Multiplate®). La hirudina, un inhibidor de la trombina, permite la anticoagulación de la sangre sin interferencia con los niveles fisiológicos de calcio. La concentración de hirudina especificada en los tubos de recogida de muestras de sangre es  $> 15 \mu\text{g/mL}$ .

## Material y Métodos

---

El análisis en el Multiplate® se realiza en la celda de medición patentada que incorpora dos sensores independientes. Cada uno de ellos consta de 2 filamentos de cobre de alta conductividad revestidos de plata y un imán para la agitación revestido de teflón. Gracias al doble sensor, el principio de medición del Multiplate® se denomina agregometría mediante electrodos múltiples. La celda de medición posee una entrada para el pipeteo, una sección en forma de copa con los filamentos sensores que sobresalen y se introducen en la muestra de sangre y una conexión que permite conectar la celda de medición al analizador para registrar la resistencia eléctrica entre los filamentos sensores durante el análisis.

Una vez colocadas las celdas en sus orificios, se deposita una cantidad del sangre procedente del tubo de hirudina prefijada de manera automática por el sistema de sangre así como los diferentes reactantes que se describirán más adelante y una solución de NaCl/CaCl<sub>2</sub>. El citrato se utiliza habitualmente como anticoagulante en los sistemas de recogida de sangre para los ensayos de coagulación debido a su capacidad para reducir el calcio de la sangre e inhibir la coagulación de la muestra. Sin embargo, la reducción de los niveles de calcio puede constituir un problema en los ensayos de plaquetas ya que pueden inhibir la función plaquetaria. Por ello se recomienda recalcificar parcialmente las muestras citratadas para su análisis en el Multiplate®. La solución de dilución de CaCl<sub>2</sub> 3 mM ha sido formulada para aumentar el nivel de calcio de la muestra a la vez que conserva el efecto anticoagulante del citrato.

Las mediciones con Multiplate® están estandarizadas y son fáciles de realizar gracias a los programas de pipeteo automático y a la pipeta electrónica. La pipeta electrónica

está conectada al analizador Multiplate® y mediante su software ofrece un alto nivel de exactitud y precisión a la vez que simplifica la dispensación de reactivos al analizador. Pulsando un único botón es posible aspirar y dispensar las soluciones.

### **4.4.2 Reactivos**

#### **4.4.2.1 ADPtest**

El reactivo ADPtest contiene ADP, que desencadena la activación plaquetaria a través de los receptores de ADP de las plaquetas. En la celda de medición del Multiplate®, las plaquetas activadas se adhieren y agregan en los filamentos detectores. Ello provoca una mayor resistencia entre dichos detectores, que es registrada de forma continua y se expresa mediante el área bajo la curva (AUC) en unidades arbitrarias (AU\*min o U; conversión: 1 U = 10 AU\*min). El ensayo ADPtest es sensible a la inhibición del receptor P2Y<sub>12</sub> así como a la ausencia del receptor GP IIb/IIIa

#### **4.4.2.2 ASPtest**

El reactivo ASPtest contiene ácido araquidónico que es convertido en tromboxano A<sub>2</sub> por la ciclooxigenasa plaquetaria. Las plaquetas activadas en la celda de medición del Multiplate® se adhieren y agregan sobre los filamentos. Ello provoca un aumento de la resistencia entre dichos detectores que es registrada de forma continua y expresada a través del área bajo la curva (AUC) en unidades arbitrarias (AU\*min o U; conversión: 1 U = 10 AU\*min). El ASPtest es sensible a una inhibición de la ciclooxigenasa plaquetaria así como a una inhibición o ausencia del receptor GpIIb/IIIa.

### 4.4.2.3 TRAPtest

La trombina es capaz de activar las plaquetas. Esta activación está mediada principalmente por la hidrólisis de un receptor acoplado a proteínas G situado en la membrana de las plaquetas, denominado receptor activado por proteasas 1 (PAR-1) y un segundo receptor (PAR-4) que expresa una sensibilidad menor a la trombina. La activación por trombina provoca una agregación plaquetaria reticulada ya que los filamentos de fibrinógeno se unen a los receptores de las glicoproteínas IIb/IIIa. Tras la activación, los componentes de los receptores alteran su estructura física creando el punto de unión GPIIb/IIIa de alta afinidad al fibrinógeno sobre la membrana de las plaquetas. Para analizar la función plaquetaria desencadenada a través del receptor de trombina se suele utilizar un péptido que estimula el receptor PAR-1 (SFLLRN = TRAP-6). Esto permite comprobar la función plaquetaria activada por el receptor PAR-1 sin desencadenar la formación de fibrina en la muestra, lo que se produciría si se usara trombina como agonista. La agregación plaquetaria inducida por TRAP-6 puede ser menor o nula en presencia de antagonistas de la GPIIb/IIIa o en casos de deficiencia de los receptores de la GPIIb/IIIa (trombastenia de Glanzmann). La agregación inducida por TRAP-6 sólo presenta una menor sensibilidad a los efectos inhibidores del ácido acetilsalicílico o a los antagonistas de los receptores ADP.

El péptido activador del receptor de trombina-6 (TRAP-6) es un potente activador plaquetario que estimula la agregación de las plaquetas a través del receptor de trombina PAR-1, dando lugar a una fuerte activación plaquetaria.

### **4.4.2.4 Prostaglandina E1 (ADPhs test)**

El reactivo de prostaglandina E1 (PGE1) aumenta las concentraciones de AMPc estimulando la actividad de la adenil ciclasa en las plaquetas; el aumento del AMPc inhibe la movilización del calcio y la agregación plaquetaria inducida por la activación del receptor P2Y1. La adición de PGE1 a una muestra de sangre puede reducir la activación plaquetaria por el receptor P2Y1 de una forma dependiente de la concentración. Este efecto permite la evaluación más sensible de sustancias que afectan a la agregación plaquetaria a través de la unión al receptor P2Y12.

El reactivo de Prostaglandina E1 se utiliza en combinación con el reactivo ADPtest. La adición de 20 µL de PGE1 al ADPtest induce una inhibición moderada de la activación plaquetaria en muestras de sangre de personas normales sanas pero un aumento significativo de la sensibilidad del ADPtest a la inhibición plaquetaria por clopidogrel. Por lo tanto, este ensayo modificado se denomina ADPtest HS (ultrasensible). La adición de 50 µL de PGE1 al ADPtest provoca una fuerte inhibición de la agregación inducida por ADP (control positivo para ADPtest).

### **4.4.3 Parámetros**

El sistema Multiplate® obtuvo los parámetros presentados como área bajo la curva (ABC): (1) "Trap-test": Estimación de la reactividad plaquetar (basal) por agonistas del receptor la trombina; (2) "Aspi-test": Reactividad plaquetar mediada por ácido araquidónico; (3) "ADP-test": Reactividad plaquetar mediada por agonistas del receptor del ADP; (4) "ADPhs test": Reactividad plaquetar mediada por agonistas del receptor del ADP y prostaglandina E1 (test de alta sensibilidad).

### **4.5 Definición de elevada reactividad plaquetar a pesar de tratamiento con clopidogrel.**

Para la definición del paciente “pobre respondedor” a clopidogrel se emplearon los puntos de corte especificados por el fabricante y por expertos en documentos de consenso: PRU > 235 U y/o porcentaje de inhibición < 15% para VerifyNow<sup>®82</sup> y ABC ADP Test > 53 y/o ABC ADPhs Test > 31 para Multiplate<sup>®</sup>.

Asimismo fue ARU > 550 y ABC de Aspi Test > 74 la definición empleada para pobre respuesta a salicilatos, según las especificaciones de los manuales de referencia de los respectivos fabricantes.

En la **Tabla 1** se resumen todos los parámetros determinados en nuestra muestra mediante los sistemas VerifyNow<sup>®</sup> y Multiplate<sup>®</sup> así como los valores de corte empleados para la definición de elevada reactividad plaquetar.

### **4.6 Análisis estadístico.**

Las variables continuas se presentan como media y desviación típica, o mediana y rango intercuartílico según lo apropiado. Las variables categóricas se presentan como porcentaje. El análisis univariado se realizó mediante test t de Student o Mann-Whitney. Para variables categóricas se empleó el test Chi-cuadrado. Se realizó un modelo de regresión logística binaria (método Backward Wald) para identificar a aquellas variables predictoras de “pobre respuesta a clopidogrel” (PRU>235). Fueron covariables aquellas que hubieran demostrado asociación en el univariado ( $p < 0.05$ ) o en estudios previos. Se presenta la Odds Ratio (OR) y su intervalo de confianza (IC) al

## Material y Métodos

---

95%. La calibración del modelo se calculó con Hosmer-Lemeshow y la discriminación con el estudio del estadístico C. Los intervalos de confianza fueron calculados mediante remuestreo (bootstrapping) con 2000 replicaciones. La importancia de cada variable dentro del modelo multivariado se evaluó mediante el estadístico de Wald.

Para el análisis de supervivencia se empleó el método de Kaplan-Meier y el test de Mantel-Haenszel. El modelo de regresión de Cox (método introducir) se utilizó para estudiar los predictores de eventos adversos y evaluar la asociación ajustada entre los polimorfismos y un desenlace adverso. Se calculó el hazard ratio (HR) no ajustado considerando a cada polimorfismo como variable independiente y se consideró elegible (confusora) aquella variable/s que condicionara una variación del HR  $\geq 20\%$  respecto de la estimación univariada<sup>83</sup>. La/s variables que cumplieran este criterio se fueron incorporando al modelo. Se testaron interacciones de primer grado en modelos multivariados jerárquicos. Los intervalos de confianza fueron calculados mediante remuestreo (bootstrapping) con 2000 replicaciones. La asunción de proporcionalidad de riesgos del modelo se comprobó mediante el test de residuos de Schöenfeld.

Se calculó el coeficiente de concordancia (kappa,  $\kappa$ ) para valorar el grado de acuerdo de los puntos de corte establecidos a priori para el diagnóstico de pobre respuesta mediante el analizador VerifyNow<sup>®</sup> respecto de Multiplate<sup>®</sup> además de un test de contraste de hipótesis siendo la hipótesis nula  $\kappa = 0$ . Se realizó adicionalmente un estudio de concordancia gráfica mediante el método de Bland-Altman con su correspondiente media de las diferencias e intervalo de confianza (IC) al 95% (intervalo para el límite de decisión) mediante la macro Domenech JM, Granero R. Macro ¡AGREE para SPSS Statistics. El supuesto de normalidad de la variable diferencia se valoró

## Material y Métodos

---

mediante el test de Shapiro-Wilk. Finalmente y para completar el estudio de concordancia se calculó el porcentaje de observaciones fuera del IC 95% y el coeficiente de correlación de Spearman ( $\rho$ ) para cada comparación. Para cada test se calculó la capacidad discriminativa mediante el estudio del ABC de la curva ROC (Receiver Operating Characteristic) siendo el evento combinado de seguimiento y el infarto periangioplastia las variables de estado. Asimismo para cada punto de corte previamente especificado se calcularon la sensibilidad, especificidad, valores predictivos positivo y negativo, razones de verosimilitud positiva y negativa, y la eficiencia o valor global del test, mediante la macro!DT de Domenech JM para SPSS. Se empleó STATA 11 (StataCorp. 2009, TX, USA) y SPSS v20.0 (IBM, USA).

### **4.7 Seguimiento intra y extrahospitalario. Otras definiciones.**

Para el objetivo principal del estudio se registraron los siguientes eventos intrahospitalarios: infarto agudo de miocardio (IAM) periangioplastia (ACTP) y sangrados según la clasificación TIMI<sup>84</sup> Se consideró IAM periACTP cuando se registró una elevación de marcadores miocárdicos (troponina T o I y/o creatinquinasa banda miocárdica)  $\geq 3$  veces el límite superior de referencia del laboratorio o bien cualquier re-elevación sobre los valores previos tras el procedimiento<sup>79</sup>. Con esta finalidad y como es práctica en nuestro centro se determinaron la troponina I y creatinquinasa isoforma MB en tres ocasiones dentro de las primeras 24h tras el intervencionismo. Durante el seguimiento la variable principal fue el combinado de angina inestable (que requiriera ingreso), IM no fatal, muerte por cualquier causa, accidente cerebrovascular (ACV) y trombosis de stent (confirmada angiográficamente). El seguimiento se realizó

## Material y Métodos

---

telefónicamente y a través de las visitas rutinarias en consultas externas. Se obtuvieron datos de seguimiento en la totalidad de los pacientes.

## **5. Resultados del Estudio Principal**

# Resultados del Estudio Principal

---

## 5.1 Características basales de la muestra.

En la **Tabla 2** se presentan las características basales de los pacientes incluidos en el estudio principal. La edad media fue de 66 años (Desviación estándar, DE=11 años), siendo el 71.3% varones. En su gran mayoría se trató de pacientes con SCA sin elevación del segmento ST (176, 71.3%) y un 70.0% elevaron marcadores de necrosis miocárdica. El segundo diagnóstico más frecuente fue el de SCA con elevación persistente del ST (57, 23.1%). A los pacientes que se reclutaron en nuestro estudio se les suministró dosis de carga de clopidogrel en el 69.2% de los casos, siendo la dosis de 300mg la más frecuente (90.6%). La gran mayoría de pacientes (92.7%) continuaron recibiendo 75mg de clopidogrel como mantenimiento (el resto continuaron con 150mg/día), siendo la mediana en días (intervalo de tiempo entre el inicio del tratamiento y la determinación de la reactividad plaquetar) de 5 (rango intercuartílico 2-10). De los pacientes que no recibieron dosis de carga de clopidogrel durante el día primero del ingreso, un 42.1% aseguraban ser tomadores de clopidogrel al menos durante el último mes. Para el resto de pacientes a los que no se les suministró dosis de carga y no eran tomadores previos de clopidogrel (1 mes), la mitad habían recibido clopidogrel al menos durante los 6 días previos a la determinación analítica (rango intercuartílico 3-9).

### 5.1.1 Medicación concomitante a la toma de clopidogrel (al ingreso).

Un 98.8% de los pacientes estaban recibiendo aspirina siendo la dosis de 100mg/24h la más frecuente (64.2%). Ciento treinta y uno (53.0%) habían recibido dosis de carga de aspirina, y un 40.5% eran tomadores crónicos (al menos durante el mes previo). A 91

## Resultados del Estudio Principal

---

(36.8%) pacientes se les suministró concomitantemente inhibidores de bomba de protones (IBP), siendo pantoprazol el más frecuentemente prescrito (67.0%). Un 75.0% tomaban inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) y/o bloqueadores del receptor tipo 1 de la angiotensina 2 (ARA2), 15.9% diuréticos, 3.3% alfabloqueantes, 72.2% betabloqueantes, 32.7% nitratos, 15.6% antagonistas del calcio y un 82.4% estatinas. El antagonista de los canales del calcio más prescrito fue amlodipino (77.1%) y la estatina más frecuente atorvastatina (91.6%).

### 5.1.2 Tratamiento al alta. Recomendaciones para clopidogrel (Tabla 3).

Se prescribió clopidogrel en 212 (86.5%) pacientes, siendo la dosis de 75mg/24h la más frecuente (80.8%). Se recomendó clopidogrel durante 1 año en el 57.0%, indefinido en 29.6%, 1 mes (4.7%) y el resto entre 1 mes y 1 año. El resto de medicamentos se prescribieron según consta en la **Tabla 3**. El IBP más prescrito fue pantoprazol (56.2%), seguido de omeprazol (27.0%). Se empleó ranitidina en 47.2%.

### 5.2 Polimorfismos. Frecuencia e impacto sobre la reactividad plaquetar.

Las frecuencias del genotipo de *CYP2C19* (rs4244285, rs12248560) y *PON1* (rs662) estuvieron en su totalidad de acuerdo con la ley de equilibrio de Hardy-Weinberg ( $p=0.254$ ,  $p=0.567$ ,  $p=0.154$ ) y fueron similares al HapMap-CEU<sup>85</sup>.

#### ***CYP2C19*\*2 y *CYP2C19*\*17.**

La **Tabla 4** muestra la distribución de frecuencias de los genotipos de la variante \*2 y \*17 del *CYP2C19* así como del *PON1*RS662. Un 24.3% de los pacientes presentaban un

## Resultados del Estudio Principal

---

solo alelo \*2, mientras un 1.6% tenían los dos. Los pacientes portadores de  $\geq 1$  alelos \*2 presentaron valores de PRU significativamente mayores respecto a los sujetos con genotipo original (wild type, wt) y así el porcentaje de inhibición fue también significativamente menor. No se observó una diferente reactividad basal (PRU base) entre los tres grupos.

Un 31.6% de los pacientes presentaban un solo alelo de ganancia de función (5.7% tenían los dos). Los pacientes portadores de  $\geq 1$  alelos \*17 del *CYP2C19* no presentaron una reactividad plaquetar a clopidogrel significativamente distinta respecto a los sujetos con genotipo original (PRU, media [DE], 263[75] vs. 259[78],  $p=0.694$ ; porcentaje de inhibición 14[18] vs. 16[17],  $p=0.530$ ).

### **PON1-Q192.**

La distribución de las variantes de *PON1-Q192* fue como sigue: *TT(QQ)* en 42.1%, *CT(RQ)* en 43.7% y *CC(RR)* en 14.2%. Los pacientes con  $\geq 1$  alelos de pérdida de función (T, aminoácido Q) no presentaron una diferente respuesta a clopidogrel frente a los portadores de *CC(RR)* (PRU, media [DE] 259[76] vs. 273[85],  $p=0.321$ ; porcentaje de inhibición 15[17] vs. 14[18],  $p=0.662$ ).

