



FACULTAD DE MEDICINA
DIVISION DE ESTUDIOS DE POSGRADO
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UMAE HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA CENTRO MÉDICO NACIONAL SIGLO XXI
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

“DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÓTIPICA DE LOS POLIMORFISMOS P-450 (CYP3A5) Y EL P2Y12 (T744C) Y SU CORRELACIÓN FENOTÍPICA ASOCIADOS A LA RESPUESTA AL CLOPIDOGREL EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON Y SIN ELEVACIÓN DEL ST SOMETIDOS A UNA INTERVENCIÓN CORONARIA PERCUTÁNEA”

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALIDAD: CARDIOLOGÍA

PRESENTA:
DR. MARCOS JACIEL OLALDE ROMÁN*

TUTORES DE TESIS

DR. JESÚS SALVADOR VALENCIA SÁNCHEZ**
DRA. IRMA ISORDIA SALAS***

* Residente de Tercer año de cardiología. UMAE. Hospital de Cardiología, CMN SXXI, IMSS. jolalde81@hotmail.com

** Maestro en Ciencias de la Educación. Director de Educación e Investigación en Salud. UMAE Hospital de Cardiología, CMNSXXI, IMSS. jesus.valencia@imss.gob.mx

***Doctora en Ciencias Médicas. Investigador Titular B, Sistema Nacional de Investigadores Nivel II
Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis,
Hospital General Regional No. 1 “Dr. Carlos Mac Gregor Sánchez Navarro”.

Avenida Cuauhtémoc 330, Colonia Doctores, Delegación Cuauhtémoc, México. Distrito Federal.
Planta baja. Teléfono 5627-6900. Ext. 22007



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

DR MOISÉS CUTIEL CALDERÓN ABBO

Director General
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Cardiología, CMN SIGLO XXI

DR. MARTÍN HORACIO GARRIDO GARDUÑO

Director Médico
Profesor Titular del Curso de Cardiología
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Cardiología, CMN SIGLO XXI

M. en C. DR. JESÚS SALVADOR VALENCIA SÁNCHEZ

Director de Educación e Investigación en Salud
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Cardiología, CMN SIGLO XXI

Dra. en C. DRA IRMA ISORDIA SALAS

Investigador Titular B, Sistema Nacional de Investigadores Nivel II
Unidad de Investigación Médica en Trombosis, Hemostasia y Aterogénesis
Hospital Regional No. 1 “Dr. Carlos Mac Gregor Sanchez Navarro”

DR. MARCOS JACIEL OLALDE ROMÁN

Residente de Tercer Año de Cardiología
Unidad Médica de Alta Especialidad
Hospital de Cardiología, CMN SIGLO XXI

DEDICATORIA

PRIMERAMENTE A DIOS TODOPODEROSO

Por ser mi creador, el motor de mi vida, por haberme dado la sabiduría y el entendimiento para poder llegar al final de mi carrera, por proveerme de todo lo necesario para salir adelante, porque todo lo que tengo, lo que puedo, y lo que recibo, es regalo que él me ha dado.

A MIS PADRES

IRMA ROMÁN GARCIA Y VICTOR MANUEL OLALDE GUTIERREZ

Mil gracias por el apoyo incondicional que me brindaron por todos los sacrificios que hicieron a lo largo de esta travesía, así como su comprensión y paciencia en momentos difíciles que tuvimos.

Además de ser excelentes padres y que siempre me guiaron conforme a las enseñanzas de nuestro padre celestial.

A MI HERMANA

GRECIA DANIELA OLALDE ROMÁN

Por todo el apoyo brindado, por su comprensión y cariño.

A MIS PASTORES

ROBERTO AVILÉS Y TEODORA OCAMPO, Por su apoyo en todos momentos, y por todos los momentos de oración y orientación en el camino de DIOS.

AGRADECIMIENTOS

DR. JESÚS SALVADOR VALENCIA SÁNCHEZ, por la orientación en la tesis, sus conocimientos, paciencia y motivación que ha sido fundamental para mi formación como cardiólogo. Concretándose en respeto y admiración como maestro y cardiólogo.

DRA IRMA ISORDIA SALAS, por todo su apoyo, paciencia y optimismo, además de la visión y motivación hacia la investigación clínica, que ha repercutido para la realización de mi tesis.

También me gustaría agradecer a todos y cada uno de mis maestros del HOSPITAL DE CARDIOLOGÍA CMN SXXI, por la enseñanza y experiencia transmitida durante estos años.

**“Mira que te mando que te esfuerces y seas valiente;
no temas ni desmayes, porque Jehová tu Dios estará
contigo en dondequiera que vayas”**

Josué 1:9

ÍNDICE

RESUMEN.....	6
ANTECEDENTES.....	8
JUSTIFICACIÓN.....	22
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	24
HIPÓTESIS.....	24
OBJETIVOS.....	24
MATERIAL Y MÉTODOS.....	24
Diseño del estudio	26
Diseño muestral	26
Variable Dependiente/Independiente.....	27
Variables potencialmente confusoras.....	27
Criterios de inclusión.....	29
Criterios de exclusión.....	29
ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	30
PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO	30
CONSIDERACIONES ÉTICAS.....	31
RESULTADOS	32
DISCUSION.....	45
CONCLUSION.....	48
BIBLIOGRAFÍA.....	50
ANEXO	
Consentimiento Informado.....	60
Recursos y factibilidad.....	61
Cronograma de actividades.....	61
Hoja De Recolección De Datos.....	62
PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO.....	64
GLOSARIO	68

RESUMEN

La inhibición del receptor plaquetario P2Y12 con el empleo de clopidogrel ha representado un importante avance en el tratamiento farmacológico de los pacientes con enfermedad aterotrombótica, especialmente en los síndromes isquémicos coronarios agudos y en el intervencionismo coronario percutáneo. Sin embargo, se ha encontrado que a pesar de los efectos benéficos asociados al uso de clopidogrel, algunas experiencias clínicas y de laboratorio han identificado algunas limitaciones, en primer lugar su amplia variabilidad en la respuesta inhibitoria plaquetaria; en la que se han involucrado diferentes factores: clínicos, interacción con otros fármacos, genéticos (polimorfismos P2Y12, CYP3A5) y celulares (ADP, CYP, P2Y12), que establece la necesidad de explorar nuevas estrategias de tratamiento antiagregante plaquetario.

OBJETIVO

1.- Determinar la frecuencia genotípica de los polimorfismos P-450 (CYP3A4 Y CYP3A5) y el P2Y12 (T744C) y su correlación fenotípica asociada a la respuesta al clopidogrel en pacientes con Infarto agudo del miocardio, sin elevación de ST e infarto agudo del miocardio con elevación del ST, sometidos a un ICP.

MÉTODOS

El estudio se realizó en el Hospital de Cardiología CMN IMSS siglo XXI, el análisis de los productos derivados de sangre, se realizó en el Laboratorio Central de Análisis Clínicos y en la Unidad de Aterosclerosis y Trombosis del Hospital General Regional No. 1 Carlos MacGregor Sánchez Navarro del IMSS. Se obtuvo los registros hospitalarios (hemodinámica y Unidad de cuidados intensivos cardiovasculares) de todos los pacientes con diagnóstico de Cardiopatía Isquémica con Síndrome Isquémico Coronario Agudo con y sin elevación del segmento ST (demostrada por cuadro clínico, electrocardiograma y marcadores bioquímicos) y que fueron sometidos a una Intervención Coronaria Percutánea, y que hayan recibido tratamiento con 300mg de clopidogrel en las 48 horas previas.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis de las variables continuas se efectuó con la prueba T de student y el de las variables discretas mediante Chi-cuadrada o la prueba exacta de Fisher. La correlación entre las alteraciones fenotípicas y genotípicas se realizó mediante el coeficiente de correlación de Spearman. La significación estadística se aceptará con $p < 0.05$.

RESULTADOS

Se incluyeron 60 pacientes con diagnóstico de Síndrome Isquémico Coronario Agudo, de los cuales se documentó IAMCEST en un 51%, IAMSEST en 12% y angina Inestable de alto riesgo en 3%, a todos se les realizó una Intervención Coronaria percutánea. En 90% de los pacientes el evento cardiovascular (SICA) fue agudo. La edad promedio fue 63.7 ± 11.8 años de edad y el sexo predominante fue el masculino en un 76.6%. Los factores de riesgo modificables asociados fueron diabetes mellitus (45%), hipertensión arterial sistémica (52%), dislipidemia (47%) y tabaquismo (58%). En un 22% se documentó historia cardiovascular previa (20% infarto del miocardio y 10% angina inestable). En 30% de los pacientes se registro antecedente heredofamiliar de enfermedad cardiovascular. La distribución de los síndromes coronarios fue: 85% infarto del miocardio con elevación del segmento ST, 18% infarto del miocardio sin elevación del segmento ST y 2% angina Inestable. En todos los pacientes se administró clopidogrel con dosis de carga (300mg) y 300 mg de aspirina. Las complicaciones postinfarto se presentaron en un 52% de los pacientes, siendo las más frecuentes choque cardiogénico, angina postinfarto, reinfarto y bloqueo AV completo. La distribución genotípica del polimorfismo T744C del receptor plaquetario P2Y12 fue: homocigotos para el alelo C (CC) $n=44$ (73.3%), heterocigotos (CT) $n=14$ (23.3%) y homocigotos para el alelo T (TT) $n=2$ (3.4%). La frecuencia alélica fue de 85% para el alelo C. La distribución genotípica del polimorfismo P450 CYP3A5 fue: homocigotos para el alelo *1 (*1/*1) $n=6$ (10%), heterocigotos (*1/*3) $n=30$ (50%) y homocigotos para el alelo *3 (*3/*3) $n=15$ (40%). La frecuencia alélica fue de 35% para el *1 y 65% para el alelo *3. La inhibición plaquetaria determinada por agregometria fue de 33.7% en el grupo de pacientes que no presento resultados adversos vs. 30.6% en el grupo de pacientes con eventos adversos.

CONCLUSIONES:

- 1) Por primera vez demostramos una alta frecuencia del alelo *3 del polimorfismo *1/*3 CYP3A localizado en el citocromo P50 en los pacientes Mexicanos con diagnóstico de infarto agudo del miocardio con elevación y sin elevación del segmento ST sometidos a intervención coronaria percutánea en los cuales se les administró dosis de carga de 300mg, lo cual explicaría probablemente la bajo porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria por el fármaco obtenida en estos pacientes.
- 2) Debido a lo anterior el alelo *3 del polimorfismo *1/*3 CYP3A, podría ser considerado como un marcador genético para resistencia al clopidogrel en nuestra población.
- 3) El porcentaje promedio de inhibición de la agregación plaquetaria con ADP obtenida en pacientes con SICA sometidos a ICP que reciben dosis de carga de 300 mg de clopidogrel es del 30%, la cual es muy inferior a la referida en las guías de tratamiento.

PRIMERA PARTE

ANTECEDENTES CIENTÍFICOS

1.- Síndromes coronarios agudos y respuesta al clopidogrel

1.1 Algunos aspectos relacionados con los síndromes isquémicos coronarios

Los síndromes isquémicos coronarios agudos (SICA) son un término que identifica a un amplio espectro de síntomas clínicos secundarios a isquemia aguda por aterotrombosis, estos incluyen la Angina Inestable (AI), Infarto Agudo del Miocardio sin elevación del ST (IAMSEST) y el Infarto Agudo del miocardio con elevación del ST (IAMCEST).¹

En el Registro Nacional de Síndromes Isquémicos Coronarios Agudos (RENASICA), en su primera etapa se incluyeron más de 4,253 pacientes, el 65.2% corresponden a SICA sin elevación del segmento ST.² En la segunda etapa del estudio RENASICA de un total de 8098 pacientes, 3,543 tuvieron angina inestable o infarto del miocardio sin elevación del ST que correspondió al 43.7%.³ En el Registro Nacional de Síndrome Coronario Agudos (RENASCA) llevado a cabo en el Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS), se incluyeron 2389 pacientes, de los cuales se diagnosticó IAMCEST en un 69.1%. En este sentido, los síndromes isquémicos coronarios agudos representan un serio problema de salud pública y son responsables de un gran número de hospitalizaciones anuales en México.⁴

La cardiopatía isquémica en su amplio espectro y la aterosclerosis son entidades patológicas en las el proceso inflamatorio crónico, en conjunto con la respuesta plaquetaria y trombótica juegan un papel relevante.

1.2 Activación adhesión y agregación plaquetaria

Las plaquetas desempeñan un papel clave en las complicaciones aterotrombóticas que se producen en los pacientes con un SICA; así como en los pacientes manejados con intervencionismo coronario percutáneo.^{5,6}

En este sentido cuando existe daño a la íntima de un vaso sanguíneo, como sucede posterior a la ruptura de una placa de ateroma, el colágeno subendotelial y el factor de von willebrand (FvW) son expuestos a la sangre circulante. La adhesión plaquetaria a la superficie endotelial lesionada es mediada por la fijación de dicho FvW a su receptor de la membrana plaquetaria (GpIb), así mismo las plaquetas se anclan también a la pared del vaso dañado mediante la fijación a los receptores de colágeno subendotelial. Otros estimulantes plaquetarios de la sangre, como trombina y adrenalina se fijan a sus receptores respectivos. En respuesta a estos diferentes estímulos las plaquetas adheridas se activan, conduciendo a la producción de tromboxano A₂ (TXA₂) a partir del ácido araquidónico (reacción catalizada en las plaquetas por las enzimas ciclooxigenasa 1 (COX-1) y tromboxano sintetasa) y de adenosina difosfato (ADP), dichos mediadores se liberan y se fijan a sus receptores plaquetarios respectivos amplificando así el proceso de activación (Figura 1).

