



UNIVERSIDAD DE GRANADA

Programa oficial de doctorado en Medicina Clínica y Salud Pública

**“APLICACIÓN DE LA TECNOLOGÍA NGS PARA CONOCER
LA RESPUESTA A LOS ANTIAGREGANTES PLAQUETARIOS
EN PACIENTES CON SÍNDROME CORONARIO AGUDO
(SCA) SOMETIDOS A INTERVENCIÓN CORONARIA
PERCUTÁNEA (ICP) CON IMPLANTACIÓN DE STENT”**

Tesis Doctoral

Alba Antúnez Rodríguez

Directores:

Cristina Lucía Dávila Fajardo

Luis Javier Martínez González

Granada, 2024

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Alba Antúnez Rodríguez
ISBN: 978-84-1195-765-6
URI: <https://hdl.handle.net/10481/103264>

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales

Autor: Alba Antúnez Rodríguez

ISBN:

URL:

La doctoranda **Alba Antúnez Rodríguez** y los directores de la tesis, **Cristina Lucía Dávila Fajardo** y **Luis Javier Martínez González**

Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por la doctoranda bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización de este trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

En Granada, a 11 de noviembre de 2024

Directores de la Tesis;

Doctoranda;

Fdo. Cristina Lucía Dávila Fajardo

Fdo. Alba Antúnez Rodríguez

Fdo. Luis Javier Martínez González

A mi familia

*“Los malos momentos
también terminan
y no pasan para que sufras,
pasan para que aprendas”*

– RAFAEL CABALIERE

ÍNDICE

ÍNDICE DE TABLAS	11
ÍNDICE DE FIGURAS	13
ABREVIATURAS	16
RESUMEN	21
I. INTRODUCCIÓN	29
1. VARIABILIDAD EN LA RESPUESTA FARMACOLÓGICA	31
1.1. Heterogeneidad interindividual en la respuesta	31
1.2. Reacciones adversas a los medicamentos	35
2. FARMACOGENÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA	38
2.1. Concepto e historia de la farmacogenética	38
2.2. Fundamentos genéticos relacionados con la farmacogenética	40
2.3. Farmacogenes	43
2.4. Tipos de estudios farmacogenéticos	50
2.5. La farmacogenética en la medicina del futuro	53
3. LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR	60
3.1. Síndrome coronario agudo	60
3.2. Epidemiología	62
3.3. Fisiopatología de la enfermedad	63
3.4. Diagnóstico	66
3.5. Manejo	67
4. TRATAMIENTO ANTIAGREGANTE	72
4.1. Ácido acetilsalicílico	73
4.2. Inhibidores del receptor P2Y ₁₂	73
4.3. Farmacogenética de los antiagregantes plaquetarios	82
4.4. Eficacia de un tratamiento guiado por PGx tras una ICP	91
5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	95
II. HIPÓTESIS y OBJETIVOS	99
1. HIPÓTESIS DE TRABAJO	101

2.	OBJETIVOS.....	102
2.1.	Objetivo general.....	102
2.2.	Objetivos específicos	102
III.	MATERIAL y MÉTODOS	105
1.	DISEÑO DEL ESTUDIO.....	107
2.	CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL	108
3.	POBLACIÓN DE ESTUDIO	109
3.1.	Grupos de estudio	109
3.2.	Criterios de inclusión.....	110
3.3.	Criterios de exclusión	111
3.4.	Circuito de pacientes.....	111
4.	INFORMACIÓN RECOGIDA	112
4.1.	Variables demográficas, clínicas y farmacológicas.....	112
4.2.	Variables genéticas	113
4.3.	Desenlace clínico	113
5.	DISEÑO PERSONALIZADO DEL PANEL DE GENES.....	115
6.	ANÁLISIS GENÓMICO	116
6.1.	Extracción y cuantificación de ADN.....	116
6.2.	Preparación de librerías.....	116
6.3.	Secuenciación	119
7.	ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO.....	121
7.1.	Control de calidad de los datos de secuenciación	121
7.2.	Alineamiento con el genoma de referencia.....	122
7.3.	Control de calidad y filtrado de lecturas útiles.....	123
7.4.	Llamada de variantes puntuales (SNVs).....	123
7.5.	Anotación de variantes	124
7.6.	Priorización de variantes.....	125
8.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	127
8.1.	Estadística descriptiva de la población de estudio	127
8.2.	Estudio de asociación.....	127
8.3.	Análisis de random forest	131

9.	VALIDACIÓN ORTOGONAL DE LAS VARIANTES	133
10.	ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN	134
IV. RESULTADOS.....		135
1.	CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO	138
2.	RENDIMIENTO DE LA SECUENCIACIÓN	143
3.	ANÁLISIS DE LAS VARIANTES GENÉTICAS IDENTIFICADAS.....	146
4.	ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE SNVs.....	151
4.1.	Comparación entre «intervención vs no.intervención»	151
4.2.	Comparación entre «evento vs no.evento».....	155
4.3.	Comparación entre «caso vs control».....	159
5.	IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS RELACIONADOS CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO	163
5.1.	Eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel	164
5.2.	Eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel	169
6.	RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE RANDOM FOREST	175
6.1.	Eventos secundarios independientemente del tratamiento prescrito.....	176
6.2.	Eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel	180
6.3.	Eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel	183
7.	VALIDACIÓN DEL PANEL DE GENES.....	186
V. DISCUSIÓN.....		187
1.	FACTORES DE RIESGO CV NO GENÉTICOS ASOCIADOS A UNA MAYOR INCIDENCIA DE EVENTOS ADVERSOS	191
2.	PAPEL DE <i>ABCA1</i> EN LA HOMEOSTASIS DEL COLESTEROL Y EN EL RIESGO DE EVENTOS ADVERSOS	195
3.	PAPEL DE <i>CYP2C19</i> COMBINADO CON <i>ABCB1</i> EN LA RESISTENCIA AL CLOPIDOGREL.....	202
4.	PAPEL DE <i>UGT2B7</i> EN LA RESPUESTA AL CLOPIDOGREL	207
5.	EVOLUCIÓN DE LOS ESTUDIOS PGx EN LAS ECV	214
6.	LIMITACIONES DEL ESTUDIO.....	219
7.	PERSPECTIVAS FUTURAS.....	222

VI. CONCLUSIONES	225
BIBLIOGRAFÍA	231
AGRADECIMIENTOS.....	243
ANEXOS.....	249
Anexo I. Algoritmo de elección del tratamiento antagonista P2Y ₁₂	251
Anexo II. Aprobación del comité de ética de investigación biomédica de la provincia de Granada para el estudio en pacientes con síndrome coronario agudo	252
Anexo III. Hoja de información al paciente y consentimiento informado para el estudio en pacientes con síndrome coronario agudo	253
Anexo IV. Ejemplo de un informe de calidad del chip High Sensitivity de Bioanalyzer para una de las muestras tras la sonicación.....	256
Anexo V. Ejemplo de un informe de calidad del chip DNA 1000 de Bioanalyzer para una de las muestras antes de la hibridación con la sonda de captura	257
Anexo VI. Ejemplo de un informe de calidad del chip DNA 1000 de Bioanalyzer para una librería después de la captura de las zonas de interés	258
Anexo VII. Publicaciones derivadas de esta Tesis Doctoral.....	259
Anexo VIII. Otras publicaciones en farmacogenética	260
Anexo IX. Material suplementario.....	261

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Listado de los 68 farmacogenes incluidos como VIP en PharmGKB.	44
Tabla 2. Parejas gen-fármaco para las cuales existe una «guía de práctica clínica» elaborada por el CPIC.	55
Tabla 3. Resultados clínicos del tratamiento antiplaquetario guiado por genotipo tras una ICP.	93
Tabla 4. Principales características clínicas y demográficas de la población de estudio.	139
Tabla 5. Características del tratamiento prescrito a los pacientes tras el ingreso hospitalario.	140
Tabla 6. Características de los episodios isquémicos y hemorrágicos.	142
Tabla 7. Niveles de impacto de las variantes genéticas.	148
Tabla 8. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para la intervención PGx, ajustado por edad, sexo y componentes principales.	152
Tabla 9. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos adversos secundarios, ajustado por edad, sexo y componentes principales.	156
Tabla 10. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de la ECV, ajustado por edad, sexo, consumo de tabaco y componentes principales.	161
Tabla 11. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel, ajustado por edad, sexo y PCs.	165
Tabla 12. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel, acotado a los genes implicados en el metabolismo del fármaco.	167
Tabla 13. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel, acotado a los genes VIP de nivel 1.	168
Tabla 14. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel, ajustado por edad, sexo y PCs.	171
Tabla 15. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel, acotado a los genes implicados en el metabolismo del fármaco.	173

Tabla 16. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel, acotado a los genes VIP de nivel 1.....	175
Tabla 17. Características de los polimorfismos identificados en el gen <i>UGT2B7</i>	207

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medicina personalizada y la atención médica del futuro.	32
Figura 2. Factores que pueden condicionar la respuesta a los fármacos.	34
Figura 3. Nomenclatura de la superfamilia del citocromo P450.	46
Figura 4. Estrategias para identificar marcadores PGx asociados a la eficacia (respuesta frente a ausencia de respuesta) y la toxicidad de los fármacos.	50
Figura 5. Espectro de los síndromes coronarios agudos.	61
Figura 6. Tipos de SCA: rotura de la placa y otras etiologías del SCA.	63
Figura 7. Desarrollo de la placa de ateroma, rotura de la placa y formación de trombos.	65
Figura 8. Mecanismo de formación del trombo durante el SCA y objetivos de los agentes antitrombóticos disponibles en la actualidad.	70
Figura 9. Absorción, metabolismo y mecanismo de acción terapéutica del clopidogrel.	75
Figura 10. Mecanismos implicados en la reactividad plaquetaria y en los resultados clínicos durante el tratamiento con clopidogrel.	77
Figura 11. PGx de los fármacos inhibidores de la agregación plaquetaria.	83
Figura 12. Recomendaciones del CPIC para el tratamiento con clopidogrel en pacientes con SCA sometidos a ICP.	87
Figura 13. Criterios de reclutamiento.	110
Figura 14. Esquema de la preparación de la librería según el protocolo <i>NimbleGen SeqCap EZ Library Prep kit</i> (Roche).	117
Figura 15. Etapa de amplificación clonal (<i>clustering</i>).	120
Figura 16. Flujo de trabajo para llevar a cabo el análisis de asociación.	128
Figura 17. Calidad promedio de secuenciación (escala Phred) para las distintas bases a lo largo de los 75 ciclos de secuenciación.	143
Figura 18. Recuento de secuencias para cada muestra.	144
Figura 19. Distribución de la profundidad de lectura (cobertura acumulada) para el panel diseñado.	144
Figura 20. Porcentaje de lecturas por estado de duplicación.	145
Figura 21. Informe de SnpEff sobre las variantes identificadas y sus anotaciones.	147
Figura 22. Distribución de las variantes procesadas.	149
Figura 23. Categorización funcional de las variantes en farmacogenes.	150
Figura 24. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio de la intervención PGx.	151
Figura 25. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para la intervención PGx.	152

Figura 26. Impacto del rs72934556 en la expresión de <i>NBEAL1</i> en diversos tejidos.....	153
Figura 27. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio del desarrollo de eventos adversos secundarios.....	155
Figura 28. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de eventos adversos secundarios.....	156
Figura 29. Impacto del rs3827066 en la expresión de <i>PLTP</i> en diversos tejidos..	158
Figura 30. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio del desarrollo de la ECV.....	160
Figura 31. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de la ECV.....	160
Figura 32. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio de la incidencia de eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel.....	164
Figura 33. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel.....	165
Figura 34. Genes implicados en el metabolismo del clopidogrel.....	166
Figura 35. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio de la incidencia de eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel.	169
Figura 36. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel.	170
Figura 37. Genes implicados en el metabolismo del prasugrel.....	172
Figura 38. Gráfico de importancia para cada una de las variables del análisis de random forest para el desarrollo de eventos adversos durante el periodo de seguimiento.....	176
Figura 39. Gráficos de escalado multidimensional clásico (MDS) en la comparativa «evento vs no.evento», independientemente del tratamiento prescrito.....	177
Figura 40. Rendimiento del modelo establecido en la comparativa «evento vs no.evento», independientemente del tratamiento prescrito.....	179
Figura 41. Gráfico de importancia para cada una de las variables del análisis de random forest para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel.....	180
Figura 42. Gráficos de escalado multidimensional clásico (MDS) en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con clopidogrel.....	181
Figura 43. Rendimiento del modelo establecido en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con clopidogrel.....	182

Figura 44. Gráfico de importancia para cada una de las variables del análisis de random forest para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel.	183
Figura 45. Gráficos de escalado multidimensional clásico (MDS) en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con prasugrel.	184
Figura 46. Rendimiento del modelo establecido en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con prasugrel.....	185
Figura 47. Mecanismos moleculares del transporte inverso del colesterol.....	197
Figura 48. Diagrama de violín que muestra la expresión de <i>ABCA1</i> en función de los genotipos del rs2472434 en hígado.....	200
Figura 49. Impacto del rs7439366 en la expresión de <i>UGT2B7</i> en diversos tejidos.....	209
Figura 50. Vías del metabolismo del clopidogrel.	211
Figura 51. Topología postulada de CYP (P450) y UGT en la membrana del retículo endoplásmico y metabolismo secuencial de fármacos catalizado por estas enzimas.	212

ABREVIATURAS

1kGP	<i>"1000 Genomes Project"</i> (proyecto 1.000 Genomas)
AAS	Ácido acetilsalicílico
ABC	<i>"ATP-binding cassette"</i> (familia de transportadores dependientes de ATP)
ABCA1	<i>"ATP Binding Cassette Subfamily A Member 1"</i>
ABCB1	<i>"ATP Binding Cassette Subfamily B Member 1"</i>
ABCD-GENE	<i>"Age, Body Mass Index, Chronic Kidney Disease, Diabetes Mellitus, and Genotyping"</i>
ADN	Ácido desoxirribonucleico
ADP	<i>"Adenosine diphosphate"</i> (adenosín difosfato)
AHA	<i>"American Heart Association"</i> (Asociación Americana del Corazón)
AI	Angina inestable
apoA-I	Apolipoproteína A1
ARA-II	Antagonistas de los receptores de la angiotensina II
ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
AUC	<i>"Area under the curve"</i> (área bajo la curva)
BAM	<i>"Binary alignment map"</i>
CABG	<i>"Coronary artery bypass graft"</i> (cirugía de revascularización coronaria)
CES	Carboxilesterasa
CETP	<i>"Cholesteryl Ester Transfer Protein"</i> (proteína de transferencia de ésteres de colesterol)
CK-MB	<i>"Creatine kinase myocardial band"</i> (isoenzima miocárdica de la creatincinasa)
CMLV	Células musculares lisas vasculares
CNV	<i>"Copy-number variant"</i> (variante en el número de copias)
COX-1	Ciclooxigenasa 1
CPIC	<i>"Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium"</i> (consorcio para la implementación clínica de la farmacogenética)

cTn	<i>"Cardiac troponin"</i> (troponina cardíaca)
CV	Cardiovascular
CYP	<i>"Cytochrome P450"</i> (citocromo P450)
CYP2C19	<i>"Cytochrome P450 Family 2 Subfamily C Member 19"</i> (citocromo P450, familia 2, subfamilia C, polipeptido 19)
DAPT	<i>"Dual anti-platelet therapy"</i> (terapia antiplaquetaria dual)
dbSNP	<i>"Database of SNP"</i> (base de datos global de todos los SNPs)
DM	Diabetes mellitus
DME	<i>"Drug metabolizing enzymes"</i> (enzimas metabolizadoras de fármacos)
DPWG	<i>"Dutch Pharmacogenetics Working Group"</i> (grupo de trabajo holandés de farmacogenética)
EAC	Enfermedad arterial coronaria
ECG	Electrocardiograma
ECV	Enfermedad cardiovascular
eMERGE	<i>"Electronic Medical Records and Genomics Network"</i> (red de genómica y registros médicos electrónicos)
eQTL	<i>"Expression quantitative trait loci"</i> (locus de rasgos cuantitativos de expresión)
EWAS	<i>"Epigenome-wide association study"</i> (estudio de asociación de epigenoma completo)
ExAC	<i>Exome Aggregation Consortium</i>
FC	Farmacocinética
FD	Farmacodinámica
FDA	<i>"Food and Drug Administration"</i> (agencia reguladora de alimentos y medicamentos de Estados Unidos)
gnomAD	<i>Genome Aggregation Database</i>
GoF	<i>"Gain-of-function"</i> (ganancia de función)
GPIIb/IIIa	Glucoproteína IIb/IIIa plaquetaria
GTEx	<i>Genotype-Tissue Expression project</i>
GWAS	<i>"Genome-wide association study"</i> (estudio de asociación de genoma completo)

HDL	<i>"High-density lipoprotein"</i> (lipoproteínas de alta densidad)
HDL-c	colesterol de HDL
HR	<i>"Hazard ratio"</i> (riesgo relativo)
HTPR	<i>"High on-Treatment Platelet Reactivity"</i> (alta reactividad plaquetaria durante el tratamiento)
IAM	Infarto agudo de miocardio
IAMCEST	Infarto agudo de miocardio con elevación del segmento ST
IAMSEST	Infarto agudo de miocardio sin elevación del segmento ST
IBD	<i>"Identical/identity by descent"</i> (idéntico/identidad por descendencia)
IC del 95 %	Intervalo de confianza al 95 %
ICP	Intervención coronaria percutánea
IECA	Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina
IM	<i>"Intermediate metabolizer"</i> (metabolizador intermedio)
IMC	Índice de masa corporal
Indels	Inserciones y deleciones
KLB	<i>"Klotho Beta"</i>
LADME	Liberación, absorción, distribución, metabolismo y excreción
LD	<i>"Linkage disequilibrium"</i> (desequilibrio de ligamiento)
LDL	<i>"Low-density lipoprotein"</i> (lipoproteínas de baja densidad)
LoF	<i>"Loss-of-function"</i> (pérdida de función)
MACE	<i>"Major adverse cardiovascular events"</i> (evento adverso cardiovascular mayor)
MAF	<i>"Minor allele frequency"</i> (frecuencia del alelo minoritario)
MDA	<i>"Mean Decrease Accuracy"</i>
MDG	<i>"Mean Decrease Gini"</i>
MDS	<i>"Multidimensional Scaling"</i> (escalado multidimensional)
MP	Medicina personalizada
mQTL	<i>"Methylation quantitative trait loci"</i> (loci de rasgos cuantitativos de metilación)
NGS	<i>"Next-generation sequencing"</i> (secuenciación de nueva generación)

NM	<i>"Normal metabolizer"</i> (metabolizador normal)
OMS	Organización mundial de la salud
OR	<i>"Odds ratio"</i>
oxLDL	LDL oxidadas
P2RY12	<i>"Purinergic Receptor P2Y₁₂"</i> (receptor purinérgico P2Y ₁₂)
pb	pares de bases
PCA	<i>"principal component analysis"</i> (análisis de componentes principales)
PCR	<i>"Polymerase chain reaction"</i> (reacción en cadena de la polimerasa)
P-gp	<i>"P-glycoprotein"</i> (glicoproteína-P)
PGRN	<i>"Pharmacogenomics Global Research Network"</i> (red de investigación en farmacogenómica)
PGx	<i>"Pharmacogenetics/genomics"</i> (farmacogenética/farmacogenómica)
PharmGKB	<i>"The Pharmacogenomics Knowledge Base"</i> (base de datos de información farmacogenómica)
PM	<i>"Poor metabolizer"</i> (metabolizador lento o deficiente)
PLATO	<i>"PLATElet inhibition and patient Outcomes"</i>
PLTP	<i>"Phospholipid Transfer Protein"</i> (proteína de transferencia de fosfolípidos)
PRS	<i>"Polygenic risk score"</i> (puntuaciones de riesgo poligénicas)
RAM	Reacción adversa a los medicamentos
RCT	<i>"Reverse cholesterol transport"</i> (transporte inverso del colesterol)
RM	<i>"Rapid metabolizer"</i> (metabolizador rápido)
ROC	<i>"receiver operating characteristic"</i>
SCA	Síndrome coronario agudo
SCASEST	Síndrome coronario agudo sin elevación del segmento ST
SLC	<i>"solute carrier"</i> (familia de transportadores de solutos)
SNP	<i>"Single nucleotid polymorphism"</i> (polimorfismo de un único nucleótido)
SNV	<i>"Single nucleotide variant"</i> (variante en un único nucleótido)
TIMI	<i>"Thrombolysis in Myocardial Infarction"</i>
TRITON	<i>"Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel"</i>

UGT	<i>"Uridine diphosphate (UDP)-glycosyltransferases"</i> (familia de UDP-glucuronosiltransferasas)
UGT2B7	<i>"UDP Glucuronosyltransferase Family 2 Member B7"</i>
UM	<i>"Ultra-rapid metabolizer"</i> (metabolizador ultrarrápido)
U-PGx	<i>"Ubiquitous Pharmacogenomics"</i>
UTR	<i>"Untranslated regions"</i> (regiones no-traducidas)
VCF	<i>"Variant call format"</i>
VIP	<i>"Very important pharmacogene"</i> (farmacogen muy importante)
WES	<i>"Whole exome sequencing"</i> (secuenciación de exoma completo)
WGS	<i>"Whole genome sequencing"</i> (secuenciación de genoma completo)

RESUMEN



El síndrome coronario agudo (SCA) es la manifestación clínica más común de la enfermedad coronaria, una de las principales causas de mortalidad en los países desarrollados. La doble terapia antiagregante (DAPT), que combina ácido acetilsalicílico y un agente antiplaquetario (clopidogrel, prasugrel o ticagrelor), es el tratamiento de elección en pacientes con SCA sometidos a intervención coronaria percutánea (ICP) con implantación de stent. No obstante, este enfoque terapéutico está entre los más implicados en el desarrollo de reacciones adversas a medicamentos (RAM), en parte debido a la variabilidad interindividual en la respuesta a estos fármacos.

La farmacogenómica (PGx) representa un enfoque esencial para optimizar la farmacoterapia, ya que contribuye a explicar esta variabilidad en la respuesta, mejorando los resultados clínicos y ayudando a prevenir la aparición de RAMs. Aunque numerosos estudios han demostrado que la elección de la terapia antiagregante basada en un número limitado de variantes de alta evidencia (principalmente *CYP2C19*2*) puede reducir la incidencia de eventos cardiovasculares adversos, estos siguen produciéndose en tasas variables a pesar de la intervención farmacológica en función del perfil genético de cada paciente.

El objetivo de este estudio fue identificar nuevas asociaciones genómicas, no consideradas previamente, que nos ayudaran a descifrar las causas genéticas subyacentes a la aparición de eventos isquémicos y/o hemorrágicos en pacientes tratados con DAPT tras una ICP, a pesar de seguir una prescripción guiada por pruebas genéticas.

Estudio observacional retrospectivo en el se diseñó un panel de genes personalizado que incluía genes implicados en el metabolismo y transporte de

los antiagregantes plaquetarios, así como genes relacionados con el desarrollo de la enfermedad cardiovascular (ECV). Se secuenciaron 244 pacientes con SCA-ICP (109 con evento y 135 sin evento) y 99 controles sin ECV estructural. Se realizó un primer análisis de asociación para evaluar la aparición de eventos adversos recurrentes durante un año de seguimiento, independientemente del tratamiento recibido; y un segundo análisis según el tratamiento prescrito (clopidogrel o prasugrel). Por último, se utilizó un análisis de random forest para generar modelos predictivos del riesgo de eventos adversos durante el DAPT.

En pacientes con SCA-ICP-stent, a pesar de que ningún polimorfismo alcanzó el umbral de significación genómica, tres nuevas variantes en genes relacionados con el metabolismo lipídico, entre ellas *ABCA1* (rs2472434), *KLB* (rs17618244) y *ZNF335* (rs3827066), mostraron asociaciones sugestivas con la aparición de eventos adversos recurrentes durante el DAPT. Dentro del modelo planteado, el IMC, la edad y el genotipo rs2472434 (*ABCA1*) se identificaron como las principales variables predictivas de eventos isquémicos y/o hemorrágicos.

En pacientes tratados con clopidogrel, se identificaron variantes genéticas implicadas en la ruta metabólica del fármaco, algunas con alta evidencia (*CYP2C19* y *ABCB1*) y otras nuevas (*UGT2B7*), que podrían contribuir a la variabilidad en la respuesta al fármaco y, en consecuencia, a la aparición de eventos adversos. El modelo predictivo, basado en variables clínicas y los resultados de asociación, mostró una alta capacidad para distinguir entre pacientes con y sin eventos adversos secundarios ($p = 0.02445$).

Este estudio es el primero en diseñar y analizar un panel de genes que incluye la mayoría de los loci PGx clínicamente relevantes, junto con una gran proporción de loci asociados a los principales eventos isquémicos y/o hemorrágicos relacionados con la terapia antiplaquetaria. Nuestros hallazgos sugieren nuevas dianas (tanto a nivel de genes como de vías) que pueden aumentar la

susceptibilidad a los eventos adversos recurrentes, pero es necesario seguir investigando para aclarar el papel y el impacto de las variantes identificadas antes de que estos resultados puedan incorporarse al proceso de toma de decisiones terapéuticas. Asimismo, a raíz de este trabajo, se plantea un cambio de paradigma en el enfoque de los estudios PGx, ya que estos no deberían centrarse únicamente en las rutas metabólicas de los fármacos, sino también en la evolución de la enfermedad subyacente. Un abordaje de este tipo podría mejorar la predicción del riesgo individual de eventos adversos tras la terapia antiagregante y facilitar la personalización del tratamiento en pacientes con SCA.

Acute coronary syndrome (ACS) is the major clinical manifestation of coronary artery disease, a leading cause of mortality in developed countries. Dual antiplatelet therapy (DAPT), combining acetylsalicylic acid and an antiplatelet agent (clopidogrel, prasugrel or ticagrelor), is the treatment of choice for patients with ACS undergoing percutaneous coronary intervention (PCI) with stent implantation. However, this therapeutic approach is one of the most associated with the development of adverse drug reactions (ADRs), in part due to interindividual variability in drug response.

Pharmacogenomics (PGx) is an essential approach to optimize pharmacotherapy by taking into account this variability in response, thereby improving clinical outcomes and helping to prevent ADRs. Although numerous studies have shown that selection of antiplatelet therapy based on a limited number of high-evidence variants (mainly *CYP2C19**2) can reduce the incidence of adverse cardiovascular events, these still occur at variable rates despite pharmacological intervention, according to the genetic profile of each patient.

The aim of this study was to identify new genomic associations, not previously considered, that may help to decipher the genetic causes underlying the occurrence of ischemic and/or hemorrhagic events in patients treated with DAPT after PCI, despite following a prescription guided by genetic testing.

Retrospective observational study in which a personalized gene panel was designed that included genes involved in the metabolism and transport of antiplatelet agents as well as genes related to the development of cardiovascular disease (CVD). We sequenced 244 ACS-PCI patients (109 with an event and 135 without an event) and 99 controls without structural CVD. A first analysis of

association was performed to evaluate the occurrence of recurrent adverse events during 1 year of follow-up, independent of the treatment received, and a second analysis according to the prescribed treatment (clopidogrel or prasugrel). Finally, a random forest analysis was used to generate predictive models for the risk of adverse events during DAPT.

In ACS-PCI stent patients, although no polymorphism reached the threshold of genomic significance, three novel variants in genes related to lipid metabolism, including *ABCA1* (rs2472434), *KLB* (rs17618244), and *ZNF335* (rs3827066), showed suggestive associations with the occurrence of recurrent adverse events during DAPT. Within the proposed model, BMI, age and rs2472434 (*ABCA1*) genotype were identified as the main predictive variables for ischemic and/or hemorrhagic events.

In patients treated with clopidogrel, genetic variants involved in the drug's metabolic pathway were identified, some with high evidence (*CYP2C19* and *ABCB1*) and others new (*UGT2B7*), which may contribute to the variability in response to the drug and consequently to the occurrence of adverse events. The predictive model based on clinical variables and association results showed a high ability to discriminate between patients with and without secondary adverse events ($p = 0.02445$).

This study is the first to design and analyze a gene panel that includes most of the clinically relevant PGx loci, as well as a large proportion of loci associated with major ischemic and/or hemorrhagic events related to antiplatelet therapy. Our findings suggest novel targets (both at the gene and pathway levels) that may increase susceptibility to recurrent adverse events, but further research is needed to clarify the role and impact of the identified variants before these findings can be incorporated into the therapeutic decision-making process. In addition, this work suggests a paradigm shift in the approach to PGx studies,

which should focus not only on the metabolic pathways of drugs, but also on the underlying disease process. Such an approach could improve individual risk prediction of adverse events after antiplatelet therapy and facilitate treatment personalization in patients with ACS.

I. INTRODUCCIÓN



1. VARIABILIDAD EN LA RESPUESTA FARMACOLÓGICA

Desde los orígenes de la medicina y la farmacología, es sabido que los individuos responden de manera diferente a los fármacos. Así, una misma dosis de un medicamento, que suele ser efectiva en la mayoría de los casos, en un subgrupo de pacientes puede dar lugar a un fallo terapéutico, ya sea por una falta de eficacia, o por el desarrollo de reacciones adversas a los medicamentos (RAM).

En la actualidad, estas RAMs constituyen una de las principales preocupaciones tanto en la práctica clínica como en la industria farmacéutica, debido a su importante repercusión en la morbilidad, la mortalidad y los costes económicos.

Aunque en los ensayos clínicos aleatorizados participan miles de pacientes para evaluar la eficacia y la seguridad de los fármacos que se prueban, es difícil predecir de antemano la respuesta de un paciente individual a un fármaco determinado o las posibles RAMs que pueden producirse en subpoblaciones no contabilizadas dentro del propio ensayo.

La heterogeneidad interindividual en la respuesta a los fármacos puede deberse a numerosas causas, que incluyen factores ambientales, clínicos y genéticos. En este sentido, cada vez hay más evidencias de que las variaciones genéticas interindividuales en las enzimas que metabolizan los fármacos, los transportadores de fármacos y las dianas farmacológicas contribuyen significativamente a alterar la farmacocinética y la farmacodinámica de estos compuestos, y pueden estar implicadas en estas RAMs.⁽¹⁻³⁾

1.1. Heterogeneidad interindividual en la respuesta

El principal objetivo de la medicina personalizada (MP) es administrar el «fármaco adecuado, a la dosis correcta y en el momento adecuado», es decir, adaptar el tratamiento médico a las características individuales de cada paciente.

Por tanto, este nuevo enfoque a medida tiene en cuenta la gran variabilidad existente entre los pacientes a la hora de predecir la respuesta farmacológica y de guiar las decisiones terapéuticas, mejorando tanto la eficacia como la seguridad del tratamiento (Figura 1).

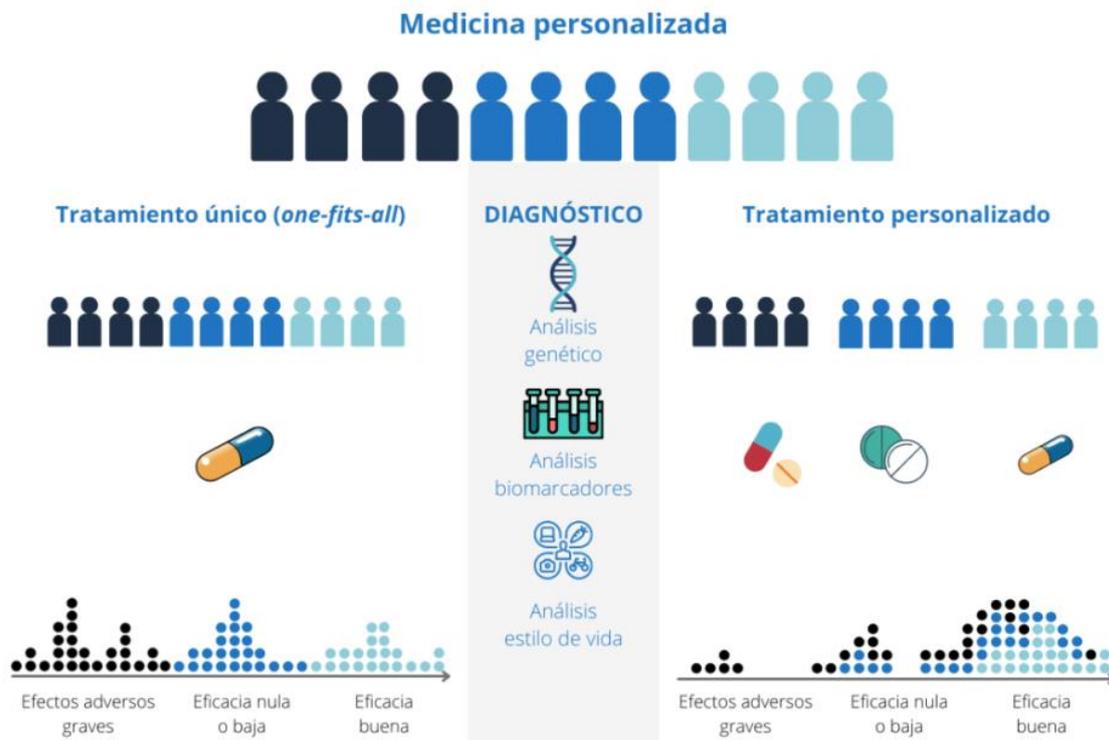


Figura 1. Medicina personalizada y la atención médica del futuro.
Tomada del sitio web “genosalut”.⁽⁴⁾

Los fármacos se prescriben habitualmente partiendo de criterios preestablecidos, siguiendo las recomendaciones de dosis indicadas en la ficha técnica y ayudándose de la estrategia de “acierto-error”, esperando que sean eficaces y seguros en todos los pacientes. Como ya se ha descrito, esto no siempre es así. De hecho, la frecuencia de pacientes a los que el fármaco no les resulta eficaz oscila entre el 20 % y el 75 %, dependiendo de la patología y del tratamiento.