### **5.3 Perfil del paciente con elevada reactividad plaquetar pese a tratamiento con clopidogrel (ERPATC).**

Identificamos como pobre respondedores a 158 (64.0%) pacientes con  $PRU > 235$  U. En un contexto univariante y dicotomizando la respuesta plaquetar ( $PRU > 235$  U) encontramos que la edad (años, OR = 1.044, IC 95% 1.019-1.069), insuficiencia renal

## Resultados del Estudio Principal

---

crónica previa (OR = 4.563, IC 95% 1.019-20.435), creatinina basal (mg/dL, OR = 2.773, IC 95% 1.141-6.736) y el ser portador de  $\geq 1$  alelo \*2 del *CYP2C19* (OR = 2.480, IC 95% 1.280-4.807) fueron factores de riesgo para una elevada reactividad plaquetar. Fueron protectores el tabaquismo activo (OR = 0.424, IC 95% 0.245-0.732), hemoglobina (g/dL, OR = 0.667, IC 95% 0.565-0.767), hematocrito (%), OR = 0.863, IC 95% 0.810-0.919) y aclaramiento renal estimado (mL/min/1.73m<sup>2</sup> estimado mediante fórmula *Modification of Diet in Renal Disease*, OR = 0.986, IC 95% 0.977-0.995). En un modelo multivariable que incluyó a la edad, género, índice de masa corporal (IMC), tabaquismo activo, insuficiencia renal crónica previa, hemoglobina basal, aclaramiento renal estimado, *CYP2C19*\*2/\*17/*PON1Q192R* y medicación concomitante (estatinas, calcioantagonistas e IBP), resultaron predictores independientes de riesgo de pobre respuesta el índice de masa corporal (OR = 1.074, IC 95% 1.005-1.148) y el ser portador de  $\geq 1$  alelo \*2 del *CYP2C19* (OR = 2.786, IC 95% 1.337-5.808) mientras fueron protectores la hemoglobina basal elevada (g/dL, OR = 0.666, IC 95% 0.555-0.801) y el uso concomitante de estatinas (OR = 0.376, IC 95% 0.162-0.873). El Estadístico C del modelo fue de 0.754, IC 95% 0.691-0.816 y el valor de p del test de Hosmer-Lemeshow = 0.516. Ni la presencia de  $\geq 1$  alelo \*17 de *CYP2C19* (OR = 1.332, IC 95% 0.699-2.539) ni la presencia de  $\geq 1$  alelo \*T del *PON1-Q192R* (OR = 0.744, IC 95% 0.309-1.793) fueron predictores de pobre respuesta a clopidogrel en el modelo ajustado. En dicho modelo, los predictores más potentes de PRU > 235 fueron la hemoglobina al ingreso (Wald=18.7), seguido de la presencia de alelos \*2 del *CYP2C19* (Wald=7.5), el uso concomitante de estatinas (Wald=5.2) y el índice de masa corporal (Wald=4.4). Las tres variables menos importantes fueron el uso concomitante de antagonistas del calcio

# Resultados del Estudio Principal

---

(Wald=0.07), uso concomitante de IBP (Wald=0.09) o el antecedente de insuficiencia renal crónica (Wald=0.3).

## **5.4 Influencia pronóstica de los polimorfismos *CYP2C19*\*2/\*17 y *PON1*-Q192R.**

### **5.4.1 Eventos adversos intrahospitalarios.**

Registramos 2 muertes intrahospitalarias (0.8%). Del total de pacientes del estudio, 210 (85.0%) fueron sometidos a intervencionismo coronario, de los cuales en 187 (89.0%) se determinó la troponina I y creatinquinasa isoforma MB tras el mismo. Registramos un total de 32 (17.1%) IM periACTPs. Respecto de la ocurrencia de IM periACTP no observamos diferencias según el genotipo (OR ajustado para  $\geq 1$  alelo \*2 *CYP2C19* = 1.638 IC 95% 0.704-3.807; OR ajustado para  $\geq 1$  alelo \*17 *CYP2C19* = 1.872, IC 95% 0.708-3.430; OR para  $\geq 1$  alelo T (Q) de *PON1* (vs. CC) = 2.079, IC 95% 0.509-6.884). Los factores que se asociaron (todos de riesgo) a la ocurrencia de IM periACTP fueron la presencia de arteriopatía periférica, el número de lesiones tratadas y la longitud de los stents implantados (datos no mostrados).

### **5.4.2 Eventos adversos tras el alta.**

De los 245 pacientes que sobrevivieron al ingreso observamos durante el seguimiento un total de 37 eventos adversos (15.1%). Se registraron 16 anginas inestables, 5 reinfartos, 8 muertes por cualquier causa, 4 trombosis del stent y 4 ACV. La mediana de seguimiento fue de 12.7 meses (rango intercuartílico 10.7-15.8 rango). La mediana de seguimiento para los pacientes sin eventos fue de 13.4 meses (rango intercuartílico 11.7-16.7), para los pacientes con eventos fue de 6.7 (1.2-9.5) meses.

## Resultados del Estudio Principal

---

En un análisis de Kaplan-Meier, los pacientes portadores de  $\geq 1$  alelos \*2 de *CYP2C19* presentaron 12 eventos (19.0%) frente a 25 (13.7%) los no portadores (log-rank p valor = 0.348). Los portadores de  $\geq 1$  alelos \*17 de *CYP2C19* presentaron 18 eventos (19.8%) frente a 19 (12.3%) los no portadores (log-rank p valor = 0.09). Los portadores de  $\geq 1$  alelo T (Q) de *PON1* presentaron 35 eventos (16.6%) frente a 2 (5.9%) los no portadores (log-rank p valor = 0.114). En un contexto multivariante ajustado (edad, arteriopatía periférica y fracción de eyección ventricular izquierda) la presencia  $\geq 1$  alelo \*2 de *CYP2C19* no asoció significativamente con un peor pronóstico (HR ajustado= 1.036, IC 95% 0.490-2.191). Análogo resultado se obtuvo para los portadores de 1 ó 2 alelos \*17 (HR ajustado = 1.525, IC 95% 0.777-2.995) o los portadores de alelos T (Q) de *PON1* (HR ajustado = 3.185, IC 95% 0.755-13.432). No encontramos factores modificadores del efecto tras el análisis de interacciones de primer grado en distintos modelos jerárquicos multivariados testados. Se analizaron los siguientes subgrupos (datos no mostrados): sujetos sometidos a cualquier intervencionismo coronario, pacientes sometidos a intervencionismo coronario con  $\geq 1$  stent farmacoactivo, pacientes a los que se les recomienda clopidogrel indefinidamente o durante 1 año, subgrupo en función del tiempo entre el inicio de la toma de clopidogrel y la determinación de la reactividad plaquetar. Tampoco encontramos diferencias al restringir el seguimiento a los primeros 12 meses.

## **6. Resultados del Substudio** **Comparativo**

## Resultados del Subestudio

---

Reclutamos 168 pacientes en nuestro centro y 83 en el Hospital San Juan de Alicante. Las características basales de la muestra total (n=251) se presentan en las **Tablas 5 y 6**. La edad media fue de  $68 \pm 11$  años, siendo más de dos tercios varones. En su gran mayoría se trató de pacientes con SCA (92.0%) y casi un 60% elevaron marcadores de necrosis miocárdica. El diagnóstico más frecuente fue de SCA sin elevación persistente del segmento ST (181, 72.1%). Durante el ingreso se registraron 3 sangrados menores (1.3%) y 1 mayor (0.4%) según la clasificación TIMI.

### **6.1 Antiagregantes y porcentaje de sujetos pobres respondedores.**

En nuestro subestudio, se administró dosis de carga de clopidogrel en el 43.4% siendo la dosis de 300mg la más frecuente (89.9%). La gran mayoría de pacientes (92.0%) estaban recibiendo 75mg de clopidogrel como mantenimiento, siendo la mediana en días (intervalo de tiempo entre el inicio del tratamiento y la determinación de la reactividad plaquetar) de 4 (rango intercuartílico 2-8). Identificamos como pobres respondedores a 173 (68.9%) pacientes con PRU > 235 U y 147 (58.6%) con porcentaje de inhibición < 15%, mediante VerifyNow®; mientras con Multiplate®, identificamos a 48 (19.1%) con ABC del ADP test > 53 y 89 (35.5%) con ABC del ADPhs test > 31. La proporción de pacientes no inhibidos fue significativa y sustancialmente más alta con VerifyNow® respecto a su comparador (p<0.05, para todas las comparaciones).

Por su parte se empleó aspirina en casi la totalidad de los pacientes (sólo 4 trifusal, 1.6%), siendo la dosis de 100mg la más frecuente (72.5%). Un 54.2% recibieron dosis de carga de aspirina, sobretodo de 300mg (79.5%). El intervalo en días (mediana) entre el inicio del tratamiento y la determinación de la reactividad plaquetar fue de 4 (rango

## Resultados del Subestudio

---

intercuartílico 2-7). Se identificaron a 38 (15.3%) pacientes no inhibidos mediante ARU > 550 y sólo 6 (2.4%) mediante ABC del Aspi Test > 74.

### **6.2 Concordancia del diagnóstico entre Multiplate® frente a VerifyNow® a través del cálculo del estadístico kappa.**

En la **Tabla 7** se muestran los coeficientes de concordancia (kappa) entre los dos analizadores. Respecto de los tests de respuesta a clopidogrel, la concordancia mayor fue la del porcentaje de inhibición (VerifyNow®) y el ADPhs Test (Multiplate®) siendo  $\kappa$  de -0.266 ( $p < 0.001$ ). En el resto de las comparaciones el valor de  $\kappa$  fue inferior a 0.2, excepto para inhibición porcentual <15 y PRU >235 ( $\kappa = -0.444$ ) –ambas determinaciones con VerifyNow®, y ADP Test > 53 con ADPhs test > 31 ( $\kappa = 0.446$ ) – ambas determinaciones con Multiplate®-. Para los salicilatos, la concordancia observada entre los dos analizadores fue igualmente baja ( $\kappa = 0.194$ ,  $p = 0.001$ ). No hubo diferencias sustanciales al realizar los análisis separadamente en cada centro participante.

### **6.3 Concordancia del diagnóstico entre Multiplate® frente a VerifyNow® a través del estudio de las diferencias (método de Bland-Altman).**

La **Figura 3** presenta el método de Bland-Altman para la concordancia de las variables PRU con ADP Test (**panel A**), PRU con ADPhs Test (**panel B**) y ARU con Aspi Test (**panel C**). En los tres casos se observaron pocas observaciones fuera de los IC al 95%, siendo 10 (3.98%), 11 (4.38%) y 8 (3.21%), para las comparaciones de los paneles A-C respectivamente. Sin embargo puede apreciarse que la distribución de las

## Resultados del Subestudio

---

observaciones no fue homogénea ni aleatoria dentro de los límites de intervalo. Para el resto de comparaciones (datos no mostrados) se observaron en general pocas observaciones fuera del IC al 95% (porcentaje de inhibición vs. ADP test 17 [6.78%]; porcentaje de inhibición vs. ADPhs Test 14 [5.58%]; PRU vs. porcentaje de inhibición 14 [5.58%]; ADP Test vs. ADPhs Test 16 [6.37%]) pero distribuciones asimétricas o muy asimétricas respecto de la media de las diferencias. La condición previa de normalidad de las diferencias sólo se incumplió en la comparativa ARU con Aspi Test (Shapiro-Wilk  $p < 0.01$ ), PRU con porcentaje de inhibición (Shapiro-Wilk  $p < 0.01$ ) y ADP Test frente a ADPhs Test (Shapiro-Wilk  $p < 0.01$ ) lo cual pudo condicionar puntualmente los límites de acuerdo. La **Tabla 8** presenta los coeficientes de correlación entre los distintos tests, siendo muy moderados en casi la totalidad de ellos.

### 6.4 Discriminación de Multiplate® frente a VerifyNow® en el infarto periACTP.

En la **Figura 4** presentamos las curvas ROC de los distintos tests aportados por los dos analizadores (**Panel A** VerifyNow®, **Panel B** Multiplate®). En nuestro estudio observamos 36 IAM periACTP (en 184 angioplastias, 19.5%). Los valores de PRU base (no IAM periACTP vs. IAM periACTP; 309 vs. 304,  $p=0.62$ ), PRU (262 vs. 270,  $p=0.60$ ), porcentaje de inhibición de PRU (17 vs. 15,  $p=0.50$ ), ARU (482 vs. 486,  $p=0.72$ ), ABC del Trap Test (88 vs. 86,  $p=0.74$ ), Aspi Test (21 vs 16,  $p=0.14$ ), ADP Test (35 vs. 34,  $p=0.81$ ) y ADPhs Test (27 vs. 25,  $p=0.43$ ) no difirieron en función de la ocurrencia de IAM periACTP. Asimismo el ABC ROC de cada una de las variables estuvo en torno a 0.5, sin alcanzarse significación en ninguno de los casos.

## Resultados del Subestudio

---

### 6.5 Discriminación de Multiplate® frente a VerifyNow® en el evento combinado total.

Se registraron 23 eventos totales (9.2%; 10 anginas inestables, 6 muertes por cualquier causa, 2 trombosis definitivas de stent, 1 accidente cerebrovascular, 4 IAM) en 237 pacientes seguidos (94.4%) durante una mediana de 273 días -9 meses- (rango intercuartílico 117-402). Los valores de PRU (No eventos vs. eventos; 263 vs. 285,  $p=0.27$ ), porcentaje de inhibición de PRU (16 vs. 17,  $p=0.70$ ), ARU (478 vs. 502,  $p=0.12$ ) y ABC Aspi Test (19 vs 25,  $p=0.09$ ) no difirieron significativamente en función de la ocurrencia del evento combinado. Sin embargo PRU base (305 vs. 338,  $p=0.01$ ) y ABC del Trap Test (86 vs. 108,  $p=0.01$ ) fueron distintos; El ABC del ADP Test (33 vs. 45,  $p=0.06$ ) y del ADPhs Test (26 vs. 34,  $p=0.05$ ) obtuvieron una significación borderline. El estudio del ABC de la curva ROC (**Figura 5, panel A y B**) mostró que sólo PRU base (ABC ROC = 0.66, IC 95% 0.55-0.76) y el Trap Test (ABC ROC = 0.66, IC 95%, 0.54-0.77) presentaron un área significativamente distinta de 0.5. El ADP Test (ABC ROC = 0.62, IC 95% 0.50-0.73) y ADPhs Test (ABC ROC = 0.62, IC 95% 0.50-0.74) presentaron una significación en el límite. El resto presentaron áreas no significativamente distintas de 0.5 (ABC ROC Aspi Test = 0.61, IC 95% 0.49-0.72; ABC ROC porcentaje de inhibición de PRU = 0.57, 95% IC 0.44-0.70; ABC ROC ARU = 0.60, 95% IC 0.49-0.71).

### 6.6 Rendimiento pronóstico para eventos adversos en el seguimiento.

En la **Tabla 9** presentamos el rendimiento de cada una de las determinaciones respecto de la ocurrencia del evento combinado. Las determinaciones de la reactividad mediada por araquidónico —ARU y Aspi Test- presentaron una eficiencia

## Resultados del Subestudio

---

significativamente superior respecto de todas las determinaciones de reactividad mediada por ADP y destacaron por su especificidad y buen valor predictivo negativo. El PRU presentó una buena sensibilidad y valor predictivo negativo aunque moderada eficiencia. El test de ADP por su parte obtuvo una buena especificidad y valor predictivo negativo, así como una eficiencia alta (superior significativamente respecto de PRU).

## **7. Discusión**

La doble antiagregación se ha convertido en pilar fundamental en el manejo de los pacientes con síndrome coronario agudo. Si bien el papel de los antagonistas de los receptores de adenosina disfosfato no se discute por su demostrada efectividad en la reducción de la morbilidad cardiovascular en pacientes con cardiopatía isquémica, la variabilidad de la respuesta de este grupo farmacológico ha instado a la realización de múltiples estudios con intención de determinar el origen de dicha variabilidad. Especial importancia ha adquirido a este respecto en los últimos años la posible influencia genética en cuanto al metabolismo y mecanismo de acción del clopidogrel, sumado a otros factores ambientales que podrían determinar el efecto clínico y pronóstico del paciente.

Los resultados de nuestro estudio sugieren que en pacientes con SCA: (1) la presencia de  $\geq 1$  alelo \*2 del *CYP2C19* influencia la respuesta plaquetar a clopidogrel a diferencia del *CYP2C19*\*17 y *PON1-Q192R*, que no lo hacen; (2) La importancia relativa de *CYP2C19*\*2 como predictor de respuesta a clopidogrel es modesta comparativamente con variables puramente clínicas (hemoglobina, IMC o uso de estatinas); (3) la toma IBP no influye en la reactividad plaquetar; (4) el uso concomitante de estatinas se presenta como un factor protector para una elevada reactividad plaquetar residual; (5) Finalmente, los polimorfismos \*2/\*17 del *CYP2C19* y *PON1-Q192R* no supusieron una herramienta útil en la estratificación de los pacientes tras un ingreso por SCA.

Estos resultados complementan y expanden los publicados por Tello-Montoliu<sup>86</sup>. Estos autores concluyeron análogamente que las variantes genéticas *CYP2C19*\*2 y \*17

## Discusión

---

influenciaban la reactividad plaquetar pero no el pronóstico a 6 meses en una población similar a la nuestra. Sin embargo en este estudio se evaluó la reactividad plaquetar en un subgrupo de 40 pacientes mediante transmisión óptica (Aggrecoorder II) y a través de la determinación de la fosfoproteína estimulada por vasodilatadores (VASP). En contraste, nosotros estudiamos la reactividad plaquetar en todos los pacientes, realizamos la determinación adicional del polimorfismo *PON1-Q192R* y seguimos a nuestros pacientes a más largo plazo.