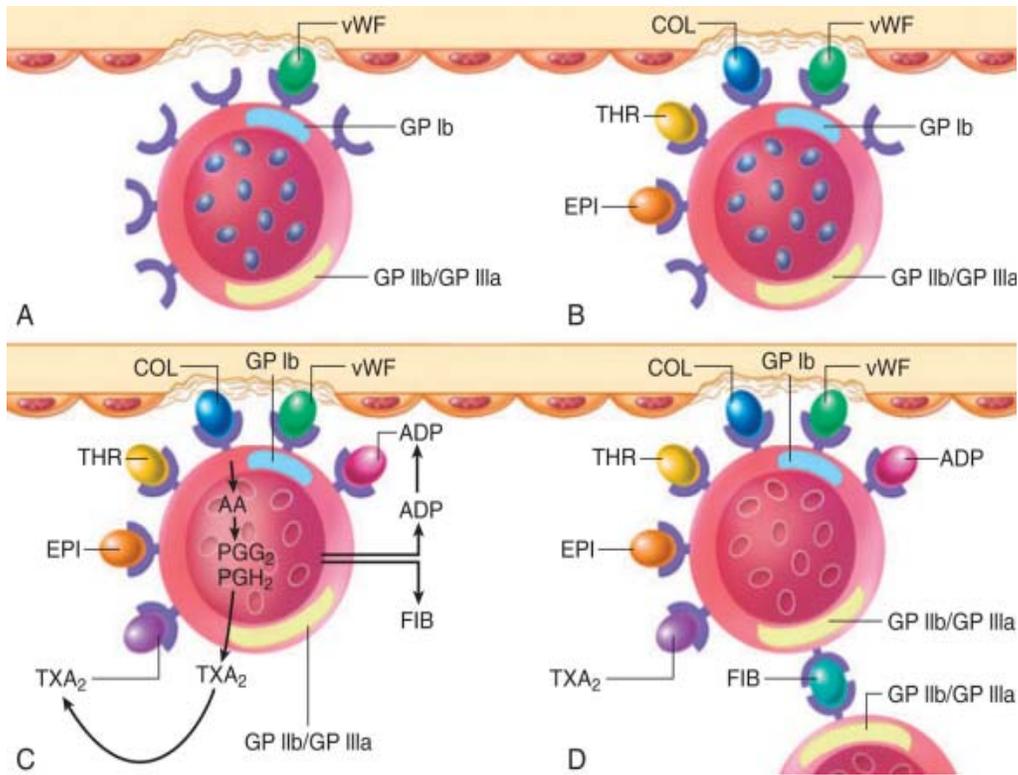


Figura 1. El proceso de adhesión se inicia cuando la lesión de la intima expone sustancias subendoteliales trombogénicas (colágeno), las plaquetas reconocen el lugar de la lesión y se adhieren mediada fundamentalmente por el factor de Von Willebrand. El receptor del FvW de la superficie plaquetaria se localiza en la glucoproteína (Gp) Ib de la membrana que forma parte del complejo Gp Ib/IX-V de la membrana plaquetaria. La adhesión es facilitada por la fijación directa al colágeno subendotelial por medio de receptores de colágenoespecíficos de la membrana plaquetaria entre ellos la integrina alfa 2 beta 1 también conocida como Gp Ya/Ila y el miembro de la supe familia de las inmunoglobulinas Gp VI Posteriormente hay una generación de señales intracelulares por parte de Gp Ib y Gp VI que conduce a la activación de las plaquetas. La activación plaquetaria se lleva a cabo mediante el efecto de diversos agonistas que se fijan a sus receptores de membrana respectivos y dan lugar a la transmisión de señales intracelulares activadoras de plaquetas .entre estos están: mediadores humorales plasmáticos: adrenalina, epinefrina, trombina, ADP, serotonina, colágeno y Factor de VonW, fuerzas de cizallamiento activan las plaquetas. Estas sufren una reacción de liberación ,durante la cual secretan componentes prealmacenados en sus gránulos citoplasmaticos:1.-ADP, trifosfato de adenosina y serotonina de los gránulos densos 2.-proteinas adhesivas solubles (fibrinógeno, FvW, tomboespondina, fibronectina),factores de crecimiento derivado de las plaquetas ,factor de crecimiento transformante alfa y factor de crecimiento transformante beta ,y procogulantes (factor 4 plaquetario,factor V)de los gránulos alfa .las plaquetas activadas sintetizan de novo Tromboxano A2.

La agregación plaquetaria es mediada a través de la fijación del fibrinógeno a los receptores de las plaquetas como son las glicoproteínas IIb/IIIa de las plaquetas activadas formando puentes entre ellas. ^{7,8} (Figura 2).



Figura 2. . Secuencia de la activación plaquetaria pasando de un estado de reposo, adhesión, activación y agregación. La agregación plaquetaria es la interacción plaqueta-plaqueta, proceso en el cual se reclutan nuevas plaquetas y esto da lugar a la formación de un trombo plaquetario oclusivo este es anclado y estabilizado por la red de fibrina gracias a la cascada de la coagulación es el fibrinógeno (menor) FVW (mayor) son los ligandos en la agregación.

1.3 Antiagregantes plaquetarios

Las tienopiridinas son una clase de antiagregantes plaquetarios, que inhibe selectivamente el subtipo P_2Y_{12} de los receptores del ADP, los cuales constituyen en la actualidad la piedra angular para el tratamiento, en pacientes con SICA, así como los intervenidos con una ICP.^{11,12} En la actualidad el clopidogrel es la tienopiridina de primera elección a dosis carga de 300 a 600 mg y de mantenimiento de 75 mg al día. El clopidogrel es un profármaco, que debe de sufrir una transformación hepática para convertirse en un metabolito activo, que se une de manera irreversible al receptor plaquetario P_2Y_{12} . Aproximadamente un 85% del clopidogrel absorbido en el torrente circulatorio a partir del intestino es hidrolizado por estereasas e inactivado, mientras el

15% restante, se metaboliza a nivel hepático por un doble proceso de oxidación en el que intervienen varias isoformas del citocromo p 450, para convertirse finalmente en un metabolito activo.^{13,14}

El estudio CAPRIE (Clopidogrel versus Aspirin in Patients at Risk of Ischaemic Events) comparó el uso del clopidogrel frente a la aspirina en pacientes con riesgo de eventos aterotrombóticos y demostró una reducción del riesgo relativo de eventos cardiovasculares, infarto agudo de miocardio (IAM), ictus isquémico o muerte vascular del 8.7% ($p=0.043$).¹⁵ El estudio CURE (Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events) demostró que la terapia antiagregante doble (aspirina más clopidogrel) en pacientes con síndromes isquémicos coronarios agudos (SICA) reduce los eventos coronarios adversos hasta en un 20% cuando se comparaba con la monoterapia con aspirina.¹⁶ En el subestudio PCI-CURE y el estudio CREDO (Clopidogrel for the Reduction of Events During Observation) se evaluó el uso de clopidogrel en pacientes con stent coronario, ambos demostraron una reducción significativa del riesgo relativo de eventos cardiovasculares.¹⁷⁻¹⁸ El estudio CLARITY-TIMI-28 (Clopidogrel as Adjunctive Reperfusion Therapy) demostró una reducción del riesgo relativo de muerte, IAM recurrente e isquemia recurrente del 20% al asociar clopidogrel en el tratamiento de pacientes con IAMCEST manejados mediante fibrinólisis.¹⁹

El estudio COMMIT/CCS2 (Clopidogrel and Metoprolol in Myocardial Infarction Trial/Second Chinese Cardiac Study) obtuvo resultados similares incluyendo pacientes con mayor edad.²⁰

1.4 Variabilidad en la respuesta a la terapia antiplaquetaria

De acuerdo a diferentes estudios clínicos se ha encontrado una variabilidad en la respuesta al uso de las tienopiridinas. El estudio (CLEAR PLATELETS STUDY) que incluyó pacientes sometidos a un procedimiento intervencionista y que fueron manejados con eptifibatide, aspirina y una dosis carga de clopidogrel de 600 mg,

comparados con pacientes que recibieron 300 mg de carga de clopidogrel antes de la ICP, los resultados en este último grupo fue una mayor frecuencia de agregabilidad plaquetaria y elevación de marcadores de mionecrosis e inflamación.²¹ Cuisset y cols, analizaron 106 pacientes con SICA sin elevación del ST tratados con ICP, la respuesta a una dosis de carga de 600 mg de clopidogrel, respecto al riesgo de sangrado y agregabilidad plaquetaria. La frecuencia de complicaciones por sangrado fue baja y ninguno de los pacientes fue clasificado como no respondedor.²² Gulberl y cols, evaluaron 120 pacientes, de los cuales 20 casos presentaron trombosis del stent y 100 pacientes sin trombosis, ambos grupos recibieron 75 mg de clopidogrel, al analizar la reactividad plaquetaria por el método ensayo de fosforilación de la fosfoproteína estimulada por vasodilatador, se encontró una mayor reactividad plaquetaria postratamiento y el bloqueo del receptor P_2Y_{12} fue incompleta en el grupo de pacientes con trombosis del stent.²³

La resistencia al clopidogrel, su identificación, prevalencia y la individualización en la posología se han convertido en la actualidad en un tema de interés. El término de resistencia al clopidogrel, se ha utilizado para describir la ocurrencia de eventos cardiovasculares a pesar del uso regular a las dosis recomendadas.²⁴⁻²⁶

De acuerdo a lo anterior, los resultados del estudio ISAR-CHOICE (Intracoronary stenting and antitrombotic Regimen: choose between 3 High oral doses for immediate clopidogrel effect), el cuál se incluyó 60 pacientes con enfermedad arterial coronaria demostrada por cateterismo, para determinar las concentraciones del metabolito activo (tiol) del clopidogrel y el inactivo (carboxi), con dosis de carga de 300, 600 y 900 mg.

De acuerdo a esto, se midió la agregación plaquetaria y se encontró diferencias en la respuesta con la dosis de carga de 300 mg y 600 mg, en cuanto a los niveles séricos del metabolito tiol del clopidogrel y la supresión inducida por ADP, encontrando niveles más elevados en el grupo de pacientes que recibieron 600 mg; sin embargo, no se encontró un incremento en los niveles plasmáticos del metabolito activo ni supresión del ADP en el grupo de 900 mg.²⁷

En el estudio ARMYDA-2, (Antiplatelet therapy for Reduction of Myocardial Damage during Angioplasty) se utilizó también una dosis carga de 600 mg de clopidogrel 4-8 horas antes del procedimiento, comparado con 300 mg, los hallazgos fueron una reducción significativa en el primer grupo de infarto del miocardio periprocedimiento en pacientes sometidos a intervencionismo coronario percutáneo.²⁸

El estudio ALBION, (Assessment of the Best Loading Dose of Clopidogrel to Blunt Platelet Activation, Inflammation and Ongoing Necrosis) fue diseñado para determinar la eficacia de tres dosis diferentes de carga de clopidogrel (300, 600, 900 mg) en pacientes con SICA sin elevación del ST, sometidos a una ICP con stent. Los resultados demuestran que la dosis de carga de 900 mg fue superior a la de 600 mg, lográndose efectos más rápidos y altos para la inhibición de agregación plaquetaria, lo que sugiere una relación dosis efecto.²⁹ En este mismo contexto, Bonello y cols, observaron que dosis de carga adicionales de 600 mg de clopidogrel (hasta un máximo de 2,400 mg) administradas en pacientes con pobre respuesta, redujo la frecuencia de eventos adversos incluida la trombosis del stent en comparación con pacientes tratados convencionalmente, sin que con esto incremente el riesgo de sangrado.³⁰

La resistencia al clopidogrel ha sido definida como una situación en la que existe un bloqueo incompleto del receptor de membrana de plaquetas P_2Y_{12} , y se han descrito diferentes hipótesis para explicarlo (Figura 3).^{31,32}

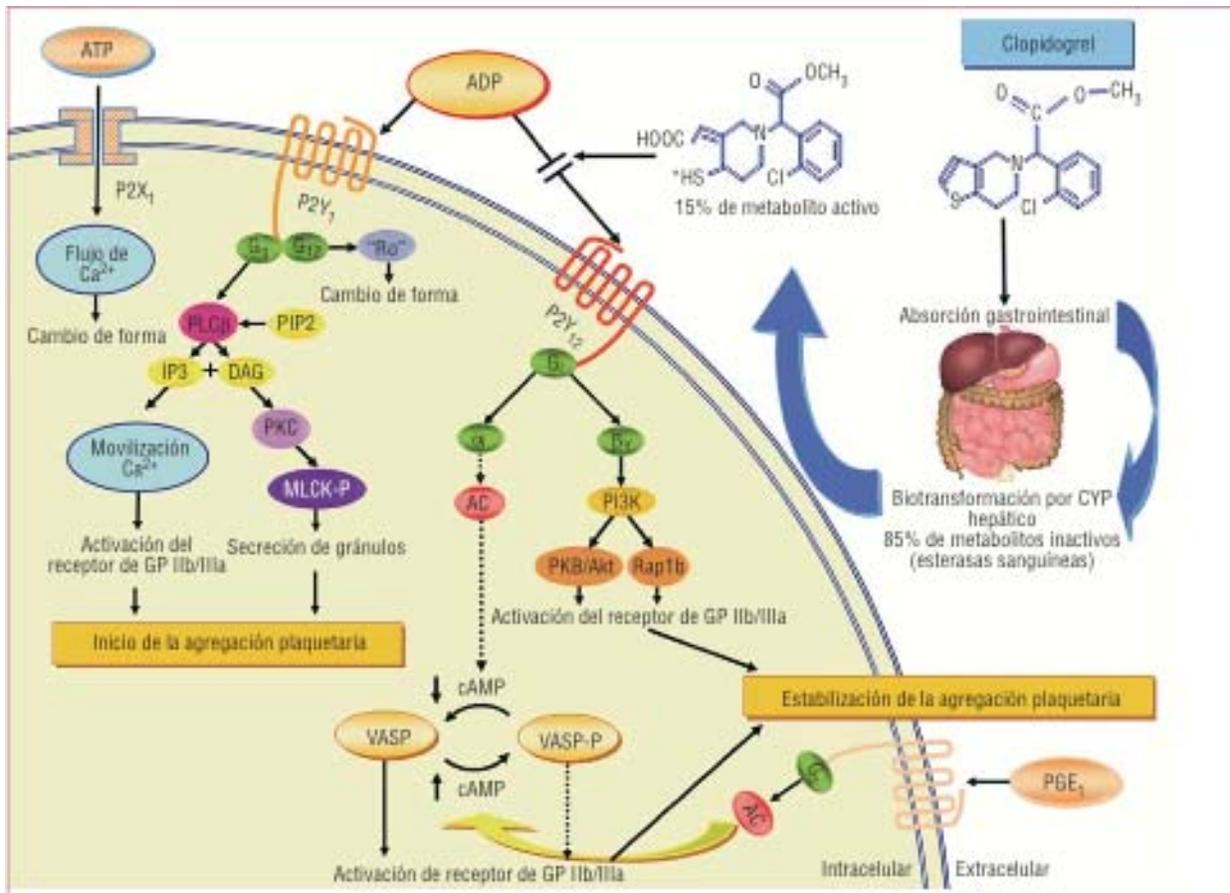


Figura 3. Representación esquemática del metabolismo del clopidogrel.

Receptores purinérgicos y mecanismo de acción del clopidogrel. El clopidogrel es un profármaco que se hidroliza en aproximadamente un 85% por esterasas de la sangre, para dar lugar a metabolitos inactivos, mientras que tan sólo un 15% se metaboliza por el sistema del citocromo P450 (CYP) en el hígado y da lugar a un metabolito activo. Dicho metabolito activo inhibe de manera irreversible el receptor P2Y12 del adenosindifosfato (ADP). El receptor P2X1, que utiliza adenosintrifosfato (ATP) como agonista, interviene en el cambio de la forma plaquetaria a través del flujo de entrada de calcio extracelular y facilita la amplificación de las respuestas plaquetarias que se producen a través de otros agonistas. La activación del receptor P2Y1 causa una modificación en la forma de las plaquetas e inicia una fase débil y transitoria de agregación plaquetaria. La unión del ADP al receptor P2Y1 acoplado a Gq activa la fosfolipasa C (PLC), que genera diacilglicerol (DAG) e inositol trifosfato (IP3) a partir de fosfatidilinositol bifosfato (PIP2). El diacilglicerol activa la proteína cinasa C (PKC) y da lugar a una fosforilación de la cinasa de cadena ligera de miosina (MLCK-P) y el IP3 induce una movilización del calcio intracelular. El receptor P2Y1 se acopla a otra proteína G, la G12, que activa la proteína «Ro» y da lugar al cambio de forma de la plaqueta. La unión de ADP al receptor P2Y12 acoplado a Gi libera las subunidades α y $\beta\gamma$ de la proteína Gi y da lugar a la estabilización de la agregación plaquetaria. La subunidad α inhibe la adenililciclasa (AC) y, por lo tanto, reduce las concentraciones de adenosinmonofosfato cíclico (AMPc), lo cual reduce la fosforilación de la fosfoproteína estimulada por vasodilatador (VASP-P) a través de la acción del AMPc. El estado de la VASP-P modula la activación del receptor de glucoproteína (GP) IIb/IIIa. La subunidad $\beta\gamma$ activa la fosfatidilinositol-3 cinasa (PI3K), lo que da lugar a la activación del receptor de GPIIb/IIIa a través de la activación de una serina-treonina proteínica (PKB/Akt) y de las proteínas de unión de GTP Rap1b. La prostaglandina E1 (PGE1) activa la AC, que aumenta las concentraciones de AMPc y el estado de la VASP-P. Las flechas continuas indican activación; las flechas punteadas indican inhibición.