Para cada fármaco, existe un rango de concentraciones plasmáticas, denominado «**margen terapéutico**», comprendido entre la concentración mínima efectiva, a partir de la cual el fármaco produce el efecto deseado (dosis

terapéutica), y la concentración máxima tolerada, a partir de la cual el fármaco resulta tóxico y existe un mayor riesgo de RAMs (dosis tóxica).

El objetivo del tratamiento farmacológico es que las concentraciones plasmáticas se sitúen dentro del margen terapéutico, donde existe una alta probabilidad de conseguir la eficacia terapéutica con mínima toxicidad en la mayoría de los pacientes. No obstante, estas concentraciones pueden verse afectadas por un metabolismo ralentizado o aumentado de los fármacos, lo que dará como resultado que determinados pacientes presenten niveles tóxicos o infraterapéuticos con dosis estándar aparentemente adecuadas.^(1,5)

La variación en la respuesta a los fármacos puede estar relacionada tanto con las propiedades farmacocinéticas como con las farmacodinámicas.

❖ La «**farmacocinética**» (FC) es la rama de la farmacología que estudia los efectos del organismo sobre el fármaco, es decir, las fases por las que pasa un medicamento en el cuerpo humano. Examina cinco procesos principales que influyen en la concentración de fármaco que llega a la diana: Liberación del medicamento (disolución del fármaco en el organismo), Absorción (forma en la que el fármaco penetra en el organismo), Distribución (localización del fármaco en el organismo), Metabolismo (modificación química del fármaco) y Excreción (eliminación del fármaco) – LADME.

❖ Por otro lado, la «**farmacodinámica**» (FD) refleja los efectos moleculares, bioquímicos y fisiológicos que tiene un fármaco sobre el organismo. Estudia la unión a receptores, las interacciones químicas y los mecanismos de acción del fármaco, determinando la aparición, duración e intensidad de sus efectos y permitiendo evaluar la eficacia y seguridad del mismo.⁽⁶⁾



Figura 2. Factores que pueden condicionar la respuesta a los fármacos.
Modificada de Llerena *et al.*, 2021.⁽⁷⁾

Tanto la FC como la FD contribuyen a la eficacia, efectividad y toxicidad de los medicamentos. Las diferencias en la respuesta al tratamiento farmacológico se deben a variaciones tanto en la concentración disponible de principio activo como en los mecanismos de acción de estos compuestos en el organismo. Estos procesos FC y FD, a su vez, pueden verse afectados por múltiples parámetros que van a condicionar la variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos. Entre otros, la edad, el sexo, la gravedad de la enfermedad, las enfermedades concomitantes, posibles interacciones medicamentosas, los factores ambientales y, por último, los genéticos (Figura 2). Entre estos últimos, el principal factor que influye en la respuesta variable a los fármacos entre individuos es la combinación de múltiples variaciones genéticas que, en conjunto, originan un fenotipo determinado, ya sea de riesgo a padecer una enfermedad o un perfil de respuesta a fármacos susceptible de desarrollar RAMs.^(7,8)

Comprender y predecir las diferencias interindividuales relacionadas con el éxito y la seguridad del tratamiento farmacológico es de vital importancia, tanto durante el desarrollo de fármacos como para las aplicaciones clínicas. Es importante destacar que las diferencias individuales en el metabolismo de los fármacos son una de las principales causas de sus efectos adversos. Durante las últimas décadas, se han identificado y caracterizado los genes responsables del metabolismo y transporte de fármacos, así como sus variantes funcionales más comunes. En el caso de muchas de estas asociaciones entre variantes genéticas y respuesta a fármacos, esta información se ha podido trasladar al ámbito clínico (~18 % de los fármacos prescritos llevan etiquetas farmacogenómicas) con el objetivo de individualizar la terapia y adaptarla a las necesidades de cada paciente.⁽⁹⁾

1.2. Reacciones adversas a los medicamentos

Una «RAM» se define, según la Organización Mundial de la Salud (OMS), como «cualquier respuesta nociva, no deseada y no intencionada que se produce tras la administración de un fármaco, existiendo la sospecha de que ha sido causada por el medicamento».

Las RAMs constituyen una importante preocupación sanitaria en todo el mundo, siendo un problema considerable tanto para la seguridad del paciente como para los sistemas sanitarios. Se estima que las RAMs pueden afectar al 20 % de la población en algún momento de sus vidas. Además, son responsables de aumentar la mortalidad (el 7 % de los pacientes hospitalizados fallecen por RAMs), los ingresos hospitalarios (el 5-10 % de los ingresos hospitalarios son debidos a RAMs), los periodos de hospitalización (el 10-20 % de los pacientes hospitalizados presentan RAMs, lo que aumenta su estancia media), los costes sanitarios (en torno a 145.000 millones de euros) y la retirada de fármacos del mercado. Por otro lado, la Comisión Europea estimó en la nota «*Strengthening pharmacovigilance to reduce adverse effects of medicines*» que las RAMs causaban

197.000 muertes al año en la Unión Europea, y las situó como una de las diez principales causas de muerte y enfermedad en los países desarrollados.^(10,11)

Según Rawlins y Thompson, las RAMs se clasifican principalmente en dos tipos. Las «reacciones adversas de tipo A» (*augmented*) son el resultado de un aumento de la acción farmacológica del fármaco administrado y, por tanto, guardan relación con su mecanismo de acción. En general, son predecibles, frecuentes, dependientes de la dosis (una reducción de la dosis conduce a una mejora de la reacción adversa), y tienen una baja mortalidad. Son ejemplos de este tipo: la hemorragia debida a anticoagulantes y la bradicardia debida a antagonistas de los receptores β -adrenérgicos. Las «reacciones adversas de tipo B» (*bizarre*) son reacciones que no pueden explicarse fácilmente basándose en la farmacología conocida del fármaco y, por tanto, en general, son impredecibles, infrecuentes, independientes de la dosis (suelen requerir la interrupción del fármaco para mejorar la reacción adversa), y tienen una alta mortalidad. El mecanismo implicado suele ser reacciones de hipersensibilidad alérgica (reacción inmunológica) o idiosincrasia del paciente. En este tipo de RAMs se incluirían la anafilaxia debida a la penicilina y la depresión de la médula ósea producida por el cloranfenicol.^(8,11)

Existen múltiples factores de riesgo relacionados con las RAMs, como la coadministración de fármacos (debido a las múltiples interacciones farmacológicas), afecciones específicas (p. ej., hepatopatía o insuficiencia renal), la edad y el sexo (son más frecuentes en ancianos y mujeres), el tabaquismo, la atopia, la exposición previa, factores ambientales y de respuesta inmune. Sin embargo, cada vez hay más pruebas que apoyan la idea de que las diferencias genéticas interindividuales son un importante factor que predispone a las RAMs inducidas por fármacos, pero aún se desconoce cómo contribuyen estos factores genéticos a la manifestación de dichas RAMs.

Como veremos más adelante, las variaciones genéticas en las enzimas metabolizadoras de fármacos, los transportadores de fármacos y las dianas farmacológicas contribuyen sustancialmente a la alteración de la FC y la FD, pudiendo estar implicadas en estos eventos adversos inducidos por fármacos.^A Se están realizando grandes esfuerzos por caracterizar los factores genéticos, identificar las diferencias genéticas interindividuales y establecer la asociación entre las variaciones genéticas y las RAMs, con el fin de reducir aquellas inducidas por variaciones genéticas y lograr el máximo resultado terapéutico en los pacientes. Lamentablemente, una proporción significativa de estas RAMs permanece como casos inexplicados sin una causa concluyente.

Los fármacos sujetos a un mayor riesgo de RAMs en pacientes con mutaciones genéticas incluyen principalmente medicamentos contra el cáncer (citotóxicos e inmunosupresores), fármacos que actúan sobre el sistema nervioso central (opioides, antidepresivos y antipsicóticos) y fármacos cardiovasculares (antiagregantes plaquetarios y anticoagulantes), siendo estos precisamente los subgrupos de medicamentos más prescritos. En consecuencia, y como veremos en el siguiente capítulo, la incorporación de pruebas farmacogenómicas previas al tratamiento supondría un gran beneficio en términos de calidad de vida, optimización de los recursos terapéuticos y reducción de los costes.^(1,11)

^A Las reacciones adversas y los eventos adversos no siempre son lo mismo. Un «evento adverso» es cualquier suceso indeseable experimentado por un paciente, independientemente de que se sospeche o no del medicamento administrado. Un ejemplo de un evento adverso es un paciente que sufre un accidente de tráfico mientras estaba con un tratamiento farmacológico específico. Mientras que una «RAM» es cualquier suceso indeseable que ha sucedido con el paciente mientras estaba utilizando un medicamento y existe la sospecha de que es causado por el medicamento. Un ejemplo de una RAM podría ser un paciente que experimenta anafilaxia poco después de tomar el medicamento.

2. FARMACOGENÉTICA EN LA INVESTIGACIÓN CLÍNICA

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos se debe a varios factores extrínsecos e intrínsecos, entre los que cada vez se reconocen más las variaciones genéticas que provocan cambios en la actividad o disponibilidad de enzimas metabolizadoras de fármacos, transportadores, receptores, canales y otras proteínas implicadas en la FC y FD de los fármacos.

La promesa de la farmacogenética (PGx) reside en su potencial para identificar aquellas variaciones genéticas clínicamente significativas que puedan explicar las variaciones fenotípicas en la respuesta individual a los fármacos. Trasladado a la clínica, el objetivo último de las pruebas PGx es utilizar de manera preventiva el perfil genético de cada paciente para individualizar el tratamiento, optimizando así la selección y dosificación terapéuticas y abandonando la estrategia actual de “un fármaco/dosis para todos”.

Al adaptar la prescripción a las necesidades individuales, se mejora sustancialmente la atención al paciente, ya que aumenta la eficacia terapéutica y se reducen los niveles inaceptables de RAMs y la escasa adherencia asociados al tratamiento farmacológico de muchas enfermedades. En consecuencia, la PGx se ha convertido en un componente fundamental para impulsar el cambio de paradigma hacia una medicina personalizada, o de precisión, guiada por la genómica.^(12,13)

2.1. Concepto e historia de la farmacogenética

La «farmacogenética» (PGx, del inglés *pharmacogenetics*) es una disciplina centrada en el estudio de los factores genéticos implicados en la respuesta a la farmacoterapia, en particular, la asociación entre las variaciones genéticas y las diferencias interindividuales en la respuesta a los medicamentos que pueden predisponer al riesgo de RAMs.

El término «farmacogenética» fue acuñado por Friedrich Vogel en 1959 para describir el concepto emergente de que la variación en la respuesta farmacológica podría deberse a la herencia genética. En sus inicios, los estudios PGx se basaban principalmente en observaciones de las diferencias fenotípicas en los efectos de los fármacos cuando los individuos se exponían a cantidades comparables de un fármaco. Por ejemplo, alrededor del 10 % de los afroamericanos desarrollan anemia hemolítica tras el tratamiento con primaquina (antimalárico), una RAM apenas observada en individuos de ascendencia europea. Esta observación concordaba con un origen genético de la RAM, tal y como narró uno de los fundadores de la PGx, Arno Motulsky: «dado que un gen determinado puede ser más frecuente en ciertos grupos étnicos, cualquier reacción a medicamentos que se observe con mayor frecuencia en un grupo racial determinado, cuando otras variables ambientales sean iguales, tendrá normalmente una base genética». La intuición se confirmó décadas más tarde, cuando los estudios revelaron una mayor prevalencia de la deficiencia causal de glucosa-6-fosfato deshidrogenasa (G6PDH) en los africanos, lo que vinculó estrechamente, desde sus inicios, la PGx con la genética de poblaciones.^(9,14)

El reconocimiento del papel de la genética en la respuesta a los fármacos promovió el uso de las herramientas clásicas de la genética humana para el estudio de la PGx. Los estudios de gemelos podían verificar que el fenotipo de respuesta a fármacos estaba bajo control genético estimando su heredabilidad, mientras que los estudios familiares permitían inferir patrones de herencia de las respuestas a los fármacos. Por ejemplo, la incapacidad para metabolizar la debrisoquina (antihipertensivo) y la esparteína (antiarrítmico) sigue un patrón de herencia autosómico recesivo, siendo una enzima disfuncional del sistema citocromo P450 la responsable (CYP2D6). En conjunto, estos estudios pioneros de finales de los años 70 tuvieron el mérito de confirmar la base genética subyacente de la respuesta diferencial a los fármacos, sentando las bases de la PGx.⁽¹⁴⁾

El campo de la farmacogenética ha evolucionado recientemente hacia la «farmacogenómica», lo que implica un cambio de un enfoque centrado en genes candidatos individuales a estudios de asociación de todo el genoma. En la actualidad, ambos términos suelen utilizarse indistintamente.

La PGx, por tanto, facilita la identificación de biomarcadores que pueden ayudar a los médicos a seleccionar a los pacientes más susceptibles de responder mal y, en base a su perfil genético, optimizar la selección, dosis y duración del tratamiento, reduciendo así las RAMs. Además, la PGx puede aportar nuevos conocimientos sobre los mecanismos de acción de los medicamentos y, en consecuencia, contribuir al desarrollo de nuevos agentes terapéuticos.⁽⁴⁾

2.2. Fundamentos genéticos relacionados con la farmacogenética

La actividad de un fármaco, como se ha mencionado previamente, es el resultado de los procesos FC (liberación, absorción, distribución, metabolismo y eliminación del fármaco) y de su interacción con receptores o dianas moleculares (FD) para ejercer su efecto. Por lo tanto, para poder predecir la respuesta a un determinado medicamento, es necesario el análisis de los biomarcadores genéticos implicados en su mecanismo de acción, los cuales pueden tener una influencia significativa en el efecto del fármaco y ser en gran parte responsables de respuestas inadecuadas al tratamiento.

Estos biomarcadores se basan en la presencia de variaciones en la secuencia de ADN, que incluyen: inserciones y deleciones (indels), repeticiones en tándem de una secuencia de nucleótidos (VNTR, por sus siglas en inglés), variaciones en el número de copias (CNV, del inglés *copy-number variation*) y los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP, del inglés *single nucleotide polymorphism*), que afectan a una sola base de una secuencia de ADN.^(5,9)

Las variaciones que se estudian con más frecuencia en PGx son los **polimorfismos**, que, a diferencia de las mutaciones puntuales, están presentes en

la población con una frecuencia superior al 1 %. Los SNPs son los polimorfismos genéticos más frecuentes, determinando gran parte de la variabilidad genética entre individuos. Se estima que existen al menos 10 millones de SNPs a lo largo del genoma humano, con una frecuencia aproximada de 1 cada 300 pares de bases (pb), contribuyendo al 90 % de las variaciones encontradas en el ADN.⁽¹⁵⁾

Un **marcador genético** se define como un segmento de ADN con una ubicación física identificable (**locus**) en un cromosoma y cuya herencia genética se puede rastrear. Cada una de las versiones de esta secuencia de ADN se conoce como **alelo**.

La combinación específica de alelos que porta un individuo para un determinado locus forma el **genotipo**, mientras que el **fenotipo** hace referencia a las características observables en un individuo determinadas por su genotipo. Cada individuo hereda dos alelos para cada gen, uno del padre y el otro de la madre. Si los dos alelos son iguales en un mismo locus, el individuo es **homocigoto**; cuando los dos alelos en un locus son diferentes, el individuo es **heterocigoto**. Por ejemplo, en un SNP que suponga un cambio del alelo “C” por el alelo “T” (C>T), los posibles genotipos o parejas de alelos serían:

- CC - genotipo más frecuente, conocido como silvestre o *wild-type*
- CT - heterocigoto
- TT - genotipo menos frecuente, conocido como mutado o recesivo

De este modo, y debido a que los humanos son diploides, un individuo se puede clasificar para un determinado SNP como «homocigoto *wild-type*», «heterocigoto» u «homocigoto recesivo».^(5,14)

Las consecuencias funcionales de estos polimorfismos dependerán de su localización en la secuencia de ADN. Así, los SNPs que se localicen en «**regiones codificantes**» (exones) pueden dar lugar a cambios en la secuencia de aminoácidos. Estos cambios pueden ser:

- Cambio sinónimo (o silencioso). Se produce un cambio en la secuencia de ADN que no produce un cambio en el aminoácido codificado por dicha secuencia. Puede tener consecuencias funcionales en la proteína, ya que la estabilidad del transcrito puede verse afectada.
- Cambio no-sinónimos. Se da cuando el cambio en una de las bases que forma el triplete de nucleótidos provoca un cambio en el aminoácido original codificado. Dentro de estos SNPs, existen dos posibilidades:
 - Cambio de sentido (*missense*), en los que el cambio de las bases da lugar a un codón resultante que codifica para un aminoácido diferente, pudiendo afectar a la funcionalidad de la proteína.
 - Cambio sin sentido (*nonsense*), en el que se produce un codón de parada que da lugar a una proteína truncada y normalmente inactiva.

No obstante, la mayoría de los SNPs se encuentran en «**regiones no codificantes**», donde también pueden alterar los procesos de expresión o actividad de las proteínas. Por ejemplo:

- Los SNPs en la región promotora de un gen pueden ocasionar alteraciones en la transcripción.
- Los SNPs en regiones no traducidas (UTR, del inglés *untranslated regions*) pueden afectar a la traducción o a la estabilidad del ácido ribonucleico mensajero (ARNm).
- Los SNPs en intrones pueden afectar al procesamiento del ARN provocando un ajuste alternativo o *splicing*.

Así, las consecuencias fenotípicas de un SNP están relacionadas con su localización y la naturaleza de la mutación. Puede que no se produzca consecuencia alguna o que se produzcan cambios en la síntesis de la proteína codificada y, por lo tanto, en la función que esta lleva a cabo en el organismo.^(5,16)

A fin de describir los patrones de variación genética entre las diferentes poblaciones, conocer las frecuencias genotípicas y alélicas de los polimorfismos, y definir los patrones de desequilibrio de ligamiento (LD, del inglés *linkage disequilibrium*) entre los distintos SNPs, se han llevado a cabo varios proyectos. El [Proyecto Internacional HapMap](#) (2002) se centró en crear un mapa de haplotipos^B del genoma humano, identificando las regiones cromosómicas con SNPs con una frecuencia del alelo minoritario (MAF, del inglés *minor allele frequency*) de al menos el 5 % en uno o más grupos étnicos. Sin embargo, para identificar no solo las variantes comunes, sino también las variantes raras (MAF < 1 %), el [Proyecto 1.000 Genomas](#) (1kGP, 2008) creó un mapa más completo y detallado de la variación genética humana. En la actualidad, ambas plataformas proporcionan un panel de referencia completo de variantes para estudios genéticos.^(5,17)

2.3. Farmacogenes

El término «[farmacogen](#)» hace referencia a aquellos genes considerados clínicamente relevantes porque tienen un gran impacto en el metabolismo o en la respuesta terapéutica a uno o varios fármacos. El análisis de datos de secuenciación de 806 genes en más de 60.706 exomas sugirió que aproximadamente el 80 % de los individuos son portadores de al menos una variante genética “procesable”^C en alguno de los farmacogenes descritos hasta la fecha.^(8,18)

Actualmente hay registrados 68 «[farmacogenes muy importantes](#)» (VIP, del inglés *Very Important Pharmacogene*) en la base de datos PharmGKB (*The Pharmacogenomics Knowledge Base*; <https://www.pharmgkb.org/vips>), que corresponden a los genes de particular relevancia actual en PGx ([Tabla 1](#)).

^B Un «[haplotipo](#)» es una combinación de alelos o un conjunto de SNPs asociados en una región de un cromosoma que, debido a su proximidad, tienden a heredarse juntos.

^C Los pacientes portadores de estas variantes deben realizarse un ajuste de dosis o requieren de estrategias terapéuticas específicas.

Generalmente, desempeñan un papel en el metabolismo de muchos fármacos (p. ej., *CYP2D6*) o contienen variantes que contribuyen potencialmente a una respuesta farmacológica tóxica grave (p. ej., *HLA-B*). Estos genes se seleccionan a partir de varias fuentes, incluyendo la lista de biomarcadores de la Agencia Reguladora de Alimentos y Medicamentos de EE.UU. (*Food and Drug Administration*, FDA), las recomendaciones del grupo de expertos que forma el Consorcio para la Implementación Clínica de la Farmacogenética (*Clinical Pharmacogenetic Implementation Consortium*, CPIC), y las propuestas de los miembros de la Red de Investigación Farmacogenómica (*Pharmacogenomics Research Network*, PGRN).^(19,20)

Tabla 1. Listado de los 68 farmacogenes incluidos como VIP en PharmGKB.

Nivel 1	<i>ABCB1; ABCG2; ACE; ADRB1; ADRB2; CACNA1S; CFTR; COMT; CYP2A6; CYP2B6; CYP2C19; CYP2C8; CYP2C9; CYP2D6; CYP3A4; CYP3A5; CYP4F2; DPYD; DRD2; F5; G6PD; GSTP1; HLA-B; MTHFR; MT-RNR1; NAT2; NUDT15; RYR1; SLC19A1; SLCO1B1; TPMT; TYMS; UGT1A1; VKORC1</i>
Nivel 2	<i>ADH1A; ADH1B; ADH1C; AHR; ALDH1A1; ALOX5; BRCA1; CYP1A2; CYP2A13; CYP2E1; CYP2J2; GSTT1; HMGCR; KCNH2; KCNJ11; NQO1; NR1H2; P2RY1; P2RY12; PTGIS; PTGS2; SCN5A; SLC22A1; SULT1A1; VDR</i>
Cáncer	<i>ABL1; ALK; BCR; BRAF; EGFR; ERBB2; KIT; KRAS; NRAS</i>

Nivel 1: genes con pruebas sustanciales que respaldan su importancia en PGx. Nivel 2: genes con evidencia limitada para apoyar su importancia en PGx. Cáncer: genes relevantes en la PGx tumoral.

Las variaciones en los genes que codifican las enzimas metabolizadoras de fármacos son actualmente las que más se analizan en el ámbito clínico para orientar el tratamiento farmacológico, ya que dan lugar a una notable variación en la respuesta terapéutica. De este modo, los pacientes muestran una respuesta normal, un tratamiento insuficiente, un tratamiento excesivo o la aparición de una RAM, dependiendo de si la enzima es responsable de metabolizar el fármaco a una forma más o menos activa. También existen algunos ejemplos limitados en los que las pruebas clínicas de los genes que codifican un transportador de fármacos (p. ej., *SLCO1B1* para las estatinas) o una diana farmacológica (p. ej., *VKORC1* para la warfarina) se utilizan para guiar el tratamiento.^(1,21)

2.3.1. Enzimas metabolizadoras de fármacos

La mayoría de las enzimas metabolizadoras de fármacos (DME, del inglés *drug metabolizing enzymes*) de fase I y II^D son responsables de la eliminación de más del 95 % de los fármacos utilizados en clínica. Existen pruebas fehacientes de que las variaciones genéticas en estas DMEs están relacionadas con considerables diferencias interindividuales en la exposición a los fármacos y en la respuesta a los mismos.

Un gran número de estudios clínicos han establecido una asociación entre las variantes del citocromo P450 (principales enzimas de fase I) y el riesgo de RAMs para muchos fármacos de uso clínico. Por ejemplo, los alelos de función reducida de *CYP2C9* (principalmente, *2 y *3) se han asociado con las RAMs a la warfarina, la fenitoína y los antiinflamatorios no esteroideos. Por otro lado, existe una fuerte asociación entre los pacientes portadores de polimorfismos genéticos del *CYP2C19* (*2/*2, *2/*3, *2/*4, *2/*5, *2/*8 y *3/*3) y las RAMs al clopidogrel. Además, la enzima *CYP2D6*, una DME responsable del metabolismo de alrededor del 25 % de los xenobióticos, es altamente polimórfica, lo que indica que pueden observarse distintas respuestas a los fármacos que metaboliza.

También se ha comprobado que los polimorfismos de las enzimas de fase II, como *UGT*, *NAT2* y *TPMT*, son uno de los principales factores que contribuyen a la alteración de la respuesta a los fármacos y al riesgo de RAMs. Existe una fuerte relación entre la variación genética en *UGT1A1* y las RAMs inducidas por irinotecán. Asimismo, se han observado RAMs asociadas a variaciones genéticas de *NAT2* tras el uso de isoniazida, dapsona y sulfonamidas. La *TPMT* es la enzima más estudiada en la predicción de la respuesta al tratamiento con tiopurinas.⁽¹⁾

^D Las «reacciones de fase I» convierten los fármacos en compuestos más solubles mediante oxidación, reducción e hidrólisis, pudiendo formar en ocasiones metabolitos activos y/o tóxicos. Las «reacciones de fase II» transforman estos compuestos en sustancias más hidrosolubles mediante conjugación por transferasas, lo que facilita su eliminación.

Enzimas del citocromo P450

Aproximadamente el 80 % del metabolismo oxidativo y el 50 % de la eliminación de los fármacos actualmente en uso se atribuyen a enzimas metabólicas de la superfamilia del citocromo P450 (CYP), expresadas principalmente en órganos esplácnicos clave como el hígado o el intestino.

Los genes de esta superfamilia se denominan según su familia (p. ej., "2"), subfamilia (p. ej., "C") e identificador genético, basándose en la estructura y la homología de sus secuencias de aminoácidos. Un código completo indica un gen específico (p. ej., *CYP2C9*) (Figura 3).

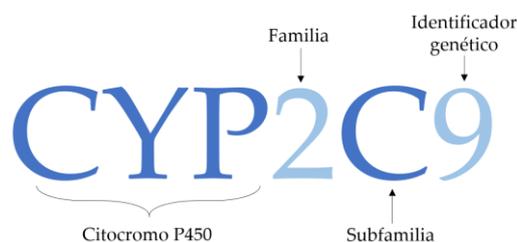


Figura 3. Nomenclatura de la superfamilia del citocromo P450.

Se han descrito 57 genes CYP diferentes y alrededor del mismo número de pseudogenes, que se agrupan de acuerdo a su similitud en 18 familias y 44 subfamilias. Las enzimas de las familias 1-3 (*CYP1A2*, *2A6*, *2B6*, *2C8*, *2C9*, *2C19*, *2D6*, *2E1*, *3A4* y *3A5*), con amplia especificidad de sustrato (muchas veces superpuesta debido al alto grado de homología entre ellas), son las más activas en el metabolismo hepático de fármacos y otros xenobióticos; mientras que las demás familias tienen importantes funciones endógenas.

Sin embargo, estas isoenzimas CYP son extremadamente polimórficas, con una plétora de variaciones de nucleótido único y variantes estructurales, cuya frecuencia varía entre las distintas poblaciones. Cada isoforma varía debido a factores genéticos y no genéticos, y a numerosos factores ambientales, algunos de los cuales son constantes a lo largo de la vida (genotipo, sexo), mientras que otros son dinámicos (edad, fármacos coadministrados, enfermedades). Estos

factores no son los mismos para cada isoforma: por ejemplo, la CYP2D6 está influida principalmente por polimorfismos genéticos, mientras que la CYP3A4 está influida por el sexo y es inducible por una gran variedad de sustancias.

En función del contexto farmacológico, las variantes genéticas del CYP se clasifican en:

- **variantes de pérdida de función** (LoF, del inglés *loss of-function*), las cuales reducen el aclaramiento y aumentan las concentraciones plasmáticas del fármaco en el organismo, y así, la toxicidad derivada de su uso.
- **variantes de ganancia de función** (GoF, del inglés *gain-of-function*), las cuales aumentan el aclaramiento y reducen las concentraciones del fármaco, disminuyendo su biodisponibilidad y, por tanto, su eficacia.

En el caso de los profármacos que requieren bioactivación, ocurrirá lo contrario. Así, una deficiencia enzimática heredada puede hacer que el fármaco sea ineficaz debido a la mínima conversión en el metabolito activo que provoca los efectos del fármaco; mientras que, ante un aumento de la actividad metabólica de la isoenzima CYP que activa el profármaco, el metabolito activo se producirá más rápidamente, pudiendo aumentar su efecto y/o la aparición de RAMs.⁽²²⁻²⁵⁾

2.3.2. Transportadores

Los transportadores son proteínas de membrana que controlan el acceso de sustancias endógenas y xenobióticos (fármacos) a diversos lugares del cuerpo humano. A diferencia de las DMEs, principalmente hepáticas, los transportadores están presentes en todos los tejidos del organismo y desempeñan un papel importante en la regulación de la absorción, distribución tisular y eliminación de muchos medicamentos. Además, están implicados en la determinación de las concentraciones de fármacos en plasma y tejidos periféricos, lo que afecta a la eficacia y toxicidad de los mismos.

El Proyecto Genoma Humano identificó más de 400 transportadores de membrana pertenecientes a dos de las superfamilias principales: la familia de los transportadores dependientes de ATP, ABC (del inglés, *ATP-binding cassette*), relacionada con el eflujo de fármacos, y la familia de los transportadores de solutos, SLC (del inglés, *solute carrier*), relacionada con la captación de los fármacos por las células.

Uno de los transportadores más relevantes y mejor caracterizados es la glicoproteína-P (P-gp, codificada por el gen *ABCB1*), una bomba de eflujo que reduce la absorción intestinal de una amplia gama de compuestos xenobióticos y contribuye a condicionar la biodisponibilidad de muchos fármacos administrados por vía oral. Se ha demostrado que los polimorfismos en P-gp son responsables de una diferencia del 25 % en el aclaramiento renal de la ciclosporina. Otro ejemplo ampliamente estudiado es el polipéptido transportador de aniones orgánicos 1B1 (OATP1B1, codificado por el gen *SLCO1B1*), uno de los transportadores de captación y eflujo hepático de las estatinas. Diversos estudios han reportado diferentes variaciones en la secuencia de este gen que influyen en la FC/FD de estos fármacos, llegando a causar una condición conocida como «miopatía inducida por estatinas».^(26,27)

2.3.3. Dianas farmacológicas

A pesar de que la mayor parte de la investigación en PGx se haya centrado en la implicación de los factores FC en la eficacia de los fármacos, cada vez se tiene más conciencia de que la variabilidad genética de los mecanismos FD (interacción fármaco-diana) puede afectar a la dosificación, la respuesta clínica y los efectos adversos de los tratamientos. Existen varios tipos de dianas terapéuticas expresadas de forma diferente en tejidos y células, como receptores (p. ej., receptor opioide μ), enzimas (p. ej., vitamina K epóxido reductasa), canales iónicos (p. ej., canales de calcio), lipoproteínas, factores de coagulación y vías de

transducción de señales, entre otros. De hecho, ciertos biomarcadores FD han sido bien estudiados y algunos comienzan a ser no solo útiles, sino necesarios en la práctica clínica para la optimización terapéutica de ciertos medicamentos.

Alrededor del 50 % de los fármacos interactúan con los receptores de membrana para ejercer sus efectos terapéuticos. Por ejemplo, el receptor adrenérgico β_2 (ADRB2) es la diana tanto de los β -agonistas en el tratamiento del asma como de los β -bloqueantes en el tratamiento de la hipertensión. Las variaciones genéticas en este gen pueden influir en la expresión y la sensibilidad de este receptor, alterando la afinidad de unión al fármaco y, por tanto, pueden condicionar la respuesta al tratamiento o los efectos adversos subyacentes.