Algunos investigadores han reportado asociaciones entre la presencia de alelos \*2 del *CYP2C19* y eventos adversos<sup>63,87</sup>, pero esta relación no es consistente en todos los estudios<sup>87</sup>. Un metanálisis reciente señaló que el riesgo asociado a *CYP2C19\*2* se focalizaba en la trombosis del stent pero no en un mayor riesgo global de eventos adversos<sup>88</sup>. Además se encontró una heterogeneidad estadística importante en virtud de la cual la asociación entre eventos adversos y *CYP2C19\*2* era más evidente en estudios “pequeños” (n<500) —más potencialmente expuestos a sesgo de publicación— que en aquellos con mayor tamaño en los cuales virtualmente no se halló asociación con el pronóstico adverso. Ejemplo de esto es el estudio recientemente publicado de Wei et al<sup>89</sup>. En el se reclutaron 100 pacientes que iban a ser sometidos a intervencionismo coronario percutáneo que habían recibido tratamiento con aspirina y clopidogrel (dosis de carga de 300 mg, dosis de mantenimiento 75 mg al día). Se estudió la agregación plaquetaria mediante el agregómetro de 4 canales LBY-NJ4 (Precil, Beijing, China) así como la determinación del polimorfismo *CYP2C19\*2* mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR)-polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción. El objetivo principal del estudio fue la incidencia acumulada

## Discusión

---

de angina recurrente, infarto agudo de miocardio, infarto cerebral, trombosis intra-stent y muerte súbita cardíaca. Encontraron una mayor incidencia de angina recurrente (2/59 vs. 8/51), infarto agudo de miocardio (1/59 vs. 6/51) y trombosis intra-stent (0 vs. 5/51) en los paciente portadores del alelo \*2 (homo o heterocigotos) frente a aquellos que presentaban el polimorfismo salvaje ( $p < 0.05$ ). Sin embargo, la incidencia de infarto cerebral y muerte súbita fue similar en ambos grupos ( $p > 0.05$ ). Los autores concluyen que la presencia de la mutación \*2 del *CYP2C19* se asocia a una reducción de la actividad antiplaquetaria del clopidogrel y es un importante marcador de mal pronóstico para pacientes con síndrome coronario agudo.

En nuestro estudio -tal y como se ha señalado previamente- no encontramos asociación entre genotipo y pronóstico. En el estudio de Tello-Montoliu<sup>86</sup> se especuló que quizá la falta de asociación entre los polimorfismos de *CYP2C19* y el pronóstico podía deberse al bajo riesgo de los pacientes ya que sólo un 50% fue sometido a intervencionismo coronario. Sin embargo en nuestro estudio más del 80% de los pacientes fueron sometidos a intervencionismo y no observamos asociación con un pronóstico adverso. La importancia de la variante *CYP2C19\*17* es también controvertida; algunos estudios han reportado reducción de los eventos adversos en pacientes con IM tratados de modo invasivo. Un ejemplo es el estudio de Tiroch et al.<sup>90</sup>, donde se incluyeron un total de 928 pacientes con diagnóstico de infarto agudo de miocardio que fueron sometidos a angioplastia con recanalización coronaria con un flujo "Thrombolysis in Myocardial Infarction" (TIMI)  $\geq 2$ . Todos los pacientes recibieron dosis de carga de clopidogrel (600 mg). Mediante las técnicas de reacción en cadena

## Discusión

---

de la polimerasa (PCR) y el dispositivo TaqMan se analizaron los polimorfismos *ABCB1 C/T*, *CYP2C19\*2 C/T* y *CYP2C19\*17 C/T*. El objetivo primario del estudio fue determinar la necesidad de revascularización de la lesión diana guiada por parámetros clínicos, habiendo definido este concepto como: revascularización de la lesión diana mediante angioplastia coronaria transluminal o bypass aortocoronario debido a síntomas o signos de isquemia en presencia de restenosis angiográfica durante el primer año tras el implante del stent. Los objetivos secundarios fueron la incidencia de muerte por cualquier causa, incidencia de infarto de miocardio no fatal durante el primer año de seguimiento, incidencia de ictus, tamaño final del infarto determinado por gammagrafía, y el combinado de eventos adversos cardiovasculares mayores o MACE (*major adverse cardiovascular events*), que incluyen muerte, infarto de miocardio y revascularización de la lesión diana guiada por parámetros clínicos. Tras el análisis univariado de los datos encontraron una significativa reducción en la incidencia del objetivo primario en pacientes portadores del alelo *CYP2C19\*17* en comparación con los no portadores ( $P = 0.002$ , odds ratio [OR] 0.57, intervalo de confianza [IC] al 95% 0.39-0.82). Esta diferencia se mantuvo estadísticamente significativa en el objetivo secundario de incidencia de MACE ( $P = 0.04$ , OR 0.72, IC 95% 0.53-0.98), no ocurriendo lo mismo en el combinado de muerte, infarto de miocardio, ictus, tamaño del infarto o trombosis del stent. En la regresión logística del análisis multivariado, tan solo la presencia del alelo protector *CYP2C19\*17* se asoció a una reducción de la necesidad de revascularización de la lesión diana guiada por parámetros clínicos ( $P = 0.001$ , OR 0.55, IC 95% 0.39-0.79). La tasa de restenosis angiográfica fue significativamente menor los portadores del polimorfismo *CYP2C19\*17* tanto en el análisis uni como multivariable.

## Discusión

---

La asociación del alelo *CYP2C19*\*17 con los MACE observado en el análisis univariable, no se mantuvo en el multivariable.

Sin embargo otros no encuentran relación ni con los eventos trombóticos ni con los hemorrágicos como es el caso subestudio publicado por Bhatt et al<sup>91</sup>. En él, seleccionaron a una población del ensayo CHARISMA<sup>92</sup> (en el que se demostró la ausencia de beneficio de la doble terapia antiagregante en pacientes con enfermedad aterosclerótica estable) a los que se les realizó una determinación genotípica de los alelos *CYP2C19*\*2, \*3 y \*17. Para el análisis de los alelos \*2 y \*17 emplearon el sistema de polimorfismo de longitud de fragmentos de restricción mientras que para el alelo \*3 utilizaron la discriminación alélica de TaqMan. El objetivo de eficacia principal fue, al igual que en el estudio CHARISMA, el compuesto por infarto de miocardio (fatal o no fatal), ictus (fatal o no fatal) o muerte de origen cardiovascular. Los objetivos secundarios de eficacia fueron hospitalización por angina inestable, accidente isquémico transitorio o necesidad de revascularización. El objetivo de seguridad fue la incidencia de sangrado mayor o moderado usando la definición GUSTO<sup>93</sup>. Un endpoint adicional de seguridad fue el compuesto de los tipos de sangrado según la definición GUSTO<sup>93</sup>. El análisis de eficacia se centró en la diferencia en el efecto del clopidogrel vs. placebo a la hora de presentar un evento primario para los portadores de un alelo de pérdida de función del citocromo *CYP2C19* (tanto \*2 como \*3) frente a los no portadores, realizando el mismo tipo de análisis en aquellos portadores de alelos de ganancia de función (\*17). Los pacientes se clasificaron según su carga genética en: pobres respondedores (\*2/\*2 o \*2/\*3), intermedios (\*1/\*2 o \*1/\*3), común (\*1/\*1),

## Discusión

---

ultra (\*1/\*17 o \*17/\*17) o desconocido (\*2/\*17 o \*3\*/17). Aunque se recogió la información genética de más de 4.800 pacientes, al suponer esta cifra una tercera parte de la población total del estudio, se decidió comparar el tiempo hasta un evento primario en pacientes genotipados frente a los no genotipados (se encontró una reducción del riesgo para el objetivo primario en el brazo de placebo de los sujetos genotipados frente a los que no se disponía información genética [5.67% vs 8.11%,  $p = 0.001$ ]). Con respecto a los resultados, en el grupo de portadores de alelos de pérdida de función, no se encontraron diferencias significativas entre el brazo placebo y el tratado con clopidogrel en cuanto a objetivos primario y secundarios de eficacia, ni con respecto al objetivo principal de seguridad aunque si se observó una reducción significativa de sangrado en el grupo tratado con clopidogrel (hazard ratio [HR] 0.80, IC 95% 0.69-0.93,  $p = 0.003$ ) al incluir todos los tipos de sangrado según la definición GUSTO<sup>93</sup>. En el grupo de portadores del alelo de ganancia de función, los resultados fueron similares, no encontrándose diferencias significativas en el grupo que recibió clopidogrel frente al grupo placebo ni en los endpoint de eficacia ni en los de seguridad (en el grupo de clopidogrel se vio un mayor número de sangrados sin relacionarse de manera estadísticamente significativa con el alelo de ganancia de función). Tampoco se obtuvo una asociación significativa entre el fenotipo ni los objetivos de eficacia ni seguridad para clopidogrel vs. placebo. Cuando examinaron el grupo de clopidogrel aislado, los pobre metabolizadores tuvieron un mayor tasa de eventos primario aunque el número de eventos fue bajo (HR 2.27, IC 95% 1.06-4.85,  $p = 0.035$ ). Lo mismo ocurrió cuando analizaron el grupo placebo de manera aislada aunque esta vez sin significación estadística (HR 1.59, IC 95% 0.59-4.29,  $p = 0.36$ ). Especialmente

## Discusión

---

importante resultó que no se encontró relación estadísticamente significativa entre el “estatus metabolizador” a nivel fenotípico el brazo clopidogrel vs. placebo en la incidencia del objetivo primario ( $p = 0.21$ ) ni en los objetivos secundarios ( $p = 0.55$ ). De forma similar, en nuestra serie no encontramos relación con un pronóstico distinto en base al fenotipo de nuestros pacientes.

En nuestro estudio los pacientes con genotipos CT(RQ) o TT(QQ) (previamente descritos como de “reducción de la actividad de la paroxonasa”<sup>58</sup> del *PON1-Q192R*) no presentaron una diferente respuesta a bloqueadores de ADP ni un pronóstico distinto. Estos hallazgos están en concordancia con un metanálisis publicado por Reny et al.<sup>94</sup> en el que realizaron una revisión de estudios analizaban la relación entre el polimorfismo *PON1-Q192R* y la respuesta biológica al clopidogrel y/o el riesgo de MACE durante la administración de clopidogrel. Se incluyeron 17 estudios, en 12 de los cuales se estudió la respuesta biológica del clopidogrel, no encontrando diferencias significativas en ninguno de ellos ( $n = 5302$  pacientes) entre sujetos 192QQ y los sujetos 192QR + 192RR, independientemente de la técnica de laboratorio utilizada. Once estudios evaluaron el riesgo de MACE, 4 de ellos usaron diseños de caso-control y los 7 restantes un diseño prospectivo. En total, el 19% de los pacientes presentaron un evento adverso cardiovascular mayor en caso de los estudios con diseño caso-control, y un 6% de los pacientes en el caso de los estudios prospectivos, no encontrando diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes con 192QQ y aquellos con 192QR o 192RR (OR = 1.28 [0.97-1.68],  $P = 0.08$ ), no variando los resultados cuando el tipo de estudio se introducía como variable a tener en cuenta. En

conclusión, los resultados sugieren que el polimorfismo *PON1-Q192R* no supone un mayor riesgo de MACE y no altera la respuesta biológica del clopidogrel en pacientes que reciben este tratamiento.

Los pacientes con anemia y mayor IMC fueron en nuestra serie aquellos expuestos a una mayor reactividad plaquetar, lo cual es consecuente con lo publicado previamente<sup>95,96</sup>. Toma et al<sup>95</sup>. realizaron un registro prospectivo de pacientes sometidos a intervencionismo coronario percutáneo a los que se realizó una medida de la función plaquetar mediante el sistema VerifyNow<sup>®</sup> y agregometría de transferencia óptica. Registraron un total de 255 casos consecutivos y encontraron una buena correlación entre la función plaquetar medida con el sistema VerifyNow<sup>®</sup> y el grado de respuesta plaquetar a ADP medida mediante sistema de transferencia óptica. En el modelo de transferencia óptica, tan solo la anemia, el género y la administración de una dosis de clopidogrel en el momento del intervencionismo coronario percutáneo resultaron predictores independientes de una elevada reactividad plaquetar residual. En el modelo de regresión logística para el sistema VerifyNow<sup>®</sup> tan solo la anemia y la diabetes mellitus resultaron variables independientes para ERPATC. De esta manera, el único denominador común entre ambos sistemas de medida de actividad plaquetar que resultó independiente para predecir una elevada actividad plaquetar residual pese a tratamiento con clopidogrel fue la anemia.

Además comprobamos que la contribución del *CYP2C19\*2* fue modesta (Contribución absoluta al estadístico C del modelo final de regresión logística  $\approx$  2.3%) en la detección de los pacientes con elevada reactividad plaquetar, respecto de un modelo clínico y

también en consonancia con lo publicado por Bouman et al<sup>96</sup>. que seleccionaron a un total de 1024 pacientes de los incluidos en el estudio POPular<sup>46</sup> con enfermedad coronaria a lo que se les había implantado un stent en un angioplastia electiva. Todos los pacientes fueron adecuadamente tratados con clopidogrel y aspirina. El objetivo primario del estudio fue determinar la magnitud de la reactividad plaquetar en pacientes bajo tratamiento con clopidogrel estimado mediante el sistema VerifyNow<sup>®</sup>. Como objetivo secundario definieron la medida de la reactividad plaquetar estimada mediante agregometría de transferencia óptica y el sistema PlateletWorks<sup>®</sup> (Helena Laboratories, Beaumont, TX). Se realizó también determinación del alelo *CYP2C19\*2* usando la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real. En el estudio observaron que tanto la magnitud de la reactividad plaquetar así como una elevada reactividad plaquetar residual pese a tratamiento con clopidogrel fue mayor en los pacientes portadores del polimorfismo *CYP2C19\*2*. Sin embargo, se observó que el ser portador de alelo \*2 podría explicar entre un 4.4% y un 6.2% de la variabilidad interindividual de la reactividad plaquetar medida por los sistemas de transferencia óptica y PlateletWorks<sup>®</sup>, cifra que aumentaba hasta en torno a un 10% cuando se incluían factores clínicos. Menor influencia del polimorfismo *CYP2C19\*2* se obtuvieron al utilizar el sistema VerifyNow<sup>®</sup>, donde la presencia del alelo tan solo justificaba el 3,7% de la variabilidad del PRU, aumentando hasta el 20.6% al introducir las variables clínicas. La índice de masa corporal, junto con la edad, el género, la diabetes mellitus, el régimen de dosis de carga de clopidogrel, la toma concomitante de inhibidores de la bomba de protones o amlodipino, y el recuento plaquetar fueron las variables clínicas que mostraron una asociación independiente con la ERPATC. El estudio multivariable

## Discusión

---

mostró que la presencia heterocigota del *CYP2C19*\*2 (genotipo \*1/\*2) multiplica por dos la incidencia de ERPATC, siendo la asociación aun más fuerte en caso de presentación monocigota del alelo \*2. Dentro de las variables clínicas identificadas como predictores independientes de ERPATC fueron el índice de masa corporal (IMC), edad, género, diabetes mellitus, dosis de carga de clopidogrel, el uso de amlodipino y el recuento plaquetario.

Finalmente la prescripción concomitante de estatinas —atorvastatina fundamentalmente en nuestro estudio- se asoció a un efecto protector respecto de la ocurrencia de elevada reactividad plaquetaria residual. Este interesante hallazgo está en línea con algunos estudios<sup>97,98</sup> pero en contra de otros<sup>99</sup>, sin que este debate haya sido del todo aclarado. Leoncini et al<sup>97</sup>. realizaron un ensayo prospectivo randomizado de 209 pacientes bajo tratamiento con estatinas que habían sido diagnosticados de enfermedad coronaria documentada por angiografía y revascularizada con implante de stent. Todos los pacientes recibieron tratamiento con aspirina y clopidogrel. De los 209 pacientes seleccionados, el 43% (90 pacientes) presentaron ERPATC definida como PRU  $\geq$  235 mediante el sistema VerifyNow®. De los 90 pacientes, 12 presentaron criterios de exclusión, por lo que se aleatorizaron los 78 restantes según un modelo computerizado 1:1. Uno de los brazos (39 pacientes) recibió tratamiento con 150 mg/día de clopidogrel y 80 mg/día de atorvastatina, mientras que el otro brazo (39 pacientes) tan solo recibió clopidogrel 150 mg/día (grupo control). De los 78 pacientes, 76 concluyeron el estudio. La reactividad plaquetar fue medida mediante el sistema VerifyNow® inmediatamente antes de la angioplastia, a los 10 y a los 30 días tras la

## Discusión

---

misma. El genotipado del polimorfismo de pérdida de función CYP2C19\*2 se realizó mediante el sistema validado TaqMan (Applied Biosystems, Foster City, CA). El objetivo primario del estudio fue el PRU a los 30 días de tratamiento. Otros endpoints secundarios fueron el porcentaje de pacientes con respuesta óptima a clopidogrel a los 30 días, los cambios del PRU a lo largo del tiempo, y la correlación con los niveles de lípidos. Tras analizar los resultados, obtuvieron que los valores de PRU en brazo tratado con atorvastatina era notablemente más bajo que en el grupo control –en dicho grupo, se observó un descenso inicial del PRU a los 10 días, que posteriormente aumentaba, observándose diferencias estadísticamente significativas tan solo a los 30 días. También se observó que un elevado número de pacientes randomizados al grupo de atorvastatina, aunque no de manera significativa, cambiaron su respuesta plaquetar a los 10 días de tratamiento, transformándose en respondedores óptimos. Este número se incrementaba a los 30 días, adquiriendo significación estadística. Resultados similares obtuvo el grupo de Matezky<sup>98</sup>. En este caso realizaron un estudio observacional de un total de 120 pacientes con diagnóstico de SCACEST a los que realizó un medición de la reactividad plaquetar mediante agregometría convencional y con el sistema ImpactR en el momento de inclusión en el estudio y a las 72 horas. Los autores concluyeron en los pacientes con infarto agudo de miocardio, el consumo de estatinas tenía un efecto antiplaquetario temprano sumado al producido por la terapia antiagregante al encontrar un niveles significativamente menores de agregación plaquetaria inducida por ADP en pacientes que recibían tratamiento con estatina y antiagregación frente a los que únicamente seguían tratamiento antiagregante en el cuarto día de seguimiento (58±18% vs. 64±17%, p = 0.02).