1.5 Mecanismos de resistencia

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar el no alcanzar el efecto farmacológico inhibitorio deseado del clopidogrel en algunos pacientes, aun recibiendo la dosis establecida como “terapéutica”³³⁻³⁴ (tabla 1).

Entre los más importantes considerados en la actualidad son:

- 1.- Dosis inadecuada, principalmente en pacientes con un índice de masa corporal alto o bien con comorbilidades tales como resistencia a la insulina.
- 2.- Interacciones con otros fármacos, en las que destacan las estatinas lipofílicas (simvastatina, atorvastatina, lovastatina) que disminuyen el efecto del clopidogrel.³⁵

Tabla 1. Factores descritos asociados a la resistencia a clopidogrel. ⁴

FACTORES CLÍNICOS	FACTORES CELULARES	FACTORES GENÉTICOS
<ul style="list-style-type: none">• Fallo en la prescripción• Mal cumplimiento al tratamiento• Dosis inadecuada• Mal absorción• Aumento en el Metabolismo• Interacciones con otros fármacos• Reactividad plaquetaria alta• Situaciones proagregantes• Incremento del índice de masa corporal• Aumento del recambio plaquetario	<ul style="list-style-type: none">• Diferencias interindividuales en el receptor del ADP (P2Y12)• Aumento del ADP• Existencia de rutas alternativas de activación plaquetaria.	<ul style="list-style-type: none">• Polimorfismo receptor P2Y12 (aplotipo H2)• Polimorfismo del citocromo P-450.

Las estatinas lipofílicas (simvastatina, atorvastatina, lovastatina) podrían disminuir el efecto del clopidogrel (estudio CREDO).³⁵

Sin embargo otros estudios, como el estudio: Plavix for reduction of new Thrombotic occurrences (PRONTO), reportó que las estatinas no interfieren en la inhibición plaquetaria por clopidogrel, al utilizar 600 mg de dosis de carga.³⁶⁻³⁷

Las estatinas lipofílicas deben ser metabolizadas en el hígado. En este sentido la lovastatina y la simvastatina tienen afinidad moderada, mientras que la atorvastatina tiene baja afinidad por CYP3A4. Por otra parte, la fluvastatina y la rosuvastatina son sustratos de CYP2C9. La atorvastatina disponible en la actualidad es un sustrato débil de CYP3A4. Las interacciones entre atorvastatina y clopidogrel se observaron por primera vez con microsomas de CYP3A4 y CYP3A5 producidos por ingeniería genética. En estos estudios se observó que la atorvastatina inhibe el metabolismo de clopidogrel dependiente de CYP3A4. En un trabajo posterior se demostró la importancia clínica de esta interacción, de tal manera que la atorvastatina en dosis de 40 mg se asoció con una reducción del efecto antiplaquetario de clopidogrel que persistió 6 a 8 días posterior a la colocación del *stent*. En cambio la pravastatina, una estatina que no se metaboliza por vía de la CYP3A4, no influye en la magnitud de la inhibición plaquetaria inducida por clopidogrel en pacientes sometidos en forma exitosa a ICP.³³⁻³⁵

2.- POLIMORFISMOS

2.1 . Polimorfismo en el receptor P2Y12

Una de las moléculas más importantes en la agregación plaquetaria es el fosfato de adenosina, el cual incrementa la agregación de las plaquetas y es liberado del interior de las plaquetas activadas. Existen tres receptores para ADP conocidos sobre las plaquetas el P2X₁ (receptor indicado por la activación de los canales de calcio), y los receptores P2Y1 y P2Y12 (receptores acoplados a la proteína G)³⁸. El receptor de ADP P2Y12 ha sido clonado recientemente, el cual es el blanco terapéutico de la droga antiplaquetaria clopidogrel.³⁹ La estimulación de este receptor facilita la unión del fibrinógeno a la glicoproteína IIb-IIIa, permitiendo la agregación plaquetaria primaria en forma reversible y finalmente la agregación secundaria en forma irreversible⁴⁰.

Se han descrito diversos mecanismos para explicar la amplia variabilidad de respuesta al clopidogrel incluyendo los polimorfismos en los genes de los receptores plaquetarios. Recientemente el polimorfismo P1Y12 se ha asociado a diferentes grados de agregabilidad plaquetaria, y se ha sugerido como parte importante de la modulación de la respuesta del clopidogrel.⁴¹ El mecanismo funcional de la participación del polimorfismo en el gen del P2Y12 en la modulación de la respuesta a drogas antiplaquetarias ha sido evaluado en estudios previos los cuales incluyeron un tamaño de muestra pequeño, y no demostraron una relación entre el polimorfismo en el gen P2Y12 y la respuesta plaquetaria al clopidogrel definida por la agregación plaquetaria inducida por ADP.⁴²⁻⁴⁴

2.2. Polimorfismo del citocromo P-450

El polimorfismo del citocromo P-450 (CYP3A), tiene dos isoenzimas, el CYP3A4 que es el que predomina y, el CYP3A5 que es el que se expresa polimórficamente y que puede contribuir hasta el 50% de la actividad hepática. El CYP3A se encuentra en un tercio de personas de raza blanca y en la mitad de personas de raza negra. El polimorfismo genético del CYP3A5 distingue a los individuos en respondedores y no respondedores. Los individuos con el genotipo no respondedor de CYP3A5 son vulnerables a interacciones farmacológicas entre el clopidogrel e inhibidores del CYP3A como son midazolam, triazolam, nifedipina, tacrolimus y estatinas.⁴⁵⁻⁵⁵

La rifampicina podría aumentar el efecto del clopidogrel.⁵⁶ Lo anterior explica porque el clopidogrel para ser activo debe metabolizarse previamente por el citocromo P-450 (CYP3A), por lo que sustancias que actúen sobre el CYP3A podrán afectar a la acción del clopidogrel (habrá sustancias que compitan con el clopidogrel para ser metabolizados por el CYP3A. como es el caso de las estatinas; sustancias que inducirán el CYP3A: rifampicina, y por tanto aumenten la formación de los metabolitos activos del clopidogrel; y sustancias que inhiban el CYP3A: antifúngicos azólicos, y por tanto disminuyan la formación de los metabolitos activos del clopidogrel).⁵⁷

En la actualidad a diversos grupos científicos, les ha inquietado entender la eficacia del clopidogrel en presencia de los diferentes polimorfismos del citocromo P-450. Un grupo coreano, dirigido por Jung- Won Suh,⁵⁸ estudiaron la eficacia del clopidogrel frente a la isoenzima CYP3A, en gente con dos diferentes genotipos CYP3A5. En la primera fase del estudio, incluyeron a voluntarios con expresión del genotipo CYP3A5 y otro grupo carente de expresión de genotipo, encontrando como resultado, la disminución hasta un 25% de la actividad del clopidogrel en el grupo que no expreso el genotipo.

En una segunda fase, se observó la presentación de eventos aterotrombóticos (infarto, muerte, y EVC isquémico) durante un seguimiento a 6 meses; 348 pacientes que fueron sometidos a angioplastia coronaria percutánea mas colocación de stent y terapia antiplaquetaria con clopidogrel; se encontró que los eventos ocurrieron más frecuentemente en los pacientes que no expresaron el genotipo CYP3A5.⁵⁹

Otro grupo estadounidense, dirigido por LAU y colegas, mostro en 44 pacientes sometidos a intervencionismo coronario percutáneo con implante de stent, en tratamiento concomitante con atorvastatina, un sustrato CYP3A, que fue asociado con reducción de la actividad plaquetaria del clopidogrel.⁶⁰

En este mismo sentido, Neubauer y colaboradores, observaron en 47 pacientes sometidos a ICP electiva y pretratamiento con atorvastatina o simvastatina, la reducción de los efectos del clopidogrel durante su seguimiento.⁶¹

Muchos grupos de investigación alrededor del mundo se han preocupado, en demostrar el polimorfismo de CYP3A5 y CYP3A4, con respecto a diferentes grupos étnicos. Lee SJ et all, documenta que cuatro nuevos polimorfismos de CYP3A5 (R28C, L82R, A337TyF446S). CYP3A5R28C expresado en las poblaciones africanas (frecuencia alélica del 4%). CYP3A5A337T expresado en los asiáticos (2% de frecuencia alélica), CYP3A5L82R (en el grupo racialno identificados) y CYP3A5F446S (identificado en la raza blanca, con una frecuencia alélica del 2%). Los cuales la diversidad de polimorfismos de citocromo, en los distintos grupos étnicos, pudieran ser

los responsables de la variabilidad en la respuesta al tratamiento antiplaquetario, en pacientes con síndrome coronario agudo, sometidos a intervencionismo coronario percutáneo.⁶²

En base a lo anterior, se plantea, este estudio, en busca de la distribución genotípica y frecuencia alélica de los genotipos P2Y12, CYP3A4 y CYP3A en nuestra población, ya que no existe en la literatura información contundente, por tal motivo se plantea el siguiente diseño de estudio.

Evaluación de resistencia al clopidogrel.

(Medición de la agregación plaquetaria inducida por agonistas plaquetarios)

Existen diferentes pruebas que pueden medir la agregación plaquetaria mediante transmisión óptica a través de un agregómetro óptico, en este caso se requiere de una muestra de plasma rica en plaquetas, expuesta a los agonistas plaquetarios como el ácido araquidónico, colágeno, adrenalina, ADP y proteína activadora del receptor de trombina⁴³. Otra manera de medir la agregación plaquetaria es mediante impedancia eléctrica con el agregómetro en sangre completa; la muestra que se requiere, es sangre completa con citrato, al igual que en la anterior, se requiere de agonistas plaquetarios para medir la resistencia. Tomando en consideración el tiempo de cierre o “tiempo de sangrado in vitro” (tiempo requerido para ocluir la apertura central de una membrana biológicamente activa situada en el extremo de un tubo capilar artificial) se diseñó el Platelet Function Analyzer (PFA)-100 o agregómetro semiautomático,⁶³ la muestra que se requiere es sangre completa con citrato, los agonistas empleados son colágeno más adrenalina o colágeno más ADP, sólo sirve para medir la resistencia a la aspirina. Tiene la ventaja de que es un método simple, rápido y semiautomático; pero tiene el inconveniente de que se correlaciona regular con el gold standard ($\kappa=0.1$, 95% IC 0.04-0.25).⁶⁴ Por último, basándose en el tiempo que tarda una muestra de sangre en aglutinar con fibrinógeno surgió el Últegra Rapid Platelet Assay (RPFA) o agregómetro semiautomático rápido, la muestra que se requiere es sangre completa

con citrato, los agonistas empleados son ácido araquidónico y propyl gallate, sirve para medir la resistencia a cualquier antiagregante.



JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Una de las condiciones más importantes que predisponen a un síndrome coronario agudo es el incremento de la actividad plaquetaria, que favorece la formación de trombos. La inhibición del receptor P2Y₁₂ plaquetario con el empleo de clopidogrel ha supuesto un avance importante en el tratamiento de la enfermedad aterotrombótica, en especial en los casos de SICA tratados con ICP. A pesar del claro beneficio clínico asociado al clopidogrel en estos pacientes, experiencias clínicas han identificado algunas limitaciones, la más relevante es un amplio perfil de respuesta inhibitoria plaquetaria. Se han involucrado factores genéticos, celulares y clínicos en la variabilidad de respuesta al clopidogrel, que se ha demostrado y que se asocia a una evolución clínica adversa. De esta manera, está claramente justificada la búsqueda de nuevas estrategias para optimizar la inhibición plaquetaria. El desarrollo de nuevos bloqueadores de los receptores P2Y₁₂ con perfiles farmacocinéticos y farmacodinámicos más favorables constituye un nuevo e importante paso en este campo. La evaluación de los ensayos a gran escala recientemente presentados y los resultados que aportarán las investigaciones clínicas en curso proporcionarán los fundamentos futuros para el uso de pautas de tratamiento antiagregante plaquetario individualizadas y más específicas.

Dada la controversia entre estudios realizados en diferentes poblaciones que identifican la asociación de la resistencia al clopidogrel y los eventos cardiovasculares y las implicaciones pronósticas de la variabilidad de los efectos inducidos por el clopidogrel han llevado inevitablemente a la cuestión de cómo abordar y superar este fenómeno de resistencia. Tras asegurar a que el paciente cumpla con el tratamiento antiagregante plaquetario y descartar posibles interacciones farmacológicas en el paciente polimedcado se proponen posibles estrategias de las cuales se pudieran estudiar en una población mexicana y así prevenir eventos fatales isquémicos en este grupo de pacientes y poder individualizar el tratamiento.

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es identificar la posible asociación de los polimorfismos P-450 (CYP3A4 Y CYP3A5) y el P2Y₁₂ (T744C) con la resistencia al

clopidogrel y establecer su posible asociación con el desarrollo de eventos vasculares en pacientes con SICA sometidos a ICP.

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

1.- ¿Cuál es la frecuencia genotípica de los polimorfismos P-450 (CYP3A4 Y CYP3A5) y el P2Y12 (T744C) asociados con la respuesta a clopidogrel en pacientes con IAMSEST e IAM CEST sometidos a una ICP?

HIPÓTESIS

1.- Los polimorfismos P-450 (CYP3A5) y el P2Y12 (T744C) se asocian a un incremento en la expresión fenotípica en pacientes con IAMSEST e IAMCEST sometidos a ICP.

OBJETIVOS

1.- Determinar la frecuencia genotípica de los polimorfismos P-450 (CYP3A4 Y CYP3A5) y el P2Y12 (T744C) y su correlación fenotípica asociada a la respuesta al clopidogrel en pacientes con IAMSEST e IAMCEST sometidos a una ICP.

MÉTODOS

El estudio se realizó en el Hospital de Cardiología CMN IMSS siglo XXI, el análisis de los productos derivados de sangre se realizó en el Laboratorio Central de Análisis Clínicos y en la Unidad de Aterosclerosis y Trombosis del Hospital General Regional No. 1 Carlos MacGregor Sánchez Navarro del IMSS (Figura 4).

Se obtuvieron los registros hospitalarios (hemodinámica y UCIC), de todos los pacientes que tuvieron el diagnóstico de Cardiopatía Isquémica con Síndrome Isquémico Coronario Agudo con y sin elevación del segmento ST (demostrada por cuadro clínico, electrocardiograma y marcadores bioquímicos) y que fueron sometidos a una Intervención Coronaria Percutánea, que hayan recibido tratamiento con 300mg de clopidogrel en las 48 horas previas. Estos pacientes fueron incluidos, y previa explicación del protocolo y firma de hoja de consentimiento informado, se les realizaron los procedimientos especificados más adelante.