Otro ejemplo sería el caso de la warfarina. Este fármaco produce su efecto anticoagulante al inhibir la epóxido reductasa de la vitamina K (VKORC-1), una enzima que cataliza el paso de la vitamina K oxidada a su forma reducida, un cofactor esencial para la síntesis de los factores de coagulación. Polimorfismos en el gen *VKORC1* se han asociado con un incremento del riesgo de sangrado en pacientes en tratamiento con este anticoagulante, así como con requerimientos de dosis más bajas. De hecho, *VKORC1* (FD) junto con *CYP2C9* (FC) han demostrado ser responsables de un 40 % de la variabilidad del tratamiento con warfarina, por lo que su genotipado se tiene en cuenta en diversos algoritmos para ajustar la dosis de inicio del tratamiento.^(1,28)

En la respuesta farmacológica, hemos visto que intervienen, entre otros factores, DME, proteínas transportadoras de fármacos y receptores o dianas terapéuticas en general. Todos estos factores presentan variantes genéticas que conducen a una alteración del nivel de expresión o actividad de la proteína. En consecuencia, esta variabilidad condiciona la eficacia terapéutica y las respuestas farmacológicas inesperadas (fallo terapéutico o toxicidad), lo que ha suscitado un notable interés en el estudio de su potencial impacto en la práctica clínica.

2.4. Tipos de estudios farmacogenéticos

Las tres grandes estrategias de investigación que se han adoptado para identificar marcadores PGx (genotipo) vinculados a un determinado perfil de respuesta a los fármacos (fenotipo) son los «estudios de genes candidatos», los «estudios de asociación de genoma completo» y los «enfoques de secuenciación de nueva generación» (Figura 4).

2.4.1. Estudios de genes candidatos

Los estudios de genes candidatos utilizan conocimientos previos para identificar interacciones PGx que suelen implicar variantes comunes o de gran tamaño de efecto. Una vez seleccionados los genes candidatos en función de su papel en las vías FC o FD conocidas, se realiza un estudio de asociación genética para establecer la relación entre las variantes genéticas de estos genes y el efecto terapéutico de un determinado fármaco.

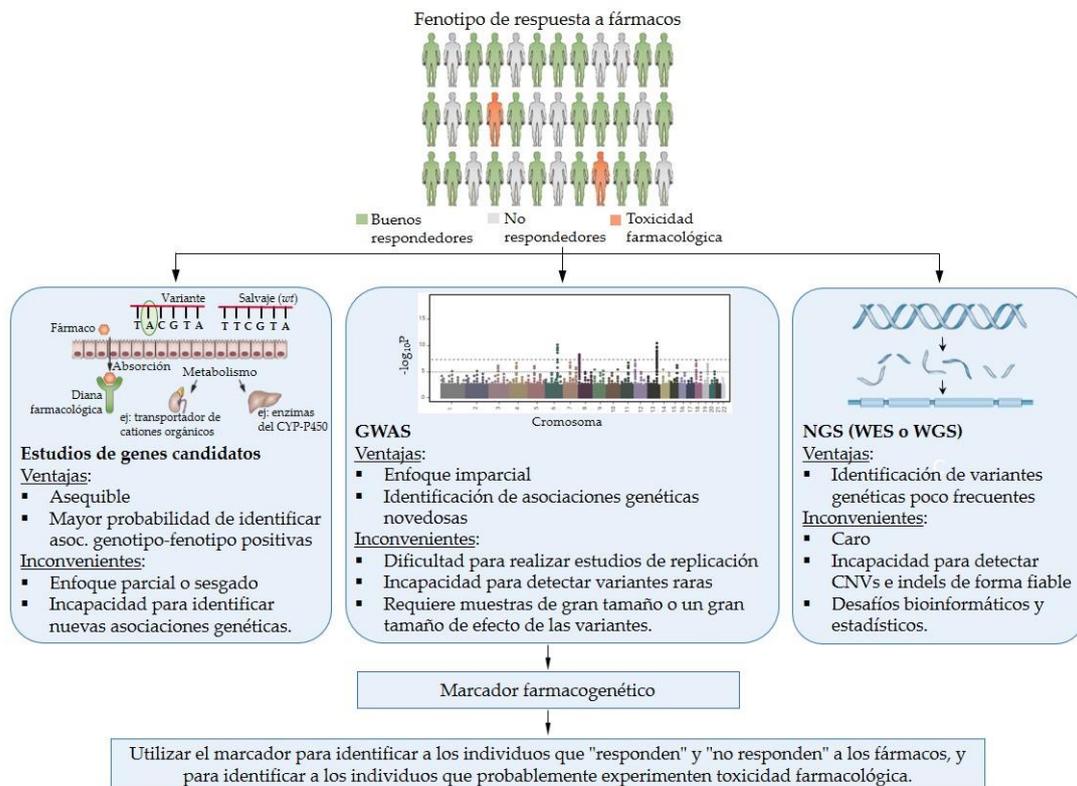


Figura 4. Estrategias para identificar marcadores PGx asociados a la eficacia (respuesta frente a ausencia de respuesta) y la toxicidad de los fármacos.

Modificada de Pereira *et al.*, 2015.⁽²⁹⁾

Los estudios de genes candidatos han permitido identificar con éxito diversos marcadores PGx, como el *CYP2C19* para el uso de clopidogrel, el *CYP2C9* o el *VKORC1* para el uso de warfarina, y el *DPYD* para el uso de 5-fluorouracilo.

Durante la última década, se ha tratado de la estrategia más ampliamente usada, ya que requiere de menor inversión y de un menor tamaño muestral a la hora de alcanzar el poder estadístico deseado. Sin embargo, la desventaja de este tipo de aproximación es su incapacidad para identificar variantes genéticas en vías aún por descubrir, que podrían estar implicadas en el mecanismo de acción e influir en el fenotipo de respuesta al fármaco.^(14,29)

2.4.2. Estudios de genoma completo

Los estudios de asociación de genoma completo (GWAS, del inglés *Genome Wide Association Studies*) son estudios observacionales en los que se analiza un gran conjunto de variantes genéticas repartidas por el genoma, normalmente variantes de nucleótido único (SNV, del inglés, *single nucleotide variants*), para identificar asociaciones con un fenotipo de respuesta a fármacos. De este modo, los GWAS son un complemento importante de los estudios de genes candidatos, ya que permiten descubrir genes o variantes PGx inesperadas, sin la necesidad de una hipótesis previa o un conocimiento exhaustivo sobre la fisiología de la enfermedad o el efecto del fármaco. En los últimos años, y gracias a este enfoque, se han descubierto o replicado 586 asociaciones únicas entre fármacos y variables.

Entre las limitaciones de los GWAS se encuentra la incapacidad de detectar variantes con efectos pequeños, para lo cual se requieren muestras de gran tamaño^E y la replicación de los hallazgos para poder inferir asociaciones entre el genotipo y el fenotipo de respuesta a fármacos. Por otro lado, los GWAS

^E En los estudios PGx resulta difícil reclutar suficientes participantes para alcanzar la potencia estadística necesaria para detectar asociaciones significativas. La población de estudio se limita a individuos con una determinada patología, de los cuales solo una fracción toma el fármaco de interés y, de estos, una proporción aún menor podría llegar a desarrollar una determinada RAM.⁽⁸⁾

identifican variantes genéticas comunes y, por lo tanto, pueden pasar por alto variantes raras, con un tamaño del efecto potencialmente importante, que podrían explicar la heredabilidad ausente en los fenotipos complejos de respuesta variable al tratamiento. Además, los costes son superiores al análisis mediante genes candidatos y, dado el manejo de grandes cantidades de datos, el análisis bioinformático de estas asociaciones resulta muy laborioso.^(14,29)

2.4.3. Estudios de secuenciación de nueva generación

La secuenciación de nueva generación (NGS, del inglés *Next-Generation Sequencing*) permite realizar análisis simultáneos de un gran número de genes asociados a cualquier fenotipo, con un enfoque imparcial. En función del tamaño del genoma que se quiera estudiar, existen tres formatos principales: secuenciación de genoma completo (WGS, del inglés *whole genome sequencing*), secuenciación de exoma completo (WES, del inglés *whole exome sequencing*) y secuenciación de subconjuntos de genes candidatos (panel de genes).

La mayoría de los estudios PGx realizados en el campo de la investigación clínica corresponden a abordajes WES y WGS. Sin embargo, existen genes en regiones genómicas complejas (p. ej., *CYP2D6* y *HLA*) y patrones de herencia (p. ej., variantes de número de copias y de inserción-delección larga) que son difíciles de interrogar de forma fiable mediante estos métodos. Además, estos formatos todavía tienen un coste elevado y la enorme cantidad de datos que generan supone un desafío bioinformático y estadístico, lo que limita su uso en entornos clínicos. Como método alternativo, se han propuesto los «paneles de genes dirigidos», capaces de capturar y secuenciar un pequeño conjunto enriquecido de dianas genómicas de manera más precisa, rápida y económica, proporcionando una menor cantidad de datos con los que lidiar en el análisis bioinformático.

Los recientes avances en las tecnologías NGS han permitido cartografiar exhaustivamente el panorama mutacional de los farmacogenes conocidos. Diversos proyectos han desvelado decenas de miles de variantes PGx que se producen con frecuencias muy bajas ($MAF < 1\%$) y que, por tanto, podrían pasar desapercibidas fácilmente en los estudios de asociación. Las predicciones computacionales indicaron que estas variantes raras representan entre el 20 y el 40 % de toda la variabilidad funcional codificada en los genes LADME, contribuyendo sustancialmente a la variabilidad interindividual en la respuesta terapéutica. Es importante destacar que la interpretación funcional de estas variantes raras no puede basarse en datos experimentales y, por lo tanto, el desarrollo de herramientas que puedan validar clínicamente y traducir de forma fiable estas variantes en recomendaciones procesables constituye una frontera interesante de la PGx contemporánea.^(14,30)

2.5. La farmacogenética en la medicina del futuro

En el campo de las ciencias ómicas, la PGx es una de las áreas de conocimiento con mayor grado de traslación. Tras la finalización del Proyecto del Genoma Humano en 2003, los avances en el conocimiento genómico y el desarrollo de las tecnologías NGS han proporcionado herramientas esenciales que han contribuido a avanzar tanto en el descubrimiento de biomarcadores PGx como en su aplicación clínica a la hora de individualizar tratamientos farmacológicos, maximizando así la eficacia de la intervención y reduciendo las RAMs.

A pesar de las evidencias en torno a los beneficios que conlleva la incorporación de la PGx en la toma de decisiones terapéuticas, y del aumento de ejemplos validados de la utilidad clínica de algunas asociaciones PGx, su aplicación en la atención sanitaria está siendo un proceso lento, costoso y muy desigual entre países e instituciones, lo que está dificultando el avance hacia la MP.

Uno de los principales retos asociados a la implementación asistencial es poner el conocimiento PGx clínicamente relevante a disposición de los médicos de forma práctica y fácilmente comprensible. Para ello, se requieren, entre otras medidas importantes, directrices objetivas basadas en la evidencia y la inversión en la infraestructura necesaria para que los profesionales sanitarios puedan comprender, interpretar y acceder a la información PGx en el momento de la prescripción del fármaco (p. ej., historia clínica electrónica y sistemas de apoyo a las decisiones clínicas).

Estas y otras limitaciones a las que se enfrenta el avance en el campo de la PGx no son insalvables, y es probable que su superación mediante esfuerzos de investigación coordinados contribuya a la aplicación de la MP en la práctica asistencial. En consecuencia, muchos pacientes son y serán (en un futuro a corto, medio y largo plazo) candidatos a beneficiarse de pruebas diagnósticas moleculares y terapias dirigidas a través de biomarcadores PGx.⁽⁶⁻⁸⁾

2.5.1. Guías de práctica clínica

Durante la última década, se ha avanzado en la síntesis de la información PGx publicada y en la elaboración de estrategias para implementar los datos PGx en la toma de decisiones relacionadas con el tratamiento. Estas directrices proporcionan interpretaciones de los resultados de las pruebas PGx para determinados pares gen-fármaco con utilidad clínica demostrada, así como recomendaciones terapéuticas (tipo de tratamiento o dosis a prescribir) según el perfil genético de cada individuo.

Varias organizaciones y grupos de trabajo, entre ellos, el CPIC, el Grupo de Trabajo Holandés de Farmacogenética (DPWG, del inglés *Dutch Pharmacogenetics Working Group*), la Red Canadiense de Farmacogenómica para la Seguridad de los Medicamentos (CPNDS, por sus siglas en inglés) y la Red Nacional Francesa de Farmacogenética (RNPGx, por sus siglas en inglés), han elaborado y publicado

guías detalladas de práctica clínica para combinaciones específicas de gen-fármaco. Sin embargo, existen discrepancias entre los diferentes grupos, tanto en la interpretación clínica de los resultados genéticos como en las pautas de prescripción elaboradas, por lo que es necesario revisar y comparar entre las diferentes fuentes a la hora de adaptar las recomendaciones clínicas a los protocolos asistenciales de cada centro.^(8,21)

En la actualidad, se han publicado 26 guías de práctica clínica, basadas en una revisión muy detallada de la literatura disponible, para más de 70 fármacos, entre los que se incluyen el clopidogrel (*CYP2C19*), las fluoropirimidinas (*DPYD*), los opioides (*CYP2D6*) y la warfarina (*CYP2C9*, *CYP4F2*, *VKORC1*) (Tabla 2). No obstante, este número de recomendaciones para interacciones específicas entre genes y fármacos probablemente aumentará con los años, ya que se van actualizando a medida que surgen nuevas evidencias.^(8,31)

Tabla 2. Parejas gen-fármaco para las cuales existe una «guía de práctica clínica» elaborada por el CPIC.

Guías de recomendación	Fármacos	Genes
<i>CFTR</i> e ivacaftor	ivacaftor	<i>CFTR</i>
<i>CYP2B6</i> y efavirenz	efavirenz	<i>CYP2B6</i>
<i>CYP2C19</i> y clopidogrel	clopidogrel	<i>CYP2C19</i>
<i>CYP2C19</i> e inhibidores de la bomba de protones	dexlansoprazol; esomeprazol; lansoprazol; omeprazol; pantoprazol; rabeprazol	<i>CYP2C19</i>
<i>CYP2C19</i> y voriconazol	voriconazol	<i>CYP2C19</i>
<i>CYP2C9</i> y antiinflamatorios no esteroideos	aceclofenaco; celecoxib; diclofenaco; flurbiprofeno; ibuprofeno; indometacina; lornoxicam; lumiracoxib; meloxicam; metamizol; nabumetona; naproxeno; piroxicam; tenoxicam	<i>CYP2C9</i>
<i>CYP2C9</i> , <i>HLA-B</i> y fenitoína	fosfenitoína; fenitoína	<i>CYP2C9</i> , <i>HLA-B</i>
<i>CYP2C9</i> , <i>VKORC1</i> , <i>CYP4F2</i> y warfarina	warfarina	<i>CYP2C9</i> , <i>CYP4F2</i> , <i>VKORC1</i>
<i>CYP2D6</i> y atomoxetina	atomoxetina	<i>CYP2D6</i>
<i>CYP2D6</i> y ondansetrón y tropisetron	ondansetrón; tropisetron	<i>CYP2D6</i>
<i>CYP2D6</i> y tamoxifeno	tamoxifeno	<i>CYP2D6</i>

INTRODUCCIÓN

<i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i> y antidepresivos tricíclicos	amitriptilina; clomipramina; desipramina; doxepina; imipramina; nortriptilina; trimipramina	<i>CYP2C19</i> , <i>CYP2D6</i>
<i>CYP2D6</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2B6</i> , <i>SLC6A4</i> , <i>HTR2A</i> e inhibidores selectivos de la recaptación de serotonina	citalopram; desvenlafaxina; duloxetina; escitalopram; fluoxetina; fluvoxamina; levomilnaciprán; milnaciprán; paroxetina; sertralina; venlafaxina; vilazodona; vortioxetina	<i>HTR2A</i> , <i>SLC6A4</i> , <i>CYP2B6</i> , <i>CYP2C19</i> , <i>CYP2D6</i>
<i>CYP2D6</i> , <i>OPRM1</i> , <i>COMT</i> y opioides	alfentanilo; buprenorfina; codeína; fentanilo; hidrocodona; hidromorfona; levometadona; metadona; morfina; naltrexona; oxicodona; remifentanilo; sufentanilo; tramadol	<i>COMT</i> , <i>CYP2D6</i> , <i>OPRM1</i>
<i>CYP3A5</i> y tacrolimus	tacrolimus	<i>CYP3A5</i>
<i>DPYD</i> y fluoropirimidinas	capecitabina; fluorouracilo; tegafur	<i>DPYD</i>
<i>G6PD</i>	ácido paraaminosalicílico; aspirina; cloranfenicol; cloroquina; clorpropamida; ciprofloxacino; dabrafenib; dapsona; dimercaprol; doxorubicina; furazolidona; gliclazida; glimepirida; glipizida; gliburida; hidroxiclороquina; mafenida; mepacrina; mesalazina; azul de metileno; moxifloxacino; ácido nalidíxico; nicorandil; nitrofurazona; nitrofurantoína; norfloxacino; ofloxacino; pegloticasa; fenazopiridina; primaquina; probenecid; quinina; rasburicasa; nitrito de sodio; sulfacetamida; sulfadiazina; sulfadimidina; sulfametoxazol/trimetoprima; sulfanilamida; sulfasalazina; sulfisoxazol; tafenoquina; tolazamida; tolbutamida; azul de toluidina; trametinib; vitamina C; vitamina K	<i>G6PD</i>
<i>HLA-A</i> , <i>HLA-B</i> y carbamazepina y oxcarbazepina	carbamazepina; oxcarbazepina	<i>HLA-A</i> , <i>HLA-B</i>
<i>HLA-B</i> y abacavir	abacavir	<i>HLA-B</i>
<i>HLA-B</i> y alopurinol	alopurinol	<i>HLA-B</i>
<i>IFNL3</i> y regímenes basados en peginterferón alfa	peginterferón alfa-2a; peginterferón alfa-2b; ribavirina	<i>IFNL3</i>
<i>MT-RNR1</i> y aminoglucósidos	amikacina; dibekacina; gentamicina; kanamicina; neomicina; netilmicina; paromomicina; plazomicina; ribostamicina; estreptomycin; tobramicina	<i>MT-RNR1</i>
<i>RYR1</i> , <i>CACNA1S</i> y agentes anestésicos volátiles	desflurano; enflurano; halotano; isoflurano; metoxiflurano; sevoflurano; succinilcolina	<i>CACNA1S</i> , <i>RYR1</i>
<i>SLCO1B1</i> , <i>ABCG2</i> , <i>CYP2C9</i> y estatinas	atorvastatina; fluvastatina; lovastatina; pitavastatina; pravastatina; rosuvastatina; simvastatina	<i>ABCG2</i> , <i>CYP2C9</i> , <i>SLCO1B1</i>
<i>TPMT</i> , <i>NUDT15</i> y tiopurinas	azatioprina; mercaptopurina; tioguanina	<i>NUDT15</i> , <i>TPMT</i>
<i>UGT1A1</i> y atazanavir	atazanavir	<i>UGT1A1</i>

Todas estas directrices están anotadas en la base de datos PharmGKB, un recurso que recopila, conserva y difunde información sobre el impacto de la variación genética humana en la respuesta a los fármacos. PharmGKB también incluye las anotaciones PGx que las agencias reguladoras, como la FDA y la Agencia Europea del Medicamento (EMA, por sus siglas en inglés), incorporan en las etiquetas de los medicamentos aprobados, ofreciendo a los profesionales sanitarios toda la información de prescripción y las recomendaciones correspondientes.^(32,33)

2.5.2. Implementación de la PGx en la práctica clínica

A pesar de que la PGx ha demostrado su utilidad clínica en los casos donde el paciente no alcanza la eficacia necesaria o aparecen efectos adversos graves, su implementación en la práctica clínica habitual ha sido lenta y se ha restringido a determinados centros especializados.

Las principales limitaciones para el uso rutinario de estas pruebas incluyen la escasa formación de médicos y farmacéuticos, la falta de utilidad clínica^F (confirmada o no por ensayos clínicos aleatorizados), la imposibilidad de acceder a las pruebas de genotipado o que estas se realicen en breves períodos de tiempo (el análisis PGx no está adaptado al ritmo asistencial), su rentabilidad, la dificultad en la interpretación de los resultados (necesidad de consenso en las recomendaciones de prescripción) y la preocupación por cuestiones de confidencialidad. De hecho, algunos autores sostienen que parece existir cierto escepticismo genético en el sentido de que los gestores y los clínicos aceptan el planteamiento de modificar la dosis en caso de insuficiencia renal o hepática basándose en modelos FC, pero no cuando la variación se debe a una variante genética que tiene el mismo efecto sobre la exposición al fármaco.^(8,10)

^F La «utilidad clínica» se establece en función de la mejora de los resultados clínicos en los pacientes, el impacto en el patrón de prescripción y la rentabilidad de la prueba PGx.

Para lograr esta implementación, existen dos tipos de estrategias a seguir:

- Genotipado caso a caso

Consiste en realizar la determinación de aquellas variantes necesarias para guiar una única decisión terapéutica al inicio del tratamiento. Un ejemplo de este modelo es el ajuste de dosis que se realiza en los pacientes portadores de variantes genéticas en *CYP2C9*, *VKORC1* y *CYP4F2* para evitar hemorragias cuando se prescribe tratamiento anticoagulante con warfarina. Este enfoque reactivo, a pesar de tener la ventaja de generar una información útil y aplicable directamente en el tratamiento de elección, presenta el inconveniente de suponer un mayor coste y un retraso en la obtención de los resultados para guiar la selección o dosificación de fármacos.^(34,35)

- Genotipado preventivo

Consiste en recopilar e integrar prospectivamente los datos sobre las principales variantes PGx en la historia clínica electrónica de aquellos pacientes pertenecientes a poblaciones de riesgo (aquellas susceptibles de recibir un fármaco con indicación PGx), de modo que esta información esté disponible antes de cualquier decisión de prescripción. Una característica especialmente atractiva de este enfoque es que las pruebas pueden ser multiplexadas, analizando simultáneamente la mayoría de los genes que contribuyen a la variación en la respuesta a los fármacos,^G y a un coste relativamente bajo, lo que evita retrasar las decisiones de prescripción hasta después de que los resultados de la prueba estén disponibles. En consecuencia, y dado que el genotipo de un individuo no cambia a lo largo de su vida, los resultados de las pruebas genéticas pueden reutilizarse a medida que se prescriben nuevos fármacos cuya respuesta pueda estar sujeta a distintas variantes PGx.^(34,36)

^G Aproximadamente el 50 % de los medicamentos prescritos habitualmente tienen un perfil PGx identificado, lo que resulta útil para la genotipificación preventiva.⁽¹⁰⁾

Varios autores han desarrollado aproximaciones de este tipo poniendo en marcha diversas iniciativas de implementación de la PGx, con el objetivo de mejorar los resultados en prevención, diagnóstico y tratamiento de los pacientes.

- El proyecto estadounidense [eMERGE-PGx](#), una colaboración entre la red de genómica y registros médicos electrónicos (eMERGE) y la red PGRN, trata de realizar un farmacogenotipado anticipado (variantes en 84 farmacogenes en casi 9.000 pacientes a los que probablemente se les prescriban fármacos de interés) integrado en la historia clínica electrónica de los pacientes, para sentar las bases de un uso clínico más generalizado de la información PGx preventiva. El análisis de los primeros 5.000 sujetos analizados reveló que > 96 % de las muestras presentaban variantes procesables de alta prioridad designadas por el CPIC.^(36,37)

- Por otro lado, en 2016 se formó el consorcio *Ubiquitous Pharmacogenomics (U-PGx)*, una red de expertos europeos cuyo objetivo era evaluar y proporcionar evidencia de la utilidad clínica de las pruebas PGx preventivas en la prevención de RAMs. Se llevó a cabo un estudio prospectivo en siete centros europeos con casi 7.000 pacientes asignados aleatoriamente a la atención estándar o a la atención guiada por el genotipo (panel PGx con 44 variantes en 12 genes clínicamente relevantes para 42 fármacos). Los resultados de este estudio mostraron que, aplicando las recomendaciones del DPWG, los pacientes con una terapia guiada por el genotipo experimentaron menos RAMs (21,0 %) que los controles que recibieron tratamiento estándar (27,7 %).^(33,38)

A medida que se dispone de técnicas moleculares más económicas y que aportan una mayor información relevante para el paciente, las pruebas reactivas están evolucionando gradualmente hacia estrategias de genotipado preventivo. Esta implantación de la PGx en el ámbito clínico debe ir acompañada, además, de un seguimiento continuo en la práctica real, de modo que el proceso asistencial se perfeccione continuamente para optimizar los resultados de los pacientes. Aplicar intervenciones preventivas o terapéuticas en aquellos indivi-

duos que tendrán un beneficio de las mismas, evitando al mismo tiempo posibles efectos secundarios, puede parecer un reto ambicioso. Sin embargo, como se explica más adelante, nos encontramos en las fases iniciales de un proceso de integración de la genómica y otras técnicas «ómicas» en la práctica clínica para mejorar la farmacoterapia.^(8,21)

3. LA ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

Las **enfermedades cardiovasculares** (ECV)^H son actualmente la principal causa de mortalidad en todo el mundo, y son responsables del 31 % del total de fallecimientos. Además, representan una causa importante de muerte prematura (es decir, de muertes antes de los 65 años), discapacidad y gasto sanitario. En las dos últimas décadas, la proporción de muertes derivadas de esta afección ha disminuido en los países desarrollados; sin embargo, debido al progresivo envejecimiento de la población y al incremento en la prevalencia de los principales factores de riesgo, la incidencia de ECV ha aumentado.^(39,40)

3.1. Síndrome coronario agudo

La **enfermedad arterial coronaria** (EAC) o cardiopatía isquémica es una de las ECV más comunes y la segunda causa de muerte en el mundo. Engloba un conjunto de cuadros clínicos cuya fisiopatología común es el estrechamiento u obstrucción de las arterias coronarias, lo que conduce a un suministro inadecuado de sangre al músculo cardíaco.

El **síndrome coronario agudo** (SCA) comprende las manifestaciones agudas de la EAC englobando el espectro de síntomas clínicos que reflejan la isquemia miocárdica aguda. La principal causa del SCA es la rotura o erosión de una placa aterosclerótica coronaria y la formación de trombos con inflamación concomitante, que conducen a la interrupción brusca del riego sanguíneo y a la

^H De acuerdo con la OMS, las ECV engloban aquellos trastornos del corazón y los vasos sanguíneos.

isquemia miocárdica distal. El espectro clínico del SCA incluye tres entidades clínicas, las cuales se gradúan en función de la gravedad y la rapidez de la actuación necesaria para su manejo.

- En el infarto de miocardio con elevación del segmento ST (**IAMCEST**), la arteria coronaria está completa o prácticamente ocluida, lo que provoca isquemia transmural en el electrocardiograma (ECG) (elevación del segmento ST), síntomas de angina y muerte celular miocárdica en los análisis de troponina. El diagnóstico precoz y la reperfusión temprana (restablecimiento del flujo sanguíneo en la arteria ocluida) son las formas más eficaces de preservar la viabilidad del miocardio isquémico y limitar el tamaño del infarto.

- En el infarto de miocardio sin elevación del segmento ST (**IAMSEST**), la arteria coronaria está al menos parcialmente ocluida, lo que provoca isquemia subendocárdica, síntomas de angina y muerte celular miocárdica; sin embargo, no hay elevación del segmento ST en el ECG.

- En la angina inestable (**AI**), el trombo de la arteria coronaria produce síntomas o cambios en el ECG típicos de la isquemia miocárdica; sin embargo, no hay muerte celular miocárdica mensurable (ausencia de biomarcadores).

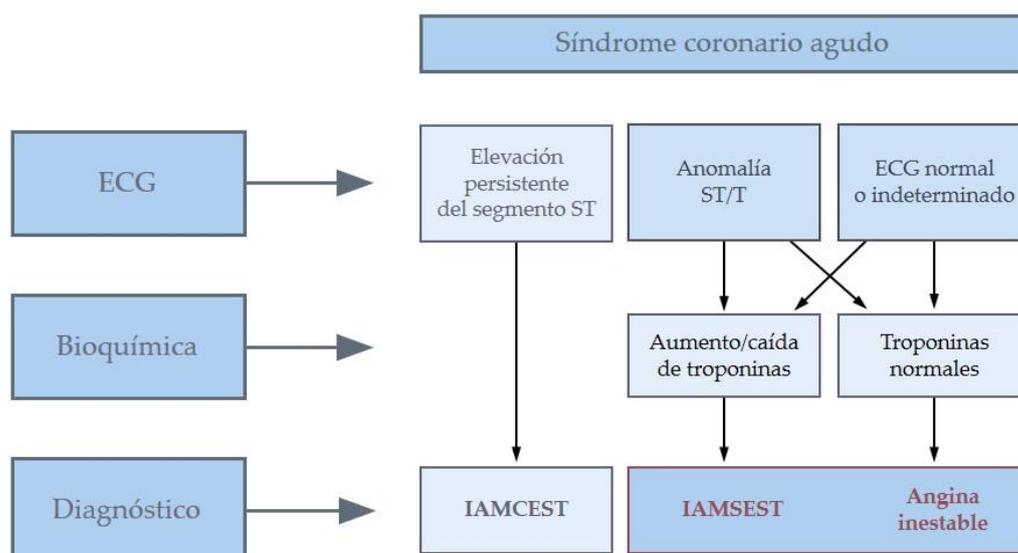


Figura 5. Espectro de los síndromes coronarios agudos.
Tomada de Sánchez-Ramos, 2017.⁽¹⁶⁾

En última instancia, la presentación clínica y el resultado dependerán de la severidad y la duración de la isquemia del miocardio generada por la trombosis del vaso afectado (Figura 5). Aunque el SCA es la principal preocupación de la mayoría de los profesionales sanitarios cuando atienden a un paciente con síntomas compatibles, son frecuentes las patologías alternativas que conducen a una lesión miocárdica (p. ej., vasoespasma coronario, sepsis, hipotensión o anemia). Sin embargo, deben de observarse síntomas o signos de isquemia y un aumento o caída en los niveles de troponina para distinguir lo que sería un SCA de otro tipo de daño miocárdico.^(16,41)

3.2. Epidemiología

Como ya se ha comentado, las ECV han sido la principal causa mundial de mortalidad prematura durante mucho tiempo. Según las estadísticas, se prevé que en 2030 morirán por esta afección 23,6 millones de personas al año. En la actualidad, las ECV son responsables del 49 % de las muertes en Europa, con un coste anual de la asistencia médica por cardiopatías en torno a los 192.000 millones de euros. En concreto, en 2021, las ECV fueron la causa de defunción del 30 % de la población en España, casi la mitad de ellas debido a cardiopatías isquémicas, lo que convierte a este tipo de enfermedades en un importante problema de salud pública.^(42,43)

Si nos centramos en la EAC, se estima que cada año se diagnostican más de 7 millones de personas con SCA en todo el mundo. El Registro Global de Eventos Coronarios Agudos (GRACE, por sus siglas en inglés) documentó que el IAMCEST constituye aproximadamente el 25-40 % de las presentaciones de SCA y el SCASEST (IAMSEST o AI, en función de la determinación de troponinas, positiva o negativa) representa aproximadamente el 70 % de los SCA. No obstante, los avances en las terapias de reperfusión y las medidas preventivas han contribuido a reducir la mortalidad por SCA (a pesar del aumento de la prevalencia de los factores de riesgo).⁽⁴⁴⁾

Los factores de riesgo del SCA son comunes al resto de patologías cardiovasculares (CV), existiendo diversas comorbilidades que aumentan el riesgo de eventos adversos derivados de la cardiopatía isquémica. Algunos de estos factores son permanentes (p. ej., edad, sexo, herencia genética) y otros son modificables, es decir, se puede influir en ellos (p. ej., tabaquismo, inactividad física, hipertensión arterial, diabetes tipo 2, dislipidemia y obesidad).⁽⁴⁵⁾

3.3. Fisiopatología de la enfermedad

El responsable fisiopatológico fundamental de la ECV es la **aterotrombosis**, un proceso sistémico en el que los lípidos se acumulan en las paredes de los vasos sanguíneos, desarrollan gradualmente placas que estrechan la luz y alteran el flujo sanguíneo.