## Discusión

---

Pero como se ha mencionado, no todos los estudios publicados aportan datos a favor del efecto “protector” de las estatinas en cuanto a reactividad plaquetar residual. Un ejemplo es el estudio de Malmström et al<sup>99</sup>. En su ensayo clínico 32 pacientes con diabetes mellitus tipo 2 o intolerancia a la glucosa y enfermedad coronaria estable recibieron durante 6 semanas, bien tratamiento con simvastatina 80 mg diarios, bien ezetimibe 10 mg asociado a simvastatina 10 mg diarios. La función plaquetaria fue evaluada mediante citometría de flujo y agregometría turbodimétrica con estimulación con agonistas antes y después de recibir el tratamiento. Tras analizar los resultados encontraron que el tratamiento no afectó de manera significativa a la expresión de P-selectina (basal o inducida por ADP o trombina), la unión al fibrinógeno ni la agregación plaqueta-leucocito. De igual manera, el tratamiento tampoco afectó a la agregación plaquetaria inducida por ADP. Así, llegaron a la conclusión de ausencia de cambios significativos en la actividad inhibitoria plaquetar en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 o intolerancia hidrogenada entre aquellos pacientes tratados con dosis altas de estatina frente a aquellos que recibieron dosis bajas asociando ezetimibe.

Como posible respuesta a la variabilidad de resultados de los diferentes estudios se ha especulado con la posibilidad de que puede ser dependiente del sistema de medida de la agregación, como en el estudio de Gremmel et al<sup>100</sup>. En su estudio se incluyeron 288 pacientes bajo doble terapia antiagregante tras implante de stent coronario. La medida de la agregación plaquetaria se realizó con cinco dispositivos disponibles en el mercado: agregometría por transferencia óptica (LTA —light transmisión

agregometry-), VerifyNow P2Y12, dispositivo de fosforilación vasodilatador-fosfoproteína estimulada (VASP —vasodilator-stimulated phosphoprotein phosphorylation-), agregometría de múltiple electrodo (MEA —multiple electrode aggregometry-), y el dispositivo Impact-R. En el estudio univariado encontraron que la edad  $\geq 75$  años se asociaba a mayor reactividad plaquetar inducible por ADP en los sistemas LTA, VerifyNow e Impact-R. También los dispositivos LTA, VerifyNow, VASP e Impact-R identificaron el uso de calcioantagonistas como predictor de pérdida de inhibición plaquetaria por clopidogrel. El índice de masa corporal también influía de manera significativa en el grado de agregación plaquetaria en los sistemas LTA, VASP, MEA e Impact-R. Lo mismo ocurría con el tabaco en los dispositivos VerifyNow, MEA e Impact-R. El uso de IECA y ARA-II se relacionó con la reactividad plaquetar tan solo en el sistema VASP, así como la toma de inhibidores de la bomba de protones, que tan solo mostró relación en el modelo Impact-R. En el análisis multivariable, la edad  $\geq 75$  años y el uso de calcioantagonistas se asoció de manera independiente con una mayor reactividad plaquetar inducible por ADP pese a tratamiento con clopidogrel en los sistemas LTA y VerifyNow. Por LTA se observó una tendencia a mayores valores de agregabilidad con el aumento de índice de masa corporal en el análisis multivariable. Tan solo con MEA y VASP se observó una asociación independiente entre el índice de masa corporal y la reactividad plaquetar. De esta manera los autores concluyen que la influencia de factores en cuanto a la reactividad plaquetar durante el tratamiento con clopidogrel es dependiente del dispositivo empleado para la medición de la agregabilidad.

## Discusión

---

Además, si un manejo terapéutico guiado por estos sistemas es beneficioso ha sido recientemente puesto en entredicho. A este respecto resulta especialmente interesante el estudio realizado por el grupo del francés Collet. En su estudio ARTIC<sup>101</sup> quisieron demostrar, por un lado, la superioridad de la estrategia de monitorización y ajuste de dosis en respondedores subóptimos frente a la estrategia de manejo convencional con dosis de antiagregación estándar recomendadas por las guías de práctica clínica; y por otro lado, la superioridad de la estrategia de mantenimiento de la doble terapia antiagregante más allá de un año frente a la estrategia de interrupción del tratamiento tras al menos un periodo de 6 meses de seguimiento. Para ello desarrollaron un estudio multicéntrico, prospectivo y abierto con brazos paralelos y doble aleatorización en el que participaron 50 centros franceses con un reclutamiento de 2.440 pacientes programados para implante de un stent farmacoactivo – excluyendo aquellos a los que se les iba a realizar angioplastia primaria por infarto de miocardio agudo y aquellos que requerirían el uso de IGP IIb/IIIa durante el intervencionismo. En esta primera fase del estudio (ARTIC-MONITORING<sup>102</sup>) la función plaquetaria se midió mediante el sistema VerifyNow<sup>®</sup>, tanto para aspirina como para antagonistas P2Y<sub>12</sub>. En el caso del estudio ARTIC, se consideró ERPATC valores de PRU > 235 y/o un porcentaje de inhibición < 15%. En el caso de la aspirina, se consideró elevada reactividad plaquetar pese a tratamiento con aspirina aquellos pacientes que presentaron un ARU (aspirin reactivity units) > 550. Como hemos mencionado, una de las hipótesis que planteaba el estudio era la superioridad de los test de función plaquetar frente a la no monitorización de la respuesta al fármaco. Para demostrarlo, establecieron dos brazos. En el primero de ellos, el brazo de “tratamiento

monitorizado”, el tratamiento con aspirina y clopidogrel sería ajustado según los resultados de agregabilidad aportados por el sistema VerifyNow® en el momento del implante del stent y en un control posterior realizado a las 2-4 semanas. Si en la primera medición –en el momento de la angioplastia- se observaba una ERPATC, se añadiría un IGP IIb/IIIa asociado al régimen de clopidogrel o prasugrel. A los pacientes con ERPATC se les pautó al alta una dosis de mantenimiento de 150 mg/día de clopidogrel y 10 mg de prasugrel, mientras que a aquellos que presentaron una reactividad plaquetar normal se les pautó una dosis de mantenimiento de 75 mg de clopidogrel al día. En el seguimiento a las 2-4 semanas, aquellos que presentaron una ERPATC se les aumentó la dosis de clopidogrel en 75 mg más diarios o bien se le realizó cambio a tratamiento con prasugrel. El segundo brazo, el de “tratamiento convencional”, tanto la dosis de carga como la de mantenimiento se dejó a criterio del médico responsable, siguiendo siempre las indicaciones de las guías de práctica clínica. El objetivo primario de esta primera parte del estudio fue el compuesto de muerte por cualquier causa, infarto de miocardio, ictus o accidente isquémico transitorio, revascularización coronaria urgente y trombosis del stent. Se describieron también los siguientes endpoints secundarios: compuesto de trombosis del stent y revascularización urgente; compuesto de muerte, SCA recurrente o ictus; compuesto de muerte o resucitación tras parada cardíaca; compuesto de muerte o infarto de miocardio; y cada uno de los componentes individuales del objetivo primario. En cuanto a seguridad, el endpoint principal fue la incidencia de eventos de sangrado mayor. Entre los resultados obtenidos de esta primera fase del ARTIC<sup>102</sup> cabe destacar que aproximadamente una tercera parte de los pacientes del brazo de “tratamiento

monitorizado” presentaron un ERPATC en el momento del intervencionismo, recibiendo el 80.2% de esos pacientes una dosis adicional de clopidogrel y un 3.3% una dosis de carga adicional del prasugrel. De igual manera, se requirió la coadministración de IGP IIb/IIIa hasta 5 veces más en el grupo monitorizado que en el de tratamiento convencional. En el momento del alta, al 47.8% de los pacientes del brazo de “tratamiento monitorizado” se les pautó una dosis de mantenimiento de clopidogrel de 150 mg/día o superior (hay que recordar que el todos los pacientes del grupo de tratamiento convencional siguieron las recomendaciones de las guías de práctica clínica con 75 mg/día de clopidogrel). En la revisión de las 2-4 semanas, se observó en el grupo monitorizado una reducción de aprox. el 50% en el porcentaje de pacientes que tenían pobre respuesta al tratamiento. Sin embargo, tras un año de seguimiento, el endpoint primario se registró en un 34.6% de los pacientes del brazo monitorizado y un 31.1% de los pacientes con tratamiento convencional ( $p = 0.10$ ), obteniendo resultado similares en cuanto a los endpoints secundarios. De esta manera, los autores no encontraron datos a favor de la realización de test de función plaquetar de forma rutinaria supusiese un beneficio pronóstico en pacientes revascularizados con stent farmacoactivos.

En cuanto al segundo objetivo de demostrar la superioridad de la continuidad de tratamiento con doble antiagregación más allá del año del implante del stent farmacoactivo<sup>103</sup>, los autores desarrollaron un segundo proceso de aleatorización. De los 2440 pacientes que finalizaron el primer año de seguimiento en el ARTIC-MONITORING, 1286 no presentaron contraindicación para continuar con doble terapia antiagregante ni ningún criterio de exclusión establecido en el diseño del estudio. De

## Discusión

---

esta manera, los 1286 pacientes incluidos en el ARTIC-INTERRUPTION<sup>103</sup> fueron aleatorizados 1:1, bien al grupo de interrupción del tratamiento, bien al de continuación del mismo. El endpoint primario se definió como el compuesto por muerte por cualquier causa, infarto de miocardio, ictus o accidente isquémico transitorio, revascularización coronaria urgente y trombosis del stent (similar al de la fase 1). El endpoint secundario de eficacia fue el compuesto de trombosis del stent – revascularizada o no- y necesidad de revascularización urgente. El endpoint principal de seguridad fue definido como la presencia de sangrado mayor según la definición STEEPLE<sup>104</sup>. Tras 17 meses de seguimiento los autores no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos en cuanto al endpoint primario. Estos resultados fueron consistentes con respecto a los observados en cuanto a los endpoints secundarios. Si se observó una mayor tasa de mortalidad al final del seguimiento en aquellos pacientes con elevada reactividad plaquetar. Sin embargo no se observó variabilidad de la reactividad plaquetar entre la interrupción o continuación del tratamiento con tienopiridinas. En cuanto al objetivo de seguridad, no hubo diferencias estadísticamente significativas respecto al sangrado mayor aunque si se observó una menor frecuencia en el grupo de interrupción del tratamiento cuando se tenían en cuenta los eventos de sangrado menor junto con los mayores (0.26, IC 95% 0.07-0.91). Finalmente, los autores quisieron comparar sus resultados con los publicados al respecto mediante una revisión sistemática de 6 estudios con un total de 12.536 pacientes en los que también se comparaba la interrupción del tratamiento con clopidogrel frente a su mantenimiento en el tiempo. Los autores concluyen que tanto el ARTIC-INTERRUPTION como el meta-análisis realizado sugieren la ausencia de

## Discusión

---

beneficio de prologar la doble antiagregación más allá de un año tras la implantación de un stent farmacoactivo en aquellos pacientes que no hayan presentado ningún evento en ese primer año<sup>103</sup>.

Recientemente se han publicado los resultados de un subestudio (ARTIC-GENE<sup>105</sup>) en el que, de igual manera al nuestro, pretenden establecer la relación los estudios genéticos y los test de función plaquetar en pacientes sometidos a intervencionismo coronario. En el subestudio incluyeron a 1394 sujetos de los incluidos en el estudio ARTIC<sup>101</sup> a los que se les realizó una determinación de los polimorfismo *CYP2C19*\*1, \*2, \*4 y \*17. El objetivo del estudio fue evaluar la incidencia de los endpoint principales de isquemia y seguridad de acuerdo al estatus de metabolizador genético y la estrategia de análisis de función plaquetaria. Los objetivos principal y secundarios de eficacia fueron los mismos que los descritos en el ARTIC-INTERRUPTION<sup>103</sup>, al igual que el objetivo principal de seguridad. De los 1394 pacientes, 935 eran rápidos metabolizadores (portadores \*1/\*17 o \*17/\*17) y 459 se clasificaron como metabolizadores lento (\*1/\*2, \*2/\*17). En cada uno de los dos grupos, aproximadamente la mitad se asignó de manera aleatoria al brazo de “tratamiento monitorizado” según resultados de agregación estimado por VerifyNow, o al brazo de “tratamiento convencional”. Tras finalizar el año de seguimiento tras la aleatorización, los investigadores no encontraron diferencias estadísticamente significativas entre metabolizadores rápidos vs. lentos en cuanto a la incidencia de endpoint primario ni en ninguno de los eventos que lo conforman al analizarlos de manera individualizada. Lo mismo ocurrió con los objetivos secundarios de eficacia. Similares resultados se obtuvieron al comparar los brazos de tratamiento monitorizado vs. convencional salvo

## Discusión

---

en la necesidad de revascularización urgente y en el endpoint primario si se utilizaba un definición estricta de infarto de miocardio tipo 4A<sup>7</sup> que era significativamente mayor en los metabolizadores lentos que fueron asignados al brazo de “tratamiento monitorizado”, resultado poco esperable y posiblemente explicable, según los autores, por tratarse de un estudio observacional en el que la información genética no se utilizó para guiar el tratamiento. De esta forma, se concluye que el estatus genético respecto al metabolismo del clopidogrel es un buen marcador de respuesta al fármaco pero no añade valor predictivo a los test de función plaquetar utilizados para el ajuste de la terapia farmacológica.

Como se demuestra por lo ya descrito, la heterogeneidad de la respuesta a antiagregantes sigue siendo motivo de preocupación para los clínicos y objeto de importantes esfuerzos de investigación. Durante años el patrón oro en la determinación de la reactividad plaquetar en pacientes que reciben antiagregantes ha sido la agregometría de transferencia óptica<sup>106</sup>, empleada en muchos de los estudios mencionados hasta el momento<sup>95,96,99,100</sup>. Sin embargo este método presenta múltiples limitaciones ya que es costoso, precisa personal específicamente entrenado y necesita hasta 4 horas para la obtención de resultados. Así se han desarrollado los llamados analizadores “point-of-care” o “bedside” que superan la mayoría de dichas limitaciones. Dentro de este grupo, destacan especialmente el VerifyNow® (Accumetrics, Estados Unidos) que emplea un método de agregometría óptica turbidimétrica y Multiplate® (Dynabite, Alemania) que se basa en la medida de la impedancia multielectrodo.

Un problema de importancia a este respecto es la concordancia en el diagnóstico de pobre o insuficiente respuesta a antiagregantes entre los diferentes sistemas comercialmente disponibles. En esta línea algunos investigadores han advertido previamente que la correlación entre analizadores puede ser muy pobre, incluso no más allá de la esperada por azar, reportándose coeficientes kappa de concordancia entre VerifyNow® y PFA-100® de 0.02 a 0.17 para aspirina en pacientes con accidente cerebrovascular<sup>107</sup>.

En cardiopatía isquémica pocos estudios se han realizado. Woo y colaboradores, en 66 pacientes con cardiopatía isquémica remitidos para intervencionismo coronario e implante de stent farmacoactivo, observaron coeficientes Kappa  $\leq 0.25$  entre el método de transferencia óptica y Multiplate®/VerifyNow®, concluyendo que el grado de acuerdo de los dos últimos con el patrón oro era pobre<sup>108</sup>. De forma más importante, en 222 pacientes con cardiopatía isquémica remitidos para cateterismo cardíaco, Ko y colaboradores<sup>109</sup> reportaron una pobre correlación y concordancia entre Multiplate® y VerifyNow® siendo estos hallazgos completamente consistentes con los obtenidos en nuestro trabajo. Sin embargo también se señaló que la pobre respuesta a inhibidores del P2Y12 evaluada mediante VerifyNow® se asoció con una mayor probabilidad de desarrollo de infarto perangioplastia coronaria así como de eventos adversos a 30 días. En nuestro estudio, sin embargo, ninguno de los tests asoció con la ocurrencia de infarto perangioplastia y sólo el Trap Test y PRU base asociaron con eventos adversos en el seguimiento. Sugerimos que diferencias en las características

## Discusión

---

basales de los pacientes incluidos pueden justificar los diferentes hallazgos. Así en el estudio de Ko, sólo un 44.2% de los pacientes presentaron SCA frente a un 92.0% en nuestra serie. Otras diferencias que pueden haber influido son la mayor edad, proporción de obesos, fumadores activos y diabéticos en nuestro estudio.

Otros estudios previos han encontrado relación entre la reactividad plaquetar y el daño miocárdico tras intervencionismo coronario. Pérez de Prado y colaboradores, en 93 pacientes con SCA sin elevación persistente del segmento ST reportaron asociación tanto del PRU base como de PRU con la ocurrencia de cualquier elevación de marcadores miocárdicos (o re-elevación sobre previos) tras el procedimiento<sup>110</sup>. Nuestra definición sin embargo de IAM periACTP fue más restrictiva pero concordante con recomendaciones recientes<sup>111</sup>, lo cual pudo en parte contribuir a las diferencias observadas.