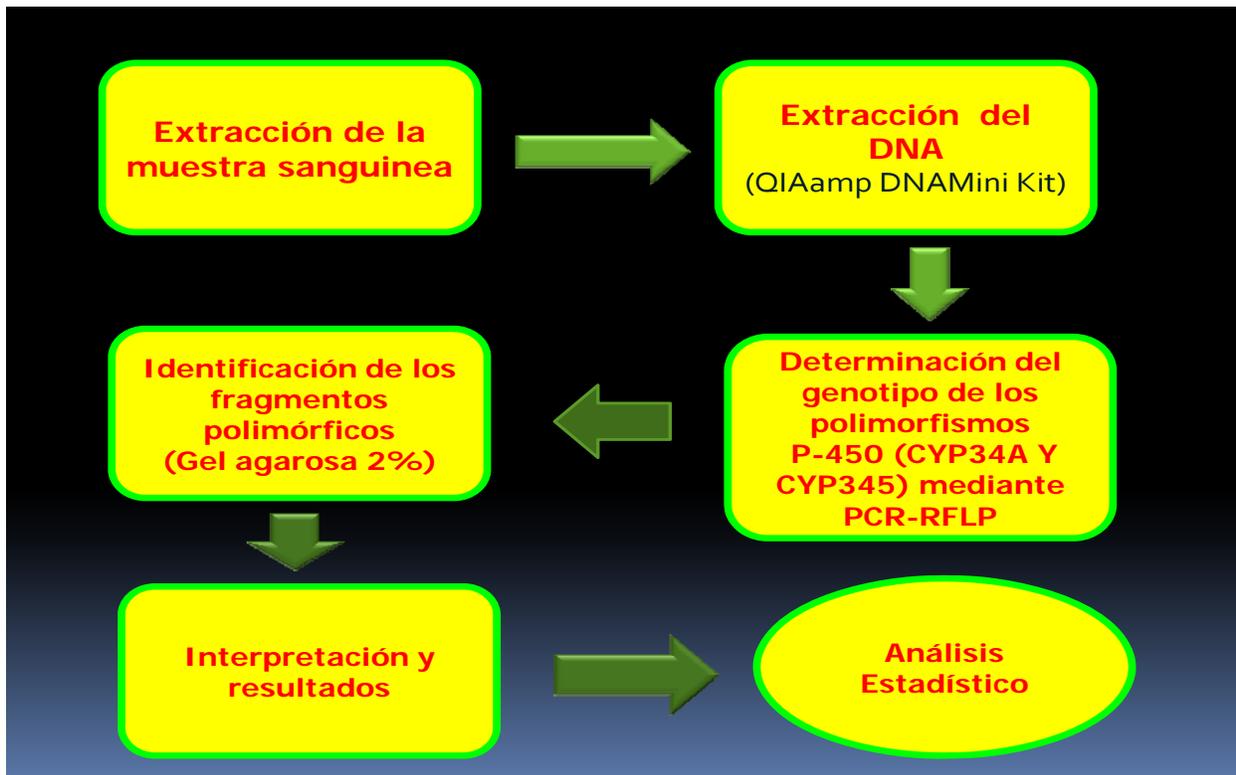


Figura 4.Diagrama de flujo para realizar el procedimiento de genotipificación

DISEÑO DEL ESTUDIO

Cohorte

- Observacional

- Prospectivo
- Comparativo

Tamaño de la Muestra

En nuestro país no se ha determinado la distribución genotípica y frecuencia alélica de los polimorfismos P-450 (CYP3A5) y el P2Y12 (T744C) en pacientes con SICA ni su posible asociación con la inhibición de la actividad terapéutica del clopidogrel en pacientes que son sometidos a Intervencionismo Coronario Percutáneo (ICP), por lo que en este primer estudio se planteo estudiar 60 casos consecutivos de este grupo de pacientes (SICA+ICP) con dosis de carga de clopidogrel 300mg y los eventos adversos en un periodo de 30 días posteriores al intervencionismo coronario.

Variables de estudio:

Definición de variables:

- ✓ **Polimorfismo P-450 (CYP3A5)**

-Definición conceptual: variación en la secuencia del DNA en el gen que codifica la isoenzima CYP3A5 del citocromo P-450 (CYP) que consiste en la expresión del alelo que se expresa denominado (*1) y el alelo que no se expresa denominado (*3).

-Definición operacional: es la presencia de la variación en la secuencia del DNA, en el gen que codifica

-Tipo variable: Cualitativa:

-Escala de medición: Nominal, dicotómica

-Unidades de Medición: si/no

✓ **Polimorfismo P2Y12 (T744C)**

-Definición conceptual: variación en la secuencia del DNA en el gen que codifica para el gen de P2Y12 que consiste en un cambio de una timina por una citocina en la posición 744 de la cadena.

-Definición operacional: es la presencia de la variación en la secuencia del DNA, en el gen que codifica

-Tipo variable: Cualitativa:

-Escala de medición: Nominal, dicotómica

-Unidades de Medición: si/no

✓ **Infarto agudo del miocardio**

- Definición Conceptual: Es la necrosis del miocardio secundaria a un riesgo sanguíneo insuficiente producido por una obstrucción de una arteria coronaria, frecuentemente por ruptura de una placa de ateroma vulnerable

- Definición Operacional: Se tomarán en cuenta todos los pacientes con:

a. -Dolor torácico mayor de 20 minutos acompañando o no de disnea, diaforesis, náuseas.

b.- Electrocardiográficamente: Ascenso del segmento ST en al menos dos derivaciones contiguas de 0,1 mV en derivaciones del plano frontal y 0,2 mV en derivaciones precordiales V1-V3 y 0.1 mV en el resto de las derivaciones o nuevo bloqueo de rama izquierda.

c.- Incremento de Biomarcadores positivos de necrosis miocárdica (Creatinfosfoquinasa fracción MB o troponina), con al menos un valor por encima del percentil 99^a del límite de referencia o por encima del límite de referencia.

-Tipo de variable: Cualitativa

-Escala de medición: Presente o Ausente

-Unidades de medición: si/no

✓ **Mortalidad**

- Definición Conceptual: Número total de muertes producidas por una enfermedad dada en una población durante un espacio de tiempo dado.

- Definición Operacional: muerte intra-hospitalaria y a los 30 días del evento.

-Tipo de variable: Cualitativa

-Escala de medición: cualitativa, nominal dicotómica

Categorías: presente o ausente

✓ **Reinfarto**

- Definición Conceptual: Ausencia o disminución del flujo sanguíneo al miocardio originado por la formación de un trombo en una arteria coronaria.

- Definición Operacional: Presencia de síntomas de isquemia recurrente con cambios electrocardiográficos del segmento ST > 0.1 mV en 2 derivaciones relacionadas o

la aparición de nuevas ondas “Q” acompañadas de elevación de creatinfosfoquinasa al doble de la basal o más del 50% del valor previo obtenido en la hospitalización. Se evaluará durante la hospitalización, a los 30 días y a los 3 meses posterior al evento coronario inicial.

-Tipo de variable: Cualitativa

-Escala de Medición: nominal dicotómica

-Categorías: presente o ausente

Criterios de selección:

Criterios de inclusión:

- Cualquier sexo
- Mayores de 18 años
- Diagnóstico de Síndrome Isquémico Coronario Agudo del tipo de angina inestable o infarto del miocardio con y sin elevación del segmento ST sometidos a un intervención coronaria percutánea (ICP)
- Que acepten participar en el estudio y firmen el consentimiento bajo información.

Criterios de exclusión

- Que durante la revisión del angiograma no se encuentren lesiones coronarias aterosclerosas.

Análisis estadístico:

Las características basales se analizaron con medidas de tendencia central y dispersión para las variables cuantitativas; para las variables cualitativas en número absoluto y proporción.

La distribución de los datos cuantitativos continuos se verificó con el método de los momentos y se realizó comparación de medias con prueba de t Student para grupos independientes cuando los datos se distribuyan de manera semejante a lo normal, de lo contrario se empleará prueba U de Mann-Whitney. El análisis de las variables dicotómicas mediante se realizó mediante prueba de chi cuadrada o la prueba exacta de Fisher.

La correlación entre las alteraciones fenotípicas y genotípicas se realizó mediante el coeficiente de correlación de Spearman. La significación estadística se aceptó con $p \leq 0.05$.

Consideraciones éticas

Se trató de un diseño observacional (no existe maniobra). Los procedimientos que se hicieron son solamente una obtención de sangre periférica mediante punción de una vena antecubital superficial, y el riesgo del estudio se considera como mínimo de acuerdo a la ley general de salud.

Con relación a los aspectos éticos, a todos los pacientes se les explicó en que consiste el procedimiento y se le solicitó que firmen la hoja de consentimiento informado de acuerdo a la Declaración de Helsinki de la Asociación Médica Mundial, sobre los Principios Éticos para la Investigación Médica que involucra sujetos humanos, adoptada por la 18ª Asamblea Médica Mundial, Helsinki Finlandia 1964, modificada en Tokio, Japón 1975.

TERCERA PARTE

RESULTADOS

Es el estudio se incluyeron 60 pacientes con diagnóstico de Síndrome Isquémico Coronario Agudo, de los cuales se documentó Infarto Agudo del Miocardio con elevación del segmento ST (IAMCEST) en un 51%, Infarto Agudo del Miocardio sin elevación del segmento ST (IAMSEST) en 12% y Angina Inestable de alto riesgo en 3%, a todos se les practicó una Intervención Coronaria Percutánea (ICP). En 90% de los pacientes el evento cardiovascular (SICA) fue agudo. La edad promedio de los pacientes fue 63.7 ± 11.8 años de edad y el sexo predominante fue el masculino en un 76.6%. Los factores de riesgo modificables se identificaron en un alto porcentaje de la siguiente manera: diabetes mellitus (45%), hipertensión arterial sistémica (52%), dislipidemia (47%) y tabaquismo (58%). En un 22% se documentó historia cardiovascular previa (20% IAM y 10% angina inestable). En 30% de los pacientes se registro antecedente heredofamiliar de enfermedad cardiovascular (Tabla 1). La distribución de los síndromes coronarios fue de la siguiente manera: 85% IAMCEST, en 18% IAMSEST y en 2% angina Inestable. A todos los pacientes se administró Clopidogrel dosis de carga (300mg) y 300mg de aspirina.

Tabla 1. Basal de variables clínicas y demográficas de los pacientes con Síndrome Isquémico Coronario agudo tratados con Intervencionismo Coronario Percutánea.

Variable	Casos (n=60)
Edad (años, media DE ±)	63.7 ± 11.8 *
Género (masculino %)	23.3
Tabaquismo (%)	58
Hipertensión (%)	52
Diabetes Mellitus (%)	45
Dislipidemia (%)	47
Antecedente Familiar de EAC (%)	38

EAC= Enfermedad arterial coronaria, Datos expresados en *X± DE=Media y Desviación estándar

Tabla 2. Características de historia cardiovascular, presentación del SICA y Medicamentos de los pacientes con Síndrome Isquémico Coronario agudo tratados con Intervencionismo Coronario Percutánea.

Variable	Casos (n=60)
Historia Cardiovascular	
Infarto previo (%)	20
Angina inestable (%)	16
Tipo de SICA	
IAMCEST (%)	85
Anterior extenso (%)	40
Lateral (%)	30
Posteroinferior (%)	30
IAMSEST (%)	12
Angina inestable (%)	3
Medicamentos	
Clopidogrel 300 mg (%)	100
Ácido Acetil Salicílico 300 mg (%)	100
Estatinas (%)	100
IECAS (%)	90
Fibratos (%)	40
Beta Bloqueadores (%)	9

La concentración media de glucosa fue de 146.3 ± 50.46 mg/dl, de Creatininfosfocinasa (CK) 1416.8 ± 975.3 , de creatininfosfocinasa fracción MB (CKMB) 136.3 ± 141.9 , de Deshidrogenasa Láctica (DHL) 1182.0 ± 789.0 , de troponina I 7.7 ± 3.6 , de mioglobina 335.9 ± 317.0 , plaquetas 210 ± 194 y fibrinógeno 591.05 ± 216.97 . (Tabla 3)

Tabla 3. Basal de variables de laboratorio de los pacientes con Síndrome Coronario agudo tratados con Intervencionismo Coronario Percutánea.

Pacientes n=60	
Glucosa (mg/dL)	146.3 ± 50.46
Creatinfosfoquinasa U/L	1416.8 ± 975.3
Creatinfosfoquinasa fracción MB U/L	136.3 ± 141.9
Desidrogenasa Láctica U/L	1182.9 ± 789.0
Troponina I ng/dL	7.7 ± 3.6
Mioglobina ng/mL	335.9 ± 31.7
Plaquetas	210 ± 194
Fibrinógeno mg/dL	591.0 ± 216.9

La distribución genotípica del polimorfismo T744C del receptor plaquetario P2Y12 fue: homocigotos para el alelo C (CC) n=44 (73.35%), heterocigotos (CT) n=14 (23.3%) y homocigotos para el alelo T (TT) n=2 (3.4%). La frecuencia alélica fue de 85% para el alelo C y 15% para el alelo T (Tabla 4).

Tabla 4. Distribución del genotipo T744C y frecuencia alélica del polimorfismo en el gen del P2Y12 de los pacientes con SICA tratados con ICP.

Casos (n=60)	
Distribución Genotípica	
C/C n (%)	44 (73.3)
C/T n (%)	14 (23.3)
T/T n (%)	2 (3.4)
Frecuencia Alélica	
C n (%)	102 (85.0)
T n (%)	18 (15.0)

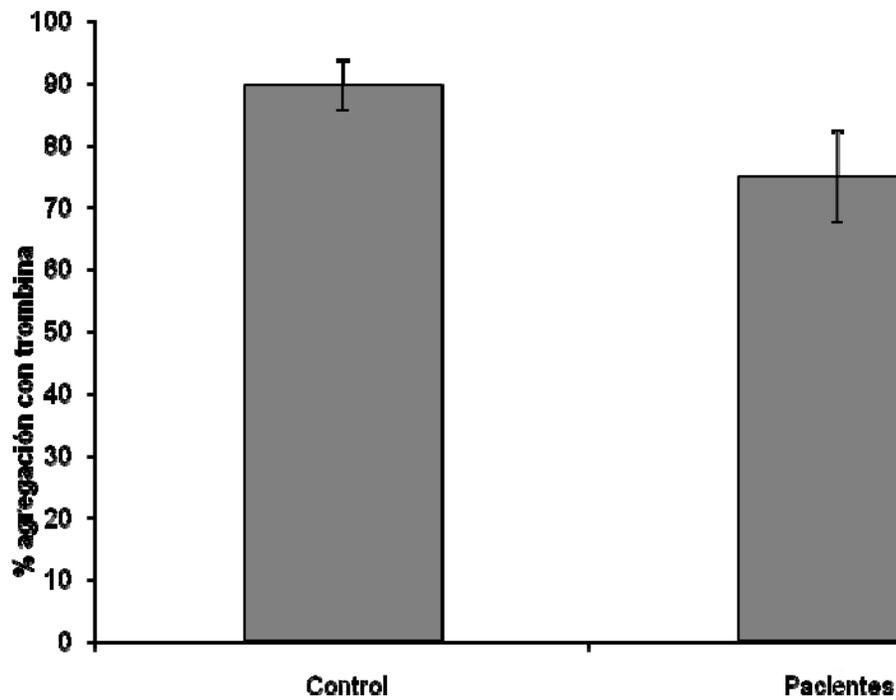
La distribución genotípica del polimorfismo *1/*3 P450 CYP3A5 fue: homocigotos para el alelo *1 (*1/*1) n=6 (10%), heterocigotos (*1/*3) n=30 (50%) y homocigotos para el alelo *3 (*3/*3) n=24 (40%). La frecuencia alélica fue de n=42 (35%) para el alelo *1 y n=78 (75%) para el alelo *3. (Tabla 5).