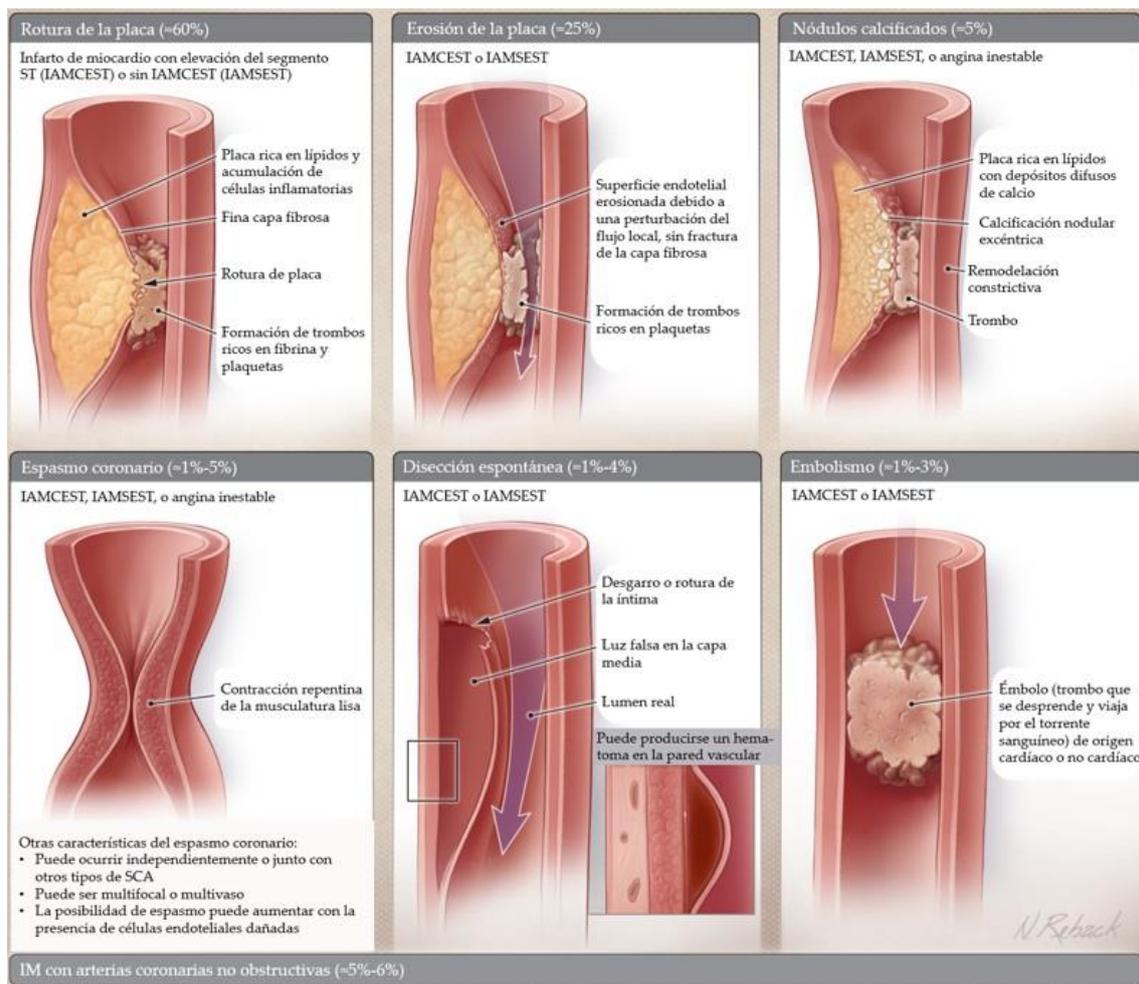


Figura 6. Tipos de SCA: rotura de la placa y otras etiologías del SCA. Modificada de Bhatt *et al.*, 2022.⁽⁴⁴⁾

Aproximadamente el 64 % de los SCA se deben a la rotura de una placa aterosclerótica y la inflamación concomitante (IAM de tipo 1), lo que puede activar la cascada de coagulación y formar un trombo en una o más arterias coronarias (Figura 6). Sin embargo, una proporción no desdeñable de pacientes experimentan un SCA debido a la erosión de la placa, la presencia de nódulos calcificados, el espasmo coronario o la disección espontánea de la arteria coronaria (IAM de tipo 2).^(44,46)

Rotura de una placa aterosclerótica coronaria

Una «placa vulnerable» puede describirse como una lesión aterosclerótica que tiene un alto riesgo de rotura y se caracteriza por un gran núcleo rico en lípidos o necrótico que está separado de la luz del vaso por una fina capa fibrosa (fibroateroma) que incluye componentes de la matriz extracelular. El mecanismo subyacente a la alteración de la denominada placa vulnerable se basa en la progresión aterosclerótica a través de la expansión del núcleo lipídico y la acumulación de macrófagos en los bordes de la placa, lo que conduce a su rotura.

Tras la rotura de la placa, el material trombogénico que reside en su interior queda expuesto a la sangre y a los factores de coagulación circulantes, lo que da lugar a la formación de un trombo en la placa rota (Figura 7). Varios mediadores inflamatorios, como el interferón- γ y la interleucina-1, bloquean la producción de elementos de la matriz extracelular y estimulan a los macrófagos y otras células para que liberen proteasas que degradan las moléculas extracelulares. Los mismos factores desencadenantes que deterioran la fina cubierta del ateroma estimulan la producción de elementos protrombóticos, potenciando la formación de coágulos. Los elementos del núcleo expuestos, incluidos el factor de von Willebrand (vWF, por sus siglas en inglés), el colágeno y el factor tisular, activan las plaquetas circulantes, que a su vez potencian el proceso coagulativo. Esto da lugar a una rápida formación de trombos y a la consiguiente isquemia cardíaca.⁽⁴¹⁾

La reducción del flujo sanguíneo al miocardio provoca una disminución de la cantidad de oxígeno y nutrientes que llegan al músculo, lo que puede generar daño en el tejido. Si el flujo sanguíneo no se restablece en un plazo de tiempo breve, o si la desestabilización de la placa produce un trombo, se produce el infarto de miocardio, una lesión miocárdica irreversible debida a la isquemia sostenida.⁽⁴⁴⁾

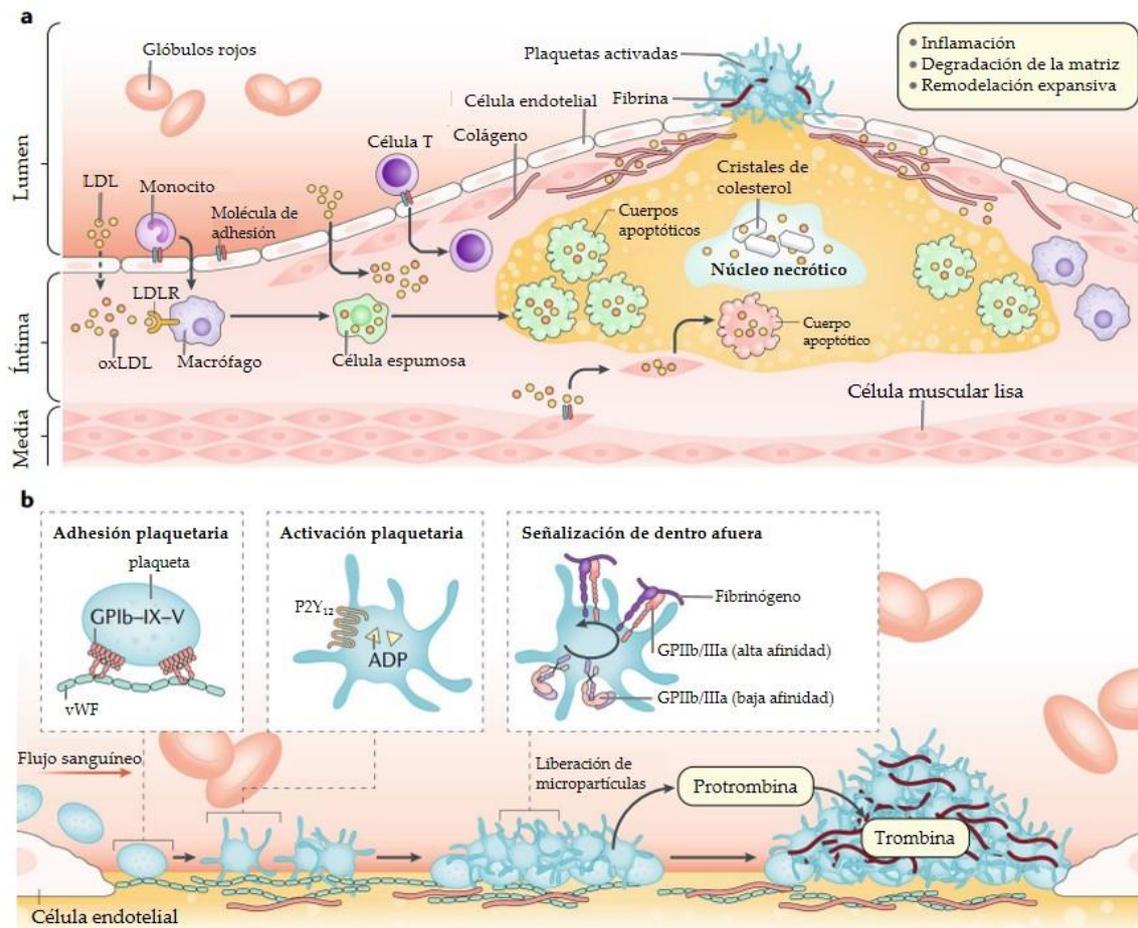


Figura 7. Desarrollo de la placa de ateroma, rotura de la placa y formación de trombos.

Modificada de Vogel *et al.*, 2019.⁽⁴¹⁾

La muerte de las células del miocardio provoca la liberación de creatincinasa (o creatina quinasa, CK) y troponina en el plasma. Existen diferentes isoformas de ambos marcadores, siendo la CK-MB (*CK myocardial band*), la troponina I cardíaca (cTnI) y la troponina T cardíaca (cTnT) específicas de la lesión miocárdica, por lo que se utilizan como biomarcadores para el diagnóstico precoz del infarto de miocardio y para la evaluación del pronóstico.

Dado que el miocardio tiene un potencial regenerativo insignificante, los cardiomiocitos muertos son sustituidos por un tejido cicatricial no contráctil. Si se daña una gran zona del miocardio y se sustituye por tejido fibroso, este cambio puede provocar alteraciones sustanciales en la geometría del ventrículo. Mientras que las zonas infartadas se adelgazan, el resto del miocardio sufre hipertrofia. La imposibilidad de normalizar el aumento de las tensiones de la pared da lugar a una dilatación ventricular progresiva. Esta remodelación adversa tiene consecuencias sustanciales para la contractilidad del ventrículo y puede conducir finalmente a la insuficiencia cardíaca.⁽⁴¹⁾

3.4. Diagnóstico

El diagnóstico del SCA se basa en una combinación de la presentación clínica del paciente, los resultados de las pruebas diagnósticas y sus antecedentes médicos.

El síntoma más característico del SCA, derivado de la obstrucción del flujo en las coronarias, es el dolor en el pecho. El malestar torácico típico se caracteriza por una sensación retroesternal de dolor, presión o pesadez («angina») que se irradia al brazo izquierdo, al cuello o a la mandíbula. Es frecuente la presencia de otros síntomas como la sudoración, náuseas o vómitos, palpitaciones, mareos, disnea y síncope. La exacerbación de los síntomas ante el esfuerzo físico y su alivio en reposo aumentan la probabilidad de isquemia miocárdica.

Cuando se sospecha un SCA, las guías de práctica clínica actuales recomiendan realizar un ECG en los 10 minutos siguientes a la atención del paciente en un servicio de urgencias (hospitalario o extrahospitalario) para establecer el diagnóstico. El hallazgo de una elevación persistente del segmento ST indica un IAMCEST. No obstante, es importante destacar que más del 50 % de los pacientes que acuden al servicio de urgencias con dolor torácico acabarán recibiendo un diagnóstico distinto del IAM. Por lo tanto, cuando un paciente

presenta síntomas de SCA pero no tiene elevación del segmento ST, se debe realizar una prueba de biomarcadores.

Los «[biomarcadores cardíacos](#)» son proteínas que se liberan al torrente sanguíneo cuando hay un daño en el músculo cardíaco. Suelen aparecer en diferentes períodos después de la lesión y su concentración desciende a diferentes velocidades, complementando la evaluación clínica y el ECG. El biomarcador preferido para el diagnóstico del IAM son las cTn T/I, más sensibles y con mayor especificidad tisular miocárdica que la CK-MB o la mioglobina.

Si la presentación clínica es compatible con isquemia miocárdica, una elevación dinámica de la cTn por encima del percentil 99 de individuos sanos indica un IAM (lesión miocárdica). En los pacientes con IAM, los niveles de cTn aumentan rápidamente tras el inicio de los síntomas y permanecen elevados durante un periodo de tiempo variable, por lo que las mediciones seriadas son útiles a fin de estratificar el riesgo.^(41,44,45)

3.5. Manejo

El tratamiento agudo del IAM ha evolucionado notablemente, en parte debido al aumento de los avances médicos, y se centra en proporcionar una reperfusión eficaz y urgente del miocardio mediante la temprana recanalización de la arteria coronaria ocluida. De este modo, se limita la isquemia miocárdica y el tamaño del infarto, reduciendo así el riesgo de complicaciones posteriores y de insuficiencia cardíaca. La reperfusión se puede conseguir mediante un tratamiento fibrinolítico que disuelve el trombo oclusivo y/o mediante una intervención coronaria percutánea (ICP). Esta última es el mejor método de reperfusión (con una tasa de recanalización efectiva superior al 90 %).

Cuando el ECG sugiere un [IAMCEST](#), debe realizarse una angiografía coronaria urgente para confirmar el diagnóstico y tratar con una ICP inmediata. La reperfusión rápida con ICP primaria ha mostrado mejores resultados en

estos pacientes si se realiza en los 120 minutos siguientes al diagnóstico, ya que reduce la mortalidad del 9 % al 7 %. Si no es posible realizar una ICP en dicho intervalo de tiempo desde la presentación inicial del IAMCEST, debe administrarse un tratamiento fibrinolítico, a menos que esté contraindicado, seguido del traslado a un centro en el que la angiografía¹ y la ICP puedan realizarse en las 6 a 24 horas siguientes.

Para los pacientes con **IAMSEST**, una vez confirmado el diagnóstico, el tratamiento agudo incluye antiagregación plaquetaria y anticoagulación, y debe considerarse la realización de una coronariografía, con el fin de detectar lesiones coronarias que puedan requerir tratamiento. En ausencia de comorbilidades y contraindicaciones que limiten la vida del paciente, debe considerarse la posibilidad de realizar una ICP primaria, especialmente si este presenta factores de riesgo como diabetes, insuficiencia renal e insuficiencia cardiaca.^(41,44)

3.5.1. Terapia de reperfusión

La «**ICP**» es una estrategia de tratamiento destinada a prevenir la isquemia miocárdica o a restablecer la perfusión miocárdica. Consiste en una técnica que se basa en el uso de un catéter para dilatar el vaso estrechado con un balón inflable (angioplastia con balón) y mantenerlo abierto mediante la implantación consecutiva de un stent (pequeño tubo de malla metálica).

Tras la ICP, se inicia el tratamiento antiplaquetario dual (DAPT, del inglés *dual antiplatelet therapy*), que se continúa durante un periodo de al menos 12 meses, seguido de un tratamiento antiplaquetario único a largo plazo para la prevención de complicaciones relacionadas con el stent, y como estrategia general de prevención secundaria de la EAC en segmentos coronarios no tratados.

¹ Una «**angiografía coronaria**» o «**coronariografía**» es un procedimiento de diagnóstico por imagen que utiliza un tinte especial (material de contraste) y rayos X para ver cómo fluye la sangre por las arterias del corazón.

Existen casos en los que la obstrucción de las arterias coronarias es demasiado severa o extensa para ser tratada mediante la ICP, por lo que se recurre a la cirugía de revascularización coronaria (CABG, del inglés *coronary artery bypass grafting*) para tratar el SCA. El cirujano utiliza una arteria o vena de otra parte del cuerpo para desviar el flujo sanguíneo alrededor de las arterias obstruidas. Aproximadamente el 5-10 % de los pacientes con SCASEST requieren una CABG y representan un subgrupo difícil, dadas sus características de alto riesgo.^(41,45,47)

3.5.2. Tratamiento farmacológico concomitante

En la disminución de la mortalidad en pacientes con cardiopatía isquémica, además de la reperfusión temprana, las directrices internacionales recomiendan un abordaje farmacoterapéutico temprano. El tratamiento farmacológico tiene dos objetivos principales: aliviar los síntomas y restablecer un flujo coronario adecuado para evitar así el daño miocárdico irreversible.

○ Tratamiento anticoagulante

El objetivo del tratamiento anticoagulante es bloquear de manera eficaz los efectos mediados por la trombina, un potente activador plaquetario (Figura 8). Para proporcionar una anticoagulación rápida y eficaz, existen varias opciones que, en el contexto de la ICP primaria, deben administrarse por vía intravenosa:

- ❖ inhibidores indirectos de la trombina (factor IIa) y del factor Xa:
 - heparina no-fraccionada. Se une a la antitrombina III, un péptido que inhibe varios de los factores de coagulación activados, y aumenta su actividad.
 - heparina de bajo peso molecular. También se une a la antitrombina III, pero no necesita monitorización.
- ❖ inhibidor directo de la trombina (bivalirudina). Se usa en pacientes con alto riesgo de hemorragia o con trombocitopenia inducida por la heparina.

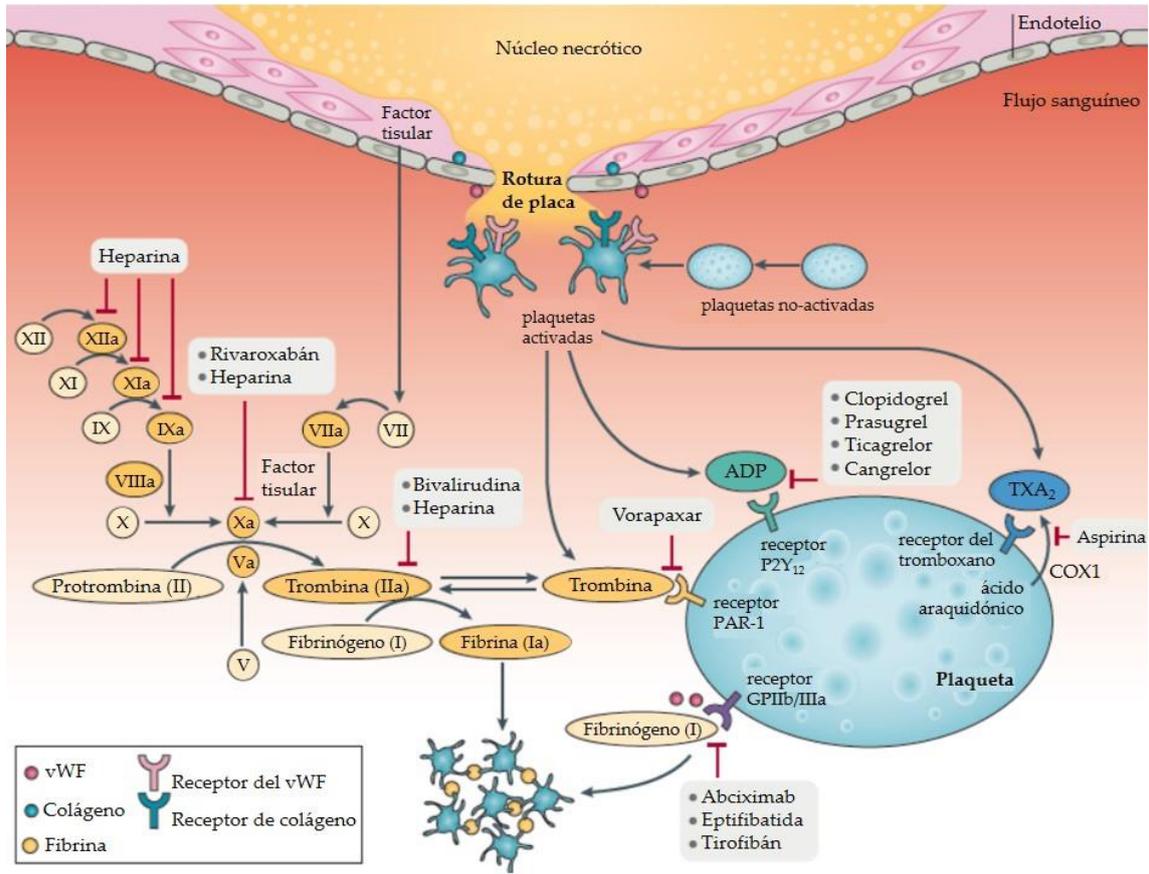


Figura 8. Mecanismo de formación del trombo durante el SCA y objetivos de los agentes antitrombóticos disponibles en la actualidad.

Modificada de Franchi *et al.*, 2017.⁽⁴⁷⁾

o Terapia antiplaquetaria

El objetivo de los antiagregantes plaquetarios es evitar que las plaquetas formen un trombo y, por lo tanto, son cruciales para el tratamiento de los pacientes durante y después del IAMCEST. Independientemente de la terapia de revascularización a la que se someta al paciente, se deben administrar antiagregantes en la fase aguda del IAM y mantenerse como tratamiento crónico, dado su efecto en la prevención secundaria de complicaciones trombóticas.

▪ Los antiagregantes plaquetarios intravenosos se utilizan sobre todo en el laboratorio de cateterismo, reduciendo las complicaciones isquémicas periprocedimiento. Incluyen: bloqueadores de los receptores de la glucoproteína IIb/IIIa (GPIIb/IIIa) e inhibidores del receptor P2Y₁₂ (cangrelor).

▪ El tratamiento estándar a largo plazo de los pacientes con IAMCEST es la doble terapia antiagregante que combina ácido acetilsalicílico y un inhibidor oral del purinoceptor P2Y₁₂, durante al menos 1 año si no se producen complicaciones hemorrágicas. Existen tres opciones de inhibidores orales de P2Y₁₂:

- El clopidogrel sigue siendo el fármaco de elección en los pacientes con alto riesgo de hemorragia o si los agentes más nuevos no están disponibles, están contraindicados o son mal tolerados.

- Sin embargo, las directrices actuales recomiendan los potentes inhibidores orales de P2Y₁₂ (ticagrelor o prasugrel) dados los efectos beneficiosos documentados en la reducción de los eventos isquémicos, aunque con un mayor riesgo de hemorragia en comparación con el clopidogrel.^(41,45,47)

Los pacientes que han sufrido una enfermedad coronaria se consideran, desde ese momento, pacientes de alto riesgo CV, por lo que debe controlarse cualquier factor de riesgo para futuros eventos cardíacos. Debido a esto, además de los tratamientos antitrombóticos, deben considerarse y establecerse varios tratamientos farmacológicos antes del alta en los pacientes con IAMCEST.

○ Tratamiento antianginoso. Generalmente nitroglicerina, ya que se trata de un potente vasodilatador que mejora la perfusión coronaria y disminuye los requerimientos de oxígeno cardíacos, aliviando las molestias provocadas por la isquemia.

○ Tratamiento antihipertensivo. El tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) o antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARA-II) debe iniciarse durante la hospitalización en todos los pacientes con un SCA. Estos fármacos actúan sobre el remodelado ventricular y disminuyen la actividad simpática, aumentando el tono vagal, por lo que su uso se ha asociado a una reducción significativa de la mortalidad total y las comorbilidades CV en pacientes con un IAM.

- β-bloqueantes. Estos fármacos actúan directamente sobre los receptores β-adrenérgicos (β1 y β2), reduciendo la frecuencia cardiaca, la contractilidad y la conducción aurículo-ventricular. Además de equilibrar el consumo y el aporte de oxígeno en el miocardio, también alivian el dolor torácico y reducen la incidencia de arritmias ventriculares.

- Tratamiento hipolipemiante. El beneficio del uso de estatinas, como terapia de reducción de lípidos después de un ingreso hospitalario por IAM, incluye la reducción de la mortalidad total, así como de otros eventos coronarios que pueden sufrir los pacientes con EAC establecida.^(41,44,45)

4. TRATAMIENTO ANTIAGREGANTE

Las plaquetas desempeñan un papel fundamental en el desarrollo de la trombosis arterial y de los eventos CV subsiguientes a través de diversos receptores y vías de señalización. Este hecho ha favorecido el desarrollo de múltiples fármacos con el objetivo de inhibir las funciones plaquetarias, lo que ha convertido la «terapia antiagregante plaquetaria» en la piedra angular del tratamiento de las ECV y, en particular, de la cardiopatía isquémica.

La activación de las plaquetas puede producirse a través de múltiples vías, ya que sus agonistas específicos (p. ej., tromboxano A₂, adenosín difosfato (ADP, del inglés *adenosine diphosphate*), trombina o colágeno) pueden activar diferentes receptores de superficie. Los antiagregantes plaquetarios interfieren en el proceso de activación mediante el bloqueo selectivo de estos receptores, lo que reduce el riesgo de trombosis arterial, pero aumenta el riesgo de complicaciones hemorrágicas. Actualmente se dispone de varios anticoagulantes y antiagregantes plaquetarios, por lo que encontrar el cóctel óptimo es un reto clínico que debe adaptarse a cada paciente.⁽⁴⁸⁾

4.1. Ácido acetilsalicílico

El «ácido acetilsalicílico» (AAS) desempeña un papel fundamental en la prevención farmacológica de la trombosis arterial, siendo el tratamiento de primera línea establecido en los pacientes con SCA. De hecho, en pacientes con IAM, el uso de aspirina se asocia a una reducción del riesgo relativo del 30 % en la incidencia de episodios CV.

Su mecanismo de acción consiste en la inhibición irreversible de la enzima ciclooxigenasa 1 (COX-1) de las plaquetas, reduciendo así la conversión del ácido araquidónico en tromboxano A₂, un potente vasoconstrictor e inductor de la agregación plaquetaria (Figura 8). La inhibición de la COX-1 es prácticamente completa incluso a dosis bajas y el efecto antiplaquetario irreversible persiste toda la vida de la plaqueta (7-10 días). Por lo tanto, en el contexto de los SCASEST y los IAMCEST tratados con ICP, las directrices actuales recomiendan dosis bajas de aspirina (75-100 mg/día) administradas por vía oral, ya que dosis más altas no proporcionan una mayor protección isquémica, sino que aumentan el riesgo de hemorragias.

Por otro lado, dado que la aspirina actúa específicamente sobre la COX-1, es importante tener en cuenta que este fármaco no es eficaz para reducir la activación plaquetaria estimulada por otros factores (como el ADP, la trombina o el colágeno), lo que expone a los pacientes a un riesgo trombótico residual tanto en la fase aguda como a largo plazo. Este hecho subraya la necesidad de tratamientos complementarios dirigidos a otras vías.^(48,49)

4.2. Inhibidores del receptor P2Y₁₂

El ADP contribuye a la activación plaquetaria durante la hemostasia protectora y en la trombosis patológica. El ADP, liberado por las plaquetas activadas, se une a los receptores específicos de la membrana plaquetaria, acoplados a proteína G: los receptores P2Y₁ y P2Y₁₂ (Figura 8). La activación del

receptor P2Y₁ inicia una fase débil y transitoria de agregación plaquetaria, mientras que la unión del ADP al receptor P2Y₁₂ da lugar a cascadas de señalización que amplifican y mantienen la agregación plaquetaria. El papel central del receptor P2Y₁₂ en la amplificación de la activación plaquetaria y la formación de trombos estables ha convertido a este receptor en una diana importante en el tratamiento y la prevención de la trombosis arterial.⁽⁵⁰⁾

El primer inhibidor de los receptores P2Y₁₂ aprobado por la FDA fue la tienopiridina [ticlopidina](#), que, en combinación con la aspirina, se utilizó para la prevención de eventos trombóticos en pacientes sometidos a ICP. Sin embargo, su uso se ha abandonado en gran medida debido a sus frecuentes reacciones adversas y a los mejores resultados clínicos obtenidos con el clopidogrel.⁽⁴⁷⁾

El tratamiento estándar actual para prevenir las complicaciones recurrentes en pacientes con SCA, durante y después de la ICP con implantación de stent, es la «doble terapia antiagregante», que consiste en la combinación de AAS junto con un inhibidor oral de los receptores de ADP, lo que garantiza el bloqueo simultáneo de dos de las vías de activación plaquetaria. Las directrices actuales recomiendan mantener esta combinación durante al menos 12 meses,^J salvo contraindicaciones, teniendo en cuenta las características individuales de cada paciente (p. ej., la anatomía coronaria, la presentación clínica, el uso de un stent liberador de fármacos, la edad, la función renal o el riesgo de hemorragia) así como el equilibrio entre el riesgo isquémico y hemorrágico.⁽⁴⁵⁾

4.2.1. Clopidogrel

El [clopidogrel](#) se trata de una tienopiridina tan eficaz como la ticlopidina para prevenir los episodios isquémicos periprocedimiento y la trombosis subaguda del stent tras la ICP, pero con un perfil de seguridad más favorable. Se administra

^J En situaciones clínicas concretas, esta duración puede acortarse, ampliarse o modificarse ([desescalada del DAPT](#): cambio de prasugrel/ticagrelor a clopidogrel).

por vía oral y, al tratarse de un profármaco, requiere una transformación metabólica para ejercer su efecto antiagregante.

Tras su absorción intestinal (limitada por la P-gp, una bomba de expulsión intestinal codificada por el gen *ABCB1*), aproximadamente el 85 % del fármaco es hidrolizado por la carboxilesterasa-1 (CES1) a su forma inactiva (ácido carboxílico). El 15 % restante es rápidamente metabolizado por las isoenzimas hepáticas del CYP (principalmente CYP2C19), en un proceso de oxidación en dos etapas que genera un metabolito activo altamente inestable (Figura 9). Una vez liberado en la circulación sistémica, el compuesto activo tiol se une de forma específica e irreversible al receptor purinérgico P2Y₁₂ de las plaquetas, lo que modifica la forma del receptor e inhibe la activación plaquetaria mediada por el ADP y la agregación durante la vida útil de la plaqueta.

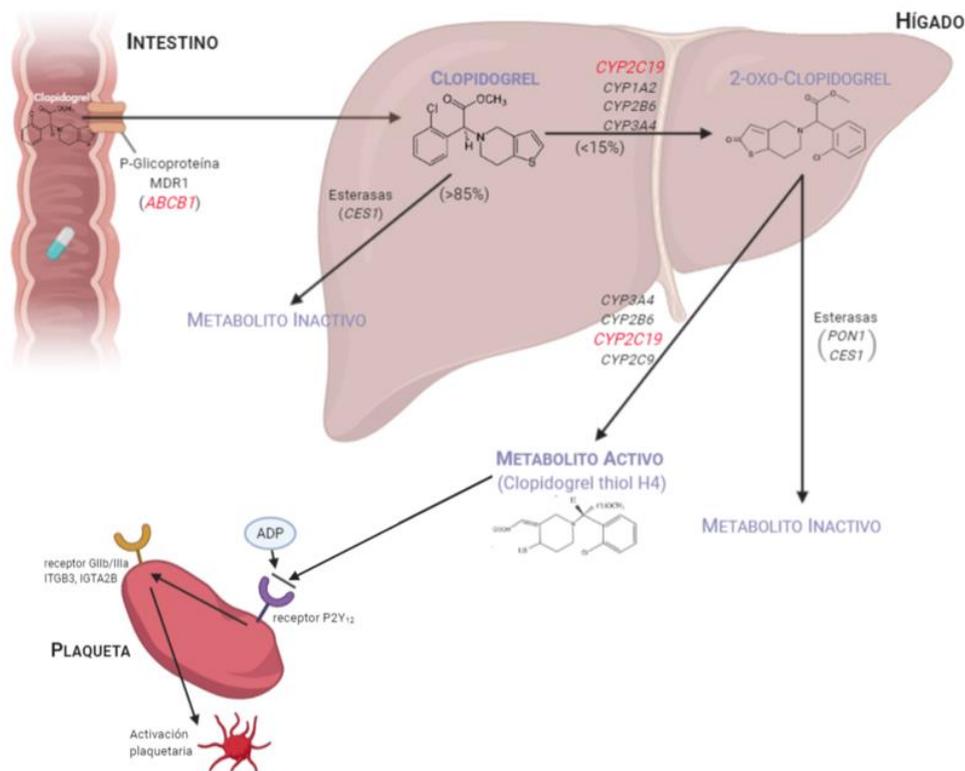


Figura 9. Absorción, metabolismo y mecanismo de acción terapéutica del clopidogrel.