Desde nuestro conocimiento, presentamos la serie comparativa publicada más grande entre los analizadores VerifyNow® y Multiplate®. Por otro lado es el primer estudio comparativo en población europea a diferencia de los presentados previamente (población asiática)<sup>108,109</sup>. Nuestros hallazgos completan y expanden las observaciones del estudio previo de Ko<sup>109</sup>, refrendando el concepto de una preocupante pobre concordancia en el diagnóstico de respuesta insuficiente a antiagregantes. Llamativamente sólo observamos una concordancia “moderada” entre el porcentaje de inhibición y PRU –ambos obtenidas con VerifyNow®, Test ADP y Test ADPhs – ambos obtenidos con Multiplate®. Se trataría por lo tanto de una pobre concordancia

“inter-analizador” y de sólo una moderada “intra-analizador”. La razón de esta discordancia entre los analizadores ha sido discutida y las razones últimas se desconocen. Se ha especulado de forma poco convincente que diferencias en la metodología de medida pueden justificar la discrepancia<sup>109</sup>.

En nuestro estudio la prevalencia de resistencia a aspirina y clopidogrel fue enormemente variable, desde 2.4 a 15.3% y de 19.1 a 68.9%, respectivamente. Esta variabilidad es concordante con lo encontrado en la literatura<sup>112,113</sup> y plantea el interesante interrogante de si la prevalencia de la resistencia a aspirina y clopidogrel es dependiente no sólo del punto de corte predefinido sino también del test empleado.

En un momento donde diferentes estudios están valorando si la toma de decisiones clínicas (fundamentalmente referidas al cambio del tipo de antiagregantes) basadas en los resultados de analizadores del estado de respuesta plaquetar, la elección del método de referencia resulta primordial. En este sentido el test que primero demuestre que aporta información capaz de cambiar el pronóstico del paciente a través del uso de uno u otro antiagregante —o un cambio de dosis, en su caso- dará un importante paso al frente y será el método de elección.

El mayor conocimiento de las bases genéticas de la fisiología y patología humana junto con el desarrollo continuo de técnicas a pie de cama están permitiendo un diagnóstico más rápido y un tratamiento más efectivo de enfermedades tan prevalentes como la cardiopatía isquémica. Sin embargo, y tal como demuestran los estudios, estos nuevos

## Discusión

---

genes relacionados con la farmacogenética de clopidogrel deberán integrarse sin excepción con factores clínicos fácilmente obtenibles de una simple historia clínica o análisis rutinario de laboratorio. Deben realizarse futuros estudios que amplíen el conocimiento de la farmacogenética y busquen dicha integración con el aspecto clínico.

## **8. Limitaciones y Fortalezas**

## Limitaciones y Fortalezas

---

Las limitaciones fueron: (1) las propias de los estudios observacionales; así la administración o no de la dosis de carga, la dosis de la misma o de mantenimiento de los antiagregantes no fue uniforme sino a discreción del médico al cargo; (2) el tamaño muestral vino determinado por el número máximo de sujetos que se pudieron reclutar en el intervalo de tiempo señalado, con lo que no podemos descartar un problema de potencia estadística; esta consideración es relevante en la interpretación de nuestros resultados referidos al cálculo de los intervalos de confianza del ABC de las curvas ROC y al bajo número de eventos adversos (trombóticos y hemorrágicos) lo cual nos hizo no considerar un ajuste multivariado; (3) no dispusimos de la medida de agregometría de transferencia óptica, que es –como se ha escrito más arriba- considerado como el patrón oro; (4) variaciones en los puntos de corte de los tests empleados (propuestos por diferentes autores) podrían modificar ligeramente los coeficientes kappa, pero no debería influir en los métodos gráficos; (5) no se dispuso de datos relativos a la cumplimentación terapéutica tras el alta; (6) la prevalencia de pacientes con elevada reactividad residual fue elevada en nuestro estudio y esto probablemente se debe a la elección de 4 horas como tiempo mínimo para la determinación de la respuesta desde la dosis de carga. Como fortalezas, señalamos que es un estudio que evalúa hasta tres polimorfismos de nucleótidos simple en una población homogénea de pacientes con SCA y que no se produjeron pérdidas en el seguimiento.

## **9. Conclusiones**

## Conclusiones

---

En lo referente a los objetivos primarios del estudio:

- Tras realizar el estudio de agregabilidad plaquetar a los pacientes con diagnóstico de síndrome coronario agudo de nuestra muestra que se encontraban bajo tratamiento con clopidogrel, encontramos que un elevado porcentaje (64%) fueron identificados como pobre respondedores al efecto del fármaco al mostrar un PRU > 235 U en el dispositivo VerifyNow®.
- Al valorar los condicionantes genéticos, observamos que el polimorfismo de *CYP2C19*\*2 influyó en una pobre respuesta a clopidogrel, aunque de manera modesta. Por su parte, los polimorfismos de *CYP2C19*\*17 o *PON1-Q192R* no influenciaron la reactividad plaquetar.
- A la hora de definir el perfil de ERPATC, en el análisis univariado encontramos que la edad, la insuficiencia renal crónica previa, la creatinina basal y el ser portador de uno o más alelos \*2 del *CYP2C19* fueron factores de riesgo para una elevada reactividad plaquetar, mientras que el tabaquismo activo, la hemoglobina, los niveles de hematocrito y el aclaramiento renal aparecieron como factores protectores.
- En el análisis multivariado, el índice de masa corporal y el ser portador de  $\geq 1$  alelo \*2 resultaron predictores independientes para una pobre respuesta al clopidogrel mientras que fueron protectores la hemoglobina basal elevada y el uso concomitante de estatinas.

En cuanto a los objetivos secundarios:

- La variabilidad de la respuesta a clopidogrel explicada por *CYP2C19*\*2 es modesta comparativamente con variables clínicas.

## Conclusiones

---

- Ni la presencia del alelo \*17 del *CYP2C19* ni del alelo *T* del *PON1-Q192R* fueron predictores de pobre respuesta a clopidogrel. Además, ni la presencia de estos alelos ni la del \*2 condicionaron un pronóstico distinto en pacientes con diagnóstico de SCA remitidos para cateterismo cardíaco.
- El grado de acuerdo en el diagnóstico de pobre respuesta a la aspirina y clopidogrel entre los sistemas VerifyNow® y Multiplate® fue globalmente pobre. La mayor reactividad plaquetar “basal” se asoció con una mayor ocurrencia de eventos adversos.
- Futuros estudios de mayor tamaño deberán confirmar estas observaciones.

## **10. Referencias Bibliográficas**

## Referencias Bibliográficas

---

1. Patrono C, Bachmann F, Baigent C, Bode C, De Caterina R, Charbonnier B, et al. Expert consensus document on the use of antiplatelet agents. The task force on the use of antiplatelet agents in patients with atherosclerotic cardiovascular disease of the International Society of Cardiology. *Eur Heart J*. 2004;25:166-81.
2. Lina Badimón, Gemma Vilahur, Teresa Padró. Lipoproteínas, plaquetas y aterotrombosis. *Rev Esp Cardiol*. 2009;62(10):1161-78
3. Kumar A, Cannon CP. Acute coronary syndrome: Diagnosis and management. *Mayo Clin Proc*. 2009 Oct; 84(10): 917–938.
4. Nomenclature and criteria for diagnosis of ischemic heart disease. Report of the Joint International Society and Federation of Cardiology/World Health Organization task force on standardization of clinical nomenclature. *Circulation* 1979; 59:607.
5. Alpert JS, Thygesen K, Antman E, Bassand JP. Myocardial infarction redefined—a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36:959.
6. Thygesen K, Alpert JS, White HD, Joint ESC/ACCF/AHA/WHF Task Force for the Redefinition of Myocardial Infarction. Universal definition of myocardial infarction. *Eur Heart J* 2007; 28:2525.
7. Thygesen K, Alpert JS, Jaffe AS, et al. Third universal definition of myocardial infarction. *Circulation* 2012; 126:2020.
8. 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->

## Referencias Bibliográficas

---

myocardial-infarction?topicKey=CARD%2F52&elapsedTimeMs=0&source=see\_link&view=print&displayedView=full

**9.** Cannon CP, McCabe CH, Stone PH, et al. The electrocardiogram predicts one-year outcome of patients with unstable angina and non-Q wave myocardial infarction: results of the TIMI III Registry ECG Ancillary Study. *Thrombolysis in Myocardial Ischemia. J Am Coll Cardiol* 1997; 30:133.

**10.** Colaco R, Reay P, Beckett C, et al. False positive ECG reports of anterior myocardial infarction in women. *J Electrocardiol* 2000; 33 Suppl:239.

**11.** Task Force on the management of ST-segment elevation acutemyocardial infarction of the European Society of Cardiology (ESC), Steg PG, James SK, Atar D, Badano LP, Blömmstrom-Lundqvist C, Borger MA, Di Mario C, Dickstein K, Ducrocq G, Fernandez-Aviles F, Gershlick AH, Giannuzzi P, Halvorsen S, Huber K, Juni P, Kastrati A, Knuuti J, Lenzen MJ, Mahaffey KW, Valgimigli M, van 't Hof A, Widimsky P, Zahger D. ESC Guidelines for the management of acute myocardial infarction in patients presenting with ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2012 Oct;33(20):2569-619.

**12.** The Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) trial. Phase I findings. TIMI Study Group. *N Engl J Med.* 1985;312:932-6.

**13.** Seldinger SI. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography; a new technique. *Acta radiol.* 1953 May;39(5):368-76.

**14.** Serruys PW, De Jaegere P, Kiemeneij F, Macaya C, Rutsch W, Heyndrickx G, et al. A comparison of balloon-expandable-stent implantation with balloon angioplasty in patients with coronary artery disease. Benestent Study Group. *N Engl J Med.* 1994; 331:489-95.

## Referencias Bibliográficas

---

15. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, et al. A randomized comparison of a sirolimus-eluting stent with a standard stent for coronary revascularization. *N Engl J Med.* 2002; 346:1773-80.
16. Stone GW, Ellis SG, Cox DA, Hermiller J, O'Shaughnessy C, Mann JT, et al. A polymer-based, paclitaxel-eluting stent in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med.* 2004; 350:221-31.
17. Joner M, Finn AV, Farb A, Mont EK, Kolodgie FD, Ladich E, et al. Pathology of drug-eluting stents in humans: delayed healing and late thrombotic risk. *J Am Coll Cardiol.* 2006; 48:193-202.
18. Virmani R, Guagliumi G, Farb A, Musumeci G, Grieco N, Motta T, et al. Localized hypersensitivity and late coronary thrombosis secondary to a sirolimus-eluting stent: should we be cautious?. *Circulation.* 2004; 109:701-5.
19. Muramatsu T, Onuma Y, Zhang YJ, Bourantas CV, Kharlamov A, Diletti R, Farooq V, Gogas BD, Garg S, García-García HM, Ozaki Y, Serruys PW. Avances en el tratamiento mediante intervención coronaria percutánea: el stent del futuro. *Rev Esp Cardiol.* 2013;66:483-96.
20. Onuma Y, Garg S, Okamura T, Ligthart J, Van Geuns RJ, De Feyter PJ, et al. Ten-year follow-up of the IGAKI-TAMAI stent. A posthumous tribute to the scientific work of Dr. Hideo Tamai *EuroIntervention.* 2009; 5(Suppl F):F109-11.
21. Bonow RO, Man DL, Zipes DP, Libby P, eds. *Braunwald's Heart Disease: A Textbook of Cardiovascular Medicine*, 9th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2012.
22. Keenan TD, Abu-Omar Y, Taggart DP: Bypassing the pump: Changing practices in coronary artery surgery. *Chest* 128:363, 2005.

## Referencias Bibliográficas

---

- 23.** Longo DL, Dennis K, Kasper J, Jameson L, Fauci AS, Hauser SL, Loscalzo J. 2012. Harrison. Principios de Medicina Interna. 18 ed. Méjico. McGraw-Hill Interamericana Editores. Vol. 2. 1525.
- 24.** Nishida H, Tomizawa Y, Endo M, et al: Survival benefit of exclusive use of in situ arterial conduits over combined use of arterial and vein grafts for multiple coronary artery bypass grafting. *Circulation* 112:1299, 2005.
- 25.** Sianos G, Morel MA, Kappetein AP, Morice MC, Colombo A, Dawkins K, van den Brand M, Van Dyck N, Russell ME, Mohr FW, Serruys PW. The SYNTAX Score: an angiographic tool grading the complexity of coronary artery disease. *EuroIntervention*. 2005 Aug;1(2):219-27.
- 26.** Windecker S, Kolh P, Alfonso F, Collet JP, Cremer J, Falk V, Filippatos G, Hamm C, Head SJ, Jüni P, Kappetein AP, Kastrati A, Knuuti J, Landmesser U, Laufer G, Neumann FJ, Richter DJ, Schauerte P, Uva MS, Stefanini GG, Taggart DP, Torracca L, Valgimigli M, Wijns W, Witkowski A. 2014 ESC/EACTS guidelines on myocardial revascularization. *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. 2015 Feb;68(2):144.
- 27.** Hamm CW, Bassand JP, Agewall S, Bax J, Boersma E, Bueno H, Caso P, Dudek D, Gielen S, Huber K, Ohman M, Petrie MC, Sonntag F, Uva MS, Storey RF, Wijns W, Zahger D; ESC Committee for Practice Guidelines. ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation: The Task Force for the management of acute coronary syndromes (ACS) in patients presenting without persistent ST-segment elevation of the European Society of Cardiology (ESC). *Eur Heart J*. 2011 Dec;32(23):2999-3054.

## Referencias Bibliográficas

---

- 28.** Mehta SR, Granger CB, Boden WE, Steg PG, Bassand JP, Faxon DP, et al. Early versus delayed invasive intervention in acute coronary syndromes. *N Engl J Med.* 2009;360:2165-75.
- 29.** Sorajja P, Gersh BJ, Cox DA, McLaughlin MG, Zimetbaum P, Costantini C, et al. Impact of delay to angioplasty in patients with acute coronary syndromes undergoing invasive management: analysis from the ACUITY (Acute Catheterization and Urgent Intervention Triage andomiz) trial. *J Am Coll Cardiol.* 2010;55:1416-24.
- 30.** Fox KA, Dabbous OH, Goldberg RJ, Pieper KS, Eagle KA, Van de Werf F, et al. Prediction of risk of death and myocardial infarction in the six months after presentation with acute coronary syndrome: prospective multinational observational study (GRACE). *BMJ.* 2006;333:1091.
- 31.** Wijns W, Kolh P, Danchin N, Di Mario C, Falk V, Folliguet T, et al. Guidelines on myocardial revascularization: the Task Force on Myocardial Revascularization of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS). *Eur Heart J.* 2010;31:2501-55.
- 32.** De Luca G, Suryapranata H, Stone GW, Antoniucci D, Tcheng JE, Neumann FJ, Van deWerf F, Antman EM, Topol EJ. Abciximab as adjunctive therapy to reperfusion in acute ST-segment elevation myocardial infarction: a meta-analysis of randomized trials. *JAMA.* 2005;293:1759-65.
- 33.** Valgimigli M, Biondi-Zoccai G, Tebaldi M, van't Hof AW, Campo G, Hamm C, ten Berg J, Bolognese L, Saia F, Danzi GB, Briguori C, Okmen E, King SB, Moliterno DJ, Topol EJ. Tirofiban as adjunctive therapy for acute coronary syndromes and percutaneous

## Referencias Bibliográficas

---

coronary intervention: a meta-analysis of randomized trials. *Eur Heart J.* 2010;31:35-49.

**34.** Yusuf S, Mehta SR, Chrolavicius S, Afzal R, Pogue J, Granger CB, et al. Effects of fondaparinux on mortality and reinfarction in patients with acute ST-segment elevation myocardial infarction: the OASIS-6 randomized trial. *JAMA.* 2006;295:1519-30.

**35.** Anderson JA, Hirsh J, Yusuf S, Johnston M, Afzal R, Mehta SR, et al. Comparison of the anticoagulant intensities of fondaparinux and enoxaparin in the Organization to Assess Strategies in Acute Ischemic Syndromes (OASIS)-5 trial. *J Thromb Haemost.* 2010;8:243-9.

**36.** Harrington RA, Becker RC, Cannon CP, Gutterman D, Lincoff AM, Popma JJ, et al. Antithrombotic therapy for non-ST-segment elevation acute coronary syndromes: American College of Chest Physicians Evidence-Based Clinical Practice Guidelines (8<sup>th</sup> Edition). *Chest.* 2008;133:S670-707.

**37.** Stone GW, McLaurin BT, Cox DA, Bertrand ME, Lincoff AM, Moses JW, White HD, Pocock SJ, Ware JH, Feit F, Colombo A, Aylward PE, Cequier AR, Darius H, Desmet W, Ebrahimi R, Hamon M, Rasmussen LH, Rupprecht HJ, Hoekstra J, Mehran R, Ohman EM; ACUITY Investigators. *N Engl J Med.* Bivalirudin for patients with acute coronary syndromes. 2006 Nov 23;355(21):2203-16.

**38.** Stone GW, Witzenbichler B, Guagliumi G, Peruga JZ, Brodie BR, Dudek D, Kornowski R, Hartmann F, Gersh BJ, Pocock SJ, Dangas G, Wong SC, Kirtane AJ, Parise H, Mehran R; HORIZONS-AMI Trial Investigators. Bivalirudin during primary PCI in acute myocardial infarction. *N Engl J Med.* 2008 May 22;358(21):2218-30.