Tabla 5. Distribución genotípica y frecuencia alélica del polimorfismo CYP3A5 *1/*3 en el gen del P450 en pacientes con SICA tratados con ICP.

Casos (n=60)	
Distribución Genotípica	
*1/*1 n (%)	6 (10)
*1/*3 n (%)	30 (50)
*3/*3 n (%)	24 (40)
Frecuencia Alélica	
*1 n (%)	42 (35)
*3 n (%)	78 (65)

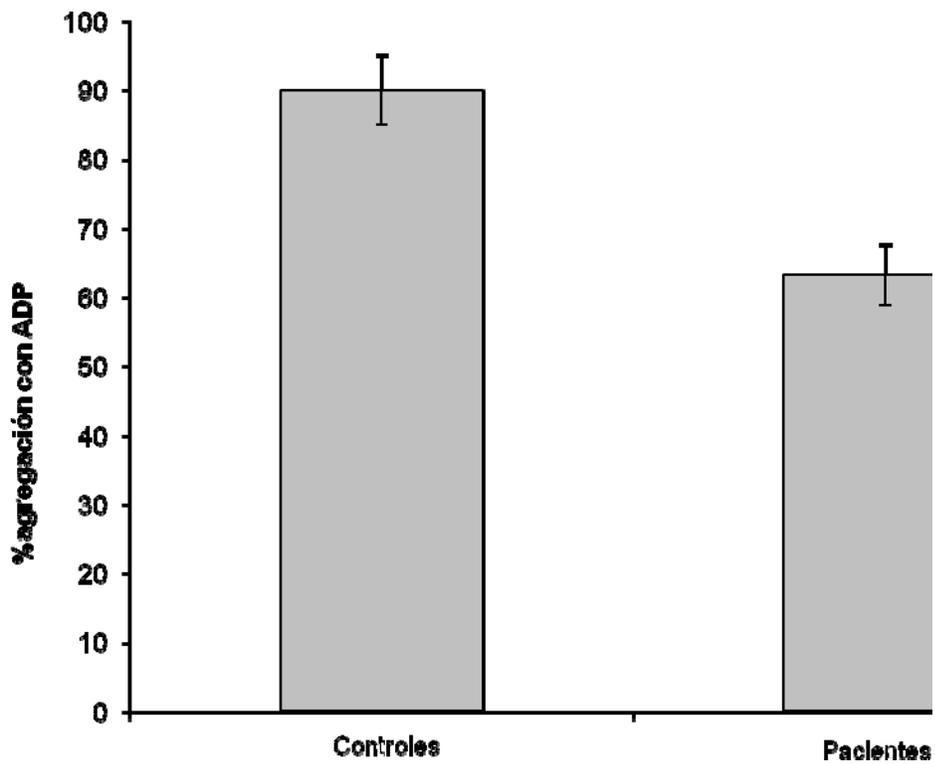
Se realizó la prueba de agregometria plaquetaria sólo a 37 pacientes. La grafica 1 muestra la máxima agregación plaquetaria obtenida con trombina obtenida en el grupo de pacientes y en el grupo control.

Gráfica 1. Máxima agregación plaquetaria inducida por trombina en controles y donadores.



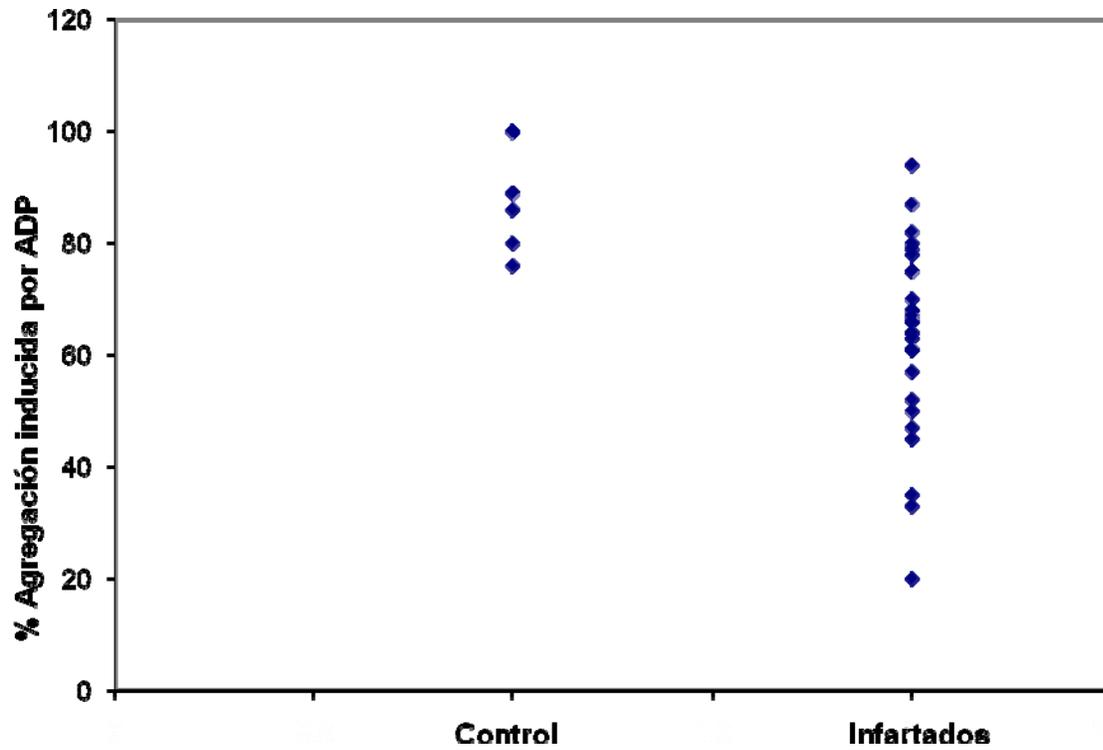
La gráfica representa la máxima agregación plaquetaria obtenida con ADP en el grupo de pacientes y controles registrada.

Gráfica 2. Máxima agregación plaquetaria inducida por ADP en controles y donadores.



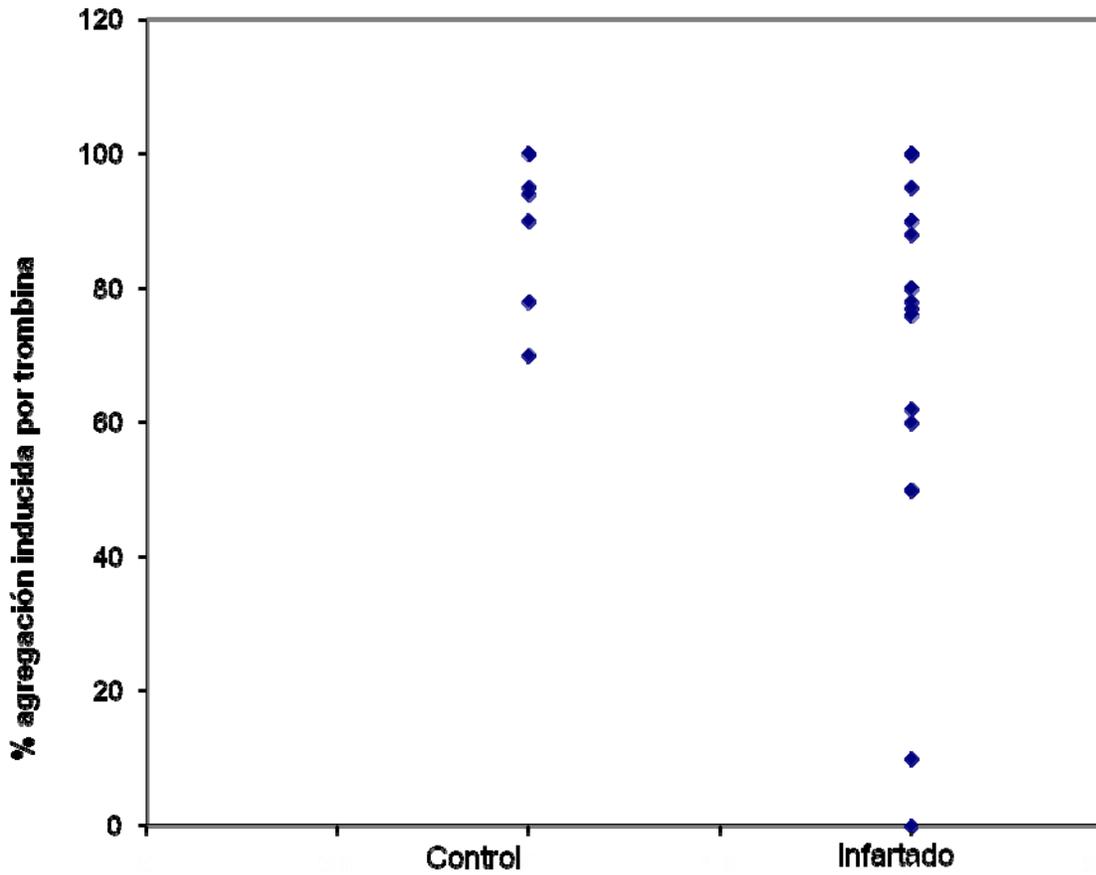
La grafica muestra la agregación obtenida con ADP en cada uno de los pacientes y controles realizados.

Gráfica 3. Agregación plaquetaria dependiente de ADP controles y donadores.



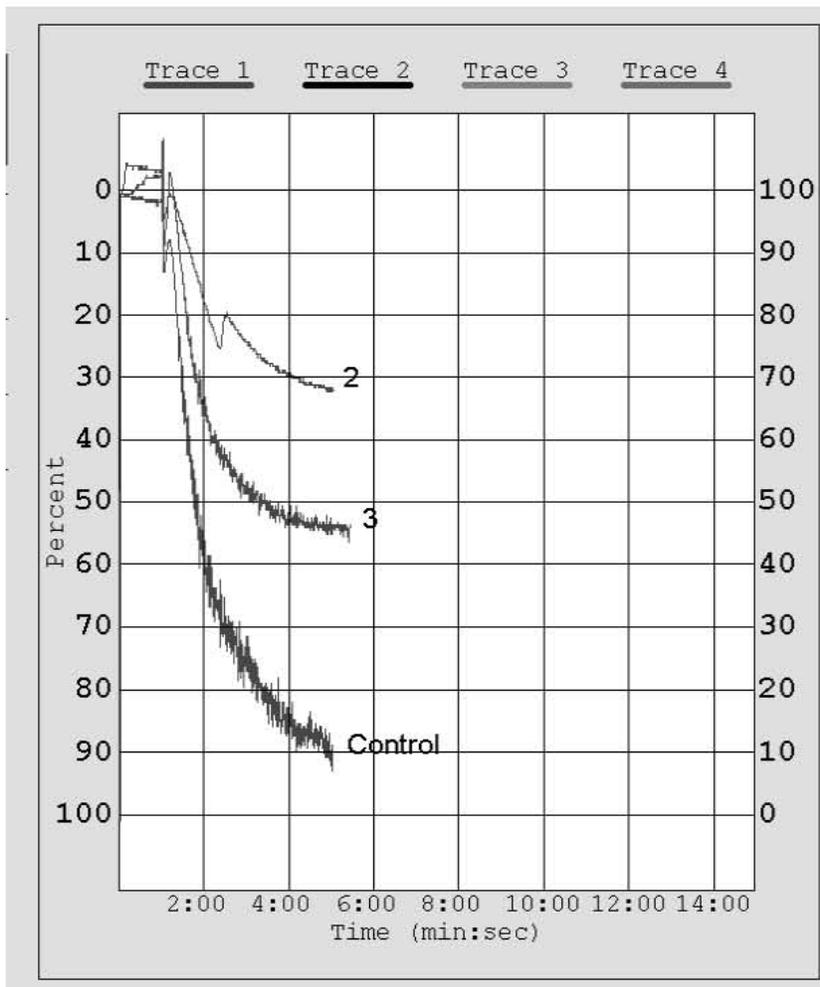
La grafica muestra la agregación obtenida con trombina en cada uno de los pacientes y controles realizados.

Gráfica 4. Máxima agregación plaquetaria inducida por trombina en controles y donadores.

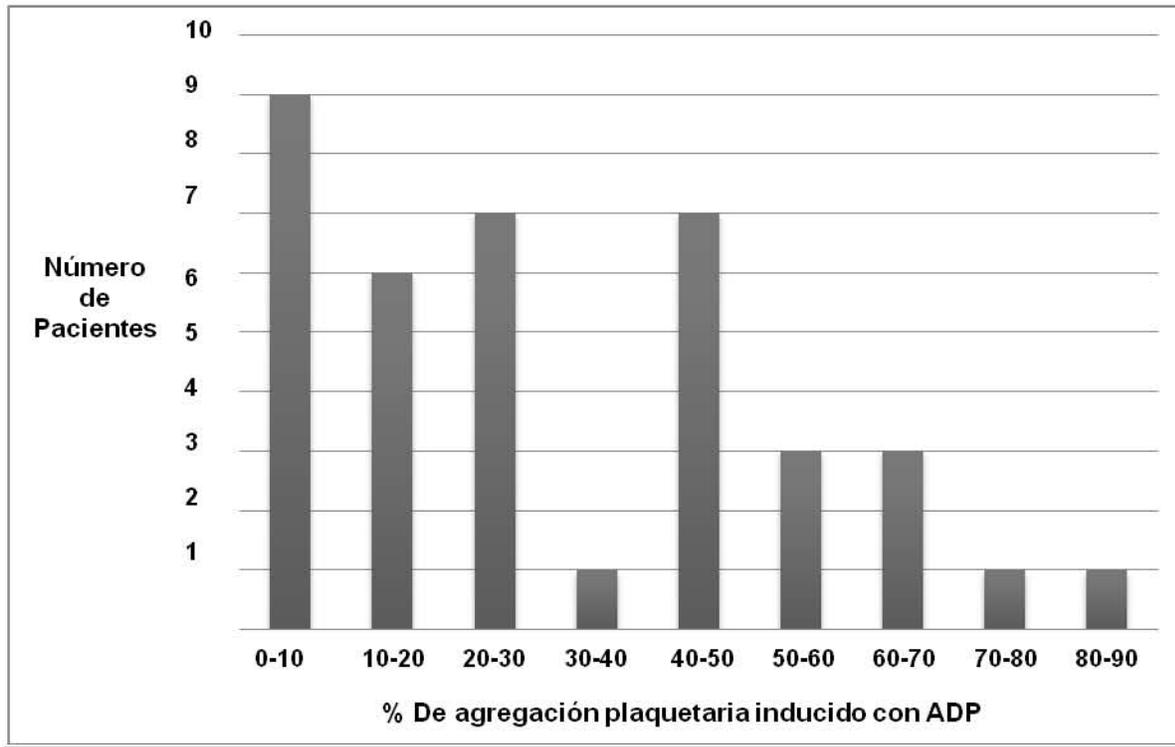


Representación gráfica de la prueba de agregometria plaquetaria obtenido en los pacientes 2 y 3, así como el control (pool de donadores).