Actualmente, se recomienda el uso de clopidogrel (300-600 mg de dosis de carga y 75 mg de dosis de mantenimiento diario) para tratar a pacientes con IAMCEST, siendo el fármaco de elección en aquellos con alto riesgo de hemorragia.

Uno de los principales inconvenientes de su uso es la naturaleza heterogénea de la respuesta farmacológica individual al clopidogrel. Varios estudios FD han demostrado que aproximadamente el 30-40 % de los pacientes presentan una elevada reactividad plaquetaria (HTPR, del inglés *High on-Treatment Platelet Reactivity*) mientras están en tratamiento con este fármaco, lo que se traduce en un mayor riesgo de sufrir eventos CV, incluida la trombosis del stent. Este hecho subraya la necesidad de contar con agentes antiplaquetarios más potentes, especialmente para los pacientes con un elevado ambiente protrombótico, como aquellos que sufren un IAMCEST.^(49,51)

Variabilidad en la respuesta al clopidogrel

Aunque es eficaz en la mayoría de los pacientes, el clopidogrel presenta una amplia variabilidad individual en cuanto a su capacidad antiagregante, la llamada «[resistencia al clopidogrel](#)». Existe entre un 20-40 % de pacientes, clasificados como no-respondedores o resistentes al fármaco, que no consiguen una inhibición adecuada de la agregación plaquetaria inducida por ADP tras el tratamiento, lo que se asocia con un mayor riesgo de sufrir eventos cardíacos, cerebrovasculares y arteriales periféricos.⁽¹⁶⁾

Se han identificado múltiples mecanismos que contribuyen a esta variabilidad en la respuesta al clopidogrel ([Figura 10](#)), entre ellos:

- Factores clínicos, como el aumento de la edad o del índice de masa corporal (IMC), la diabetes mellitus (DM), la dislipidemia, la enfermedad renal crónica, y las interacciones entre fármacos (p. ej., fármacos metabolizados por las isoformas del CYP, como los inhibidores de la bomba de protones).
- Factores celulares. Se ha indicado que un recambio plaquetario acelerado, típico de los pacientes con DM, reduce la capacidad de respuesta del clopidogrel. Además, se ha propuesto que la variabilidad en el número de receptores P2Y₁₂

y en su afinidad por el metabolito activo, así como la variabilidad en las vías de señalización intrínsecas, puede estar involucrada en la respuesta variable al fármaco.

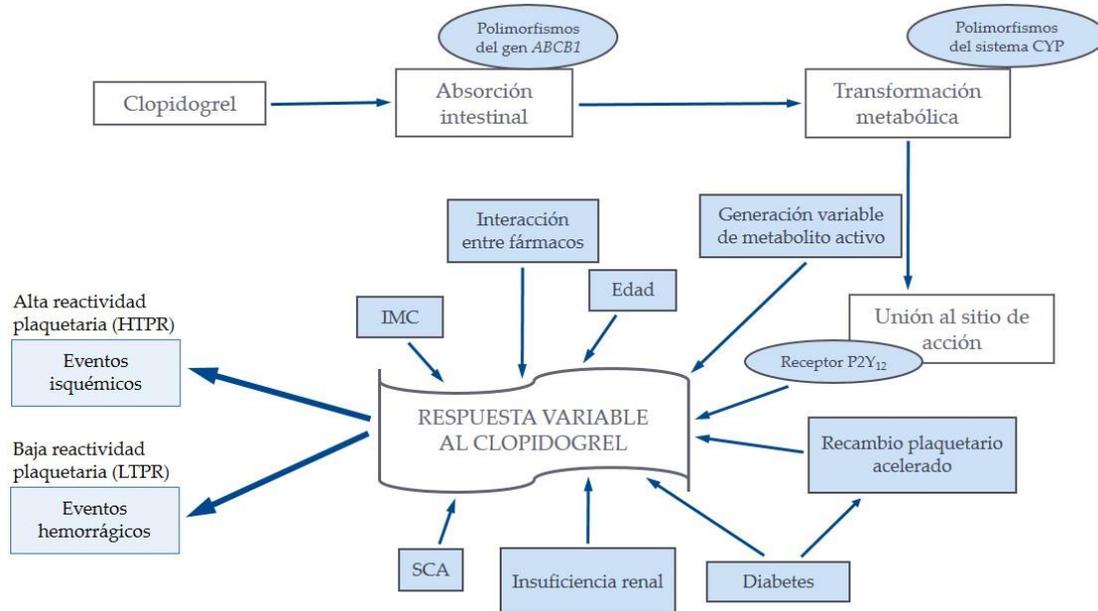


Figura 10. Mecanismos implicados en la reactividad plaquetaria y en los resultados clínicos durante el tratamiento con clopidogrel. Modificada de Tantry *et al.*, 2018.⁽⁵²⁾

- **Factores genéticos.** Numerosos estudios PGx han evaluado polimorfismos de diferentes genes involucrados en la FC y la FD del clopidogrel. Entre ellos se incluyen genes que codifican proteínas, enzimas o receptores que participan en la absorción intestinal, el metabolismo hepático y la actividad biológica (unión al sitio de acción) del fármaco, influyendo sustancialmente en su eficacia. Sin embargo, a pesar de los múltiples polimorfismos identificados, las variaciones genéticas de la enzima hepática CYP2C19, un determinante clave en ambos pasos metabólicos de la transformación del clopidogrel en su metabolito activo, se han asociado de forma consistente con la variabilidad interindividual en el perfil FC/FD del clopidogrel. En particular, la presencia de alelos LoF en el gen *CYP2C19* (principalmente *CYP2C19*2*) se ha relacionado con un metabolismo reducido de clopidogrel y una menor formación de su metabolito activo, lo que a su vez conduce a una menor inhibición plaquetaria y, en consecuencia,

a un aumento del riesgo de eventos isquémicos. En el apartado “4.3.1.Farmacogenética del clopidogrel” se detallará más en profundidad el papel del genotipo del *CYP2C19* en la respuesta a este fármaco.^(49,53)

A pesar de los diversos factores que contribuyen a la resistencia al clopidogrel, actualmente el mecanismo exacto sigue sin estar completamente definido. Un estudio de Frelinger *et al.*,⁽⁵⁴⁾ realizado en 160 sujetos sanos que tomaban clopidogrel, reveló que todos los factores genéticos y no genéticos conocidos representaban juntos solo el 18 % de la variación FC y el 32-64 % de la variación FD del clopidogrel. Esto sugiere que existe una importante variabilidad en la respuesta al clopidogrel aún sin explicar.⁽⁵⁵⁾

4.2.2. Nuevos antiagregantes: prasugrel y ticagrelor

Desde 2009 se dispone en la práctica clínica de nuevos antagonistas P2Y₁₂ que proporcionan una inhibición más potente y constante de las plaquetas. Estos antiagregantes plaquetarios se utilizan en el tratamiento de la enfermedad coronaria, incluyendo el SCA, y en la prevención secundaria de episodios CV en personas con antecedentes de enfermedad coronaria, accidente cerebrovascular o enfermedad vascular periférica. Es importante tener en cuenta que estos medicamentos pueden aumentar el riesgo de hemorragias, por lo que deben utilizarse con precaución. Además, algunos pacientes pueden ser resistentes a estos fármacos, lo que puede aumentar el riesgo de eventos CV. Por lo tanto, se recomienda realizar una evaluación individualizada del riesgo y el beneficio en cada paciente antes de prescribir estos medicamentos.⁽⁵⁶⁾

- Prasugrel

Al igual que el clopidogrel, consiste en una tienopiridina oral, pero con 10 veces mayor actividad inhibitoria del receptor P2Y₁₂ y con un perfil FC más favorable. Se trata también de un profármaco que, a diferencia del clopidogrel,

experimenta una absorción completa en el intestino, donde es hidrolizado rápidamente por la carboxilesterasa-2 (CES2) para formar un metabolito intermedio tiolactona. Este compuesto sufre un metabolismo hepático de un solo paso, mediado principalmente por las enzimas CYP3A4 y CYP2B6, y en menor medida por CYP2C19 y CYP2C9, para formar su metabolito activo, el cual actúa como inhibidor irreversible de los receptores de ADP.

En consecuencia, la conversión metabólica del prasugrel es más eficiente que la del clopidogrel, proporcionando un inicio de acción más rápido, una inhibición plaquetaria más potente y constante, y una menor variabilidad interindividual de sus efectos. Por tanto, estas propiedades farmacológicas contribuyen a la mayor eficacia del prasugrel para reducir las recurrencias isquémicas, incluida la trombosis del stent, en pacientes con SCA sometidos a ICP, aunque a expensas de un aumento del riesgo de hemorragias.^(47,49)

La eficacia clínica y la seguridad del prasugrel frente al clopidogrel se investigaron en el [ensayo TRITON-TIMI 38](#) (*Trial to Assess Improvement in Therapeutic Outcomes by Optimizing Platelet Inhibition with Prasugrel - Thrombolysis in Myocardial Infarction*). En este ensayo clínico, se asignó aleatoriamente a pacientes con SCA a los que estaba previsto someter a una ICP a recibir clopidogrel o prasugrel, además de aspirina, y se les realizó un seguimiento a lo largo de los siguientes 6-15 meses.

Los pacientes tratados con prasugrel presentaron una reducción significativa de la variable de valoración principal (una combinación de muerte CV, IAM o ictus no-mortal) en comparación con los tratados con clopidogrel (9,9 % frente a 12,1 %; HR 0,81; IC del 95 %: 0,73-0,90; $p < 0,001$). Además, el tratamiento con prasugrel dio lugar a una reducción significativa del 52 % en la tasa de trombosis del stent y del 34 % en la necesidad de revascularización del vaso diana. Sin embargo, el uso de este nuevo antiagregante supuso un aumento de la incidencia

de hemorragias graves no-relacionadas con la cirugía de revascularización coronaria (2,4 % frente a 1,8 %; $p = 0,03$) y hemorragias potencialmente mortales (0,4 % frente a 0,1 %; $p = 0,002$), en comparación con la aspirina más clopidogrel. Es por ello que los beneficios del tratamiento con prasugrel en la prevención del IAM y la trombosis del stent se vieron parcialmente anulados por estas complicaciones hemorrágicas.^(57,58)

Actualmente, el prasugrel (dosis de carga de 60 mg y dosis de mantenimiento de 10 mg) está aprobado para los pacientes con SCA sometidos a ICP, y debe administrarse solo después de que se haya establecido la anatomía coronaria, con la excepción de los pacientes con IAMCEST sometidos a ICP primaria. Sin embargo, está contraindicado en pacientes con alto riesgo de hemorragia; no se recomienda su uso en pacientes con antecedentes de evento cerebrovascular, mientras que la dosis debe reducirse a 5 mg diarios en los pacientes de edad avanzada (≥ 75 años) y en aquellos con bajo peso corporal (< 60 kg).^(48,58)

- Ticagrelor

Se trata de una ciclopentil-triazolo-pirimidina (derivado nucleósido-nucleótido) y, a diferencia de clopidogrel y prasugrel, no es un profármaco, por lo que es directamente activo tras su administración oral. El ticagrelor es metabolizado principalmente por la enzima CYP3A4 y, en menor medida, por CYP3A5, para producir un metabolito activo que tiene efectos antiplaquetarios equipotentes a los del fármaco original. De este modo, tanto el fármaco como el metabolito se unen de forma reversible y no competitiva a un sitio distinto del receptor P2Y₁₂ (no bloquean directamente el sitio de unión al ADP), impidiendo así que el ADP active las plaquetas.

Debido a su rápida absorción y a su actividad directa, el ticagrelor se caracteriza por unos efectos FD más rápidos, potentes y predecibles que los conseguidos con clopidogrel, y presenta una menor variabilidad interindividual

de sus efectos. Su propiedad de unión reversible también explica la disminución más rápida de los efectos (recuperación de la función plaquetaria) en comparación con el clopidogrel. En conjunto, estos efectos farmacológicos contribuyen a la mayor eficacia del ticagrelor en la prevención de episodios isquémicos, incluida la trombosis del stent, tras la ICP en pacientes con SCA.^(47,50)

El ensayo PLATO (*A Study of Platelet Inhibition and Patient Outcomes*) evaluó la eficacia y la seguridad del ticagrelor frente al clopidogrel. En este estudio, los pacientes con SCA fueron asignados aleatoriamente a recibir clopidogrel o ticagrelor, además de aspirina, con un seguimiento de 12 meses.

El ticagrelor redujo significativamente la incidencia de la variable de valoración principal (una combinación de muerte CV, IAM e ictus) en comparación con el clopidogrel (9,8 % frente a 11,7 %; HR 0,84; IC del 95 %: 0,77-0,92; $p < 0,001$). La tasa de trombosis del stent también se redujo significativamente con ticagrelor (33 %). Sin embargo, este nuevo fármaco se asoció a una mayor incidencia de hemorragias graves no-relacionadas con la cirugía CABG (2,8 % frente a 2,2 %; $p = 0,03$) y hemorragias intracraneales mortales (0,1 % frente a 0,001 %; $p = 0,02$), en comparación con el clopidogrel, probablemente debido a la mayor inhibición de P2Y₁₂. Cabe destacar que la eficacia del tratamiento con ticagrelor fue uniforme en múltiples subgrupos preespecificados: pacientes con eventos CV recurrentes, IAMCEST, diabetes, enfermedad renal crónica, edad avanzada, bajo peso corporal y con antecedentes de evento cerebrovascular.

En la actualidad, el ticagrelor (dosis de carga de 180 mg y dosis de mantenimiento de 90 mg dos veces al día) está aprobado para el tratamiento y la prevención de los eventos aterotrombóticos secundarios en todo el espectro de pacientes con SCA, independientemente de la estrategia de tratamiento prevista (invasiva o no invasiva). Además, puede administrarse antes de la evaluación de

la anatomía coronaria y a pacientes pretratados con clopidogrel. Sin embargo, está contraindicado en pacientes con alto riesgo de hemorragia, antecedentes de ictus hemorrágico o hemorragia intracraneal, disfunción hepática grave e hipersensibilidad al fármaco. No es necesario ajustar la dosis en pacientes de edad avanzada o con bajo peso corporal. No obstante, la disnea provocada por este fármaco (15-22 % de los pacientes tratados) supone aproximadamente la mitad de los abandonos del mismo.⁽⁵⁸⁻⁶⁰⁾

Como se ha venido comentando a lo largo del capítulo, el objetivo final del tratamiento antitrombótico es proporcionar un inicio rápido y potente del efecto FD para prevenir la trombosis del stent y el IAM periprocedimiento, sin aumentar la incidencia de hemorragias graves. Por lo tanto, la elección del agente debe basarse en el riesgo trombotico y hemorrágico de cada paciente. Prasugrel y ticagrelor deben ser la opción preferida para los pacientes con SCA, y el uso de clopidogrel debe reservarse para los pacientes en los que estos dos agentes más potentes estén contraindicados. De hecho, la elección de un agente sobre el otro debe basarse en motivos clínicos, teniendo en cuenta las características del paciente, la presencia de contraindicaciones y la facilidad de acceso a un medicamento específico.⁽⁴⁷⁾

4.3. Farmacogenética de los antiagregantes plaquetarios

En la última década, gracias a los avances tecnológicos y científicos de las herramientas de análisis genómico, se han identificado marcadores genéticos relacionados con un mayor o menor riesgo de padecer determinadas enfermedades, así como con la respuesta subóptima a algunos medicamentos. Así, en un intento de encontrar una posible explicación a la variabilidad en la respuesta a los fármacos para el tratamiento de trastornos CV y afines, se ha recurrido a la PGx con el fin de optimizar el equilibrio entre resultados beneficiosos y adversos. En pacientes con estas afecciones, se recomienda realizar pruebas PGx preventivas para guiar el tratamiento, mejorando su eficacia y

minimizando la toxicidad. Sin embargo, a pesar de la abundancia de información disponible para el uso personalizado de fármacos CV (Figura 11), la PGx de ECV y afines en la práctica clínica se encuentra aún en una fase muy temprana.^(10,29)

Fármacos antiagregantes plaquetarios	
<p>Nombre: Clopidogrel Nomenclatura IUPAC: (1) Thieno[3,2-c]pyridine-5(4H)-acetic acid, α-(2-chlorophenyl)-6,7-dihydro-, methyl ester, (S)-, sulfate (1:1), (2) Methyl (+)-(S)-α-(o-chlorophenyl)-6,7-dihydrothieno[3,2-c]pyridine-5(4H)-acetate, sulfate (1:1) Fórmula molecular: C₁₆H₁₆ClNO₂S Mecanismo: Inhibidor plaquetario; se une irreversiblemente a los receptores P2Y₁₂ de las plaquetas impidiendo la unión del ADP a los mismos y, en consecuencia, la activación del complejo glucoproteico GPIIb/IIIa, y reduciendo la agregación plaquetaria. Inhibe la liberación mediada por ADP del contenido de los gránulos densos (p. ej., ADP, Ca²⁺ y serotonina) y los gránulo α (p. ej., fibrinógeno y trombospondina) en las plaquetas, el cual aumenta la agregación plaquetaria.</p>	<p>Genes del mecanismo: <i>ITGA2B, ITGB3, P2RY12</i> Genes del metabolismo: - Sustrato: <i>CES1, CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5</i> - Inhibidor: <i>CYP2B6, CYP2C8, CYP2C9, CYP2C19</i> Genes transportadores: <i>ABCB1, SLC22A1, SLC22A2</i></p>
<p>Nombre: Prasugrel Nomenclatura IUPAC: (1) 5-[(1R,S)-2-cyclopropyl-1-(2-fluorophenyl)-2-oxoethyl]-4,5,6,7-tetrahydrothieno[3,2-c]pyridin-2-yl acetate hydrochloride, (2) 2-[2-(Acetyloxy)-6,7-dihydrothieno[3,2-c]pyridin-5(4H)-yl]-1-cyclopropyl-2-(2-fluorophenyl)ethanone hydrochloride Fórmula molecular: C₂₀H₂₁ClFNO₂S Mecanismo: Inhibidor del receptor plaquetario P2Y₁₂; impide la activación del complejo GPIIb/IIIa mediada por ADP.</p>	<p>Genes del mecanismo: <i>P2RY12</i> Genes del metabolismo: - Sustrato: <i>CES1, CES2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, GSTs, POR</i> - Inhibidor: <i>CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19, CYP2D6, CYP3A4, CYP3A5</i> Genes transportadores: <i>ABCB1, ALB</i></p>
<p>Nombre: Ticagrelor Nomenclatura IUPAC: (1S,2S,3R,5S)-3-[7-[[[(1R,2S)-2-(3,4-difluorophenyl)cyclopropyl]amino]-5-propylsulfanyltriazolo[4,5-d]pyrimidin-3-yl]-5-(2-hydroxyethoxy)cyclopentane-1,2-diol Fórmula molecular: C₂₃H₂₈F₂N₄O₅ Mecanismo: Inhibidor del receptor plaquetario P2Y₁₂; se acopla con Gai2 y otras proteínas Gi para inhibir la adenilil ciclasa. Activa PI3K, Akt, Rap1b y canales de K⁺, mediando la hemostasia y la agregación plaquetaria. El bloqueo del receptor P2Y₁₂ reduce el desarrollo de trombosis oclusivas, el riesgo de IM y el ictus isquémico.</p>	<p>Genes del mecanismo: <i>P2RY12</i> Genes del metabolismo: - Sustrato: <i>CYP2C19, CYP3A4, CYP3A5, UGTs</i> - Inhibidor: <i>ABCB1, CYP1A2, CYP2C9, CYP3A4</i> - Inductor: <i>CYP2B6, CYP2C9</i> Genes transportadores: <i>ABCB1, ALB</i></p>

Figura 11. PGx de los fármacos inhibidores de la agregación plaquetaria.

Los fármacos pueden actuar como sustratos, inhibidores o inductores de las enzimas codificadas por genes metabólicos. Abreviaturas: IUPAC, *International Union of Pure and Applied Chemistry*. Modificada de Cacabelos *et al.*, 2021.⁽¹⁰⁾

4.3.1. Farmacogenética del clopidogrel

Dada su eficacia y su menor riesgo hemorrágico en comparación con sus alternativas, el clopidogrel sigue siendo uno de los antiagregantes plaquetarios más prescritos en los pacientes con SCA, infarto de miocardio y/o sometidos a ICP. Sin embargo, a pesar de su amplio uso, se ha observado sistemáticamente que entre un 5 % y un 56 % de los pacientes sometidos a ICP son malos respondedores, o no responden adecuadamente, a este fármaco y, por tanto, tendrán un mayor riesgo de eventos isquémicos tras la implantación del stent.

Como hemos visto a lo largo del capítulo, son numerosas las enzimas implicadas en el metabolismo de este fármaco, y, por tanto, muchos factores podrían determinar esta variabilidad en la respuesta al mismo. Es por ello que

se ha llevado a cabo una evaluación exhaustiva de múltiples genes relacionados con su FC y su mecanismo de acción, la cual ha revelado varios polimorfismos que pueden influir de forma significativa en la respuesta al clopidogrel. Las variantes genéticas más frecuentemente estudiadas en relación con la respuesta a este medicamento se encuentran en los genes que codifican las proteínas de transporte de la familia ABCB1, las enzimas responsables del metabolismo del clopidogrel (incluyendo CYP2C19, CYP3A4 y CYP1A2) o los receptores plaquetarios P2Y₁₂.^(61,62)

- CYP2C19

Dado que la isoforma CYP2C19 interviene en ambos pasos oxidativos de la biotransformación hepática del clopidogrel, sus variantes genéticas podrían alterar la respuesta al fármaco, convirtiéndola en la enzima metabólica más estudiada hasta la fecha.

CYP2C19 es una proteína codificada por un gen altamente polimórfico, localizado en el cromosoma 10 (10q23.33). En la actualidad, se han identificado más de 35 variantes alélicas para este gen, siendo *CYP2C19*1* el alelo más prevalente (tipo salvaje o *wild type*) y el que se asocia con una función normal de la enzima. El hecho de que este gen sea tan polimórfico va a condicionar que la expresión de la proteína sea variable en la población, lo que puede explicar las diferencias individuales en la respuesta a los fármacos metabolizados por esta enzima.⁽⁶³⁾

Tres polimorfismos son responsables de la mayor parte de la variación genética en *CYP2C19* en la población global, por lo que se trata de las variantes más ampliamente estudiadas. *CYP2C19*2* y *CYP2C19*3* son alelos LoF, con una actividad enzimática disminuida o ausente, mientras que *CYP2C19*17* es un alelo GoF, con una mayor actividad enzimática.

- *CYP2C19**2 (rs4244285, c.681G>A) cambia el sitio de empalme en la unión intrón 4/exón 5 (defecto de *splicing*), lo que provoca una alteración en el marco de lectura y genera una proteína no funcional. Se trata del alelo LoF más común, con una frecuencia alélica menor de aproximadamente el 12-15 % en poblaciones caucásicas, 15-18 % en africanas y 25-30 % en asiáticas.

- *CYP2C19**3 (rs4986893, c.636G>A) genera un codón de parada prematuro en el exón 4, el cual se traduce en una proteína no funcional. Este SNP presenta una frecuencia alta en las poblaciones asiáticas (MAF: 2-9 %), pero muy baja en las poblaciones europeas y africanas (MAF < 1 %).

- *CYP2C19**17 (rs12248560, c.-806C>T) se trata de una variante genética localizada en la región promotora del gen que da lugar a un aumento de la expresión génica, lo que se traduce en una mayor actividad enzimática. Está presente en aproximadamente el 20 % de las poblaciones europea y africana, y en el 5 % de la población asiática.

Aunque se han identificado otros alelos LoF en *CYP2C19* (*4 a *8), estos son en general poco frecuentes (MAF < 0,5 % en todas las poblaciones estudiadas), lo que limita su posible utilidad clínica, siendo los alelos *2, *3 y *17 los únicos considerados esenciales para las pruebas PGx.^(6,64)

La variación genética en *CYP2C19* puede influir en la FC del clopidogrel, proporcionando la base para los distintos fenotipos metabolizadores en función de la combinación de alelos que porte el individuo (genotipo):

- Metabolizadores lentos o deficientes (PM, del inglés *poor metabolizer*): individuos portadores de dos alelos LoF que resultarán en una enzima con menor actividad. Por ejemplo, sujetos *CYP2C19* *2/*2, *2/*3 o *3/*3.

- Metabolizadores intermedios (IM, del inglés *intermediate metabolizer*): sujetos portadores de un alelo de función normal y un alelo LoF, o sujetos con un alelo LoF y otro alelo GoF. Por ejemplo, individuos *CYP2C19* *1/*2, *1/*3 o *2/*17.

- Metabolizadores normales (NM, del inglés *normal metabolizer*): individuos portadores de dos alelos de función normal (*CYP2C19* *1/*1).
- Metabolizadores rápidos (RM, del inglés *rapid metabolizer*): sujetos con un alelo de función normal y un alelo GoF, es decir, con genotipo *CYP2C19* *1/*17.
- Metabolizadores ultrarrápidos (UM, del inglés *ultrarapid metabolizer*): individuos con dos alelos GoF, es decir, genotipo *CYP2C19* *17/*17.

Aproximadamente el 30 % de las poblaciones europeas, el 35 % de las africanas y el 60 % de las asiáticas son PMs o IMs para *CYP2C19*, mientras que el 30 % de las poblaciones de ascendencia europea y africana, y el 3 % de las poblaciones de Asia oriental son RMs o UMs.^(65,66)

En el caso del tratamiento con clopidogrel, las variaciones genéticas del *CYP2C19* dan lugar a niveles variables del metabolito activo. En particular, la presencia de alelos LoF en el gen *CYP2C19*, se ha relacionado con un metabolismo reducido del fármaco (enzima no funcional), concentraciones plasmáticas más bajas de metabolito activo y una mayor HTPR. Todo ello conduce a una reducción de los efectos antiplaquetarios (menor eficacia terapéutica) y, en consecuencia, aumenta el riesgo de complicaciones trombóticas, especialmente tras una ICP.^(49,65)

Por el contrario, la presencia de alelos GoF en este gen ha demostrado una mayor formación de metabolito activo, que se traduce en una mayor inhibición plaquetaria y un mayor efecto antiplaquetario. En consecuencia, los estudios iniciales informaron de un mayor riesgo de hemorragia y un menor riesgo de eventos cardiovasculares adversos mayores (MACE, del inglés *major adverse cardiovascular events*) en los portadores del alelo *17 tratados con clopidogrel en comparación con los no portadores. Sin embargo, es importante tener en cuenta que los alelos *2 y *17 se encuentran en LD (r^2 : 0.05, D' : 1.00), por lo que rara vez se dan en el mismo haplotipo. Por consiguiente, no está claro si los efectos observados se deben realmente a la presencia del alelo *17 o, en cambio, a la

ausencia del alelo *2. En estudios más recientes que ajustaron por el alelo *2, no hubo asociación entre el alelo *17 y los niveles de metabolito activo, la agregación plaquetaria estimulada por ADP o los resultados clínicos en aquellos pacientes tratados con clopidogrel.^(21,65)

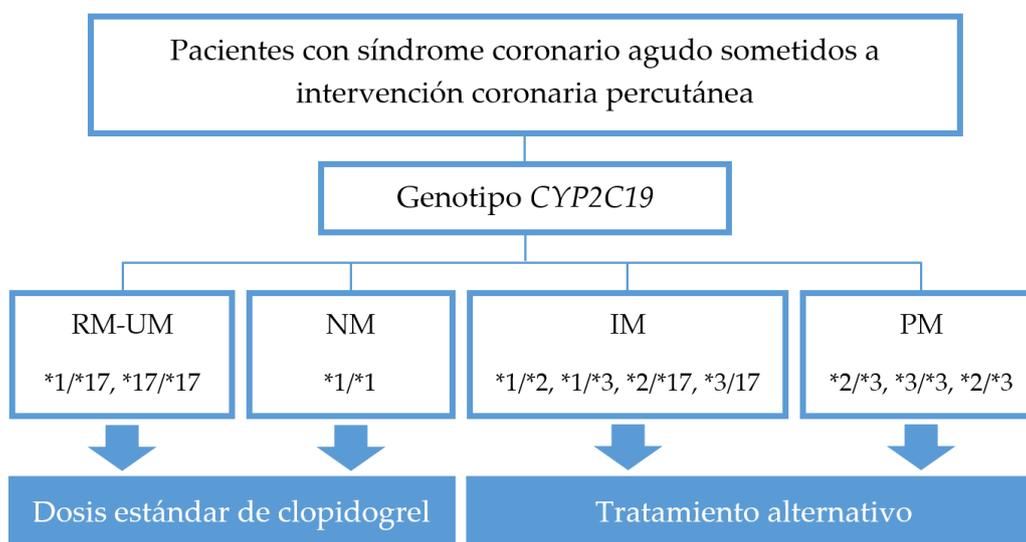


Figura 12. Recomendaciones del CPIC para el tratamiento con clopidogrel en pacientes con SCA sometidos a ICP.

Modificada de Lee *et al.*, 2022.⁽⁶⁶⁾

En este sentido, el CPIC realizó una serie de recomendaciones terapéuticas en función del genotipo de *CYP2C19* para el tratamiento de los SCA con clopidogrel (Figura 12). Su objetivo era maximizar el beneficio del tratamiento y reducir el riesgo de eventos adversos isquémicos o hemorrágicos. Según estas directrices, los pacientes NM, RM y UM pueden tomar la dosis estándar de clopidogrel según indique su ficha técnica. Sin embargo, en el caso de pacientes IM y PM con SCA y sometidos a ICP, se recomienda que reciban una terapia antiplaquetaria alternativa (prasugrel o ticagrelor), siempre que no esté contraindicada, ya que no alcanzarían un efecto antiagregante adecuado con clopidogrel.

De forma similar, las directrices del DPWG (actualizadas en 2018) recomiendan el uso de un tratamiento antiplaquetario alternativo en los IM y PM en función del genotipo *CYP2C19*. Sin embargo, el Colegio Americano de

Cardiología, la Asociación Americana del Corazón y la Sociedad de Angiografía e Intervenciones Cardiovasculares (ACC/AHA/SCAI, por sus siglas en inglés), debido a la falta de utilidad clínica claramente demostrada del uso de un tratamiento alternativo, desaconsejan realizar de forma rutinaria el genotipado de *CYP2C19* antes de administrar clopidogrel a todos los pacientes con SCA. En su lugar, recomiendan que estas pruebas genéticas se consideren únicamente para aquellos pacientes de alto riesgo que han sido sometidos a una ICP.^(29,67)

- **ABCB1**

Además del *CYP2C19*, otros factores genéticos pueden contribuir a la variabilidad interindividual del clopidogrel. La P-gp, un miembro de la superfamilia de transportadores ABC y de la subfamilia MDR (del inglés, *multidrug resistance*), actúa como bomba de eflujo de compuestos xenobióticos con amplia especificidad de sustrato, lo que puede contribuir a modificar la biodisponibilidad de muchos fármacos administrados por vía oral.

El gen *ABCB1*, localizado en el cromosoma 7 (7q21.12), es altamente polimórfico ya que se han descrito al menos 38 variantes. Entre ellas, uno de los polimorfismos más estudiados hasta la fecha es el rs1045642 (c.3435C>T), ya que parece tener un papel relevante en la expresión y función de la P-gp. El aumento de la expresión de *ABCB1*, asociado con el genotipo *TT*, puede potenciar el eflujo intestinal del clopidogrel, disminuyendo así la absorción del fármaco y dando lugar a concentraciones plasmáticas más bajas de clopidogrel. Además, la presencia del genotipo *TT* se ha relacionado con una mayor reactividad plaquetaria y una mayor incidencia de eventos CV en pacientes con IAM tratados con clopidogrel. Sin embargo, varios estudios no han confirmado estos resultados, por lo que los hallazgos contradictorios y poco concluyentes sobre el efecto de este polimorfismo en la respuesta al clopidogrel han limitado su uso clínico a la hora de guiar la terapia con inhibidores P2Y₁₂.^(65,68)

- **P2RY12**

El receptor P2Y₁₂ es un receptor de ADP acoplado a una proteína G que se expresa de forma selectiva en las plaquetas y cuya activación promueve la agregación plaquetaria.^K Dado que este receptor, codificado por *P2RY12* (cromosoma 3, 3q25.1), es la diana del clopidogrel, este gen es un candidato obvio para las investigaciones PGx de la respuesta a este medicamento.