## Referencias Bibliográficas

---

- 39.** Zeymer U, van 't Hof A, Adgey J, Nibbe L, Clemmensen P, Cavallini C, ten Berg J, Coste P, Huber K, Deliargyris EN, Day J, Bernstein D, Goldstein P, Hamm C, Steg PG. Bivalirudin is superior to heparins alone with bailout GP lib/IIIa inhibitors in patients with ST-segment elevation myocardial infarction transported emergently for primary percutaneous coronary intervention: a pre-specified analysis from the EUROMAX trial. *Eur Heart J.* 2014 Sep 21;35(36):2460-7.
- 40.** 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](http://www.ema.europa.eu/docs/es_ES/document_library/EPAR_-_Product_Information/human/000174/WC500042189.pdf)
- 41.** Camilleri E, Jacquin L, Paganelli F, Bonello L. Personalized antiplatelet therapy: review of the latest clinical evidence. *Curr Cardiol Rep.* 2011;13(4):296-302.
- 42.** Cavallari LH, Jeong H, Bress A. Role of cytochrome P450 genotype in the steps toward personalized drug therapy. *Pharmacogenomics Pers Med.* 2011;4:123-136.
- 43.** Donohue MM, Tirschwell DL. Implications of pharmacogenetic testing for patients taking warfarin or clopidogrel. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2011;11(1):52-60.
- 44.** Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, Boyer C, Panagides D, Wittenberg O, 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.
- 45.** Sibbing D, Braun S, Morath T, Mehilli J, Vogt W, Schömig A, 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.

## Referencias Bibliográficas

---

- 46.** Breet NJ, van Werkum JW, Bouman HJ, Kelder JC, Ruven HJT, Bal ET, et al. Comparison of platelet function tests in predicting clinical outcome in patients undergoing coronary stent implantation. *JAMA*. 2010;303:754-62.
- 47.** Ferreiro JL, Angiolillo DJ. Clopidogrel response variability: current status and future directions. *Thromb Haemost*. 2009;102:7-14.
- 48.** Angiolillo DJ, Ferreiro JL. Inhibición del receptor plaquetario P2Y<sub>12</sub> de adenosina difosfato plaquetario: efectos beneficiosos y limitaciones de las estrategias terapéuticas actuales y perspectivas futuras. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63:60-76.
- 49.** Angiolillo DJ. Variability in responsiveness to oral antiplatelet therapy. *Am J Cardiol*. 2009;103 Suppl 3:A27-34.
- 50.** Close SL. Pharmacogenetics and pharmacogenomics of thienopyridines: clinically relevant? *Fundam Clin Pharmacol*. 2012; 26(1):19-26.
- 51.** 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(10), e46366.
- 52.** Luo M, Li J, Xu X, Sun X, Sheng W. ABCB1 C3435T polymorphism and risk of adverse clinical events in clopidogrel treated patients: a meta-analysis. *Thromb Res*. 2012;129(6):754-9.
- 53.** Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med*. 2009;360:354–62.
- 54.** 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(24):3046-53.

## Referencias Bibliográficas

---

- 55.** Brackbill ML, Kidd RS, Abdoo AD, Warner JG, Harralson AF. Frequency of CYP3A4, CYP3A5, CYP2C9 and CYP2C19 variant alleles in patients receiving clopidogrel that experience repeat acute coronary syndrome. *Heart Vessels*. 2009;24(2):73-78.
- 56.** 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(12):1715-22.
- 57.** Ned RM. Genetic testing for CYP450 polymorphisms to predict response to clopidogrel: current evidence and test availability. *PloS Curr*. 2010; 2(pii),RRN1180.
- 58.** Bouman HJ, Schömig E, van Werkum JW, Velder J, Hackeng CM, Hirschhäuser C, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat Med*. 2011;17:110-6.
- 59.** Frueh FW, Amur S, Mummaneni P, Epstein RS, Aubert RE, DeLuca TM, et al. Pharmacogenomic biomarker information in drug labels approved by the United States food and drug administration: prevalence of related drug use. *Pharmacotherapy*. 2008;28:992–8.
- 60.** Hulot JS, Hajjar R, Montalescot G. Clopidogrel and CYP2C19 testing: ready for clinical prime time? *Clin Chem*. 2012;58:154-7.
- 61.** Paramo JA. Nueva era en la terapia antiplaquetar basada en los resultados de ensayos clínicos recientes. *Med Clin (Barc)*. 2011;137:504-8.
- 62.** Hulot JS, Bura A, Villard E, Azizi M, Remones V, Goyenvalle C, et al. Cytochrome P450 2C19 loss-of-function polymorphism is a major determinant of clopidogrel responsiveness in healthy subjects. *Blood*. 2006;108:2244 –7.

## Referencias Bibliográficas

---

- 63.** Simon T, Verstuyft C, Mary-Krause M, Quteineh L, Drouet E, Méneveau N, et al. Genetic determinants of response to clopidogrel and cardiovascular events. *N Engl J Med.* 2009;360:363–75.
- 64.** Collet JP, Hulot JS, Pena A, Villard E, Esteve JB, Silvain J, et al. Cytochrome P450 2C19 polymorphism in young patients treated with clopidogrel after myocardial infarction: a cohort study. *Lancet.* 2009;373:309–17.
- 65.** Shuldiner AR, O’Connell JR, Bliden KP, Gandhi A, Ryan K, Horenstein RB, et al. Association of cytochrome P450 2C19 genotype with the antiplatelet effect and clinical efficacy of clopidogrel therapy. *JAMA.* 2009;302:849 –57.
- 66.** Sibbing D, Koch W, Gebhard D, Schuster T, Braun S, Stegherr J, et al. Cytochrome 2C19\*17 allelic variant, platelet aggregation, bleeding events, and stent thrombosis in clopidogrel-treated patients with coronary stent placement. *Circulation.* 2010;121:512– 8.
- 67.** Bouman HJ, Schömig E, van Werkum JW, Velder J, Hackeng CM, Hirschhäuser C, et al. Paraoxonase-1 is a major determinant of clopidogrel efficacy. *Nat Med.* 2011;17:110-6.
- 68.** Frelinger AL, Bhatt DL, Lee RD, Mulford DJ, Wu J, Nudurupati S et al. Clopidogrel Pharmacokinetics and Pharmacodynamics Vary Widely Despite Exclusion or Control of Polymorphisms (CYP2C19, ABCB1, PON1), Noncompliance, Diet, Smoking, Co-mediations (Including Proton Pump Inhibitors), and Pre-existent Variability in Platelet Function. *J Am Coll Cardiol.* 2013 Feb 26;61(8):872-9.
- 69.** Michelson AD. Methods for the measurement of platelet function. *Am J Cardiol.* 2009;103 Suppl 3:A20-6.

## Referencias Bibliográficas

---

- 70.** Price MJ, Angiolillo DJ, Teirstein PS, Lillie E, Manoukian SV, Berger PB, Tanguay JF, Cannon CP, Topol EJ. Platelet reactivity and cardiovascular outcomes after percutaneous coronary intervention: a time-dependent analysis of the Gauging Responsiveness with a VerifyNow P2Y12 assay: Impact on Thrombosis and Safety (GRAVITAS) trial. *Circulation*. 2011 Sep 6;124(10):1132-7.
- 71.** Gurbel PA, Erlinge D, Ohman EM, Neely B, Neely M, Goodman SG, et al. Platelet Function During Extended Prasugrel and Clopidogrel Therapy for Patients With ACS Treated Without Revascularization: The TRILOGY ACS Platelet Function Substudy. *JAMA*. 2012 Nov 7;308(17):1785-94.
- 72.** Brar SS, ten Berg J, Marcucci R, Price MJ, Valgimigli M, Kim HS, et al. Impact of platelet reactivity on clinical outcomes after percutaneous coronary intervention. A collaborative meta-analysis of individual participant data. *J Am Coll Cardiol*. 2011;58:1945-54.
- 73.** Park DW, Ahn JM, Song HG, Lee JY, Kim WJ, Kang SJ, et al. Differential prognostic impact of high on-treatment platelet reactivity among patients with acute coronary syndromes versus stable coronary artery disease undergoing percutaneous coronary intervention. *Am Heart J*. 2013;165:34-42.
- 74.** Bauer T, Bouman HJ, van Werkum JW, Ford NF, ten Berg JM, Taubert D. Impact of CYP2C19 variant genotypes on clinical efficacy of antiplatelet treatment with clopidogrel: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2011 Aug 4;343:d4588.
- 75.** Holmes MV, Perel P, Shah T, Hingorani AD, Casas JP. CYP2C19 genotype, clopidogrel metabolism, platelet function, and cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *JAMA*. 2011;306:2704-14.

## Referencias Bibliográficas

---

- 76.** Mega JL, Simon T, Collet JP, Anderson JL, Antman EM, Bliden K, et al. Reduced-function CYP2C19 genotype and risk of adverse clinical outcomes among patients treated with clopidogrel predominantly for PCI: a meta-analysis. *JAMA*. 2010;27;304:1821-30.
- 77.** Ko YG, Suh JW, Kim BH, Lee CJ, Kim JS, Choi D et al. Comparison of 2 point-of-care platelet function tests, VerifyNow Assay and Multiple Electrode Platelet Aggregometry, for predicting early clinical outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am Heart J* 2011;161:383-90.
- 78.** Mangiacapra F, De Bruyne B, Muller O, Trana C, Ntalianis A, Bartunek J, et al. High residual platelet reactivity after clopidogrel: extent of coronary atherosclerosis and periprocedural myocardial infarction in patients with stable angina undergoing percutaneous coronary intervention. *JACC Cardiovasc Interv*. 2010;3:35-40.
- 79.** Prasad A, Herrmann J. Myocardial infarction due to percutaneous coronary intervention. *N Eng J Med*. 2011;364:453:64.
- 80.** Fernández C, Bardají JL, Concha M, Cordo JC, Cosín J, Magriñá J, Melgares R. Guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Cardiología en angina estable. *Rev Esp Cardiol*. 200;53:967-96.
- 81.** The Human Cytochrome P450 (CYP) Allele Nomenclature Database. <http://www.cypalleles.ki.se/>.
- 82.** Bonello L, Tantry US, Marcucci R, Blindt R, Angiolillo DJ, Becker 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.

## Referencias Bibliográficas

---

- 83.** Maldonado G, Greenland S. Simulation study of confounder-selection strategies. *Am J Epidemiol.*1993; 138:923-36.
- 84.** Rao AK, Pratt C, Berke A, Jaffe A, Ockene I, Schreiber TL, et al. Thrombolysis in Myocardial Infarction (TIMI) Trial—phase I: hemorrhagic manifestations and changes in plasma fibrinogen and the fibrinolytic system in patients treated with recombinant tissue plasminogen activator and streptokinase. *J Am Coll Cardiol.* 1988;11:1-11.
- 85.** International Hapmap Project. <http://hapmap.ncbi.nlm.nih.gov/index.html.en>.
- 86.** Tello-Montoliu A, Jover E, Marín F, Bernal A, Lozano ML, Sánchez-Vega B, et al. Influence of CYP2C19 polymorphisms in platelet reactivity and prognosis in an unselected population of non ST elevation acute coronary syndrome. *Rev Esp Cardiol.* 2012;65:219-
- 87.** Mega JL, Close SL, Wiviott SD, Shen L, Hockett RD, Brandt JT, et al. Cytochrome P-450 polymorphisms and response to clopidogrel. *N Engl J Med.* 2009;360:354–62.
- 88.** Zabalza M, Subirana I, Sala J, Lluís-Ganella C, Lucas G, Tomás M, et al. Meta-analyses of the association between cytochrome CYP2C19 loss- and gain-of-function polymorphisms and cardiovascular outcomes in patients with coronary artery disease treated with clopidogrel. *Heart.* 2012;98:100-8.
- 89.** Wei Y, Wang D, Yang H, Cao H. Cytochrome P450 CYP2C19\*2 associated with adverse 1-year cardiovascular events in patients with acute coronary syndrome. *Plos One.* 2015 Jul 6;10(7):e0132561.
- 90.** Tiroch KA, Sibbing D, Koch W, Roosen-Runge T, Mehilli J, Schömig A, et al. Protective effect of the CYP2C19\*17 polymorphism with increased activation of clopidogrel on cardiovascular events. *Am Heart J.* 2010;160:506-12.

## Referencias Bibliográficas

---

- 91.** Bhatt DL, Paré G, Eikelboom JW, Simonsen KL, Emison ES, Fox KA, et al. The relationship between CYP2C19 polymorphisms and ischaemic and bleeding outcomes in stable outpatients: the CHARISMA genetics study. *Eur Heart J.* 2012 Sep;33(17):2143-50.
- 92.** Bhatt DL, Fox KA, Hacke W, Berguer PB, Black HR, Boden WE, Cacoub P, Cohen EA, Creager MA, Easton JD, Flather MD, Haffner SM, Hamm CW, Hankey GF, Johnston SC, Mak KH, Mas JL, Montalescot G, Pearson TA, Steg PG, Steinhubl SR, Weber MA, Brennan DM, Fabry-Ribaud L, Booth J, Topol EJ. Clopidogrel and aspirin versus aspirin alone for the prevention of atherothrombotic events. *N Engl J Med.* 2006; 354:1706-17.
- 93.** Sgarbossa E,, Pinski SL, Barbagelata A, Underwood DA, Gates KB, Topol EI, et al. Electrocardiographic diagnosis of evolving acute myocardial infarction in the presence of left bundle-branch block. GUSTO-1 (Global Utilization of Streptokinase and Tissue Plasminogen Activator for Occluded Coronary Arteries) Investigators. *N Engl J Med.* 1996;334:481-7.
- 94.** Reny JL, Combescure C, Daali Y, Fontana P; for the PON1 meta-analysis group. Influence of the paraoxonase-1 Q192R genetic variant on clopidogrel responsiveness and recurrent cardiovascular events: a systematic review and meta-analysis. *J Thromb Haemost.* 2012 Jul;10(7):1242-51.
- 95.** Toma C, Zahr F, Moguilanski D, Grate S, Semaan RW, Lemieux N, et al. Impact of anemia on platelet response to clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary stenting. *Am J Cardiol.* 2012;109:1148-53.

## Referencias Bibliográficas

---

- 96.** Bouman HJ, Harmsze AM, van Werkum JW, Breet NJ, Bergmeijer TO, Ten Cate H, 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.
- 97.** Leoncini M, Toso A, Maioli M, Angiolillo DJ, Giusti B, Marcucci R, et al. High-dose atorvastatin on the pharmacodynamic effects of double-dose clopidogrel in patients undergoing percutaneous coronary interventions: The ACHIDO (Atorvastatin and Clopidogrel High Dose in stable patients with residual high platelet activity) study. *JACC Cardiovasc Interv*. 2013;6:169-79.
- 98.** Matetzky S, Fefer P, Shenkman B, Shechter M, Novikov I, Savion N, et al. Statins have an early antiplatelet effect in patients with acute myocardial infarction. *Platelets*. 2011;22:103-10.
- 99.** Malmström RE, Settergren M, Böhm F, Pernow J, Hjemdahl P. No effect of lipid lowering on platelet activity in patients with coronary artery disease and type 2 diabetes or impaired glucose tolerance. *Thromb Haemost*. 2009;101:157-64.
- 100.** Gremmel T, Steiner S, Seidinger D, Koppensteiner R, Panzer S, Kopp CW. The influencing factors for clopidogrel-mediated platelet inhibition are assay-dependent. *Thromb Res*. 2011;128:352-7.
- 101.** Collet JP, Cayla G, Cuisset T, Elhadad S, Rangé G, Vicaut E, Montalescot G. Randomized comparison of platelet function monitoring to adjust antiplatelet therapy versus standard of care: rationale and design of the assessment with a double randomization of (1) a fixed dose versus a monitoring-guided dose of aspirin and

## Referencias Bibliográficas

---

clopidogrel after DES implantation, and (2) treatment interruption versus continuation, 1 year after stenting (ARCTIC) study. *Am Heart J.* 2011 Jan;161(1):5-12.e5.

**102.** Collet JP, Cuisset T, Rangé G, Cayla G, Elhadad S, Pouillot C, et al. Bedside monitoring to adjust antiplatelet therapy for coronary stenting. *N Engl J Med.* 2012;367:2100-9.

**103.** Collet JP, Silvain J, Barthélémy O, Rangé G, Cayla G, Van Belle E, Cuisset T, Elhadad S, Schiele F, Lhoest N, Ohlmann P, Carrié D, Rousseau H, Aubry P, Monségu J, Sabouret P, O'Connor SA, Abtan J, Kerneis M, Saint-Etienne C, Beygui F, Vicaut E, Montalescot G; ARCTIC investigators. Dual-antiplatelet treatment beyond 1 year after drug-eluting stent implantation (ARCTIC-Interruption): a randomised trial. *Lancet.* 2014 Nov 1;384(9954):1577-85.

**104.** Montalescot G, White HD, Gallo R et al. Enoxaparin versus unfractionated heparin in elective percutaneous coronary intervention. *N Engl J Med.* 2006; 355: 1006-17.

**105.** Collet JP, Hulot JS, Cuisset T, Rangé G, Cayla G, Van Belle E, Elhadad S, Rousseau H, Sabouret P, O'Connor SA, Abtan J, Kerneis M, Saint-Etienne C, Barthélémy O, Beygui F, Silvain J, Vicaut E, Montalescot G; ARCTIC investigators. Genetic and platelet function testing of antiplatelet therapy for percutaneous coronary intervention: the ARTIC-GENE study. *Eur J Clin Pharmacol.* 2015 Aug 13. [Epub ahead of print]

**106.** Azam SM, Jozic J. Variable platelet responsiveness to aspirin and clopidogrel: role of platelet function and genetic polymorphism testing. *Transl Res.* 2009;154:309-13.

**107.** Harrison P, Segal H, Silver L, Syed A, Cuthbertson FC, Rothwell PM. Lack of reproducibility of assessment of aspirin responsiveness by optical aggregometry and two platelet function tests. *Platelets.* 2008;19:119-24.