Gráfica 5. Agregación plaquetaria obtenida en los pacientes 2 y 3 y el control mediante el uso de agente agregante ADP.

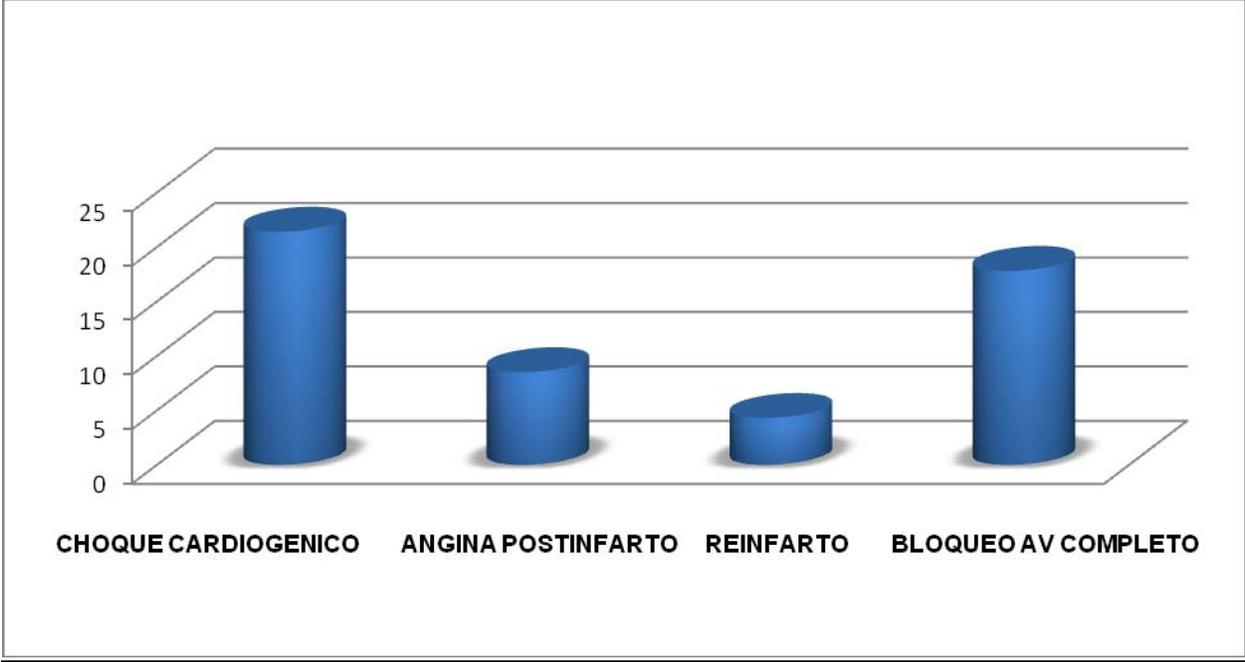


Gráfica 6. Porcentaje de agregación plaquetaria inducida mediante ADP en los paciente con dosis de carga de 300 mg de clopidogrel sometidos a ICP



Las complicaciones post-infarto se presentaron en un 52% de los pacientes, siendo las más frecuentes choque cardiogénico, angina post-infarto, reinfarto y bloqueo AV completo (Grafica 7).

Grafica 7. Número de pacientes y causas más frecuentes de Complicaciones post-infarto presentadas



DISCUSIÓN

El clopidogrel es un fármaco ampliamente usado en el manejo de la enfermedad arterial coronaria⁶⁵. Se ha demostrado que el clopidogrel reduce la incidencia de la trombosis del stent intracoronario^{66,67}, además de haber sido aprobado para el manejo del SICA⁶⁸.

Diversos estudios han indicado una carencia del efecto inhibitorio de la actividad plaquetaria por el clopidogrel (resistencia al clopidogrel) en algunos pacientes^{24,26,46,69-71}.

En el presente estudio evaluamos la acción de la inhibición farmacológica plaquetaria del clopidogrel en dosis de carga de 300 mg en pacientes con diagnóstico de IAMCEST que fueron sometidos a ICP. Por primera vez en México identificamos que la inhibición de la agregación plaquetaria lograda por el clopidogrel administrada en dosis de carga de 300mg obtenida en estos pacientes fue solo del 32.12%, siendo la menor de ellos del 0% y una máxima inhibición de 80%. Lo anterior difiere de manera importante a lo indicado en la guías de tratamiento, en las cuales refiere una inhibición máxima de la agregación plaquetaria.⁷²

Cuando exploramos la posible asociación entre el porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria por el clopidogrel y el resultado de eventos adversos no encontramos diferencia estadísticamente significativa. En ambos grupos la inhibición de la actividad plaquetaria (agregación), estuvo disminuida comparada con la inhibición que se propone y que se obtiene con la dosis de carga del clopidogrel. (80%). La inhibición de la agregometría registrada fue de 33.7% en el grupo de pacientes que no presento resultados adversos vs. 30.6%. el que presento. Lo anterior probablemente es debido a que solo se practicó la prueba de agregometría en 37 pacientes de los 60 incluidos en el estudio. Sin embargo, debemos enfatizar que en ambos grupos el porcentaje de inhibición de la agregación plaquetaria fue menor a la considerada como óptima obtenida dentro del periodo de 24 hrs. posterior a la dosis de carga del medicamento.

Es importante mencionar que los pacientes que presentaron como complicación el fenómeno de “no reflujo” el porcentaje de inhibición fue del 0%.

En relación al género, se observó que el sexo femenino es un factor protector para el desarrollo de eventos cardiovasculares desarrollados posterior a la ICP. Se incluyeron un total de 14 pacientes del género femenino, de las cuales solo un 36% presentaron eventos cardiovasculares secundarios, mientras que en el género masculino las complicaciones se registraron en un 56%.

Debido a los hallazgos anteriores. se han propuesto diversos mecanismos inhibitorios hacia la actividad farmacológica del clopidogrel, como lo es la interacción del fármaco con el receptor del CYP3^{60, 73-75} y con el polimorfismo T744C en el receptor plaquetario para ADP P2Y12.⁷⁶⁻⁷⁹

En nuestro conocimientos y acorde a la literatura médica mundial publicada, el presente estudio representa la primera investigación en población Mexicana, para identificar la frecuencia genotípica y frecuencia alélica, así como una posible correlación entre la expresión genotípica de los polimorfismos *1/*3 en el gen del CYP3A5 y del polimorfismo T744C en el gen que codifica para el receptor de ADP plaquetario en el gen del P2Y12 y la inhibición de la actividad farmacológica del clopidogrel sobre la actividad plaquetaria (agregación) en pacientes con IAMCEST sometidos a ICP y dosis de carga de 300 mg de clopidogrel.

Se identificó en este grupo de pacientes una frecuencia 85.0% para el alelo C y un 15.0% del alelo T del polimorfismo T744C del receptor plaquetario P2Y12. Lo anterior difiere de lo encontrado en otras poblaciones como la encontrada en la población Iraní en donde se reporto un 4% para el alelo T⁸⁰. Además, también difiere en forma más importante de los reportados por Angiolillo y cols,⁴³ los cuales encontraron en población francesa un porcentaje de 31% del alelo C en un grupo de pacientes tratados con dosis de carga de clopidogrel de 300 mg vs. 38% del alelo C dosis de mantenimiento de 75 mg /día respectivamente.

Cuando se analizó la distribución genotípica y la frecuencia alélica del polimorfismo *1/*3 del CYP3A5 encontramos diferencias en relación a la frecuencia en otras poblaciones^{59,81,82}.

En base a la literatura médica mundial publicada, este es el primer estudio que identifica una alta frecuencia del alelo *3 en pacientes con SICA (IAM con y sin elevación del segmento ST), sometidos a intervención coronaria percutánea y en los cuales se administró clopidogrel en dosis de carga de 300 mg. Siendo dicha frecuencia del alelo del *3 de un 65%. Lo anterior es relevante debido a que en condiciones normales la actividad del clopidogrel no difiera substancialmente entre los individuos debido a que la mayor parte de la actividad está representada por el CYP3A4, sin embargo en los pacientes con la presencia de múltiples substratos o inhibidores como lo son las estatinas, CYP3A4 es mas fácilmente inhibido que CYP3A5, por lo tanto CYP3A5 representa el principal contribuidor de la actividad total de CYP3A. En esta condición la actividad total del CYP3A podría diferir dependiendo del genotipo del paciente CYP3A5⁵⁹.

CONCLUSIONES:

- 1) Por primera vez identificamos en pacientes Mexicanos, una alta frecuencia del alelo *3 del polimorfismo CYP3A*1/*3 en el gen del citocromo P450, el cual en presencia de múltiples substratos o inhibidores como las estatinas podría ser responsable por el bajo porcentaje de inhibición del clopidogrel (dosis de carga de 300mg) sobre la agregabilidad plaquetaria, administrado en pacientes con diagnóstico de SICA sometidos a ICP.
- 2) Los pacientes con diagnóstico de IAMCEST sometidos a ICP y tratados con dosis de carga de 300 mg con clopidogrel, obtienen una inhibición de la agregación plaquetaria promedio del 30%, la cual es muy inferior a la recomendado en las guías de tratamiento.
- 3) Aproximadamente el 50% de los pacientes que son sometidos a ICP presentan complicaciones posterior a la intervención coronaria.
- 4) El género femenino representa un factor protector para el desarrollo de complicaciones post ICP.
- 5) La frecuencia de los polimorfismos investigados (*1/*3 y el T744C) en los genes CYP3A5 y del P2Y12 respectivamente, difieren de los reportados en otras poblaciones del mundo, lo que representaría una probable diferencia en la interacción en la inhibición de la actividad del clopidogrel sobre la actividad plaquetaria (agregación).

PERSPECTIVAS DE LA INVESTIGACIÓN

- 1) Incrementar tamaño de muestra a 500 pacientes con diagnóstico de IAMCEST sometidos a ICP.
- 2) Identificar otros polimorfismos como el PIA1/A2, CYP3 y el CYP2C19 posiblemente asociados con la inhibición de la actividad farmacológica del clopidogrel.
- 3) Evaluar en esta misma cohorte de pacientes la evolución de la agregación plaquetaria durante un periodo de 12 meses.

BIBLIOGRAFÍA

1. González PH, Arias MA: *Síndromes Coronarios Agudos*. 2005. edit. Sistemas Inter. pp. 7-17.
2. *RENASICA II Registro Mexicano de Síndromes Coronarios Agudos*: Sociedad Mexicana de Cardiología. Por el Grupo Cooperativo RENASICA II. Arch Inst Cardiol Méx; Vol. 75 Supl. 1/Enero-Marzo 2005:S6-S19.
3. *Registro Nacional de los Síndromes Isquémicos Coronarios Agudos [RENASICA]*: Sociedad Mexicana de Cardiología. Por el Grupo Cooperativo RENASICA. Arch Inst Cardiol Méx 2002; 72: S46-S65.
4. Borrayo-Sánchez G, Madrid-Miller A, Arriaga-Nava R, Ramos-Corrales MA, García-Aguilar J, Almeida-Gutiérrez E. Risk stratified in the National Registry of Acute Coronary Syndromes at the IMSS. Rev Med Inst Mex Seguro Soc. 2010;48:259-264.
5. Davi G, Patrono C. Platelet activation and atherothrombosis. N Engl J Med. 2007;357:2482-2494.
6. Jennings LK. Mechanisms of platelet activation: need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis. Thromb Haemost. 2009;102:248-57.
7. Vorchheimer DA, Becker R. Platelets in atherothrombosis. Mayo Clin Proc. 2006;81:59-68.
8. Yousuf O, Bhatt DL. The evolution of antiplatelet therapy in cardiovascular disease. Nat Rev Cardiol. 2011 Jul 12. doi: 10.1038/nrcardio.2011.96.
9. Braunwald E. Tratado de Cardiología. Vol 2. 7ª ed. Madrid: Elsevier; 2006. p. 2087.
10. Roth GJ, Calverley DC. Aspirin, platelets and thrombosis: theory and practice. Blood 1994;83:885-898.
11. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. Circulation. 2003;107:2908-2913.
12. Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. J Am Coll Cardiol. 2005; 45:246-251.

13. Taubert D, Kastrati A, Harlfinger S, Gorchakova O, Lazar A, von Beckerath N, et al. Pharmacokinetics of clopidogrel after administration of a high loading dose. *Thromb Haemost* 2004;92:311-316.
14. Parodi G, Sciagra R, Migliorini A, Memisha G, Moschi G, Valenti R, et al. A randomized trial comparing clopidogrel versus ticlopidine therapy in patients undergoing infarct artery stenting for acute myocardial infarction with abciximab as adjunctive therapy. *Am Heart J* 2005;150:220.
15. A randomized, blinded, trial of clopidogrel versus aspirin in patients at risk of ischaemic events (CAPRIE). CAPRIE Steering Committee. *Lancet* 1996; 348:1329.
16. The Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2001;345:494-502.
17. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJG, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, et al. Effects of pre-treatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet* 2001;358:527-533.
18. Steinhubl SR, Berger PB, Mann III JT, Fry ETA, DeLago A, Wilmer C, et al, for the CREDO Investigators. Early and sustained dual oral antiplatelet therapy following percutaneous coronary intervention: a randomized controlled trial. *JAMA* 2002;288:2411-2420.
19. Sabatine MS, Cannon CP, Gibson CM, Lopez-Sendon JL, Montalescot G, Theroux P, et al, the CLARITY-TIMI 28 Investigators. Addition of clopidogrel to aspirin and fibrinolytic therapy for myocardial infarction with ST-segment elevation. *N Engl J Med* 2005;352:1179-1189.
20. Chen Z, Jiang L, Chen Y, Xie J, Pan H, Peto R, et al. Addition of clopidogrel to aspirin in 45,852 patients with acute myocardial infarction: randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 2005;366:1607-1612.
21. Gurbel PA, Bliden KP, Zaman KA, Yoho JA, Hayes KM, Tantry US. Clopidogrel loading with eptifibatide to arrest the reactivity of platelets: results of the Clopidogrel Loading With Eptifibatide to Arrest the Reactivity of Platelets (CLEAR PLATELETS) study. *Circulation*. 2005;111:1153-1159.
22. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Barbou F, Morange PE, Hovasse T, et al. High post-treatment platelet reactivity identified low-responders to dual antiplatelet therapy at increased risk of recurrent cardiovascular events after stenting for acute coronary syndrome. *J Thromb Haemost*. 2006;4:542-549.