Se han descrito numerosos polimorfismos en *P2RY12* (p. ej., rs6787801 (A>G) y rs10935842 (T>A)), los cuales se han asociado con la variabilidad interindividual en la reactividad plaquetaria y con un mayor riesgo de eventos CV adversos entre los pacientes con SCA tratados con clopidogrel. En aquellos pacientes sometidos a ICP electiva, el genotipo AA del rs6787801 se asoció con una mayor expresión de los receptores y una mayor HTPR. Sin embargo, el alelo menor de este SNP (G), junto con el alelo A del rs10935842, se asoció con un mayor riesgo de revascularización del vaso diana en los pacientes tratados con clopidogrel tras una ICP por angina estable o SCASEST. Por tanto, las incoherencias de los resultados sugieren la necesidad de seguir investigando para determinar si *P2RY12*, u otros genes que codifican proteínas de la vía de activación plaquetaria, tienen un efecto sobre la respuesta al clopidogrel.^(65,69)

4.3.2. Farmacogenética del prasugrel y el ticagrelor

La mayoría de las investigaciones recientes sobre PGx y los nuevos antiagregantes plaquetarios se han centrado en la reactividad plaquetaria y no tanto en los resultados clínicos. De hecho, las pruebas más sólidas de los resultados clínicos en pacientes tratados con prasugrel proceden de

^K La activación del receptor P2Y₁₂ desencadena una compleja cascada de acontecimientos intracelulares, que da lugar a la reducción de los niveles de fosfoproteína fosforilada estimulada por vasodilatadores (VASP) y la subsiguiente activación del receptor GPIIb/IIIa plaquetario (receptor del fibrinógeno), la liberación de gránulos, la amplificación de la agregación plaquetaria y la estabilización del agregado plaquetario.⁽⁵¹⁾

subestudios PGx del ensayo TRITON-TIMI 38. Mega *et al.*⁽⁷⁰⁾ evaluaron la asociación de variantes genéticas en *ABCB1*, *CYP2C19*, *CYP2C9*, *CYP2B6*, *CYP3A5*, *CYP3A4*, *CYP1A2* y *PON1* con los resultados clínicos en pacientes con SCA tratados con este fármaco, pero ninguna fue estadísticamente significativa. Más recientemente, Sawayama *et al.*⁽⁷¹⁾ realizaron un análisis observacional retrospectivo para evaluar la asociación de las variantes *CYP2C19**2, *3 y *17 con los resultados clínicos del prasugrel. Hallaron una diferencia significativa en el resultado primario entre los pacientes tratados con clopidogrel frente a prasugrel, pero solo si los pacientes eran portadores de alelos LoF de *CYP2C19*. En los pacientes sin alelos LoF, no hubo diferencias significativas entre un fármaco u otro. Ambos estudios demuestran que, a diferencia del clopidogrel, los resultados clínicos en pacientes tratados con prasugrel no se ven afectados por variantes en varios genes candidatos.

Del mismo modo, un subestudio PGx del ensayo PLATO realizado por Wallentin *et al.*⁽⁷²⁾ no mostró ningún efecto de las variantes genéticas en *CYP2C19* o *ABCB1* sobre los resultados clínicos en pacientes con SCA tratados con ticagrelor. Posteriormente, Varenhorst *et al.*⁽⁷³⁾ realizaron un GWAS, utilizando datos y muestras del ensayo PLATO, para identificar asociaciones genéticas con la FC y los resultados clínicos del ticagrelor. Aunque hallaron efectos significativos de las variantes en los genes *SLCO1B1* (rs4149056), *CYP3A4* (rs62471956 y rs56324128) y *UGT2B7* (rs61361928) sobre los niveles plasmáticos de ticagrelor y de su principal metabolito activo, estos efectos no se tradujeron en ningún efecto detectable sobre la eficacia o la seguridad del fármaco. En resumen, a pesar de que no se han publicado tantos estudios PGx sobre los resultados clínicos del ticagrelor, las pruebas disponibles son sólidas y demuestran que las variantes genéticas no desempeñan un papel importante en los resultados clínicos de los pacientes tratados con ticagrelor.

Estos hallazgos respaldan la falta de recomendaciones PGx clínicas para el prasugrel o el ticagrelor en las guías de práctica clínica y en las etiquetas de los medicamentos.

4.4. Eficacia de un tratamiento guiado por PGx tras una ICP

Como ya se ha comentado previamente, las guías de práctica clínica recomiendan prasugrel o ticagrelor frente a clopidogrel en pacientes con SCA, basándose en su superioridad en la prevención de eventos CV adversos en dos grandes ensayos controlados aleatorizados, TRITON-TIMI 38 y PLATO. Sin embargo, estos inhibidores más potentes de P2Y₁₂ se asocian a un mayor riesgo de hemorragias, lo que limita su uso generalizado. Es importante señalar que aproximadamente el 30 % de los participantes en estos dos estudios presentaban un alelo *CYP2C19* LoF –el cual reduce la eficacia del clopidogrel, pero no la del prasugrel o el ticagrelor–, que no se tuvo en cuenta en el análisis de los resultados de ambos.⁽⁶⁵⁾

Desde la finalización de estos ensayos, numerosos estudios han examinado la utilidad clínica del tratamiento antiagregante plaquetario guiado por el genotipo tras una ICP (Tabla 3). En concreto, tres grandes ensayos clínicos aleatorizados y multicéntricos ofrecen información relevante sobre la eficacia y seguridad de un enfoque orientado en función del perfil genético para la prescripción de inhibidores de P2Y₁₂ tras la angioplastia:

❖ El estudio **TAILOR-PCI** (*Tailored Antiplatelet Therapy Following PCI*)⁽⁷⁴⁾ asignó aleatoriamente a los pacientes sometidos a ICP a una rama de tratamiento convencional (clopidogrel) frente a un tratamiento guiado en base al genotipo *CYP2C19* (los portadores de alelos LoF recibieron ticagrelor, mientras que los no portadores recibieron clopidogrel). Los resultados del ensayo demostraron que, en un subconjunto de participantes de cada grupo con fenotipo IM o PM, la terapia antiagregante guiada dio lugar a un 34 % menos de eventos adversos al

cabo de 12 meses en comparación con el tratamiento estándar, y este efecto fue especialmente pronunciado durante los tres primeros meses, con un 79 % menos de eventos adversos.⁽²¹⁾

❖ El estudio **POPular Genetics** (*Patient Outcome after Primary PCI*)⁽⁷⁵⁾ fue diseñado para determinar si, en pacientes con IAMCEST sometidos a ICP, la selección del tratamiento antiplaquetario guiada por el genotipo *CYP2C19* podía reducir el riesgo de hemorragia sin aumentar el riesgo de un episodio trombótico, en comparación con un tratamiento estándar con prasugrel o ticagrelor. Los pacientes portadores de alelos *CYP2C19* LoF (IM o PM) recibieron ticagrelor o prasugrel, mientras que los no portadores recibieron clopidogrel. Los investigadores concluyeron que, entre los pacientes sometidos a ICP, una estrategia orientada por el genotipo no era inferior al tratamiento con prasugrel o ticagrelor en cuanto a la prevención de episodios isquémicos, pero era superior en la reducción del riesgo de hemorragia. Estos datos sugieren que, en ausencia de un alelo LoF, el clopidogrel es tan eficaz para prevenir los MACEs como los nuevos agentes antiplaquetarios.^(49,64)

❖ El ensayo **PHARMCLO** (*Pharmacogenetics of Clopidogrel in Patients With Acute Coronary Syndromes*)⁽⁷⁶⁾ evaluó, en pacientes con SCA, si la selección del tratamiento antiagregante plaquetario en función del genotipo (*ABCB1*, *CYP2C19*2* y *CYP2C19*17*) y de las características clínicas (edad, peso, riesgo de hemorragia, antecedentes de diabetes o enfermedad renal crónica) mejoraba los resultados clínicos en comparación con una prescripción basada únicamente en las características clínicas. El estudio se interrumpió prematuramente, sin embargo, en ese momento, se observó que los pacientes asignados al grupo de genotipado experimentaron un número significativamente menor de episodios isquémicos y hemorrágicos a los 12 meses, en comparación con el grupo de tratamiento convencional.⁽⁶⁴⁾

Tabla 3. Resultados clínicos del tratamiento antiplaquetario guiado por genotipo tras una ICP.

Estudio	Diseño	Intervención	Población de pacientes	Criterios de valoración primarios y resultados
TAILOR-PCI (Pereira <i>et al.</i> , 2020) ⁽⁷⁴⁾	Ensayo controlado aleatorizado (N = 5.302)	En IM y PM (n = 1.849), tratamiento guiado por genotipo (n = 903) frente a tto convencional con clopidogrel (n = 946)	SCA o EAC estable e ICP	Se produjo muerte Cv, IAM, ictus, trombosis del stent o isquemia recurrente grave en el 4,0 % del grupo guiado y en el 5,9 % del grupo convencional (HR 0,66; IC del 95 %: 0,43-1,02; <i>p</i> = 0,06).
GIANT (Hulot <i>et al.</i> , 2020) ⁽⁷⁷⁾	Estudio observacional multicéntrico (N = 1.445)	Genotipado clínico con recomendaciones de terapia alternativa para los IM/PM (n = 319) y sin recomendaciones para el resto (n = 1.118)	IAMCEST e ICP	En IM/PM, la optimización del tto dio lugar a resultados similares en comparación con los NM/RM (3,04 % frente a 3,31 %, <i>p</i> = 0,82), mientras que los IM/PM sin ajuste de tto presentaron una tasa de complicaciones ~5 veces superior (15,6 % frente a 3,3 %; <i>p</i> < 0,05).
POPular Genetics (Claassens <i>et al.</i> , 2019) ⁽⁷⁵⁾	Ensayo controlado aleatorizado (N = 2.488)	Tratamiento guiado por el genotipo (n = 1.242) frente a tto estándar con ticagrelor o prasugrel (n = 1.246)	IAMCEST e ICP	Se produjeron muertes por cualquier causa, IAM, trombosis del stent, ictus o hemorragias graves en el 5,1 % del grupo guiado y en el 5,9 % del grupo con tto estándar (<i>p</i> < 0,001 para la no inferioridad). Las hemorragias fueron menos frecuentes en el grupo guiado que en el grupo con tto estándar (9,8 % frente a 12,5 %; <i>p</i> = 0,04).
PHARMCLO (Notarangelo <i>et al.</i> , 2018) ⁽⁷⁶⁾	Ensayo controlado aleatorizado (N = 888)	Tratamiento guiado por el genotipo (n = 448) frente a tto estándar basado en características clínicas (n = 440)	IAMCEST o IAMSEST e ICP (62 % con ICP)	Se produjo muerte Cv, IAM, ictus o hemorragia grave en el 15,9 % del grupo del genotipo y en el 25,9 % del grupo del tto estándar (HR 0,58; IC del 95 %: 0,43-0,78; <i>p</i> < 0,001).
IGNITE (Cavallari <i>et al.</i> , 2018) ⁽⁷⁸⁾	Estudio observacional multicéntrico (N = 1.815)	Genotipado clínico con recomendaciones de terapia alternativa para los IM/PM (n = 572) y sin recomendaciones para el resto (n = 1.243)	SCA o EAC estable e ICP	En IM/PM, la tasa de muerte, IAM o ictus isquémico fue mayor con clopidogrel (13,5 %) que con el tto alternativo (8,7 %) (HR 2,26; IC del 95 %: 1,18-4,32; <i>p</i> = 0,013).
Deiman <i>et al.</i> , (2016) ⁽⁷⁹⁾	Estudio observacional unicéntrico (N = 3.260)	Genotipado clínico con recomendaciones de terapias alternativas en PM (n = 73)	ICP electiva	En PM, la incidencia de muerte por causas Cv, IAM, trombosis del stent, nueva revascularización o ictus fue menor con prasugrel que con clopidogrel (5 % vs 31 %, <i>p</i> = 0,003).

Sánchez-Ramos <i>et al.</i> , (2016) ⁽⁸⁰⁾	Estudio de intervención vs. controles clásicos (N = 719)	Estrategia guiada por genotipo (n = 317) frente a estrategia no guiada (n = 402)	ICP con implantación de stent (86 % con SCA)	Se produjo muerte Cv, SCA o ictus en el 10 % de los pacientes del grupo del genotipo y en el 14 % de los controles ($p = 0,037$).
--	--	--	--	---

Abreviaturas: Cv: cardiovascular; EAC: enfermedad arterial coronaria; HR: *hazard ratio* (riesgo relativo); IAM: infarto agudo de miocardio; ICP: intervención coronaria percutánea; IM: metabolizador intermedio; NM: metabolizador normal; PM: metabolizador lento o deficiente; RM: metabolizador rápido; SCA: síndrome coronario agudo; tto: tratamiento.

Tomada de Duarte *et Cavallari*, 2021,⁽²¹⁾ con modificaciones de Thomas *et al.*, 2023.⁽⁶⁵⁾

En conjunto, todos estos estudios sugieren que una estrategia guiada por el genotipo *CYP2C19*, mediante la cual se prescriben prasugrel o ticagrelor en los IM y MP, reduce la incidencia de resultados CV adversos tras una ICP, sin aumentar el riesgo de complicaciones hemorrágicas, en comparación con el tratamiento convencional. Sin embargo, aunque el uso de pruebas genéticas que orienten el tratamiento con inhibidores de P2Y₁₂ parece prometedor en pacientes sometidos a ICP, sigue existiendo un porcentaje significativo de MACEs, cuyas causas no podemos explicar. Por lo tanto, dado que estos eventos CV recurrentes ocurren a pesar del genotipado preventivo, la prescripción basada únicamente en los alelos *CYP2C19* LoF conocidos puede no ser suficiente para mejorar los resultados clínicos de los pacientes.^(53,65)

5. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

La PGx es probablemente el enfoque más apropiado para optimizar la farmacoterapia, ya que ayuda a maximizar su eficacia y a prevenir la aparición de RAMs. Hasta la fecha, diversos estudios han demostrado que la elección de la terapia antiagregante en base al análisis de un número limitado de variantes candidatas (principalmente *CYP2C19**2, *17 y *ABCB1* c.3435C>T) permite individualizar el tratamiento y reduce la incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos. Sin embargo, los eventos adversos siguen produciéndose en tasas variables a pesar de la intervención farmacológica en función del perfil genético de cada paciente.^(74,76)

En base a esta premisa, en 2012 nuestro grupo realizó un estudio financiado por la Consejería de Salud de la Junta de Andalucía (PI-057/2012), el cual confirmó que el genotipado de los polimorfismos en *CYP2C19* y *ABCB1* era una herramienta útil en la elección de la adecuada terapia antiagregante en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent. Gracias a este estudio se demostró que la estrategia guiada por genotipado reducía las tasas de la variable compuesta por muerte CV, SCA o accidente cerebrovascular, sin diferencias de sangrado durante los 12 meses posteriores a una ICP, en comparación con una estrategia no orientada por genotipado. No obstante, la combinada de segundos eventos no se consiguió eliminar por completo, sino que en un 10,1 % de los casos del grupo de intervención se observó un segundo evento CV, frente al 14.1 % en el grupo control, en el que se genotiparon los pacientes pero no se realizaron cambios en su medicación (HR 0,63; IC del 95 %: 0,41-0,97; $p = 0,037$).^(80,81)

Más adelante, en base a los resultados obtenidos en el estudio previo, el grupo desarrolló un algoritmo de decisión (proyecto PI-0717/2013) que, a día de hoy, permite orientar la estrategia farmacológica mediante genotipado preventivo, reduciendo así la tasa de aparición de un segundo evento CV que pueda ser

objeto de un nuevo ingreso hospitalario.⁽⁸¹⁾ A pesar de ello, el significativo número de pacientes de la rama intervenida que sufre algún tipo de evento adverso sugiere que podría haber otras variables, no contempladas en el estudio realizado, que pudieran estar asociadas con la predisposición a sufrir un segundo evento CV o con la mala respuesta al tratamiento anti-isquémico prescrito. Este hecho pone de manifiesto la necesidad de proponer nuevos polimorfismos que mejoren el algoritmo de decisión actual, proporcionando así una terapia antiplaquetaria guiada por PGx más eficaz en la práctica clínica.

Gracias a la NGS se han caracterizado numerosos genomas, lo que ha dado lugar al descubrimiento de gran cantidad de marcadores genéticos asociados a enfermedades y característicos de estas, que ya han sido introducidos en la clínica. Tal y como se comentó en el apartado “[2.4.3. Estudios de secuenciación de nueva generación](#)”, la tecnología NGS permite analizar, en aquellas poblaciones que han presentado un fenotipo extremo (p. ej., un evento CV secundario), tanto las variantes genéticas comunes como las raras, no tenidas en cuenta hasta ahora. Esto nos ofrece la posibilidad de realizar un diagnóstico molecular que explique las posibles causas de su aparición, a pesar de que los pacientes hayan recibido un tratamiento dirigido por test genético.⁽⁸²⁾

Actualmente, los investigadores disponemos de paneles PGx para analizar la respuesta individual a determinados fármacos, incluidos los antiagregantes plaquetarios, así como paneles de enfermedades CV. Estas pruebas genéticas están mejorando la precisión diagnóstica, influyendo en las opciones terapéuticas y aportando valiosa información pronóstica. Sin embargo, la predicción del riesgo mediante la identificación de los genes causantes de las RAMs sigue siendo un reto importante en el tratamiento de la enfermedad.^(83,84) La motivación de nuestro estudio deriva, por tanto, de la falta de investigaciones que combinen ambos enfoques, lo que deja sin analizar importantes factores moduladores de la respuesta a los fármacos. Nos gustaría seguir investigando los eventos

adversos recurrentes que se producen a pesar del tratamiento antiagregante guiado por PGx para poder ofrecer un tratamiento más personalizado y seguro a aquellos pacientes con más probabilidades de desarrollar una respuesta terapéutica subóptima.

Por lo tanto, diseñando un panel personalizado de genes, enriquecido en aquellas dianas genómicas que consideramos de interés para nuestro estudio, podemos tratar de explicar la variabilidad en la respuesta de estos individuos. Al usar un panel dirigido, podremos introducir zonas promotoras e intrones de los genes más relevantes, ya que algunas de las posiciones con evidencia y validadas hasta el momento se han detectado en estas áreas. Esto, a su vez, nos permitirá mejorar el algoritmo de prescripción que se utiliza actualmente, lo que facilitará aún más la labor asistencial. En resumen, el hecho de individualizar y personalizar la terapia con el fin de racionalizar los tratamientos y definir los pacientes que responderán mejor a un fármaco específico nos permitirá, en última instancia, aplicar una MP basada en el perfil genético de cada individuo.

II. HIPÓTESIS y OBJETIVOS



1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

El gran arsenal terapéutico del que se dispone en la actualidad y el número de RAMs que surgen hacen cada vez más necesario determinar los criterios que condicionan el uso de uno u otro medicamento, así como las diferentes estrategias terapéuticas. Con el panel que se propone en el presente trabajo se pretende encontrar variantes genéticas (comunes y raras) relacionadas con el metabolismo de fármacos, que ayuden a los clínicos a afinar mucho más en la elección de una terapia antiagregante personalizada en la que se tengan en cuenta las características genéticas individuales de cada paciente. Por otro lado, estos hallazgos facilitarán a la Industria Farmacéutica el desarrollo futuro de nuevos antiagregantes con una mayor eficacia y seguridad a nivel individual.

A pesar de haber implementado en la práctica clínica una estrategia coste-efectiva, en la que se realiza un genotipado preventivo que dirige la terapia farmacológica y que disminuye la aparición de eventos CV, todavía existe un porcentaje considerable de estos eventos que no se pueden prevenir. Este estudio pretende determinar aquellas variantes genéticas de riesgo implicadas en el desarrollo de la ECV y conocer la predisposición genética individual a padecer un evento secundario, independientemente del tratamiento recibido. Esto contribuirá al desarrollo de estrategias de prevención e intervenciones y tratamientos individualizados, y con ello a una medicina más personalizada.

Una vez priorizadas las variantes encontradas, evaluada su asociación a la respuesta a los fármacos o al desarrollo de la cardiopatía isquémica, y validadas en una cohorte independiente de condiciones similares, dispondremos de una gran cantidad de información acerca de las bases biológicas de la aparición de un segundo evento CV. Por todo lo expuesto, el presente trabajo pretende mejorar el algoritmo de decisión que se utiliza actualmente en la práctica clínica habitual, a modo de herramienta genética con la que se pretende conseguir una mayor

precisión en la elección del tratamiento más adecuado, reducir aún más la tasa de eventos secundarios, y avanzar en el conocimiento de la arquitectura genética de esta enfermedad tan compleja.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

El objetivo general de este estudio es identificar nuevas asociaciones genómicas, no consideradas previamente, que nos ayuden a descifrar las causas genéticas subyacentes a la aparición de eventos cardiovasculares secundarios adversos, a pesar de seguir una prescripción guiada por pruebas genéticas, e intentar minimizarlos.

2.2. Objetivos específicos

- Diseñar y validar un panel NGS dirigido que contenga regiones codificantes de genes implicados en el metabolismo y transporte de los medicamentos, así como de genes relacionados con la ECV.
- Describir las características demográficas y clínicas tanto de los pacientes con SCA sometidos a ICP como de los controles sin enfermedad CV estructural incluidos en el estudio.
- Evaluar la asociación entre los polimorfismos estudiados y la aparición de eventos CV y/o hemorrágicos entre el grupo de pacientes con SCA sometidos a ICP con stent, y que han presentado eventos CV durante los 12 meses de seguimiento, y el grupo de pacientes con SCA-ICP-stent que no han presentado dichos eventos o el grupo control sin ECV.
- Evaluar la asociación entre los polimorfismos estudiados y la aparición de episodios isquémicos y/o hemorrágicos en grupos estratificados por el antiagregante prescrito.

- Describir y comparar las frecuencias alélicas y genotípicas de los polimorfismos identificados.
- Identificar otras características clínicas/demográficas no contempladas hasta ahora en los pacientes que presentan eventos adversos, con el fin de identificar áreas de mejora en estos aspectos.
- Aplicar un algoritmo de «random forest» evalúe la capacidad predictiva de las variantes genéticas identificadas, así como de las variables clínicas seleccionadas, y determine la importancia relativa de cada una de ellas en la susceptibilidad de desarrollar eventos adversos durante el periodo de seguimiento.
- Diseñar un algoritmo de decisión que contemple las variables clínicas y genéticas previamente estudiadas en nuestra población y las nuevas variantes que presenten asociación con un mayor riesgo de aparición de eventos isquémicos y/o hemorrágicos, con el fin de mejorar el diagnóstico y la prescripción terapéutica del tratamiento individualizado.

III. MATERIAL y MÉTODOS



1. DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio actual es la continuación de un estudio de intervención cuasi-experimental previo realizado por nuestro grupo entre 2012 y 2016,^(80,81) en el que la población diana eran pacientes con EAC, la mayoría de ellos con SCA, sometidos a ICP con colocación de stent e indicación de tratamiento antiagregante plaquetario (además de un ciclo indefinido de AAS) y con un periodo de seguimiento de 12 meses.

En el estudio de intervención anterior, se establecieron dos grupos: en el «grupo de intervención», los pacientes portadores de alelos *CYP2C19* LoF (*2 o *3) y/o con genotipo de riesgo *TT* para el *ABCB1* *C3435T* recibieron prasugrel (5 o 10 mg diarios según peso y edad) o ticagrelor (90 mg dos veces al día) como tratamiento antiplaquetario; y el resto de pacientes, con función normal de los genes *CYP2C19* y *ABCB1*, recibieron clopidogrel (75 mg/día). En el «grupo de no intervención», los pacientes fueron tratados principalmente con clopidogrel (75 mg/día), independientemente de su perfil genético.

La variable principal de eficacia fue la combinada de muerte CV, SCA o ictus no mortal en los 12 meses posteriores a la ICP. Los criterios secundarios de valoración fueron la tasa de trombosis definitiva del stent y la necesidad de revascularización urgente no relacionada con la trombosis del stent. Los criterios de valoración de seguridad incluyeron las hemorragias mayores o menores según los criterios TIMI no relacionadas con la revascularización coronaria.

El estudio concluyó que la estrategia guiada por el genotipo *CYP2C19/ABCB1* en la elección del tratamiento antiplaquetario fue capaz de reducir las tasas de MACEs y de hemorragias durante los 12 meses posteriores a la ICP en comparación con una estrategia no guiada en pacientes con SCA-ICP-stent. Sin embargo, el criterio de valoración primario se produjo en 32 pacientes (10,1 %)

del grupo de intervención y en 59 pacientes (14,1 %) del grupo de no intervención (HR 0,63; IC del 95 %: 0,41-0,97; $p = 0,037$).

A partir de estos resultados previos surgió nuestro interés por realizar el estudio actual, en el que queríamos identificar nuevas variantes genéticas asociadas con la aparición de eventos adversos recurrentes durante el periodo de seguimiento a pesar del tratamiento antiagregante plaquetario guiado por PGx.

2. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

El gran número de polimorfismos analizados en nuestro panel de genes requiere el uso de niveles estrictos de significación estadística para evitar falsos positivos, lo que conlleva la necesidad de un gran tamaño muestral, que generalmente es difícil de alcanzar, ya que en los estudios PGx es necesario incluir tanto una enfermedad como un fenotipo de respuesta al fármaco bien establecido, lo que limita aún más la población de estudio disponible.

En nuestro caso, la cohorte original de pacientes con SCA-ICP-stent con terapia antiagregante (clopidogrel/prasugrel/ticagrelor) de la que disponíamos estaba formada por 1.840 individuos. De estos, el estudio cuasi-experimental previo incluyó a 719 pacientes (317 en el grupo intervenido PGx y 402 en el grupo de terapia convencional), de los cuales se disponía de datos de seguimiento de 12 meses. El resto se correspondía con pacientes de práctica clínica con tratamiento orientado PGx. Esto se debe a que, tras la obtención de los resultados del estudio mencionado, se implementó en el hospital un algoritmo de decisión que incluía el uso de un test genético para guiar la prescripción de los antiagregantes plaquetarios ([Anexo I](#)).

El tamaño muestral de este estudio viene determinado, por tanto, por el número de pacientes con tratamiento orientado o no por test genético, que fueron reclutados previamente y que presentaron un evento adverso durante el

seguimiento de un año (n = 109). El resto de muestras para los otros grupos (pacientes sin evento y grupo de individuos sin ECV estructural) se seleccionaron en consonancia con el primer grupo.

3. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Estudio observacional retrospectivo y unicéntrico, realizado mediante la recopilación y el análisis de los datos clínicos y genéticos de pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent, pertenecientes a un estudio de intervención cuasi-experimental previo, que incluía una rama intervenida por test PGx para el tratamiento antiagregante y una rama control sin test PGx, junto con una serie de pacientes control sin ECV estructural, reclutados *de novo*. El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de Granada ([Anexo II](#)).

Se analizaron un total de 343 individuos, los cuales fueron reclutados en el Servicio de Cardiología del Hospital Universitario Clínico San Cecilio entre 2012 y 2016 como parte de un estudio de intervención cuasi-experimental (pacientes con SCA-ICP-stent), y entre 2022 y 2023 para este estudio (pacientes del grupo control sin ECV).

3.1. Grupos de estudio

Basándonos en los resultados anteriores de nuestro grupo, decidimos estructurar la nueva población de estudio para la investigación de los efectos adversos del tratamiento antiplaquetario en tres grupos bien caracterizados:

- Una cohorte de pacientes con SCA sometidos a ICP con tratamiento antiagregante plaquetario (guiado o no por test genético) que presentaron un evento adverso durante el seguimiento de un año ([grupo 1, G1](#)).
- Una cohorte de pacientes con SCA sometidos a ICP con tratamiento antiplaquetario guiado por PGx que no presentaron un evento ([grupo 2, G2](#)).
- Una cohorte de población sin ECV estructural ([grupo 3, G3](#)).

Al comparar los dos primeros grupos, planteamos la hipótesis de que las variantes diferenciales entre ellos pudieran estar relacionadas con la respuesta variable a los antiagregantes plaquetarios. Del mismo modo, al comparar los dos primeros grupos con el tercero, planteamos la hipótesis de que las variantes diferenciales podrían estar relacionadas con el desarrollo de la propia ECV.

3.2. Criterios de inclusión

En la cohorte de pacientes SCA reclutada previamente, debía tratarse de pacientes mayores de edad, con diagnóstico de EAC, sometidos a ICP con implantación de stent en el Servicio de Cardiología del Hospital San Cecilio y en tratamiento con la medicación del estudio (clopidogrel/prasugrel/ticagrelor) durante 12 meses. También debían haber firmado el consentimiento informado (Anexo III) para poder participar en el estudio (Figura 13).

Cohorte de pacientes SCA sometidos a ICP (reclutada previamente)	Cohorte de población sin ECV estructural (reclutada en este estudio)
CRITERIOS DE INCLUSIÓN (todos los siguientes)	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pacientes ≥ 18 años con diagnóstico de SCA con/sin elevación del segmento ST o angina inestable ▪ Sometidos a ICP con implantación de stent ▪ Tratados con clopidogrel, prasugrel o ticagrelor durante 12 meses ▪ Con consentimiento informado firmado para participar en el estudio 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pacientes ≥ 18 años sin historia familiar o personal previa de enfermedad cardiovascular estructural confirmada por ECG, prueba de esfuerzo, ecocardiograma y/o coronariografía ▪ Con consentimiento informado firmado para participar en el estudio
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN (alguno de los siguientes)	
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Pacientes que requieran anticoagulación oral ▪ Que presenten contraindicación para tomar ácido acetilsalicílico, clopidogrel, prasugrel o ticagrelor ▪ Con alto riesgo de hemorragia 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Historia clínica previa o datos anteriores de pruebas de imagen (ECG, ecocardiograma, resonancia magnética cardíaca o gammagrafía miocárdica) que sugieran la presencia de un infarto de miocardio previo ▪ Antecedentes de tratamiento con clopidogrel, prasugrel o ticagrelor

Figura 13. Criterios de reclutamiento.

En el caso de la cohorte de población sin ECV (reclutada para este estudio), debía tratarse de pacientes > 64 años (edad media de los pacientes de la rama intervenida: 64,1 ± 12,1 años), sin antecedentes familiares o personales de ECV estructural, confirmado por pruebas diagnósticas (p. ej., ECG, ecocardiograma o coronariografía). Del mismo modo, debían haber firmado el consentimiento informado para poder participar en el estudio.

3.3. Criterios de exclusión

En la cohorte de pacientes con SCA, pacientes que, habiendo sido sometidos a ICP, precisaran de tratamiento con anticoagulantes orales; presentaran alguna contraindicación para tomar AAS, clopidogrel, prasugrel o ticagrelor; o tuvieran un alto riesgo de hemorragia.

En la cohorte de controles, individuos con historia clínica previa o datos anteriores de pruebas de imagen que sugieran la presencia de un IAM previo; o con antecedentes de tratamiento con clopidogrel, prasugrel o ticagrelor.

3.4. Circuito de pacientes

En la cohorte de pacientes con SCA, una vez que el paciente era diagnosticado de SCA en los servicios de urgencias o cardiología y se comprobaba que cumplía los criterios de selección, pasaba a formar parte del estudio de intervención cuasi-experimental. Se informaba a los pacientes sobre los objetivos del estudio, se les solicitaba el consentimiento informado y se les realizaba la prueba PGx. Tras registrar en un «formulario de recogida de datos» que el paciente cumplía los criterios de selección, se revisaba su situación clínica y se registraba en el formulario la información correspondiente sobre su historia clínica. Se hizo un seguimiento de cada paciente a los 1, 3, 6 y 12 meses.

En la cohorte de controles, se realizó una búsqueda de aquellos pacientes que habían acudido al servicio de cardiología en algún momento y, tras haberles realizado alguna de las pruebas mencionadas, se descartó que tuvieran enfermedad cardíaca. Se contactó con los posibles candidatos y se les realizó una encuesta telefónica para comprobar si cumplían o no los criterios de selección. Si el individuo era seleccionado, se le informaba de los objetivos del estudio y se le solicitaba que se presentara en el hospital para firmar el consentimiento informado ([Anexo III](#)) y para tomarle una muestra de saliva.

4. INFORMACIÓN RECOGIDA

Se disponía de los datos fenotípicos del estudio anterior, mientras que los datos clínicos y demográficos de los nuevos pacientes reclutados (grupo control) se obtuvieron mediante una cuidadosa revisión de sus historias clínicas electrónicas a través de la aplicación «Diraya Estación Clínica» en el Hospital Universitario San Cecilio.