## Referencias Bibliográficas

---

- 108.** Woo KS, Kim BR, Kim JI, Goh RY, Yu LH, Kim MH, et al. Determination of the Prevalence of Aspirin and Clopidogrel Resistances in Patients with Coronary Artery Disease by using Various Platelet-function Tests. *Korean J Lab Med.* 2010;30:460-8.
- 109.** Ko YG, Suh JW, Kim BH, Lee CJ, Kim JS, Choi D, et al. Comparison of 2 point-of-care platelet function tests, VerifyNow Assay and Multiplate Electrode Platelet Aggregometry, for predicting early clinical outcomes in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Am Heart J.* 2011;161:383-90.
- 110.** Perez de Prado A, Cuellas C, Diego A, de Miguel A, Samaniego B, Alonso-Orcajo N, et al. Influence of platelet reactivity and response to clopidogrel on myocardial damage following percutaneous coronary intervention in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Thromb Res.* 2009;124:678-82.
- 111.** Prasad A, Herrmann J. Myocardial Infarction due to percutaneous coronary intervention. *N Eng J Med.* 2011;364:453-64.
- 112.** Lordkipanidzé M, Pharand C, Palisaitis DA, Diodati JG. Aspirin resistance: truth or dare. *Pharmacol Ther.* 2006;112:733-43.
- 113.** Gurbel PA and Tantry US. Clopidogrel resistance? *Thromb Res.* 2007; 120:311-21.

## **11. Leyenda de Tablas y Figuras**

## Tablas y Figuras

**Tabla 1. Resumen de las Determinaciones de Agregabilidad Plaquetar y sus puntos de corte.**

Análisis de la Reactividad Plaquetar mediante el sistema VerifyNow®	
Determinación	Punto de corte para ERPATC/ERPATA
<b>Basal</b>	
PRU base	
<b>Inhibidores P2Y12</b>	
PRU	> 235 U
% inhibición	< 15%
<b>Aspirina</b>	
ARU	> 550 U
Análisis de la Reactividad Plaquetar mediante el sistema Multiplate®	
Determinación	Punto de corte para ERPATC/ERPATA
<b>Basal</b>	
Trap Test	
<b>Inhibidores P2Y12</b>	
ADP Test	ABC > 53
ADP-hs Test	ABC > 31
<b>Aspirina</b>	
Aspi-Test	ABC > 74

ABC= Área bajo la curva; ADP test= test de reactividad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ADPhs Test= test de alta sensibilidad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ARU= test reactividad mediada por ácido araquidónico; Aspi Test = test de 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.

**Tabla 2. Características basales de la muestra (I).**

VARIABLES	Cohorte (n=247)
Edad, media (DE)	66 (11)
Género Masculino, n (%)	176 (71.3)
IMC, media (DE)	29 (4)
<b>Factores de riesgo</b>	-
HTA, n (%)	155 (62.8)
Dislipemia, n (%)	144 (58.3)
Tabaquismo activo, n (%)	83 (33.6)
DM tipo 2, n (%)	97 (39.3)
EPOC, n (%)	17 (6.8)
Cardiopatía isquémica previa, n (%)	102 (41.3)
Ictus, n (%)	9 (3.6)
Insuficiencia renal crónica, n (%)	17 (6.9)
Arteriopatía periférica, n (%)	12 (4.9)
<b>Evento cualificante</b>	-
Marcadores Necrosis Elevados, n (%)	173 (70.0)
Clase Killip > 1, n (%)	26 (10.5)
Cambios ecg, n (%)	173 (70.0)
Elevación del segmento ST, n (%)	57 (23.1)
FEVI > 55%, n (%)	178 (78.1) †
Número de vasos enfermos, mediana (RI)	1 (1-2)
Número de stents, mediana (RI)	1 (1-2)
Longitud total stents, mm, media (DE)	29 (18)

EPOC= Enfermedad pulmonar obstructiva crónica; FEVI= Fracción de eyección ventricular izquierda; HTA= Hipertensión arterial; IMC=Índice de masa corporal; † FSVI disponible en 228 (92.3%). Se consideró vaso "enfermo" a aquel con  $\geq 1$  lesión de  $\geq 70\%$  de estenosis. Se presenta la media y DE (desviación estándar) para variables continuas con distribución normal, mediana y rango intercuartílico (expresado como percentil 25-percentil 75) para cuantitativas discretas y número bruto junto a porcentaje para discretas dicotómicas.

**Tabla 3. Características basales de la muestra (II): variables de laboratorio y tratamiento al alta.**

VARIABLES	Cohorte (n=247)
Leucocitos, x1000, media (DE)	9.4 ± 8.8
Plaquetas, x1000, media (DE)	212.3 ± 55.5
Hemoglobina, g/dl, media (DE)	13.8 ± 1.9
Hematocrito, %, media (DE)	41.3 ± 5.1
Creatinina, mg/dl, media (DE)	1.0 ± 0.5
MDRD, ml/min/1.73m <sup>2</sup> , media (DE)	83.8 ± 29.8
Colesterol total, mg/dl, media (DE)	176 ± 49
LDL-co, mg/dl, media (DE)	108 ± 41
HDL-co, mg/dl, media (DE)	38 ± 12
Triglicéridos, mg/dl, media (DE)	150 ± 82
<b>Tratamiento al alta</b>	-
Aspirina, n (%)	236 (96.5)
Clopidogrel, n (%)	212 (86.5)
Prasugrel, n (%)	13 (5.3)
Calcioantagonistas, n (%)	40 (16.4)
Betabloqueantes, n (%)	208 (84.9)
IECA, n (%)	211 (86.2)
Estatinas, n (%)	228 (92.3)
IBP, n (%)	99 (40.4)

ARAI = Bloqueador del receptor tipo 1 de la angiotensina; IBP=Inhibidores de bomba de protones; IECA= Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; MDRD=Aclaramiento renal según fórmula *Modification of Diet in Renal Disease* abreviada; Se presenta la media y DE (desviación estándar) para variables continuas y número bruto junto a porcentaje para discretas dicotómicas.

## Tablas y Figuras

**Tabla 4. Genotipo de CYP2C19\*2, reactividad plaquetar y eventos adversos.**

<b>CYP2C19 variante 2</b>	<b>wt/wt n=183</b>	<b>wt/*2 n=60</b>	<b>*2/*2 n=4</b>	<b>P valor</b>
PRU base, unidades	295 (55)	300 (58)	326 (5)	0.349
PRU, unidades	251 (76)	283 (73)	299 (33)	0.028
PRU<235 U, %	75 (41.0)	14 (23.3)	0	0.015
% inhibición	17 (18)	10 (14)	6 (9)	0.017
Tiempo entre primera toma de clopidogrel y determinación de reactividad, mediana (RI), días	5.0 (9)	6.0 (7)	6.5 (6)	0.112
<b>CYP2C19 variante 17</b>	<b>wt/wt n=155</b>	<b>wt/*17 n=78</b>	<b>*17/*17 n=14</b>	<b>P valor</b>
PRU base, unidades	295 (56)	299 (54)	310 (51)	0.643
PRU, unidades	257 (77)	262 (75)	267 (80)	0.798
PRU<235 U, %	59 (38.1)	26 (33.3)	4 (28.6)	0.650
% inhibición	16 (17)	14 (18)	17 (21)	0.509
Tiempo entre primera toma de clopidogrel y determinación de reactividad, mediana (RI), días	6.0 (9)	4.5 (8)	4.0 (9)	0.453
<b>PON1-Q192R</b>	<b>CC (RR) n=35</b>	<b>CT (RQ) n=108</b>	<b>TT (QQ) n=104</b>	<b>P valor</b>
PRU base, unidades	297 (52)	297 (58)	298 (55)	0.997
PRU, unidades	273 (85)	256 (78)	258 (71)	0.709
PRU<235 U, %	11 (31.4)	42 (38.9)	36 (34.6)	0.313
% inhibición	14 (18)	16 (18)	15 (17)	0.692
Tiempo entre primera toma de clopidogrel y determinación de reactividad, mediana (RI), días	7.0 (8)	5.0 (8)	4.5 (9)	0.133

WT= Wild-type. Se presentan la media (desviación estándar) o el valor absoluto (porcentaje). RI=Rango intercuartílico (expresado como diferencia entre el percentil 75 y percentil 25).

**Tabla 5. Características basales de la muestra del subestudio comparativo (I).**

VARIABLES	Cohorte (n=251)
Edad	68 ± 11
Género Masculino	172 (68.5)
IMC	30 ± 16
<b>Factores de riesgo</b>	
HTA	174 (69.3)
Dislipemia	137 (54.6)
Tabaquismo activo	64 (25.5)
DM tipo 2	104 (41.4)
EPOC	22 (8.8)
Cardiopatía isquémica previa	113 (45.0)
Ictus	15 (6.0)
Insuficiencia renal crónica	14 (5.6)
Arteriopatía periférica	15 (6.0)
<b>Evento cualificante</b>	
Síndrome coronario agudo	231 (92.0)
Marcadores Necrosis Elevados	147 (58.6)
Clase Killip > 1	21 (8.4)
Elevación del segmento ST	37 (14.7)
FSVI† > 55%	182 (72.5)
Número de vasos enfermos	1 (1-2)
Número de stents‡	1 (0-2)
Stents farmacoactivos	119 (64.7)
Longitud total stents, mm	28 ± 23

**Tabla 6. Características basales de la muestra del subestudio comparativo (II): variables de laboratorio y tratamiento al alta.**

VARIABLES	Cohorte (n=251)
Leucocitos	8770 ± 2979
Plaquetas, x1000	213 ± 60
Hemoglobina, g/dl	13.4 ± 1.9
Hematocrito, %	41 ± 5
Creatinina, mg/dl	1.04 ± 0.51
MDRD, ml/min/1.73m <sup>2</sup>	80 ± 28
Colesterol total, mg/dl	175 ± 48
LDL-co, mg/dl	107 ± 39
HDL-co, mg/dl	39 ± 13
Triglicéridos, mg/dl	147 ± 86
<b>Tratamiento al alta</b>	
Aspirina	235 (93.6)
Clopidogrel	203 (80.9)
Prasugrel	11 (4.4)
Calcioantagonistas	40 (15.9)
Betabloqueantes	197 (78.5)
IECA	171 (68.1)
Estatinas	213 (84.9)

IECA= Inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; MDRD=Aclaramiento renal según fórmula *Modification of Diet in Renal Disease* abreviada.

## Tablas y Figuras

**Tabla 7. Concordancia del diagnóstico entre los analizadores Multiplate® y VerifyNow®.**

	VerifyNow®			Multiplate®		
	Clopidogrel		Aspirina	Aspirina	Clopidogrel	
	PRU > 235	Inhibición <15%	ARU > 550	ABC AspiTest > 74	ABC ADPTest > 53	ABC ADPhsTest > 31
PRU > 235	-	-0.444 <0.001	-	-	0.115 0.002	0.182 <0.001
Inhibición < 15%	-	-	-	-	-0.194 < 0.001	-0.266 <0.001
ABC AspiTest > 74	-	-	0.194 0.001	-	-	-
ABC ADPTest > 53	-	-	-	-	-	0.446 <0.001

ABC= Área bajo la curva; ADP test= test de reactividad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ADPhs Test= test de alta sensibilidad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ARU= test reactividad mediada por ácido araquidónico; Aspi Test = test de reactividad mediada por ácido araquidónico; PRU= Reactividad a bloqueadores del receptor P2Y12; Se presentan los valores del estadístico kappa y su valor de significación (p).

## Tablas y Figuras

**Tabla 8. Correlación entre los analizadores Multiplate® y VerifyNow®.**

	VerifyNow®				Multiplate®			
	Clopidogrel			Aspirina		Aspirina	Clopidogrel	
	PRU base	PRU	Inhibición porcentual	ARU	ABC Trap Test	ABC AspiTest	ABC ADPTest	ABC ADPhsTest
PRU base	-	0.526 <0.001	0.107 0.090	-	0.105 0.097	-	0.102 0.106	0.123 0.051
PRU	-	-	-0.714 <0.001	-	-	-	0.313 <0.001	0.325 <0.001
Inhibición porcentual	0.107 0.090	-	-	-	-	-	-0.320 <0.001	-0.327 <0.001
ABC Trap Test	-	0.132 0.037	-0.088 0.167	0.013 0.838	-	0.340 <0.001	0.550 <0.001	0.435 <0.001
ABC AspiTest	-	-	-	0.236 <0.001	-	-	-	-
ABC ADPTest	-	-	-	-	-	-	-	0.725 <0.001

ABC= Área bajo la curva; ADP test= test de reactividad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ADPhs Test= test de alta sensibilidad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ARU= test reactividad mediada por ácido araquidónico; Aspi Test = test de reactividad mediada por ácido araquidónico; PRU= Reactividad a bloqueadores del receptor P2Y12; Se presentan los valores del coeficiente de correlación (rho) y su valor de significación (p).

## Tablas y Figuras

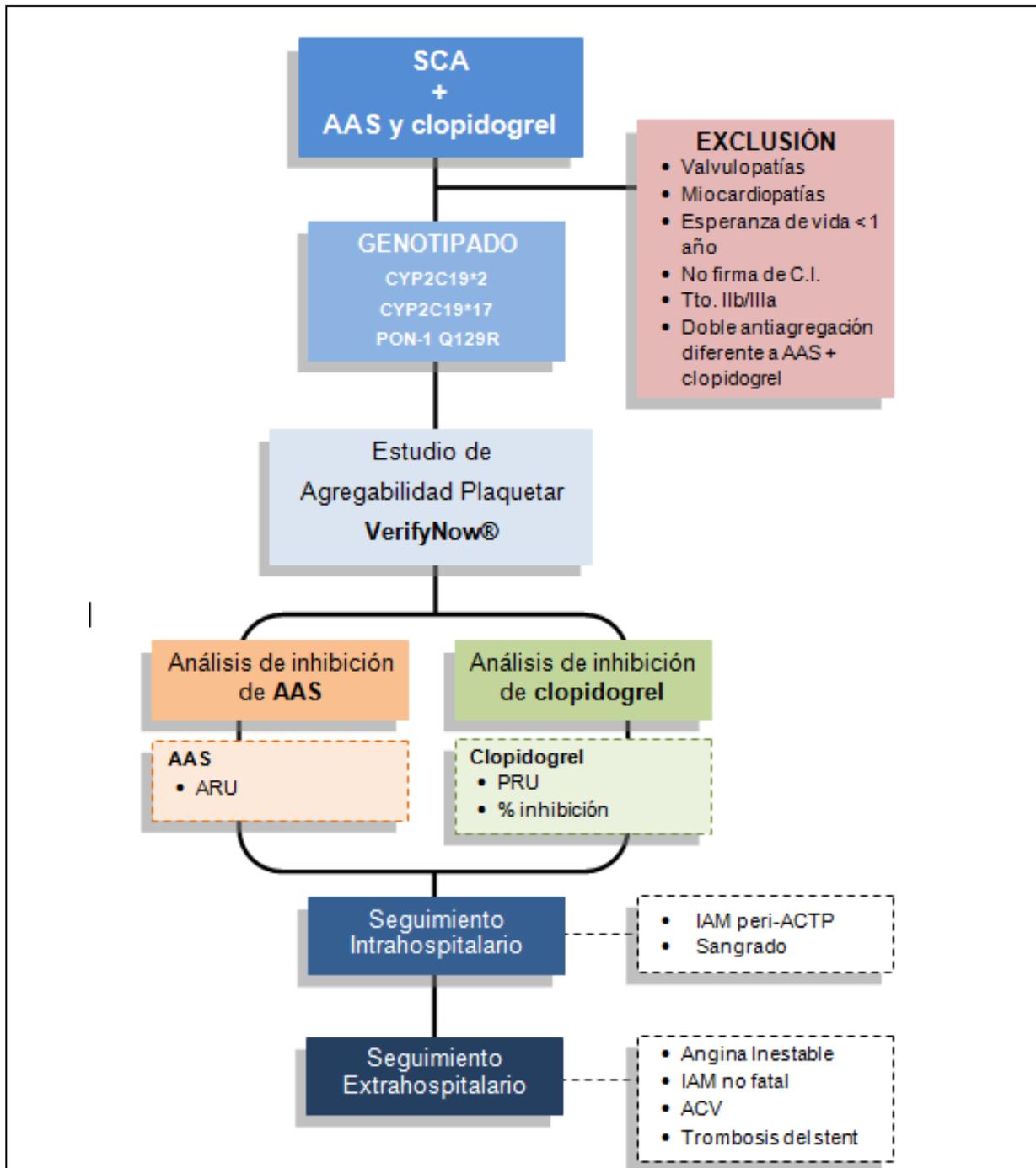
**Tabla 9. Exactitud diagnóstica (pronóstica†) de los puntos de corte empleados con VerifyNow® y Multiplate®.**

		Sensibilidad (%)	Especificidad (%)	Valor predictivo positivo (%)	Valor predictivo negativo (%)	Razón de verosimilitud positiva/negativa	Eficiencia (%)
<b>VerifyNow®</b>	<b>ARU &gt; 550</b>	17 (7-37)	86 (81-90)	12 (5-27)	91 (86-94)	1.27/0.96	80 (74-84)
	<b>PRU &gt; 235</b>	74 (53-87)	30 (25-37)	10 (6-16)	92 (83-96)	1.06/0.86	35 (29-41)
	<b>inhibición &lt; 15 %</b>	52 (33-71)	41 (35-48)	9 (5-15)	89 (81-94)	1.13/1.16	42 (36-49)
<b>Multiplate®</b>	<b>TrapTest &gt; 94</b>	70 (49-84)	56 (49-62)	15 (9-22)	94 (89-97)	1.58/0.54	57 (51-63)
	<b>Aspi Test &gt; 74</b>	4 (0.8-21)	98 (95-99)	20 (4-62)	91 (86-94)	2.33/0.97	89 (84-92)
	<b>ADP Test &gt; 53</b>	26 (13-46)	82 (77-87)	14 (6-27)	91 (86-94)	1.47/0.90	77 (71-82)
	<b>ADPhs Test &gt; 31</b>	48 (29-67)	66 (59-72)	13 (7-22)	92 (87-95)	1.40/0.79	64 (58-70)

ADP test= test de reactividad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ADPhs Test= test de alta sensibilidad a bloqueadores del adenosin-difosfato; ARU= test reactividad mediada por ácido araquidónico; Aspi Test= test de reactividad mediada por ácido araquidónico; PRU= Reactividad a bloqueadores del receptor P2Y12; Trap Test= test de reactividad plaquetar (basal) por agonistas del receptor la trombina.