23. Gurbel PA, Bliden KP, Samara W, Yoho JA, Hayes K, Fissaha MZ, et al. Clopidogrel effect on platelet reactivity in patients with stent thrombosis: results of the CREST Study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46:1827-1832.
24. Müller I, Besta F, Schulz C, Massberg S, Schönig A, Gawaz M. Prevalence of clopidogrel non-responders among patients with stable angina pectoris scheduled for elective coronary stent placement. *Thromb Haemost*. 2003;89:783-787.
25. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Barrera-Ramirez C, Sabaté M, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass TA, Macaya C. Identification of low responders to a 300-mg clopidogrel loading dose in patients undergoing coronary stenting. *Thromb Res*. 2005;115:101-108.
26. Järemo P, Lindahl TL, Fransson SG, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med*. 2002;252:233-238.
27. Von Beckerath N, Taubert D, Pogatsa-Murray G, Schömig E, Kastrati A, Schömig A. Absorption, metabolization, and antiplatelet effects of 300-, 600-, and 900-mg loading doses of clopidogrel: results of the ISAR-CHOICE (Intracoronary Stenting and Antithrombotic Regimen: Choose Between 3 High Oral Doses for Immediate Clopidogrel Effect) Trial. *Circulation*. 2005;112:2946-2950.
28. Patti G, Colonna G, Pasceri V, Pepe LL, Montinaro A, DiSciascio G. Randomized trial of high loading dose of clopidogrel for reduction of periprocedural myocardial infarction in patients undergoing coronary intervention: results from the ARMYDA-2 (Antiplatelet therapy for Reduction of Myocardial Damage during Angioplasty) study. *Circulation*. 2005;111:2099-2106.
29. Montalescot G, Sideris G, Meuleman C, Pres H, Savion N, Varon D. A randomized comparison of high clopidogrel loading doses in patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndromes. The ALBION (Assessment of the Best Loading Dose of Clopidogrel to Blunt Platelet Activation, Inflammation and Ongoing Necrosis) trial. *J Am Coll Cardiol*. 2006;48:931-938.
30. Bonello L, Camoin-Jau L, Arques S, Boyer C, Panagides D, Witteberg 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: a multicenter randomized prospective study. *J Am Coll Cardiol*. 2008;51:1404-1411.
31. Fontana P, Dupont A, Gandrille S, Bachelot-Loza C, Reny JL, Aiach M, Gaussem P. Adenosine diphosphate-induced platelet aggregation is associated

with P2Y₁₂ gene sequence variations in healthy subjects. *Circulation*. 2003;108:989-995.

32. Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res*. 2005;115:89-94.
33. Lau WC, Waskell LA, Watkins PB, Neer CJ, Horowitz K, Hopp AS, et al. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet activation: a new drug-drug interaction. *Circulation* 2003;107:32-37.
34. Serebruany VL, Malinin AI, Callahan KP, Gurbel PA, Steinhubl SR. Statins do not affect platelet inhibition with clopidogrel during coronary stenting. *Atherosclerosis* 2001;159:239-2341.
35. Müller I, Besta F, Schulz C, Li Z, Massberg S, Gawaz M. Effects of statins on platelet inhibition by a high loading dose of clopidogrel. *Circulation*;108: 2195-2197.
36. Ford NF. Clopidogrel resistance: pharmacokinetic or pharmacogenetic? *J Clin Pharmacol*. 2009;49:506-512.
37. Momary KM, Dorsch MP, Bates ER. Genetic causes of clopidogrel nonresponsiveness: which ones really count? *Pharmacotherapy*. 2010;30:265-274.
38. Daniel JL, Dangelmaier C, Jin J, Ashby B, Smith JB, Kunapuli SP. Molecular basis for ADP-induced platelet activation. I. Evidence for three distinct ADP receptors on human platelets. *J Biol Chem*. 1998;273:2024-2029.
39. Hollopeter G, Jantzen HM, Vincent D, Li G, England L, Ramakrishnan V, Yang RB, Nurden P, Nurden A, Julius D. Identification of the platelet ADP receptor targeted by antithrombotic drugs. *Nature*. 2001;409:202-207.
40. Kauffenstein G, Bergmeier W, Eckly A, Ohlmann P, Léon C, Cazenave JP, Nieswandt B, Gachet C. The P2Y₁₂ receptor induces platelet aggregation through weak activation of the α (IIb) β (3) integrin--a phosphoinositide 3-kinase-dependent mechanism. *FEBS Lett*. 2001;505:281-290.
41. Fontana P, Gaussem P, Aiach M, Fiessinger J-N, Emmerich J, Reny J-L. P2Y₁₂ H2 Haplotype is associated with peripheral arterial disease: a case-control study *Circulation* 2003;108:2971-2973.
42. von Beckerath N, von Beckerath O, Koch W, Eichinger M, Schömig A, Kastrati A. P2Y₁₂ gene H2 haplotype is not associated with increased adenosine

diphosphate-induced platelet aggregation after initiation of clopidogrel therapy with a high loading dose. *Blood Coagul Fibrinolysis*. 2005;16:199-204.

43. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Ramírez C, Cavallari U, Trabetti E, Sabaté M, Jimenez-Quevedo P, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass TA, Pignatti PF, Macaya C. Lack of association between the P2Y₁₂ receptor gene polymorphism and platelet response to clopidogrel in patients with coronary artery disease. *Thromb Res*. 2005;116:491-497.
44. Lev EI, Patel RT, Guthikonda S, Lopez D, Bray PF, Kleiman NS. Genetic polymorphisms of the platelet receptors P2Y₁₂, P2Y₁ and GP IIIa and response to aspirin and clopidogrel. *Thromb Res*. 2007;119:355-360.
45. Matetzky S, Shenkman B, Guetta V, Shechter M, Bienart R, Goldenberg I, Novikov I, Pres H, Savion N, Varon D, Hod H. Clopidogrel resistance is associated with increased risk of recurrent atherothrombotic events in patients with acute myocardial infarction. *Circulation*. 2004 Jun 29;109:3171-3175.
46. Gurbel PA, Bliden KP, Hiatt BL, O'Connor CM. Clopidogrel for coronary stenting: response variability, drug resistance, and the effect of pretreatment platelet reactivity. *Circulation* 2003;107:2908-2913.
47. Momary KM, Dorsch MP. Factors associated with clopidogrel nonresponsiveness. *Future Cardiol*. 2010;6:195-210.
48. Järemo P, Lindhal TL, Fransson SG, Richter A. Individual variations of platelet inhibition after loading doses of clopidogrel. *J Intern Med* 2002;252:233-238.(48).
49. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med*. 2001;345:494-502.
50. Von Beckerath N, von Beckerath O, Koch W, Eichinger M, Schomig A, Kastrati A. P2Y₁₂ gene H2 haplotype is not associated with increased adenosine diphosphate-induced platelet aggregation after initiation of clopidogrel therapy with a high loading dose. *Blood Coagul Fibrinolysis* 2005;16:199-204.
51. Serebruany VL, Steinhubl SR, Berger PB, Malinin AI, Bhatt DL, Topol EJ. Variability in platelet responsiveness to clopidogrel among 544 individuals. *J Am Coll Cardiol* 2005;45:246-251.
52. Lau WC, Gurbel PA, Watkins PB, Neer CJ, Hopp AS, Carville DG, et al. Contribution of hepatic cytochrome P450 3A4 metabolic activity to the phenomenon of clopidogrel resistance. *Circulation* 2004;109:166-171.

53. Patrono C. Aspirin resistance: definition, mechanisms and clinical read-outs. *J Thromb Haemost* 2003;1:1710-1713.
54. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Morange PE, Saut N, Lambert M, Camoin L, Vague IJ, Bonnet JL, Alessi MC. Role of the T744C polymorphism of the P2Y12 gene on platelet response to a 600-mg loading dose of clopidogrel in 597 patients with non-ST-segment elevation acute coronary syndrome. *Thromb Res.* 2007;120:893-899.
55. Cuisset T, Frere C, Quilici J, Poyet R, Gaborit B, Bali L, Brissy O, Morange PE, Alessi MC, Bonnet JL. Comparison of omeprazole and pantoprazole influence on a high 150-mg clopidogrel maintenance dose the PACA (Proton Pump Inhibitors And Clopidogrel Association) prospective randomized study. *J Am Coll Cardiol.* 2009;54:1149-1153.
56. Frere C, Cuisset T, Morange PE, Quilici J, Camoin-Jau L, Saut N, Faille D, Lambert M, Juhan-Vague I, Bonnet JL, Alessi MC. Effect of cytochrome p450 polymorphisms on platelet reactivity after treatment with clopidogrel in acute coronary syndrome. *Am J Cardiol.* 2008;101:1088-1093.
57. Lee JM, Park S, Shin DJ, Choi D, Shim CY, Ko YG, Kim JS, Shin ES, Chang CW, Lee JE, Jang Y. Relation of genetic polymorphisms in the cytochrome P450 gene with clopidogrel resistance after drug-eluting stent implantation in Koreans. *Am J Cardiol.* 2009;104:46-51.
58. Cuisset T, Frere C, Poyet R, Quilici J, Gaborit B, Bali L, Brissy O, Lambert M, Morange PE, Alessi MC, Bonnet JL. Clopidogrel response: head-to-head comparison of different platelet assays to identify clopidogrel non responder patients after coronary stenting. *Arch Cardiovasc Dis.* 2010;103:39-45.
59. 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):1715-1722.
60. Lau WC, Waskell LA, Watkins PB, et al. Atorvastatin reduces the ability of clopidogrel to inhibit platelet aggregation: a new drug–drug interaction. *Circulation* 2003;107:323-7.
61. Neubauer H, Gunesdogan B, Hanefeld C, et al. Lipophilic statins interfere with the inhibitory effects of clopidogrel on platelet function — a flow cytometry study. *Eur Heart J* 2003;24:1744-1749.
62. Lee SJ, Usmani KA, Chanas B, et al. Genetic findings and functional studies of human CYP3A5 single nucleotide polymorphisms in different ethnic groups. *Pharmacogenetics* 2003;13:461-472.

63. Bernardo E, Angiolillo DJ, Ramírez C, Cavallari U, Trabetti E, Sabaté M, Hernández R, Moreno R, Escaned J, Alfonso F, Bañuelos C, Costa MA, Bass TA, Pignatti PF, Macaya C, Fernandez-Ortiz A. Lack of association between gene sequence variations of platelet membrane receptors and aspirin responsiveness detected by the PFA-100 system in patients with coronary artery disease. *Platelets*. 2006;17:586-590.
64. Gum PA, Kottke-Marchant K, Poggio ED, Gurm H, Welsh PA, Brooks L, et al. Profile and prevalence of aspirin resistance in patients with cardiovascular disease. *Am J Cardiol* 2001;88:230-235.
65. Quinn MJ, Fitzgerald DJ. Ticlopidine and clopidogrel. *Circulation*. 1999 12;100:1667-16672.
66. Yusuf S, Zhao F, Mehta SR, Chrolavicius S, Tognoni G, Fox KK; Clopidogrel in Unstable Angina to Prevent Recurrent Events Trial Investigators. Effects of clopidogrel in addition to aspirin in patients with acute coronary syndromes without ST-segment elevation. *N Engl J Med*. 2001;345:494-502.
67. Mehta SR, Yusuf S, Peters RJ, Bertrand ME, Lewis BS, Natarajan MK, Malmberg K, Rupprecht H, Zhao F, Chrolavicius S, Copland I, Fox KA; Clopidogrel in Unstable angina to prevent Recurrent Events trial (CURE) Investigators. Effects of pretreatment with clopidogrel and aspirin followed by long-term therapy in patients undergoing percutaneous coronary intervention: the PCI-CURE study. *Lancet*. 2001;358:527-533.
68. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE 3rd, Steward DE, Theroux P, Gibbons RJ, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Gregoratos G, Hiratzka LF, Jacobs AK, Smith SC Jr; American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). ACC/AHA guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction--2002: summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *Circulation*. 2002;106:1893-1900.
69. Angiolillo DJ, Fernandez-Ortiz A, Bernardo E, Alfonso F, Macaya C, Bass TA, Costa MA. Variability in individual responsiveness to clopidogrel: clinical implications, management, and future perspectives. *J Am Coll Cardiol*. 2007; 49:1505-1516.
70. Samara WM, Bliden KP, Tantry US, Gurbel PA. The difference between clopidogrel responsiveness and posttreatment platelet reactivity. *Thromb Res*. 2005;115:89-94.

71. Frelinger AL 3rd, Michelson AD. Clopidogrel linking evaluation of platelet response variability to mechanism of action. *J Am Coll Cardiol.* 2005;46:646-647.
72. Braunwald E, Antman EM, Beasley JW, Califf RM, Cheitlin MD, Hochman JS, Jones RH, Kereiakes D, Kupersmith J, Levin TN, Pepine CJ, Schaeffer JW, Smith EE 3rd, Steward DE, Theroux P, Gibbons RJ, Alpert JS, Faxon DP, Fuster V, Gregoratos G, Hiratzka LF, Jacobs AK, Smith SC Jr; American College of Cardiology; American Heart Association. Committee on the Management of Patients With Unstable Angina. ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction--summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol.* 2002;40:1366-1374.
73. Wenaweser P, Dörffler-Melly J, Imboden K, Windecker S, Togni M, Meier B, Haerberli A, Hess OM. Stent thrombosis is associated with an impaired response to antiplatelet therapy. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Jun 7;45:1748-1752.
74. Clarke TA, Waskell LA. The metabolism of clopidogrel is catalyzed by human cytochrome P450 3A and is inhibited by atorvastatin. *Drug Metab Dispos.* 2003;31:53-59.
75. Wrighton SA, Schuetz EG, Thummel KE, Shen DD, Korzekwa KR, Watkins PB. The human CYP3A subfamily: practical considerations. *Drug Metab Rev.* 2000;32:339-361.
76. Bellemain-Appaix A, Brieger D, Beygui F, Silvain J, Pena A, Cayla G, Barthélémy O, Collet JP, Montalescot G. New P2Y12 inhibitors versus clopidogrel in percutaneous coronary intervention: a meta-analysis. *Am Coll Cardiol.* 2010;56:1542-1551.
77. Lee SJ, Jung IS, Jung EJ, Choi JY, Yeo CW, Cho DY, Kim YW, Lee SS, Shin JG. Identification of P2Y12 single-nucleotide polymorphisms and their influences on the variation in ADP-induced platelet aggregation. *Thromb Res.* 2011;127:220-227.
78. Herbert JM, Savi P. P2Y12, a new platelet ADP receptor, target of clopidogrel. *Semin Vasc Med.* 2003;3:113-122.
79. Cattaneo M. Platelet P2 receptors: old and new targets for antithrombotic drugs. *Expert Rev Cardiovasc Ther.* 2007 Jan;5:45-55.

80. Azarpira N, Namazi S, Khalili A, Tabesh M. The investigation of allele and genotype frequencies of CYP3A5 (1*/3*) and P2Y12 (T744C) in Iran. *Mol Biol Rep.* 2010;Dec 14.
81. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, Maurel P, Relling M, Brimer C, Yasuda K, Venkataramanan R, Strom S, Thummel K, Boguski MS, Schuetz E. Nat Genet. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. 2001;27:383-391.
82. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He YQ, Klein K, Nuessler AC, Neuhaus P, Klattig J, Eiselt R, Koch I, Zibat A, Brockmüller J, Halpert JR, Zanger UM, Wojnowski L. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics.* 2001;11:773-779.