4.1. Variables demográficas, clínicas y farmacológicas

Para la **cohorte de pacientes con SCA** sometidos a ICP (stent), reclutados previamente, se disponía de las siguientes variables relativas a las características basales y durante el seguimiento de los individuos reclutados. Los datos recopilados procedían de una base de datos generada por el cardiólogo a partir de la información de las historias clínicas de los pacientes.

- ❖ Variables independientes relacionadas con las características basales de los individuos:
 - Factores demográficos: edad, sexo y origen étnico.
 - Factores de riesgo CV: hipertensión, dislipemia, IMC (obesidad), consumo de tabaco, DM e insuficiencia renal. También se recopiló la presencia de antecedentes CV: angina previa, SCA previo, ICP o stent previos, enfermedad arterial periférica previa y/o ictus previo.
- ❖ Variables independientes relacionadas con la patología:
 - Diagnóstico para el reclutamiento: angina estable, IAMCEST o IAMSEST.
 - Revascularización: ICP (stent normal, stent liberador de fármacos), número de stent, longitud del stent.
 - Características relacionadas con el tratamiento inicial: trombolisis, ICP primaria, angioplastia de rescate.
- ❖ Variables relacionadas con el seguimiento:
 - Tratamiento farmacológico al alta: AAS, antiagregante plaquetario.

- Características relacionadas con el tratamiento: duración, cambios de tratamiento.
- Tratamiento concomitante: β -bloqueantes, antihipertensivos (IECA o ARA-II), diuréticos, hipolipemiantes (estatinas) o protectores de estómago.

Para la **cohorte de controles sin ECV**, se recogieron las siguientes variables relacionadas con las características basales de los individuos para descartar ECV:

- ❖ Factores demográficos: edad, sexo y origen étnico.
- ❖ Factores de riesgo CV: historial familiar de enfermedad coronaria, hipertensión, dislipemia, IMC (obesidad), consumo de tabaco, DM e insuficiencia renal. También se recopiló la presencia de antecedentes CV: angina previa, SCA previo, ICP o stent previos, enfermedad arterial periférica previa y/o ictus previo.
- ❖ Resultados de pruebas diagnósticas: ECG, prueba de esfuerzo (ergometría), ecocardiograma, coronariografía y/o cardioresonancia.

4.2. Variables genéticas

Se disponía de las variantes analizadas en el estudio previo para guiar la prescripción de diversos fármacos:

- ❖ *CYP2C19* c.681G>A (*2, rs4244285), *CYP2C19* c.636G>A (*3, rs4986893) y *ABCB1* c.3435C>T (rs1045642) para guiar el tratamiento antiagregante plaquetario.
- ❖ *SLCO1B1* c.521T>C (rs4149056) para guiar el tratamiento con estatinas.

4.3. Desenlace clínico

La variable principal de desenlace clínico fue la aparición de un evento adverso posterior al tratamiento con antiagregantes plaquetarios durante el seguimiento de un año, clasificado como:

❖ Evento primario:

- Muerte CV: muerte por cualquier causa CV demostrable o muerte no claramente atribuible a una causa no CV.
- SCA no mortal: síntomas clínicos compatibles con isquemia miocárdica aguda, que incluyen la AI (sin elevación de troponinas), el IAMSEST (elevación de troponinas sin elevación del segmento ST) y el IAMCEST (elevación persistente del segmento ST en el ECG con troponina positiva).
- Ictus no mortal: déficit neurológico de 24 h o más con confirmación por tomografía computarizada o resonancia magnética.

❖ Evento secundario:

- Necesidad de revascularización urgente: revascularización coronaria que se lleva a cabo en pacientes que presentan isquemia espontánea. Se define como cualquier angioplastia (ICP) realizada durante un ingreso inesperado debido a un empeoramiento.
- Trombosis del stent: oclusión total o trombo visible dentro del stent o en los 5 mm del stent en presencia de un síndrome clínico isquémico agudo en las 48 h. Constituye una de las complicaciones más catastróficas de la ICP.
- Reestenosis: estrechamiento de la luz de una arteria coronaria tratada previamente con angioplastia (ICP) y colocación de stent.

❖ Evento hemorrágico:

- Hemorragia mayor
- Hemorragia menor

Se consideraron aquellos eventos que fueron registrados como parte del estudio de intervención cuasi-experimental anterior, de acuerdo al criterio del clínico responsable, durante el periodo en que los pacientes estaban recibiendo tratamiento con antiagregantes plaquetarios. Además, se anotó la fecha en que se produjo el evento y el tiempo de aparición desde el inicio del tratamiento con DAPT.

5. DISEÑO PERSONALIZADO DEL PANEL DE GENES

La selección de variantes candidatas para el diseño de nuestro panel de genes personalizado se realizó de la siguiente manera. Incluimos dos grupos de genes y polimorfismos; el primer grupo, bien definido, constaba de genes implicados en las vías metabólicas de los antiagregantes plaquetarios más utilizados en pacientes con SCA-ICP-stent (clopidogrel, prasugrel y ticagrelor), así como los farmacogenes más relevantes hasta la fecha (VIP), según la base de datos PharmGKB.⁽³²⁾ El segundo grupo integraba genes relacionados con la aparición de ECV, implicados en los mecanismos moleculares de la aterosclerosis, la angiogénesis vascular, el metabolismo lipídico, la coagulación, la fibrinólisis y la trombosis arterial. Este último grupo representaba el mayor conjunto de genes notificados en GWAS (literatura, catálogo GWAS, ClinVar) con un alto grado de asociación (valor $p < 5,0 \times 10^{-8}$). En el artículo publicado por Antúnez-Rodríguez *et al.*⁽⁸⁵⁾ se ofrece una descripción más detallada de todo el proceso de diseño del panel.

El diseño de las sondas de captura personalizadas se realizó mediante la herramienta informática NimbDesign (Roche, Basel, Switzerland). En el diseño final se incluyeron 1.820 genes y 1.980 coordenadas que agrupaban exones codificantes de los genes incluidos y algunas regiones intrónicas e intergénicas adyacentes. Para cada una de las coordenadas seleccionadas, se generó un rango de 300 pb aguas arriba y 300 pb aguas abajo, de forma que la región seleccionada quedara bien cubierta.

Las sondas se diseñaron según la secuencia de referencia *H.sapiens*, hg19, GRCh37. El tamaño total de la región capturada fue de ~5 Mb, con una cobertura estimada del 98,5 %.

6. ANÁLISIS GENÓMICO

6.1. Extracción y cuantificación de ADN

El ADN genómico de cada participante se extrajo a partir de las células de la mucosa bucal (hisopos bucales) siguiendo el método descrito por Freeman *et al.*,⁽⁸⁶⁾ un protocolo no-orgánico (proteínasa K) con algunas modificaciones descritas por Gómez-Martín *et al.*⁽⁸⁷⁾

La calidad y concentración de los ácidos nucleicos se determinaron mediante espectrofotometría UV/VIS (ultravioleta-visible) con el Nanodrop y mediante fluorimetría con el Qubit 4 fluorometer (ambos de Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.).

El estudio se realizó de acuerdo con la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Ética de Granada (España), «CEIM/CEI Provincial de Granada». Además, todas las muestras se han gestionado como una colección privada de muestras (n.º 0004153), inscrita en el Registro Nacional de Biobancos del Instituto Carlos III (proyecto RD09/0076/00148), asegurando así el tratamiento integral de las muestras y los datos asociados, de acuerdo con la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica; la Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales; y la Ley 41/2002, de 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

6.2. Preparación de librerías

Para la preparación de las librerías se eligieron los protocolos *KAPA HyperPlus* y *NimbleGen SeqCap EZ Library Prep* (ambos de Roche, Basel, Switzerland). El proceso consta de las siguientes etapas (Figura 14):

- Sonicación: partimos de 350 ng de ADN genómico que se fragmenta, mediante ultrasonidos, en pequeños fragmentos. Especialmente en el caso de las

tecnologías de secuenciación de lectura corta, como Illumina, las muestras de ADN deben fragmentarse hasta un tamaño óptimo de 180-220 pb, el cual debe comprobarse mediante un chip de alta sensibilidad (HS, del inglés *High Sensitivity*) de Bioanalyzer (Agilent, Santa Clara, CA, EE.UU.) ([Anexo IV](#)) antes de proceder al siguiente paso (punto de control del proceso).

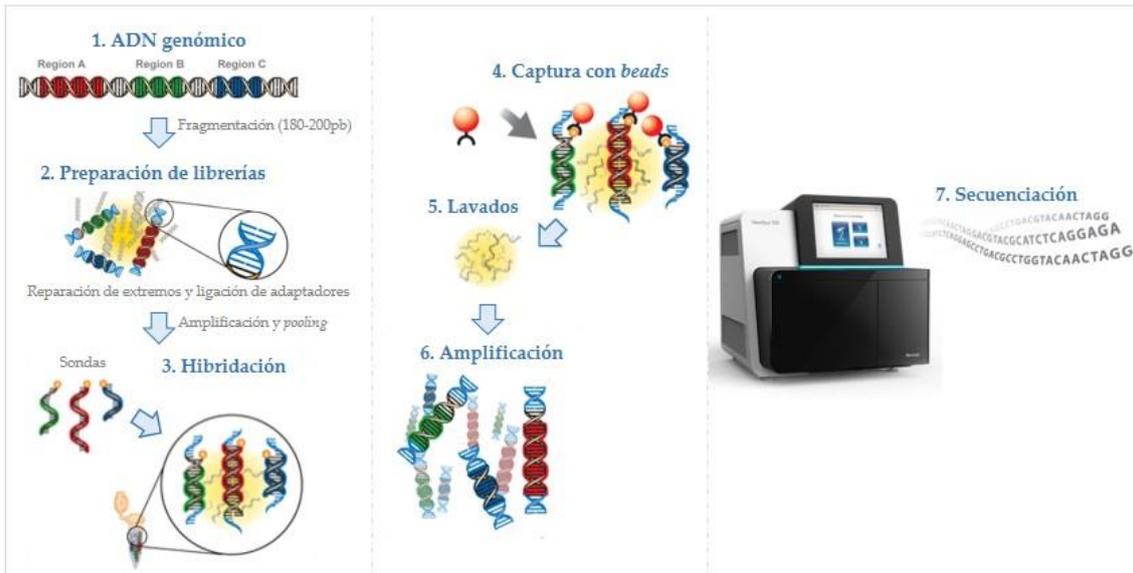


Figura 14. Esquema de la preparación de la librería según el protocolo *NimbleGen SeqCap EZ Library Prep kit* (Roche).

Modificado del protocolo *SeqCap EZ Library Prep*.⁽⁸⁸⁾

- Reparación de extremos y adenilación. Este proceso convierte los extremos cohesivos resultantes de la fragmentación en extremos romos. Posteriormente, se añade una adenina (A) al extremo 3' de los fragmentos reparados, creándose un sitio de unión para los adaptadores que tienen una timina (T) en su extremo 3'.
- Ligación de los adaptadores específicos de Illumina en ambos extremos de los fragmentos resultantes. De este modo, las muestras se identifican individualmente mediante la combinación de dos oligonucleótidos específicos (*index*), lo que nos permite secuenciar más de una muestra en la misma carrera de secuenciación (en un proceso denominado «multiplexado»).
- Purificación posterior a la ligación y «selección de tamaño dual». En primer lugar, se purifica cada librería con las esferas magnéticas Agencourt AMPure XP (Beckman Coulter, Pasadena, CA, EE.UU.) para eliminar los restos

de reactivos. A continuación, se eliminan los fragmentos de ADN de mayor y menor tamaño para garantizar el tamaño óptimo de la librería (250-450 pb) antes de su enriquecimiento.

- Amplificación previa a la captura de la librería y posterior purificación (AMPure XP). Los fragmentos de ADN con adaptadores en sus extremos se enriquecen mediante una reacción en cadena de la polimerasa (PCR, del inglés *polymerase chain reaction*) mediada por ligación (LM-PCR, *Ligation-mediated PCR*) y se purifican para eliminar los restos de reactivos.

- Medida de la cantidad/calidad de las librerías individuales (punto de control del proceso). En este momento, cada librería se cuantifica mediante Qubit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) y se comprueba su tamaño (150-500 pb) mediante electroforesis capilar en un chip DNA 1000 de Bioanalyzer (Agilent, Santa Clara, CA, EE.UU.) ([Anexo V](#)). De este modo, confirmamos que la librería se ha realizado correctamente antes de proceder a la hibridación con la sonda de captura.

- Preparar la mezcla de librerías de muestras multiplexadas (*pool*). Se mezclan las librerías que serán secuenciadas en la misma carrera en cantidades equimolares (en este caso, 100 ng por librería en *pools* de 40 muestras).

- Enriquecimiento de las regiones específicas de interés (panel de genes). Consiste en tres pasos:

- ❖ Hibridación. Previa desnaturalización del ADN, la mezcla de librerías (1 μ g de *pool*) se incuba con las sondas diseñadas para las regiones deseadas, que suelen estar marcadas con biotina. La hibridación, que dura entre 16-20 h, asegura la unión de las sondas a las regiones correspondientes.

- ❖ Captura. Se incuba la librería hibridada con unas esferas magnéticas unidas a estreptavidina (beads de captura). Los fragmentos hibridados con las sondas se unirán a las esferas magnéticas mediante una unión específica biotina-estreptavidina. Posteriormente, se lleva a cabo un proceso de lavado con diferentes tipos de *buffer* que eliminan todo lo que no se haya unido a

las sondas y, finalmente, se recuperan las librerías que contienen las regiones de interés, separadas del resto del genoma.

- ❖ Amplificación posterior a la captura y purificación (AMPure XP). Las regiones capturadas se enriquecen mediante LM-PCR y el *pool* final se purifica para eliminar los restos de reactivos.

- Medida de la concentración, distribución del tamaño y calidad de la librería amplificada y capturada. En este momento, cada *pool* de librerías se cuantifica mediante Qubit (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE.UU.) y se comprueba su tamaño (150-500 pb) mediante electroforesis capilar en un chip DNA 1000 de Bioanalyzer (Agilent, Santa Clara, CA, EE.UU.) ([Anexo VI](#)). De este modo, confirmamos que la librería final no tiene dímeros de *primers* y que tiene el tamaño apropiado (325-450 pb) para ser secuenciada.

6.3. Secuenciación

Las librerías generadas se secuenciaron por pares con una longitud de secuencia de 75 pb (*paired-end*) en la plataforma NextSeq 500 (Illumina, Inc., San Diego, CA, EE.UU.) con el reactivo NextSeq 500/500 High Output v2.5 kit (150 ciclos, 2 x 75) (Illumina). Esta configuración proporcionó una cobertura de 2-5 millones de lecturas por muestra, que consideramos adecuada para la detección de variantes en la línea germinal.

El proceso de secuenciación consta de una primera fase de *clustering* o generación de clones antes de la secuenciación propiamente dicha.

La «*formación de clusters*» es el proceso en el que cada fragmento de librería se amplifica para formar clones de un mismo fragmento. Para ello se requiere de un soporte en el que se llevará a cabo la secuenciación. En este caso, se utiliza una *flow cell*, un cristal que contiene anclados unos oligonucleótidos complementarios a las secuencias de los adaptadores ligados durante el proceso de preparación de la muestra. Las librerías se unen al azar a la superficie de la *flow cell* mediante los adaptadores complementarios. Una vez unidas por un extremo, las cadenas se

doblan y se unen por su otro extremo libre, opuesto al oligonucleótido complementario unido a la superficie, formando un puente. A continuación, se amplifica la cadena complementaria, formando fragmentos de doble cadena y, posteriormente, se desnaturalizan. Esta amplificación se repite hasta formar *clusters* compuestos de unas 1.000 copias del mismo fragmento a lo largo de toda la *flow cell*. Después de la formación de *clusters*, se liberan todas las cadenas reversas, permaneciendo unidas solo las directas (Figura 15).⁽⁸⁹⁾

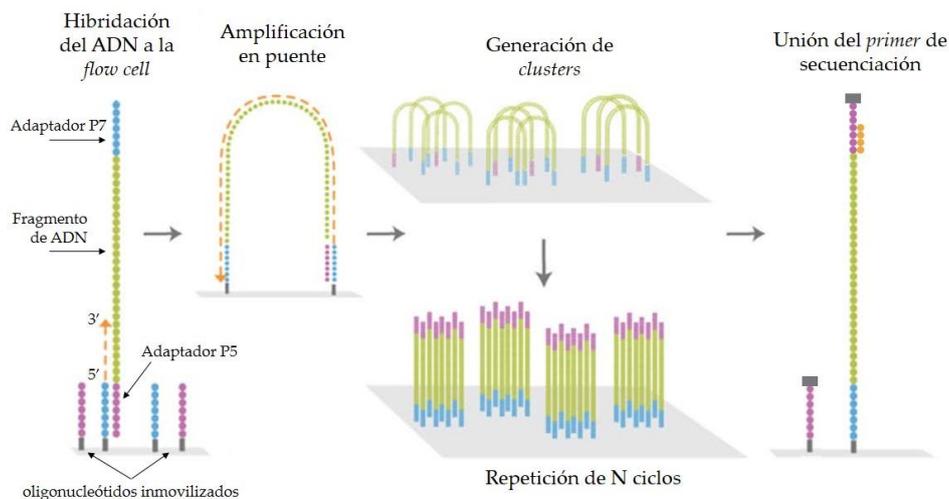


Figura 15. Etapa de amplificación clonal (*clustering*).

Modificada de Deanov, 2022.⁽⁹⁰⁾

La «**secuenciación**» comienza con la unión del *primer* de secuenciación al extremo libre del fragmento unido a la *flow cell*, dando lugar a la primera lectura. En cada ciclo de secuenciación, los nucleótidos (dNTP, por sus siglas en inglés) –marcados cada uno con un fluoróforo diferente, que bloquea de forma reversible la elongación de la cadena– compiten por unirse a esta, pero solo se unirá el complementario a la cadena molde (una base por ronda). La *flow cell* se lava para eliminar los dNTPs no unidos y, posteriormente, los *clusters* se excitan con un láser. Cada *cluster* emitirá una señal fluorescente correspondiente al nucleótido recién incorporado. Una vez se haya visualizado la etiqueta fluorescente, esta se escinde enzimáticamente y el siguiente dNTP puede unirse a la cadena, repitiéndose el proceso. El número de ciclos de secuenciación determinará la longitud de la lectura. Este proceso se conoce como «secuenciación por síntesis».⁽⁹¹⁾

Una de las características del reactivo empleado es que la construcción de las lecturas es pareada (*paired-end*), es decir, en lugar de secuenciar 150 nucleótidos en una dirección, se secuencian 75 nucleótidos a partir de un extremo y 75 a partir del otro extremo del mismo fragmento. Las lecturas pareadas ofrecen ventajas en el alineamiento contra el genoma de referencia, sobre todo en regiones repetitivas, y facilitan la detección de reordenamientos, como inserciones, deleciones e inversiones.

7. ANÁLISIS BIOINFORMÁTICO

Las lecturas generadas se almacenan en archivos FASTQ. Este tipo de fichero hace referencia a un fichero FASTA y la letra «Q» se refiere a calidad (del inglés, *quality*). El archivo FASTQ es un formato de texto que se utiliza para almacenar una secuencia biológica (generalmente, una secuencia de nucleótidos) junto con sus puntuaciones de calidad correspondientes. Tanto la letra de la secuencia como el valor de calidad están codificados con un solo carácter ASCII (*American Standard Code for Information Interchange*), lo que reduce enormemente el tamaño de estos archivos.⁽⁹²⁾

Si las lecturas obtenidas corresponden a varias muestras, asignaremos cada lectura a la muestra de origen mediante un proceso *in silico* denominado «demultiplexado». Este proceso no es más que la reorganización de los archivos FASTQ según el *index* de cada fragmento. De esta forma, las lecturas se almacenarán en distintos FASTQ según el *index*. En la plataforma de secuenciación de Illumina, la mayoría de los secuenciadores ofrecen la posibilidad de demultiplexar las lecturas dentro de un proceso automatizado, generando directamente los ficheros demultiplexados.

7.1. Control de calidad de los datos de secuenciación

En primer lugar, se evaluaron los parámetros de calidad de la secuenciación mediante los datos proporcionados por la plataforma de Illumina, *Base Space*. Las

plataformas de secuenciación generan unos valores de probabilidad de error por base llamados «valores de calidad de Phred» o «*Phred Quality Score (Q score)*». El parámetro más empleado para evaluar la exactitud de la plataforma de secuenciación es la «exactitud de llamada de base» o «*base calling accuracy*», e indica la probabilidad de que la lectura de una base sea incorrecta. En NGS, se considera valor de referencia un *Q score* de 30 (Q30), que equivale a la probabilidad de que 1 entre 1.000 bases leídas sea incorrecta, y un *base call accuracy* del 99,9 %.⁽⁸⁹⁾

El control de calidad de los datos de estas muestras se realizó con las herramientas FastQC y MultiQC, las cuales permiten la generación de informes con una serie de gráficos que ofrecen información sobre la calidad de las lecturas.

7.2. Alineamiento con el genoma de referencia

La «alineación o mapeo» de las lecturas obtenidas tras la secuenciación consiste en el proceso a través del cual se determina la posición de cada uno de los millones de fragmentos leídos en un genoma de referencia. La determinación de la posición de cada lectura dentro de un genoma de referencia implica la asignación de estas secuencias a unas coordenadas genómicas concretas. A pesar del elevado número de bases nucleotídicas que presenta un genoma, lecturas de más de 25 bases de longitud bastan para que la alineación sea única, incluso permitiendo “errores” (*mismatches*) o *gaps*.⁽⁹³⁾

Una vez que se agruparon todas las lecturas procesadas para cada muestra y se evaluó su calidad, se alinearon con el genoma humano de referencia (GRCh37/hg19) con el fin de poder ubicarlas y contrastarlas con la información conocida, e identificar así las alteraciones respecto a la secuencia conocida. Existen multitud de herramientas que pueden utilizarse para llevar a cabo este proceso, pero en este trabajo se decidió utilizar la herramienta BWA-MEM

(*Burrows-Wheeler Aligner - Maximal Exact Match*), ya que tiene un mejor rendimiento para las lecturas de 70-100 pb de las plataformas Illumina.

7.3. Control de calidad y filtrado de lecturas útiles

En la mayoría de los protocolos de análisis de NGS, tras la alineación, se descartan los «duplicados de PCR». Estos duplicados proceden de las lecturas de productos de PCR generados a partir del mismo *template*. Se recomienda eliminarlos del proceso, ya que pueden dar lugar a falsos positivos en la llamada de variantes. Es importante encontrar un equilibrio entre no perder demasiada información y no partir de datos sesgados que den lugar a errores. Dos de los softwares más comúnmente usados en este proceso son Picard (MarkDuplicates) y SAMTools (rmdup), que se encargan de identificar y marcar las lecturas duplicadas en un archivo BAM (*Binary Alignment Map*) para excluirlas del análisis posterior.⁽⁹⁴⁾

Al igual que en la primera fase, se pueden generar informes de calidad sobre los resultados obtenidos. El control de calidad de los archivos BAM se realizó con la herramienta QualiMap, la cual se encarga de aportar información sobre la calidad de las alineaciones.

Un aspecto fundamental a tener en cuenta para evaluar la calidad de las lecturas es la «**profundidad de la cobertura**» (o *coverage*), que se define como el número de veces que cada nucleótido es secuenciado de forma independiente en diferentes lecturas, es decir, el número de lecturas que son asignadas a una posición genómica determinada. El aumento de la cobertura reduce efectivamente la tasa de error, especialmente para las llamadas de variantes heterocigotas. Se estableció un umbral de profundidad de lectura de 70×.

7.4. Llamada de variantes puntuales (SNVs)

Una vez procesadas las lecturas alineadas, el siguiente paso en el proceso bioinformático es la «llamada de variantes» o «*variant calling*». Durante esta

etapa, la secuencia de ADN de las muestras del estudio se compara con la secuencia consenso del genoma de referencia para identificar discrepancias (*mismatch*) en las lecturas que cubren cada posición. En caso de encontrar suficientes lecturas con el mismo *mismatch* que descarte un error de secuenciación o de alineamiento, este *mismatch* se reporta como una «variante».⁽⁹⁵⁾

Al igual que ocurre con los alineadores, existen diversas opciones de *variant callers*, como GATK Mutect2 (variantes somáticas), GATK Haplotypecaller (variantes germinales), VarScan2, VarDict, FreeBayes y LoFreq, que suelen utilizar estadística bayesiana para inferir el genotipo más probable. El archivo de salida de estas herramientas suele ser un fichero vcf (del inglés, *variant call format*), que contiene todas las discrepancias entre las lecturas de la muestra y el genoma de referencia. Sin embargo, carece de la información sobre qué genes se encuentran en la región donde se ha detectado la variante.

En este estudio, se optó por bcftools para la llamada de variantes. Se eliminaron tanto los artefactos técnicos (software interno) como las variantes que no superaban el filtro de calidad (QUAL < 30), y las variantes restantes se anotaron.

7.5. Anotación de variantes

Tras obtener la lista definitiva de variantes,^L el siguiente paso consiste en llevar a cabo su anotación funcional, para lo cual utilizamos el programa SNPnexus. Esta herramienta consulta en múltiples bases de datos la información de cada variante detectada en la fase anterior, lo que permite una mejor interpretación de los resultados.

SNPnexus posee tres tipos de anotación diferentes definidos por tres grandes grupos de bases de datos integradas:

^L En nuestro caso, la anotación de variantes se realizó tras el preprocesamiento, la imputación de variantes y el análisis de asociación (ver apartado «8.2. Estudio de asociación»).

❖ En primer lugar, se tendrán en cuenta una serie de bases de datos destinadas a facilitar la frecuencia de las variantes en la población (ExAC, dbSNP, gnomAD y 1kGP), lo que permitirá saber si una variante es un simple polimorfismo o, por el contrario, una mutación genética de inusual aparición.

❖ En segundo lugar, se encuentran las denominadas *In Silico Prediction Tools*, que se encargan de predecir la patogenicidad de las variantes en función del posible cambio de aminoácido que pueden acarrear. Entre todas ellas, cabe destacar SIFT, Polyphen2, MutationTaster y CADD.

❖ Por último, están las bases de datos especializadas en enfermedades, siendo de interés los identificadores asociados a cada variante obtenida, que permiten a los usuarios acceder de forma rápida a la información disponible en dichas bases de datos sobre las variantes detectadas. Suelen utilizarse COSMIC, ClinVar y Varsome.⁽⁹⁶⁾

7.6. Priorización de variantes

Es importante tener en cuenta que durante la llamada de variantes se identifican miles de variantes, por lo que, tras el paso de anotación, se puede llevar a cabo la priorización de las mismas para obtener un conjunto manejable de datos y para determinar si alguna de las variantes identificadas es responsable de un fenotipo concreto.

Para abordar este proceso, se evalúan una serie de «[parámetros de priorización](#)» que indican el nivel de conservación de la región donde se encuentra el SNV, su frecuencia poblacional y/o el impacto previsto del cambio de secuencia en la estructura de la proteína y el dominio. A continuación, se detallan los parámetros a considerar:

- Frecuencia de la variante en la población. Si la frecuencia con la que se presenta una variante en la población (MAF) es superior al 1 %, es poco probable que dicha variante tenga consecuencias patológicas asociadas.

- Consecuencia (*Sequence Ontology*, SO). La anotación de la secuencia en el genoma, si corresponde con un exón, un promotor o un intrón, nos revelará información acerca del posible efecto de la variante (pérdida de función de la proteína, *splicing* alternativo, etc.).
- Conservación. La conservación de regiones genómicas a lo largo de la evolución indica que las variantes presentes en estas regiones son más relevantes que las localizadas en otras regiones menos conservadas.
- Patogenicidad (SIFT, PolyPhen, CADD). Gracias a la información ya reportada sobre variantes genéticas, se establece una puntuación del nivel de patogenicidad de las mismas.
- Modos de herencia. Si estamos realizando estudios familiares (normalmente tríos –padre, madre e hijo/a–), podremos filtrar las variantes obtenidas según el modelo de herencia genética: herencia dominante, herencia recesiva, herencia ligada al cromosoma Y o X, etc.⁽⁹⁷⁾

Para llevar a cabo la priorización de variantes y genes candidatos no existe una estrategia estándar de procesamiento para los datos de secuenciación, ya que el flujo de trabajo varía en función del tipo de experimento. En general, se recomienda establecer los siguientes criterios de filtrado para seleccionar variantes candidatas posiblemente deletéreas: variantes raras o poco frecuentes, localizadas en regiones codificantes, cuyos efectos a nivel transcripcional resulten potencialmente dañinos (variantes clasificadas como “*non-synonymous*”, “*splice site*”, “*frameshift*” o “*stop gained/lost*”), y con puntuaciones de estimación de patogenicidad en alguno de los predictores (SIFT < 0.05, PolyPhen-2 > 0.85 o CADD phred > 20). Sin embargo, debido a que nuestro principal objetivo consistía en identificar variantes relacionadas con el metabolismo de fármacos y con utilidad clínica, no aplicamos dichos filtros, aunque sí tuvimos en cuenta la frecuencia y las consecuencias funcionales de las variantes identificadas.

8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

8.1. Estadística descriptiva de la población de estudio

En primer lugar, se llevó a cabo un análisis descriptivo y de frecuencias de las principales características demográficas y clínicas de la cohorte global de pacientes incluidos en el estudio, así como de las características relacionadas con el tratamiento prescrito tras el ingreso hospitalario en la cohorte de pacientes con SCA-ICP, y de las características relacionadas con la incidencia de resultados clínicos posteriores.

Para realizar este análisis, se utilizó el software *RStudio* (versión 2023.6.1.524) y la versión 4.2.2 de R. Las diferentes características se compararon entre los grupos definidos en este estudio usando el paquete *tableone* (versión 0.13.2). Se usó el test chi-cuadrado de Pearson para las variables categóricas (cualitativas) y la prueba t-Student para las variables continuas (cuantitativas), considerando estadísticamente significativos valores de p inferiores a 0,05.

8.2. Estudio de asociación

Posteriormente, se realizó el análisis de asociación de las variantes genéticas identificadas entre los distintos grupos planteados, estableciendo diferentes comparativas: «intervención (grupo G1.1) vs no.intervención (grupo G1.2)», «evento (grupo G1) vs no.evento (grupo G2)» y «caso (grupo G1&G2) vs control (grupo G3)». Además, se estudió la asociación de los polimorfismos y el desarrollo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos («evento vs no.evento») en función del tratamiento prescrito (clopidogrel o prasugrel).

Antes del análisis estadístico, los datos de genotipo se sometieron a un procedimiento estándar de control de calidad y se preprocesaron para la imputación. En la [Figura 16](#) se muestran los parámetros empleados para filtrar los datos.

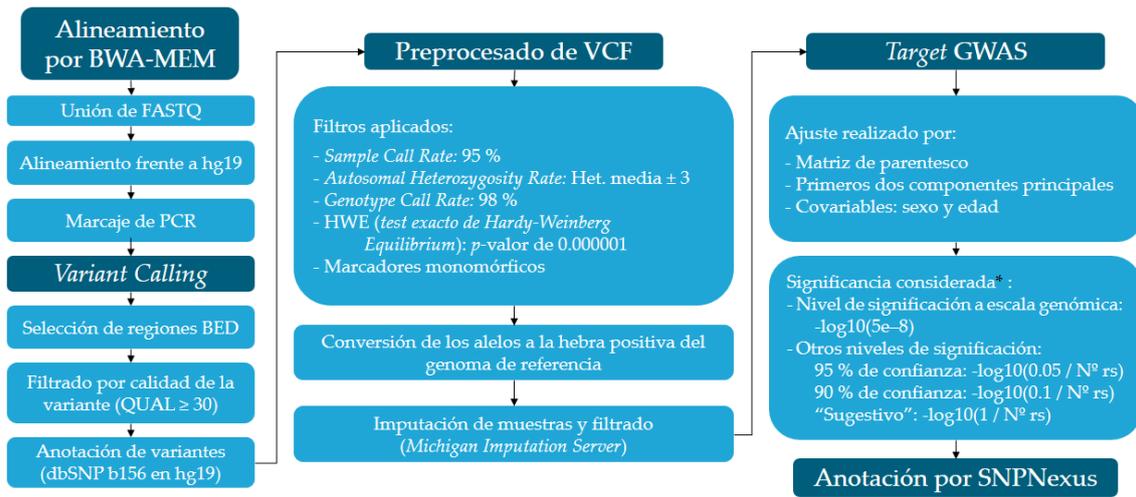


Figura 16. Flujo de trabajo para llevar a cabo el análisis de asociación.