Se presenta entre paréntesis el intervalo de confianza al 95% mediante el método de Wilson. † el evento evaluado es el compuesto de angina inestable que requiere ingreso, infarto de miocardio no fatal, muerte por cualquier causa, accidente cerebrovascular y trombosis del stent.

Figura 1.



Esquema resumen de la metodología seguida para el estudio principal.

AAS= ácido acetil-salicílico;. ACV= accidente cerebro-vascular; C.I.= consentimiento informado; IAM= infarto agudo de miocardio; SCA= síndrome coronario agudo.

Figura 2.

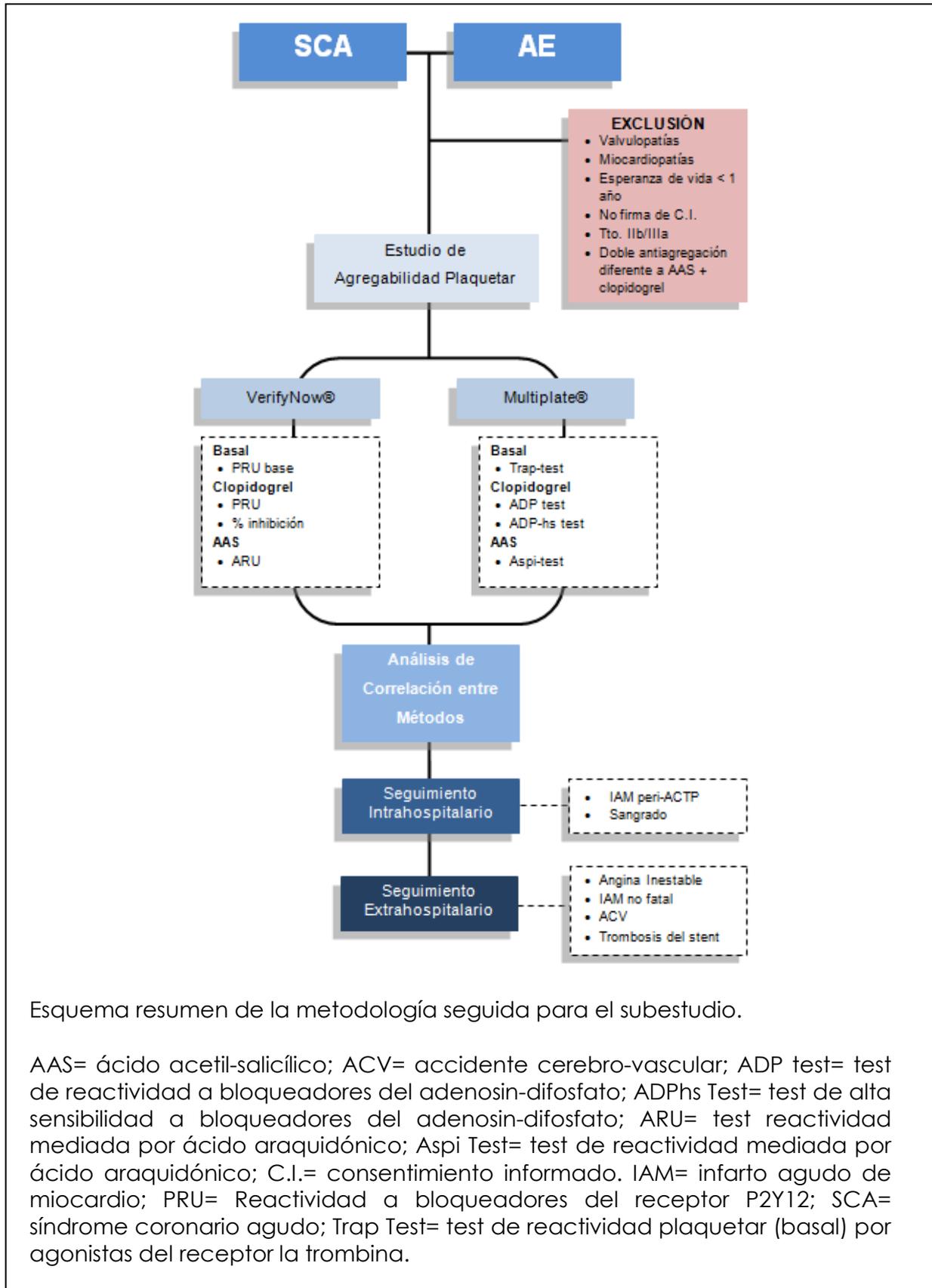


Figura 3.

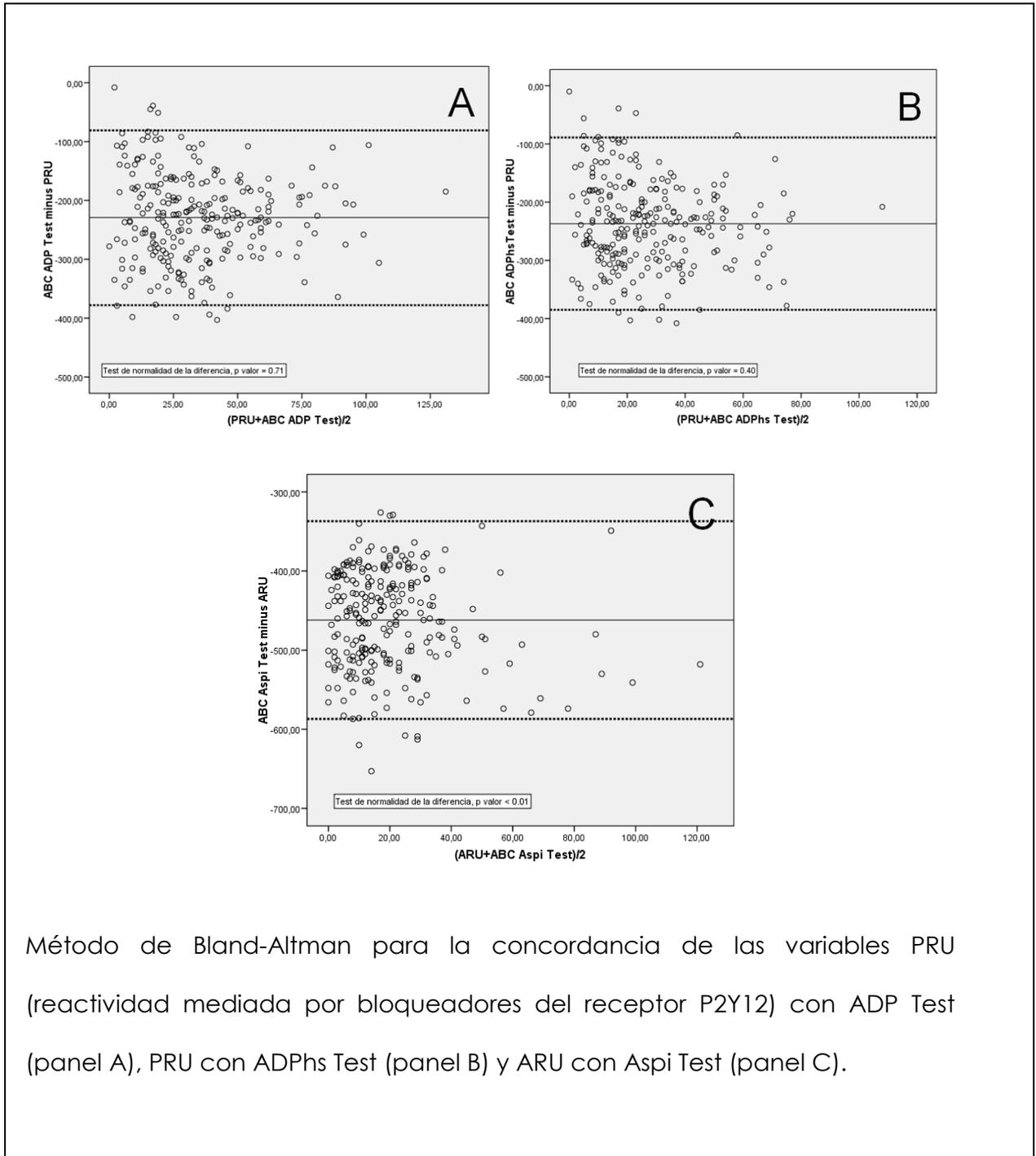
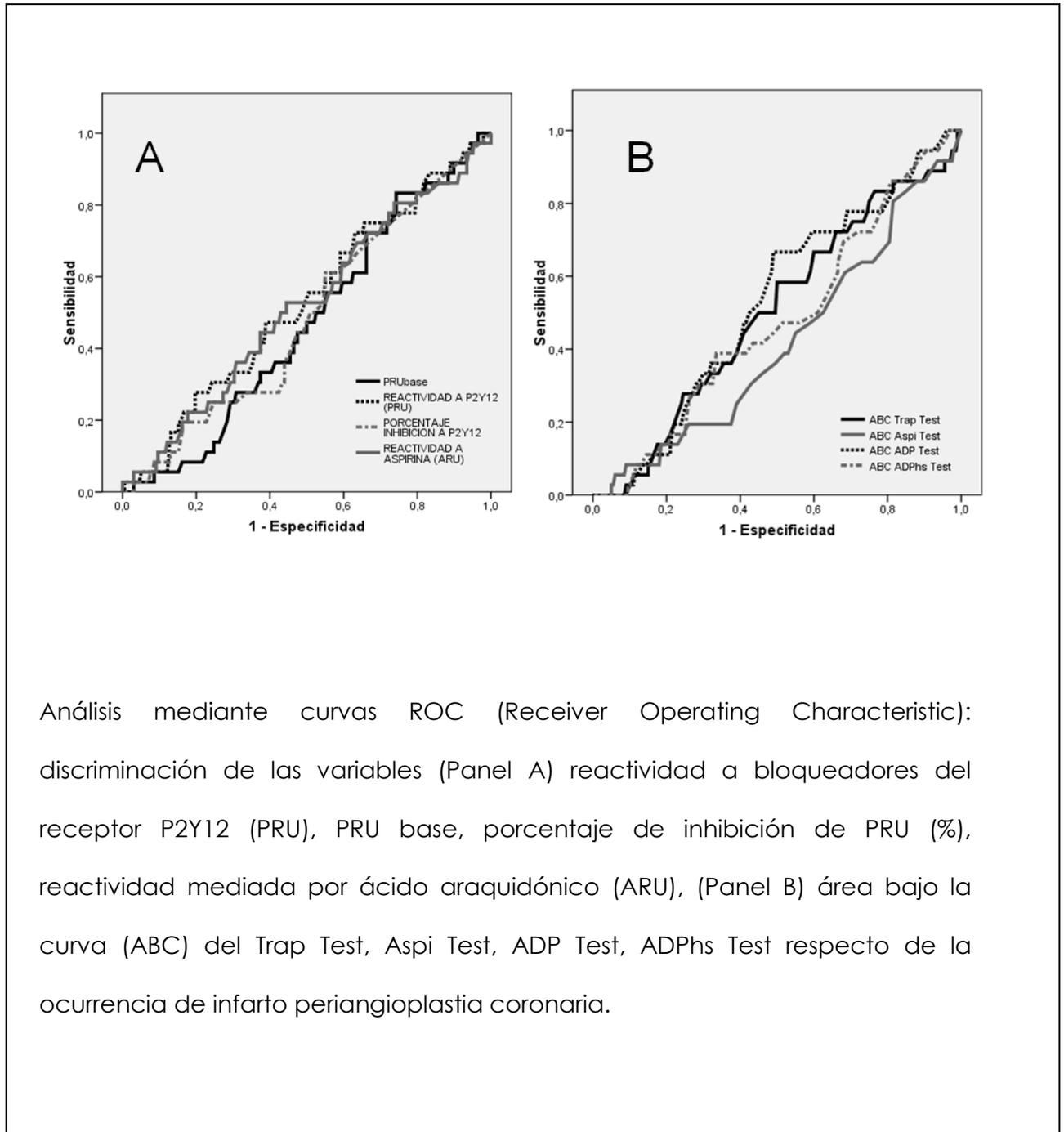
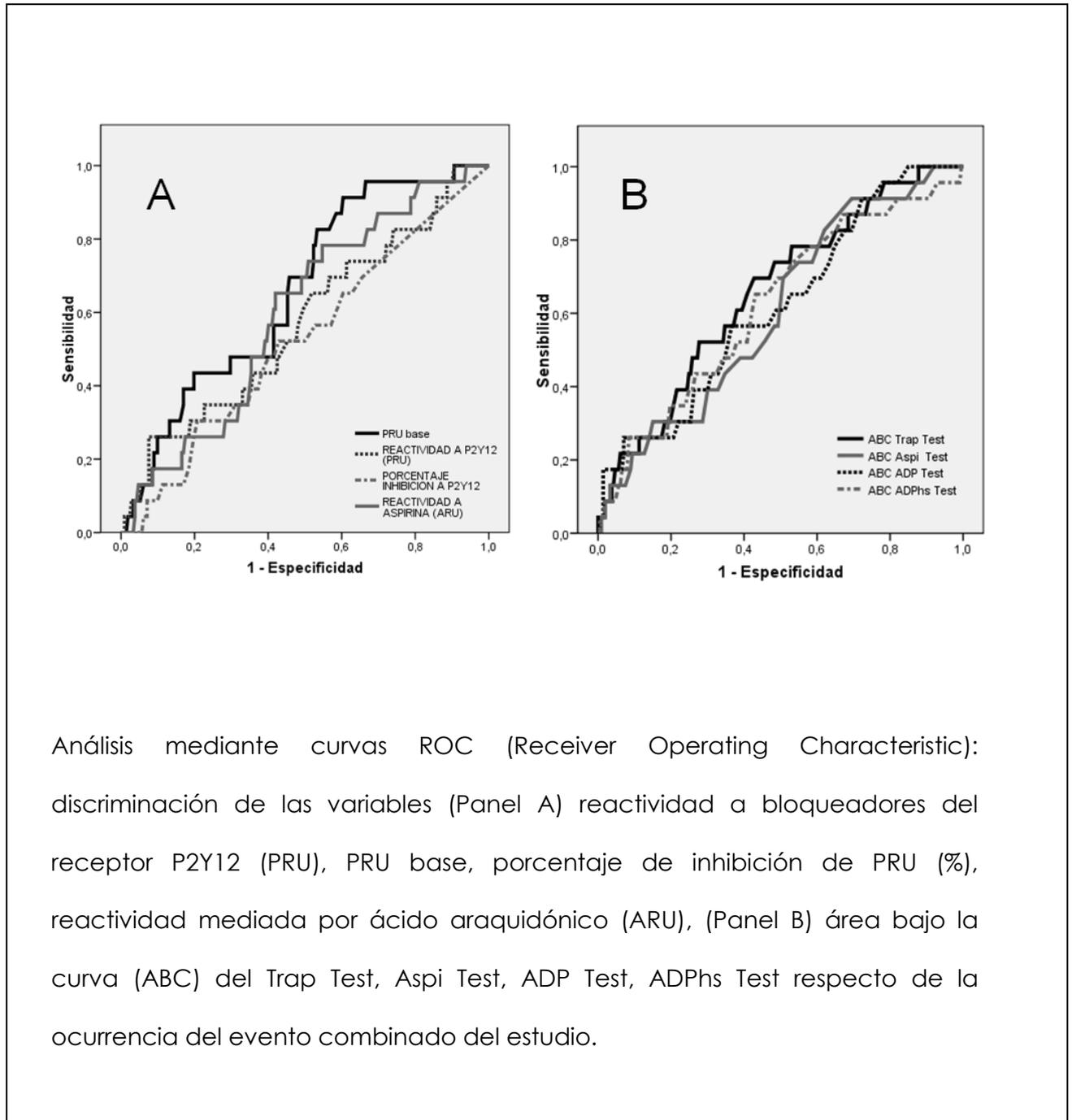


Figura 4.



Análisis mediante curvas ROC (Receiver Operating Characteristic): discriminación de las variables (Panel A) reactividad a bloqueadores del receptor P2Y12 (PRU), PRU base, porcentaje de inhibición de PRU (%), reactividad mediada por ácido araquidónico (ARU), (Panel B) área bajo la curva (ABC) del Trap Test, Aspi Test, ADP Test, ADPhs Test respecto de la ocurrencia de infarto periangioplastia coronaria.

Figura 5.



Análisis mediante curvas ROC (Receiver Operating Characteristic): discriminación de las variables (Panel A) reactividad a bloqueadores del receptor P2Y12 (PRU), PRU base, porcentaje de inhibición de PRU (%), reactividad mediada por ácido araquidónico (ARU), (Panel B) área bajo la curva (ABC) del Trap Test, Aspi Test, ADP Test, ADPhs Test respecto de la ocurrencia del evento combinado del estudio.