ANEXOS

ANEXO 1

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
CENTRO MEDICO NACIONAL SIGLO XXI
HOSPITAL DE CARDIOLOGIA**

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

El presente instrumento, tiene por objeto formalizar y hacer constar el CONSENTIMIENTO INFORMADO, del paciente o representante legal para el protocolo de investigación titulado

“DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÓTIPICA DE LOS POLIMORFISMOS P-450 (CYP3A5) Y EL P2Y12 (T744C) Y SU CORRELACIÓN FENOTÍPICA ASOCIADOS A LA RESPUESTA AL CLOPIDOGREL EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON Y SIN ELEVACIÓN DEL ST SOMETIDOS A UNA INTERVENCIÓN CORONARIA PERCUTÁNEA. ”

El suscrito: _____
(Paciente, o en caso familiar o representante legal) con numero de seguridad social (o identificación oficial) _____

Expreso mi libre voluntad para participar en el protocolo titulado “**DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÓTIPICA DE LOS POLIMORFISMOS P-450 (CYP3A5) Y EL P2Y12 (T744C) Y SU CORRELACIÓN FENOTÍPICA ASOCIADOS A LA RESPUESTA AL CLOPIDOGREL EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON Y SIN ELEVACIÓN DEL ST SOMETIDOS A UNA INTERVENCIÓN CORONARIA PERCUTÁNEA. ”**

1. “ para efecto de someterme ala realización de estudios que comprometen la obtención de muestras sanguíneas y exploración clínica.
2. El Dr. Marcos Jaciel Olalde Román, Dr. Jesús Salvador Valencia Sánchez, me han proporcionado la información completa sobre el estudio y procedimientos a realizar.
3. El objetivo fundamental es tratar de mejorar mi salud física y mental, evitando al máximo los posibles riesgos y complicaciones derivados de las intervenciones o procedimientos realizados.
4. También se me ha expuesto de que no aceptar mi participación, no afectara en ningún rubro mi atención dentro del sistema de salud al que pertenecemos.
5. Que se me ha permitido externar todas las dudas que tengo acerca del estudio. Por lo que manifiesto estar totalmente satisfecho.
6. Ante la información proporcionada, expreso mi CONSENTIMIENTO LIBRE, ESPONTANEO Y SIN PRESION alguna para que se realicen los procedimientos requeridos.

México D.F. _____ de _____ del 20 ____

Nombre y firma el paciente
Familiar o representante legal

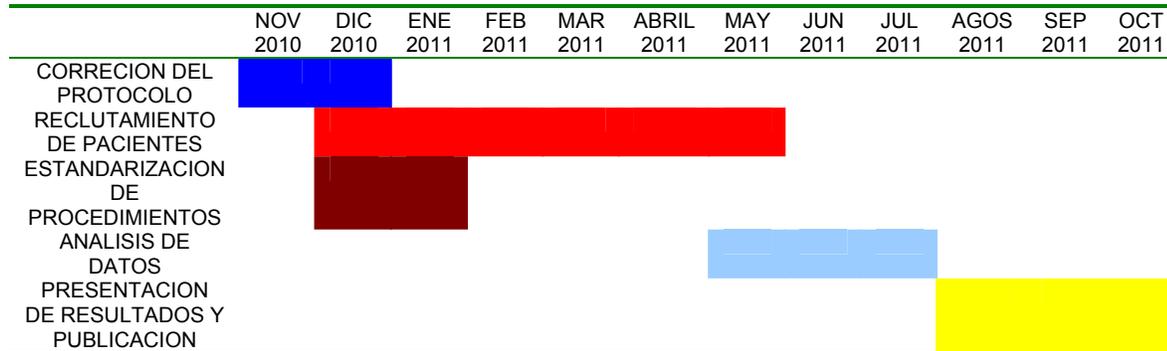
Dr. Marcos Jaciel Olalde Román

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo

ANEXO 2

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES



RECURSOS

<i>FISICOS</i>	<i>HUMANOS</i>
EXPEDIENTE CLÍNICO ELECTROCARDIOGRAFO KIT DE DETERMINACION DE P2Y1, CITOCROMO P 450. HOJA DE RECOLECCION DE DATOS MATERIAL BIBLIOGRAFICO MATERIAL DE OFICINA COMPUTADORA E IMPRESORA PAQUETE ESTADISTICO SPSS ESTETOSCOPIO BAUMANOMETRO	INVESTIGADOR PRINCIPAL TUTORES CARDIOLOGOS CLINICOS HEMODINAMISTAS PERSONAL DE LABORATORIO

ANEXO 3

HOJA DE RECOLECCION DE DATOS

“DETERMINACIÓN DE LA EXPRESIÓN GENÓTIPICA DE LOS POLIMORFISMOS P-450 (CYP3A5) Y EL P2Y12 (T744C) Y SU CORRELACIÓN FENOTÍPICA ASOCIADOS A LA RESPUESTA AL CLOPIDOGREL EN PACIENTES CON INFARTO AGUDO DEL MIOCARDIO CON Y SIN ELEVACIÓN DEL ST SOMETIDOS A UNA INTERVENCIÓN CORONARIA PERCUTÁNEA. ”

FOLIO: _____

FECHA: _____

GRUPO:

IAM CEST () IAM SEST() POLIMORFISMOS () AGREGOMETRIA ()

I. DATOS PERSONALES

NOMBRE: _____ **AFILIACION:** _____

EDAD: _____ **SEXO:** (M) (F)

DIRECCION: _____ **TEL:** _____

II. ANTECEDENTES

DM () HAS () DLP () TAB ()

HISTORIA DE CARDIOPATIA ISQUEMICA ()

TIPO: _____

EN CASO DE SER IAM:

LOCALIZACION: _____ **FECHA :** _____

TX TROMBOLITICO: _____ **TIPO DE FARMACO:** _____

CRITERIOS REPERFUSION: _____

TX INTERVENCIONISTA: _____ **FECHA:** _____

HALLAGOZ: **TCI:** _____ **DA:** _____ **DX:** _____ **CX:** _____

MO: _____ **CD:** _____ **DP:** _____ **FEVI:** _____ **D2VI:** _____

ANGIOPLASTIA:

VASO _____ **STENT** _____ **TIMI** _____ **TMP** _____

RVM QUIRURGICA: _____ **PUENTES:** _____

COMPLICACIONES: _____

ECOTT: ()

SIGNOS VITALES: **TA:** _____ **FC:** _____ **TEMP:** _____ **SAT:** _____ **PVC:** _____

ESTADO HEMODINAMICO: _____

PARACLINICOS:

	1	2		INGRESO	PICO MAXIMO
--	---	---	--	---------	-------------

NA			CK		
K			CKMB		
GLU			DHL		
UREA			AST		
CRE			TROP I		
HB			MYO		
HTO					
LEU			COLESTEROL		
PLQ			TRIGLICERIDOS		
DIMERO D			HDL		
FIBRINOGENO			LDL		
PCR			VLDL		
BNP					

EKG HALLAGOZ: _____

- EVOLUCION: (SI) (NO)
- REINFATO: (SI) (NO)
- ANGINA POSTINFARTO: (SI) (NO)
- FALLA VENTRICULAR: (SI) (NO)
- NUEVA REINTERVENCION: (SI) (NO)
- CATETERISMO: _____ CIRUGIA: _____
- REESTENOSIS INTRASTENT (SI) (NO) RIS (%): _____
- TROMBOSIS (SI) (NO)
- MUERTE (SI) (NO)

COMENTARIOS: _____

ELABORO: _____

ANEXO 4

PROCEDIMIENTOS DE LABORATORIO

OBTENCIÓN DE LA MUESTRA SANGUÍNEA

Se extraerá de la vena antecubital 5 mL de sangre total (teniendo cuidado de que el torniquete no sea aplicado con mucha tensión), la cual se recolectará en un tubo conteniendo ácido etilendiamino-tetracético (EDTA), el cual se centrifugará a 2500 rpm por 10 minutos. Posteriormente la capa superior (plasma) se retirará cuidadosamente tratando de no perturbar la siguiente capa en donde se encuentra localizado el contenido de células mononucleares (buffy coat), éste se transferirá con una pipeta de plástico estéril a un tubo de plástico Eppendorf estéril de 1.5 mL libre de enzimas (RNasas y DNasas). Finalmente el concentrado eritrocitario, el cual se encuentra en la capa inferior se desechará en un contenedor destinado para material (residuos peligrosos).

EXTRACCIÓN DE ADN

Se utilizará el equipo comercialmente disponible de la marca Qiagen (QIAamp DNAMini Kit) de acuerdo a las instrucciones establecidas por la compañía. Una vez extraído el ADN se procederá a su conservación en un ultracongelador a -70°C , hasta que se vaya a utilizar para la amplificación de los segmentos correspondientes.

DETERMINACIÓN DE PUREZA DE ADN

Se realizará la medida de la absorbancia a dos longitudes de onda: UV 260nm y 280 nm debido a que las bases púricas y pirimídicas absorben a 260 nm y los grupos aromáticos en las proteínas a 280 nm. Haciendo el cociente entre la absorbancia a 260 nm y la absorbancia a 280 nm se obtendrá un valor que refleja el estado de pureza del ADN. Si este valor se encuentra entre 1.8-2.0, el ADN obtenido se encuentra libre de contaminantes celulares. Valores por debajo de 1.8 indican contaminación.

GENOTIPIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO P-450 (CYP3A5)

Posterior a la extracción del ADN, se llevará a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el uso de tres diferentes oligonucleótidos: primer alelo específico 1 (5'-CTT TAA AGA GCT CTT TTG TCT CTC A-3'), primer alelo específico 2 (5'-CTT CTG GTG GGC GAC GAA GTG CTA TG-3'), y un primer complementario (5'-CCA GCAAGC CAG ACT TTG AT-3')

Se usarán en un volumen final de 50µl: 2ng/µl de ADN, 0.8U de la enzima Taq DNA polimerasa, una concentración final de 1x de buffer, 1.0 mmol/L de MgCl², 100 mol/L de mezcla de alelos específicos de dNTP, 400 nmol/L de oligonucleótidos específicos.

La reacción de PCR se llevará a cabo mediante las siguientes condiciones térmicas: una desnaturalización inicial de 94°C por 5 minutos, posteriormente 35 ciclos de los siguientes segmentos, desnaturalización a 94°C por 60 segundos, alineación a 57°C por 45 segundos, y extensión a 72°C por 60 segundos seguidos por una extensión final a 72°C por 15 minutos.

DETERMINACIÓN DE LOS FRAGMENTOS POLIMORFICOS DE P-450 (CYP3A5)

Posterior a la amplificación de la secuencia correspondiente en el cual se encuentra el fragmento con la variante genética, el producto de 200pb se sometió a la acción de la enzima de restricción *Dde I*. Los genotipos polimórficos serán identificados mediante electroforesis de los productos de la acción enzimática mediante tinción del gel con bromuro de etidio 1µg/ml de la siguiente manera. El alelo CYP3A*3 produce fragmentos 107pb, 71pb, 22pb, mientras que el alelo CYP3A5 *1 produce fragmentos 129 y 71 pb.

GENOTIPIFICACIÓN DEL POLIMORFISMO P2Y12 (T744C)

Posterior a la extracción del ADN, se llevará a cabo la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) con el uso de oligonucleótidos específicos 5'-TCTGGTCAAATAAAAAGATTACGTA-3' (sentido) y 5'-GTCAGAAAATGGCCTGTGTATATATG-3' (contrasentido).

Se usaron en un volumen final de 50µl: 2ng/µl de DNA, 0.8U de la enzima Taq DNA polimerasa, una concentración final de 1x de buffer, 1.0 mmol/L de MgCl², 100 mol/L de mezcla de alelos específicos de dNTP, 400 nmol/L de ambos oligonucleótido específicos.

La reacción de PCR se llevará a cabo mediante las siguientes condiciones térmicas: una desnaturalización inicial de 94°C por 5 minutos, posteriormente 35 ciclos de los siguientes segmentos, desnaturalización a 94°C por 30 segundos, alineación a 50°C por 30 segundos, y extensión a 72°C por 30 segundos seguidos por una extensión final a 72°C por 5 minutos.

DETERMINACIÓN DE LOS FRAGMENTOS POLIMÓRFICOS DE P2Y12 (T744C)

Posterior a la amplificación de la secuencia correspondiente será sometida a la acción de la enzima de restricción *Rsa I*. Los genotipos polimórficos serán identificados mediante electroforesis de los productos de la acción enzimática mediante tinción del gel con bromuro de etidio 1µg/ml de la siguiente manera: alelo C 196pb y 24pb y el alelo 220pb.

AGREGACIÓN PLAQUETARIA

Preparación del plasma rico en plaquetas (PRP) y ajuste en la cuenta plaquetaria.

El PRP fue preparado a temperatura ambiente, La sangre fue centrifugada por 10 minutos a 250 x g. El PRP fue cuidadosamente removido y el plasma pobre en plaquetas (PPP) fue obtenido por centrifugación del botón plaquetario resultante por 10 minutos a 1000 x g. La cuenta plaquetaria fue determinada mediante el uso de un equipo automatizado Coulter T-890 y ajustado a $225,000 \pm 1000,000$ plaquetas por microlitros usando PPP autólogo.

Agregación Plaquetaria

La determinación de la agregación plaquetaria fue realizada mediante técnica de turbidimetría con el uso de un agregómetro modelo 810-CA marca Chorno log con una computadora de interfase equipada con un programa agro-link. La agregación fue inducida mediante el uso de agentes agregantes como ADP 10 μ M, trombina 1 U/mL. La agregación fue monitoreada por 4 minutos después de la adición del agonista después de la adición del agonista.

GLOSARIO.

SICA: Síndrome Coronario Agudo

RENASICA: Registro Nacional de Síndromes Isquémicos Coronarios Agudos

IAMSEST: Infarto miocárdico sin elevación del segmento ST.

IAMCEST: Infarto miocárdico con elevación del segmento ST.

IAM: Infarto agudo del miocardio

DNA: Acido desoxiribonucleico.

PRP : Preparación del plasma rico en plaquetas

ICP: Intervencionismo Coronario Percutáneo

ADP: Adenosin Difosfato.

OR: odds ratio

RIS: Reestenosis Intrastent

EKG: Electrocardiograma

NA: Sodio

K: Potasio

GLU: Glucosa

CRE: Creatinina

HB: Hemoglobina

HTO: Hematocrito

PLQ: plaquetas

LEU: Leucocitos

PCR: Proteina C reactiva

BNP: Péptido natriurético cerebral

CK: Creatininfosfokinasa

CKMB: Creatininfosfokinasa fracción MB

DHL: Deshidrogenasa Láctica

TROP I: Troponina I

MYO: Mioglobina

HDL: Lipoproteína de alta densidad

LDL: Lipoproteína de baja densidad
TIMI: The thrombolysis in myocardial in infarction
TMP: Myocardial Perfusion Grade
DA: Arteria Descendente Anterior
CX: Arteria Circunfleja
DX: Arteria Diagonal
TCI: Tronco Coronario Izquierdo
DP: Arteria Descendente Posterior
CD: Arteria Coronaria Derecha
MO: Arteria Marginal Obtusa
FEVI: Fracción de Expulsión del Ventrículo Izquierdo
DM: Diabetes Mellitus
HAS: Hipertensión Arterial Sistémica
DLP: Dislipidemia
TAB: Tabaquismo
EDTA: Acido Etilendiamino-Tetracético.
PLC: Fosfolipasa C
DAG: Diacilglicerol
IP3: Inositol Trifosfato
PIP2: Fosfatidilinositol bifosfato
PKC: Proteincinasa C
MLCK-P: Fosforilación de la cinasa de cadena ligera de miosina.
AC: Adenililciclase.
AMPc: Adenosinmonofosfato cíclico
VASP-P: Fosfoproteína estimulada por vasodilatador
GP IIbIIIa: Receptor de glicoproteína Glucoproteína IIb IIIa.
PI3K: Fosfatidilinositol-3 cinasa
PKB/Akt: Serina-treonina proteincinasa B
PGE-1: Prostaglandina E1