* Para más detalles, consultar: doi:10.1038/ng1195-241 y doi:10.1186/s12711-017-0295-4.

Tras el preprocesamiento de los archivos vcf, se llevó a cabo la «**imputación**», un proceso de estimación de los genotipos faltantes a partir de un panel de referencia de haplotipos o genotipos. Para ello, utilizamos el *Michigan Imputation Server* (Minimac4 version 1.7.4; panel de referencia: *Haplotype Reference Consortium*, HRC r1.1 2016 (hg19); fecha de imputación: octubre de 2023), aumentando así la capacidad de detección de variantes no presentes en nuestra muestra de estudio.

Una vez identificadas y anotadas las variantes, y tras aplicar los distintos filtros mencionados, se utilizó el paquete GENESIS v2.30.0 (en R) para realizar los análisis de ascendencia, parentesco y de asociación genómica.

Inferencia de ascendencia

El «**análisis de componentes principales**» (PCA, del inglés *principal component analysis*) es una de las herramientas estadísticas más útiles para analizar datos multivariantes y reducir su dimensionalidad. El PCA transforma el conjunto original de variables (información genotípica) en un número menor de componentes no correlacionados y con máxima varianza, perdiendo la menor cantidad de información posible.⁽⁹⁸⁾

El método PC-AiR (*Principal Components Analysis in Related Samples*) utiliza datos de cribado genómico y un algoritmo eficiente para identificar un subconjunto diverso de individuos no emparentados, representativo de todas las ascendencias presentes en la muestra. Este método realiza el PCA directamente en el subconjunto representativo de ascendencia identificado y, a continuación, predice los componentes de variación para todos los individuos restantes en función de las similitudes genéticas. Como característica más relevante, PC-AiR permite trabajar con un subconjunto de individuos para inferir la ascendencia sin requerir paneles de referencia externos u otra información genealógica.⁽⁹⁹⁾

En el contexto de estudios genéticos, el PCA es esencial para controlar la estructura poblacional, detectar similitudes entre muestras y corregir posibles confusiones debidas a la ascendencia compartida entre individuos. En este estudio, dado que partimos de una cohorte de muestras procedentes de la misma zona geográfica, no es de extrañar que encontremos muestras emparentadas entre sí. Se calcularon un total de 10 componentes principales (PC) mediante el método PC-AiR, de los cuales PC1 y PC2 explicaban la mayor parte de la varianza, por lo que se utilizaron como covariables en los análisis de asociación.

Inferencia de parentesco

El análisis de parentesco a partir de los datos genéticos es esencial para identificar y ajustar las relaciones familiares dentro de una cohorte, evitando así sesgos en los análisis genómicos. En los estudios de GWAS y de secuenciación, por ejemplo, es necesaria una inferencia precisa tanto del «parentesco genético cercano» (p. ej., la estructura familiar), como del «parentesco genético lejano» (p. ej., la estructura de la población) para prevenir asociaciones erróneas.

El método PC-Relate se presenta como un enfoque sin modelos para estimar las medidas de parentesco genético cercano más frecuentemente utilizadas, como

los coeficientes de parentesco^M y las probabilidades de compartir identidad por descendencia (IBD, del inglés *identical/identity by descent*), en presencia de una estructura poblacional no especificada. Por tanto, este método no requiere de la especificación previa de los grupos ancestrales de los que proceden los individuos de la muestra, ni de paneles de población de referencia adecuados para las ascendencias de la muestra.⁽¹⁰⁰⁾

A partir de los datos de genotipo, se calcularon los coeficientes de parentesco (matriz de parentesco) utilizando el método PC-Relate. Se aplicaron los PC de PC-AiR para ajustar la estructura de la población y, por último, se calcularon los coeficientes de parentesco ajustados (matriz de relaciones genéticas). Se estableció un umbral de coeficiente de parentesco $> 0,04$ para identificar muestras con un alto grado de parentesco (parientes de primer, segundo o tercer grado). Aunque se detectaron muestras relacionadas, se decidió mantenerlas en el análisis con el fin de no perder poder estadístico.

Análisis de asociación genómica

Las pruebas de asociación fenotípica se llevaron a cabo utilizando probabilidades genotípicas post-imputación bajo un modelo de efecto genético aditivo empleando el «método *frequentist likelihood score*». Las covariables de edad y sexo, junto con los dos primeros componentes principales de ancestría (PC1 y PC2), se incorporaron directamente al modelo para todas las comparaciones (en la comparación «caso vs control», se incluyó además la covariable «consumo de tabaco»). Se consideraron cuatro niveles de significación: nivel de significación a escala genómica, $-\log_{10}(5e^{-8})$; 95 % de confianza, $-\log_{10}(0.05/N^{\text{ors}})$; 90 % de confianza, $-\log_{10}(0.1/N^{\text{ors}})$, y nivel «sugestivo», $-\log_{10}(1/N^{\text{ors}})$.

^M El «coeficiente de parentesco» (*kinship coefficient*) es una medida sencilla de parentesco, definida como la probabilidad de que dos alelos en dos individuos muestreados aleatoriamente sean IBD.

8.3. Análisis de random forest

El «random forest» (o bosque aleatorio) es un algoritmo de aprendizaje automático supervisado que combina múltiples árboles de decisión para generar predicciones más robustas y precisas. Este método se utiliza para asignar, o clasificar, los datos de entrada en diferentes categorías predefinidas basándose en un conjunto de datos de entrenamiento cuya pertenencia a una categoría es conocida. Además, proporciona una selección no sesgada de cuáles son las variables escogidas que aportan las mayores contribuciones a la clasificación del modelo planteado.⁽¹⁰¹⁾

En este estudio, se llevó a cabo un análisis de random forest a partir de las variables clínicas más relevantes, en combinación con los resultados del análisis de asociación. Este análisis se realizó únicamente para la comparativa «evento vs no.evento», dado que consideramos que era la más relevante a la hora de evaluar los modelos planteados y aplicar los resultados en la mejora del algoritmo de decisión usado en la práctica clínica.

Se establecieron tres modelos, en los que se incluyeron las siguientes «variables predictoras» con el fin de evaluar su efecto sobre la susceptibilidad a eventos adversos durante el seguimiento de un año y determinar su importancia como predictores en la clasificación de los pacientes entre los dos grupos.

- VARIABLES CLÍNICAS (para los tres modelos):

Sexo, edad, IMC.

Diagnóstico principal al ingreso: AI, IAMCEST o IAMSEST.

Antecedentes CV previos: angina, IAM o ictus.

Factores de riesgo CV: hipercolesterolemia, hipertensión, diabetes, tabaco.

Antiagregante usado, β -bloqueantes, estatinas.

Estado de resistencia al clopidogrel, genotipos *CYP2C19**2 y *ABCB1* c.3435C>T.

- Variables genéticas (obtenidas del análisis de asociación):
 - Comparativa «evento vs no.evento»
rs2472434 (*ABCA1*), rs17618244 (*KBL*), rs114193458 (*LDAH*), rs3827066 (*ZNF335*).
 - Comparativa «evento vs no.evento» en pacientes que tomaron clopidogrel
rs34828128 (*FAM208A*), rs2472434 (*ABCA1*), rs17618244 (*KBL*), rs114193458 (*LDAH*), rs28365062 (*UGT2B7*), rs7439366 (*UGT2B7*), rs11509438 (*GSTO1*), rs10935838 (*P2RY12*), rs1907637 (*P2RY12*) y rs28371675 (*CYP2C9*).
 - Comparativa «evento vs no.evento» en pacientes que tomaron prasugrel
rs13047599 (*SON*), rs3732511 (*ARHGEF3*), rs2472434 (*ABCA1*), rs3827066 (*ZNF335*), rs1128503 (*ABCB1*), rs6798347 (*P2RY12*) y rs4891 (*GSTP1*).

Para cada modelo, se dividió aleatoriamente, pero de manera controlada (para asegurar que hubiera representación de todos los grupos de estudio), cada conjunto de datos en dos grupos. Uno se utilizó para entrenar el modelo de random forest («conjunto de entrenamiento» o *training group*, ~70 % de las muestras), mientras que el otro se utilizó para probar dicho modelo y evaluar su capacidad predictiva («conjunto de prueba» o *testing group*, ~30 % de las muestras).^(101,102)

Los indicadores de rendimiento discriminatorio utilizados para evaluar la eficacia clasificatoria de cada modelo incluyen las curvas ROC (del inglés, *receiver operating characteristic*) y sus estadísticos: área bajo la curva (AUC, del inglés *area under the curve*) e índice de Youden. Además, se emplearon otros indicadores de rendimiento de clasificación, como la sensibilidad, la especificidad y la precisión equilibrada.

9. VALIDACIÓN ORTOGONAL DE LAS VARIANTES

Las técnicas de secuenciación masiva presentan numerosas ventajas, como por ejemplo, la capacidad de analizar simultáneamente múltiples muestras, lo que ha facilitado su rápida integración en la práctica clínica. No obstante, la precisión en la identificación de variantes genéticas puede variar en función de la calidad o el tipo de muestra. Por este motivo, inicialmente se estableció la necesidad de realizar pruebas de confirmación ortogonales (utilizando diferentes métodos, con fuentes de error distintas) para las variantes germinales detectadas, con el fin de limitar la notificación de falsos positivos.

La validación de las variantes identificadas por NGS puede llevarse a cabo mediante discriminación alélica TaqMan o secuenciación Sanger (sobre todo en el caso de variantes raras), con el objetivo de lograr una alta concordancia entre ambas técnicas que confirme el estado heterocigoto u homocigoto. Tras el genotipado ortogonal, la confirmación de la variante aumenta la confianza en la fidelidad de los resultados NGS, mientras que las discrepancias requieren una investigación más profunda para identificar posibles errores de secuenciación, anomalías de alineación o contaminación de la muestra.

A día de hoy, existe cierto debate en cuanto a la exigencia de confirmar las variantes detectadas mediante NGS empleando otros métodos. La verificación de cada variante aumentaría considerablemente los costes y el tiempo del proceso, haciendo mínima la reducción de los costes de la NGS. Además, existen «métricas de calidad», como la profundidad de la cobertura o la frecuencia alélica de la variante, que pueden ayudar a indicar la fiabilidad técnica de cada llamada de variante. Las variantes que superan estos parámetros pueden considerarse sólidas, mientras que aquellas que no cumplan estos estándares pueden requerir una validación adicional.

No obstante, a pesar de no ser necesarios procedimientos de confirmación, se recomienda revisar manualmente de forma visual las variantes clínicamente relevantes. Utilizando herramientas como el *Integrative Genomics Viewer* (IGV), se puede determinar si la llamada de variantes es fiable o si, por el contrario, merece una validación ortogonal al tratarse de un falso positivo que ha escapado a los filtros automatizados.^(103,104)

10. ASPECTOS ÉTICOS DE LA INVESTIGACIÓN

Este estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Ética de la Investigación Biomédica de la provincia de Granada ([Anexo II](#)). Todos los procedimientos se realizaron conforme a las normas de buena práctica clínica y de acuerdo a los requerimientos expresados en la:

- * Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación biomédica.
- * Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios.
- * Orden Ministerial SAS/3470/2009, de 16 de diciembre, por la que se publican las directrices sobre estudios posautorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.
- * Declaración de Helsinki (revisión de Seúl, octubre de 2008), la cual define los principios que deben respetar todas las personas involucradas en esta investigación.
- * Ley Orgánica 3/2018, de 5 de diciembre, de Protección de Datos Personales y garantía de los derechos digitales.
- * Ley 41/2002, del 14 de noviembre, básica reguladora de la autonomía del paciente y de derechos y obligaciones en materia de información y documentación clínica.

IV. RESULTADOS



En relación con los resultados de este apartado, se ha publicado el siguiente artículo, incluido en el [Anexo VII](#):

Targeted next-generation sequencing panel to investigate antiplatelet adverse reactions in acute coronary syndrome patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting.

Antúnez-Rodríguez A, García-Rodríguez S, Pozo-Agundo A, Sánchez-Ramos JG, Moreno-Escobar E, Triviño-Juarez JM, Martínez-González LJ, Dávila-Fajardo CL
Thromb Res. 2024 Aug;240:109060. doi: 10.1016/j.thromres.2024.109060.

1. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Características demográficas y clínicas

Las principales características basales, tanto clínicas como demográficas, de los pacientes incluidos en el estudio se muestran en la [Tabla 4](#). Se incluyó a un total de 343 pacientes (111 mujeres ^N y 232 hombres) pertenecientes al Servicio de Cardiología del Hospital Universitario San Cecilio. La edad media fue de $65,9 \pm 11,1$ años, siendo mayor en las mujeres ($69,3 \pm 10,3$ años) que en los hombres ($64,3 \pm 11,2$ años), $p < 0,001$. El IMC medio fue de $28,6 \pm 4,6$ y, en cuanto al origen étnico, la mayoría de los pacientes eran caucásicos (97,7 %).

Respecto a los factores de riesgo CV, en el momento del reclutamiento, 214 pacientes (62,4 %) habían sido diagnosticados de hipertensión, 201 (58,6 %) de dislipemia, 111 (32,4 %) de diabetes, 13 (3,8 %) de insuficiencia renal, 87 (25,4 %) eran fumadores y 93 (27,1 %) tenían antecedentes cardíacos.

De acuerdo con los grupos propuestos para este estudio, dividimos nuestra población en: pacientes con SCA sometidos a ICP-stent que experimentaron un evento (**G1** - 31,8 %),^o pacientes con SCA-ICP-stent sin evento (**G2** - 39,3 %) y controles sin enfermedad CV estructural (**G3** - 28,9 %). Encontramos que, entre los pacientes con SCA, la presencia de cualquier tipo de antecedente CV (angina, IAM, enfermedad arterial periférica y/o ictus) previo se relacionó con una mayor incidencia de eventos CV posteriores (47,7 % frente a 30,4 %, $p = 0,008$). Por otra parte, en cuanto a los factores de riesgo CV, se observó una mayor prevalencia de fumadores y diabéticos entre los pacientes con SCA (con y sin evento) que en los controles ($p < 0,001$ para ambos).

^N Todas las mujeres con SCA sometidas a ICP eran postmenopáusicas.

^o Las características de los episodios trombóticos y hemorrágicos clasificados como «evento» en el grupo G1 se detallan en la [Tabla 6](#).

Tabla 4. Principales características clínicas y demográficas de la población de estudio.

	Todos (N = 343)	G1 (N = 109)	G2 (N = 135)	<i>p</i> -valor	G3 (N = 99)	<i>p</i> -valor
Edad	65.9 (11.1)	66.8 (11.4)	64.8 (12.3)	0.202	66.4 (8.8)	0.339
Género						
Hombre	232 (67.6)	78 (71.6)	101 (74.8)	0.670	53 (53.5)	0.002
Mujer	111 (32.4)	31 (28.4)	34 (25.2)		46 (46.5)	
IMC	28.6 (4.6)	28.9 (4.6)	28.4 (4.5)	0.369	NA	NA
Origen étnico						
Caucásico	335 (97.7)	105 (96.3)	132 (97.8)	0.517	98 (99.0)	0.423
Gitano	6 (1.7)	3 (2.8)	3 (2.2)		0 (0.0)	
Marroquí	2 (0.6)	1 (0.9)	0 (0.0)		1 (1.0)	
Antecedentes Cv*	93 (27.1)	52 (47.7)	41 (30.4)	0.008	0	< 0.001
Factores de riesgo Cv						
Hipertensión	214 (62.4)	75 (68.8)	79 (58.5)	0.128	60 (60.6)	0.233
Dislipemia	201 (58.6)	70 (64.2)	77 (57.0)	0.313	54 (54.5)	0.329
Consumo de tabaco	87 (25.4)	30 (27.5)	47 (34.8)	0.280	10 (10.1)	< 0.001
Diabetes mellitus	111 (32.4)	50 (45.9)	50 (37.0)	0.206	11 (11.1)	< 0.001
Insuficiencia renal	13 (3.8)	6 (5.5)	7 (5.2)	1.000	0 (0.0)	0.064

Los valores se muestran como nº de pacientes (%); en el caso de la edad y el IMC, se muestran como media (desviación estándar). Los resultados estadísticamente significativos se muestran en negrita ($p < 0.05$). Abreviaturas: Cv, cardiovascular; G1, grupo uno de pacientes con SCA con evento secundario; G2, grupo dos de pacientes con SCA sin evento secundario; G3, grupo tres de controles sin enfermedad Cv estructural; IMC, índice de masa corporal; NA, no aplicable.

* Esta variable se refiere a haber tenido uno o más de los siguientes antecedentes: angina previa, infarto agudo de miocardio previo, enfermedad arterial periférica previa y/o ictus previo.

Características relacionadas con el tratamiento prescrito

Según se muestra en la [Tabla 5](#), tras el ingreso hospitalario, a todos los pacientes se les prescribió doble terapia antiagregante, que incluía un antiagregante plaquetario (guiado o no por test genético) y AAS. Además, se recetaron β -bloqueantes a 203 pacientes (83,2 %), antihipertensivos (IECA o ARA-II) a 217 pacientes (88,9 %) y diuréticos a 19 pacientes (7,8 %). A la mayoría de los pacientes (229; 93,8 %) se les prescribió estatinas para controlar la hipercolesterolemia. Además, 221 pacientes (90,5 %) tomaron un protector de estómago.

Tabla 5. Características del tratamiento prescrito a los pacientes tras el ingreso hospitalario.

	Todos (N = 244)	G1 (N = 109)	G2 (N = 135)	p-valor
Ácido acetilsalicílico	244 (100)	109 (100)	135 (100)	1.000
Tto antiagregante				
Clopidogrel	169 (69.3)	82 (75.2)	87 (64.4)	
Prasugrel	73 (29.9)	25 (22.9)	48 (35.6)	0.035
Ticagrelor	2 (0.8)	2 (1.8)	0 (0.0)	
Duración DAPT				
1 mes	14 (5.7)	11 (10.1)	3 (2.2)	
3 meses	2 (0.8)	2 (1.8)	0 (0.0)	
6 meses	2 (0.8)	2 (1.8)	0 (0.0)	0.006
12 meses o más	226 (92.6)	94 (86.2)	132 (97.8)	
Tto β-bloqueante	203 (83.2)	92 (84.4)	111 (82.2)	0.779
Tto antihipertensivo				
IECA	176 (72.1)	77 (70.6)	99 (73.3)	0.747
ARA-II	41 (16.8)	20 (18.3)	21 (15.6)	0.683
Antialdosterónicos	19 (7.8)	11 (10.1)	8 (5.9)	0.334
Estatinas				
Atorvastatina	159 (65.2)	75 (68.8)	84 (62.2)	
Simvastatina	55 (22.5)	24 (22.0)	31 (23.0)	0.575
Rosuvastatina	15 (6.1)	5 (4.6)	10 (7.4)	
Protector de estómago				
Pantoprazol	178 (73.0)	71 (65.1)	107 (79.3)	
Omeoprazol	15 (6.1)	7 (6.4)	8 (5.9)	
Ranitidina	24 (9.8)	20 (18.3)	4 (3.0)	0.003
Otros	4 (1.6)	3 (2.7)	1 (0.7)	

Los valores se muestran como nº de pacientes (%). Los resultados estadísticamente significativos se muestran en negrita ($p < 0.05$). Abreviaturas: ARA-II, antagonistas de los receptores de la angiotensina II; DAPT, doble terapia antiplaquetaria; G1, grupo uno de pacientes con SCA con evento secundario; G2, grupo dos de pacientes con SCA sin evento secundario; IECA, inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina; tto, tratamiento.

Respecto a la prescripción de antiagregantes plaquetarios, a 169 pacientes (69,3 %) se les pautó clopidogrel, a 73 (29,9 %) prasugrel, y a únicamente 2 (0,8 %) ticagrelor (este fármaco fue aprobado durante el curso del estudio previo). Al comparar entre grupos, a los pacientes con SCA que experimentaron

un evento secundario (G1) se les prescribió con mayor frecuencia clopidogrel (75,2 %) y con menor frecuencia prasugrel (22,9 %) que a aquellos pacientes que no experimentaron ningún evento (G2) (64,4 % y 35,6 %, respectivamente). Esto se debe a que todos los pacientes del grupo G2 pertenecen a la rama intervenida PGx, en la que, en función de los resultados del genotipo, se indicaba el uso de uno u otro antiagregante. En el caso del grupo G1, este incluye individuos de ambas ramas (intervenida y no intervenida), de ahí la diferencia ($p = 0,035$).

Además, el 13,8 % de los pacientes del grupo G1 que experimentaron eventos adversos secundarios fueron tratados con DAPT durante menos de 12 meses debido a una cuestión de beneficio/riesgo o a la necesidad de triple terapia antiplaquetaria, en comparación con el 97,8 % de los pacientes del grupo G2 que completaron un año de DAPT.

La prescripción del resto de fármacos fue similar en los dos grupos, excepto en el caso de los protectores de estómago, donde hubo una mayor prescripción de ranitidina (18,3 % frente a 3 %)P y una menor prescripción de pantoprazol (65,1 % frente a 79,3 %) al comparar los individuos que experimentaron un evento secundario con los que no ($p = 0,003$). Cabe destacar que el clopidogrel debe recetarse junto con el pantoprazol para evitar interacciones medicamentosas, ya que este no inhibe la enzima CYP2C19, como sí lo hace el omeprazol.

Características relacionadas con la incidencia de eventos clínicos posteriores

En la [Tabla 6](#) se muestran las características de los episodios isquémicos y hemorrágicos registrados en el grupo de pacientes con SCA que sufrieron un evento secundario, comparando entre las dos ramas del estudio (intervenida PGx o no intervenida), sin encontrarse diferencias significativas entre ambas.

^P En septiembre de 2019, la EMA detectó la presencia de una impureza denominada N-nitrosodimetilamina en algunos lotes de ranitidina. Dicho contaminante puede tener un posible efecto cancerígeno, por lo que se procedió a retirar del mercado cualquier medicamento que contuviera ranitidina.

Desde el ingreso hasta un año de seguimiento tras la prescripción del DAPT, se registró como «evento primario» la aparición de muerte CV, SCA y/o ictus. Así, de los 109 pacientes reclutados que presentaron eventos, se documentaron 5 (4,6 %) casos de muerte CV, 31 (28,4 %) de SCA y 10 (9,2 %) de ictus.

Como «evento secundario» se registró la trombosis del stent, la necesidad de revascularización urgente o la reestenosis. En este sentido, 43 pacientes (39,4 %) precisaron revascularización, 9 (8,3 %) sufrieron trombosis del stent y 25 (22,9 %) presentaron reestenosis y tras la ICP. En cuanto a las «hemorragias», 12 pacientes (11 %) sufrieron una hemorragia grave y 13 (11,9%) una hemorragia leve.

Tabla 6. Características de los episodios isquémicos y hemorrágicos.

	Todos (N = 109)	G1.1 (N = 50)	G1.2 (N = 59)	p-valor
Eventos primarios	45 (41.3)	24 (48.0)	21 (35.6)	0.265
Muerte Cv	5 (4.6)	3 (6.0)	2 (3.4)	0.850
SCA no mortal	31 (28.4)	16 (32.0)	15 (25.4)	0.586
Ictus no mortal	10 (9.2)	5 (10.0)	5 (8.5)	1.000
Eventos secundarios	72 (66.1)	29 (58.0)	43 (72.9)	0.152
Revascularización urgente	43 (39.4)	18 (36.0)	25 (42.4)	0.630
Trombosis del stent	9 (8.3)	6 (12.0)	3 (5.1)	0.338
Reestenosis	25 (22.9)	8 (16.0)	17 (28.8)	0.175
Eventos hemorrágicos	25 (22.9)	13 (26.0)	12 (20.4)	0.637
Hemorragia grave	12 (11.0)	6 (12.0)	6 (10.2)	1.000
Hemorragia leve	13 (11.9)	7 (14.0)	6 (10.2)	0.750

Los valores se muestran como n (%). Abreviaturas: Cv, cardiovascular; G1.1, subgrupo 1 de pacientes con SCA con evento secundario pertenecientes al grupo de intervención; G1.2, subgrupo 1 de pacientes con SCA con evento secundario pertenecientes al grupo de no intervención; SCA, síndrome coronario agudo.

Entre los pacientes no intervenidos, el 35,6 % sufrió un evento primario durante el DAPT, en comparación con el 48,0 % de los pacientes intervenidos; sin embargo, esta diferencia no fue estadísticamente significativa ($p = 0,265$). Por el contrario, los eventos secundarios se produjeron con mayor frecuencia en los pacientes no intervenidos (72,9 %) que en los intervenidos (58,0 %), aunque esta diferencia tampoco alcanzó significación estadística ($p = 0,152$).

2. RENDIMIENTO DE LA SECUENCIACIÓN

Antes de la alineación con el genoma de referencia, se evaluaron los parámetros de calidad (recuento de lecturas, calidad de las bases y distribución del contenido medio de GC) obtenidos de los datos de secuenciación de los 343 sujetos utilizando las herramientas FastQC y MultiQC. La mayoría de las lecturas mostraron una puntuación media de la calidad de las bases superior a 30 (escala Phred) en las ocho carreras de secuenciación realizadas (Figura 17), lo que indicó que se partía de secuencias de alta calidad para los pasos siguientes.

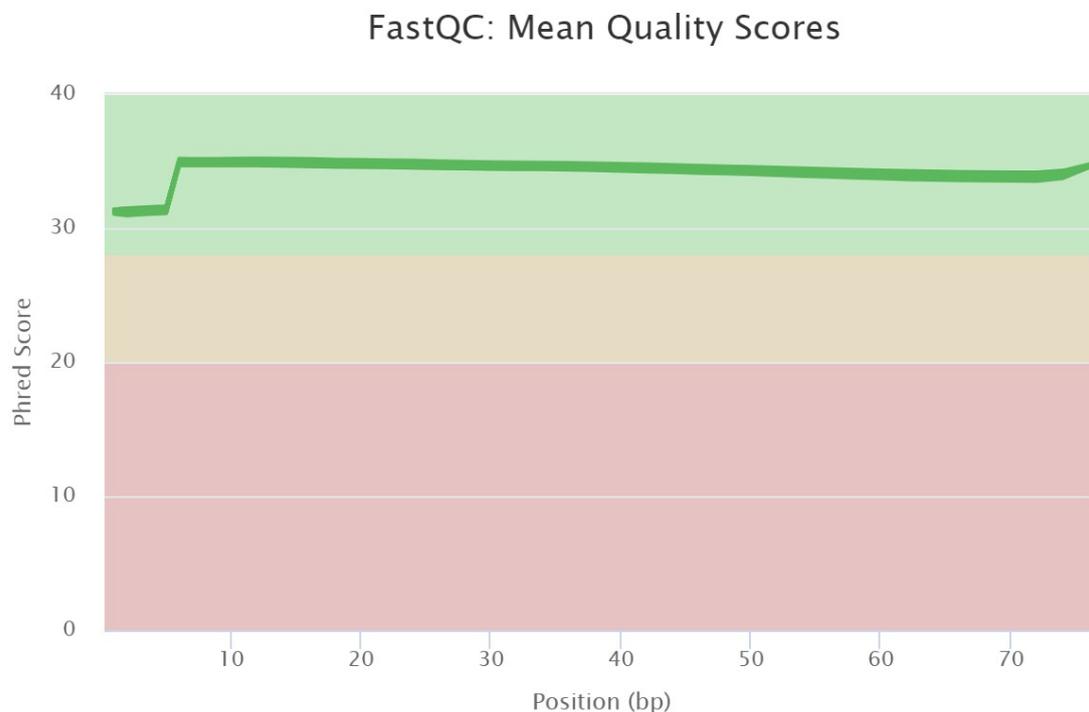


Figura 17. Calidad promedio de secuenciación (escala Phred) para las distintas bases a lo largo de los 75 ciclos de secuenciación.

En cuanto al recuento de secuencias para cada muestra, se estableció un umbral mínimo de 3 millones de lecturas únicas (*unique reads*) por *single read* para asegurar la disponibilidad de 6 millones de lecturas *paired-end* en los pasos posteriores (Figura 18). Las muestras que no alcanzaban dicho umbral se resecuenciaban en la siguiente tanda de muestras.

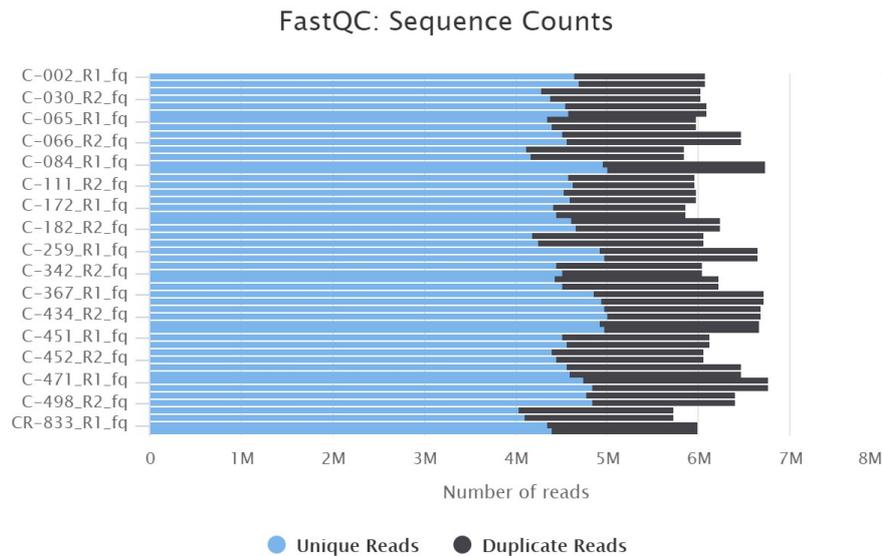


Figura 18. Recuento de secuencias para cada muestra.

Tras la alineación de las lecturas contra el genoma de referencia, se evaluó la calidad de las lecturas mapeadas mediante el alineador BWA-MEM y la cobertura en toda la secuencia diana. Identificamos que todos los sujetos tenían más del 70 % de su secuencia diana cubierta con profundidades de lectura de 50× o superiores, lo que minimizaba el error relacionado con la detección de variantes en zonas con baja profundidad de lectura (Figura 19). Más del 98 % de las regiones diana se cubrieron con más de 30× y, en general, la proporción de bases con una profundidad de lectura $\leq 10\times$ fue muy pequeña (2 - 2,9 %).

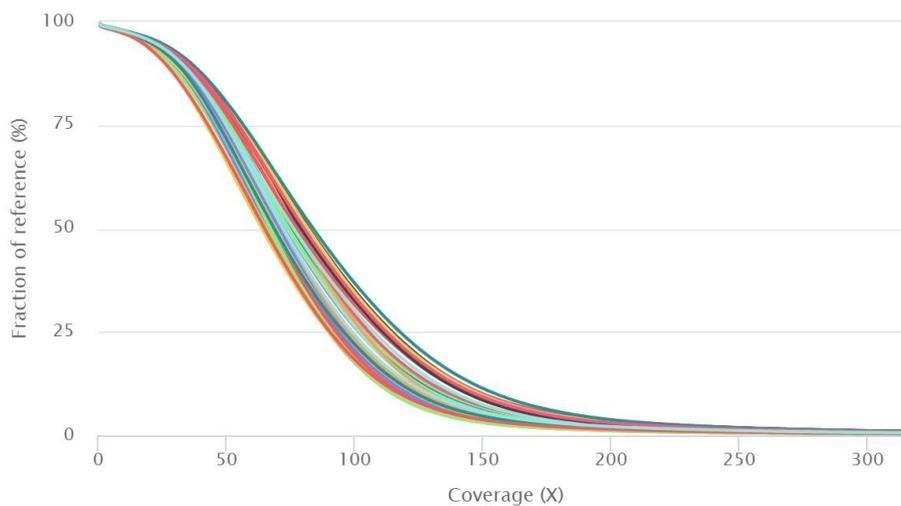


Figura 19. Distribución de la profundidad de lectura (cobertura acumulada) para el panel diseñado. El gráfico hace referencia a la fracción o porcentaje del genoma de referencia (eje y) cubierto por al menos la profundidad de cobertura dada (eje x).

Una vez alineados los datos con la secuencia de referencia, es posible identificar las lecturas redundantes (*duplicate reads*) que se originan a partir de la misma molécula de ADN secuenciada. Estos «duplicados de PCR» suelen representar entre el 5 y el 15 % de las lecturas de secuenciación y pueden identificarse a partir de la posición de alineación y la información de emparejamiento de lecturas.⁽¹⁰⁴⁾ Tal y como se muestra en la [Figura 20](#), los resultados en relación a este porcentaje coincidieron con los valores esperados.

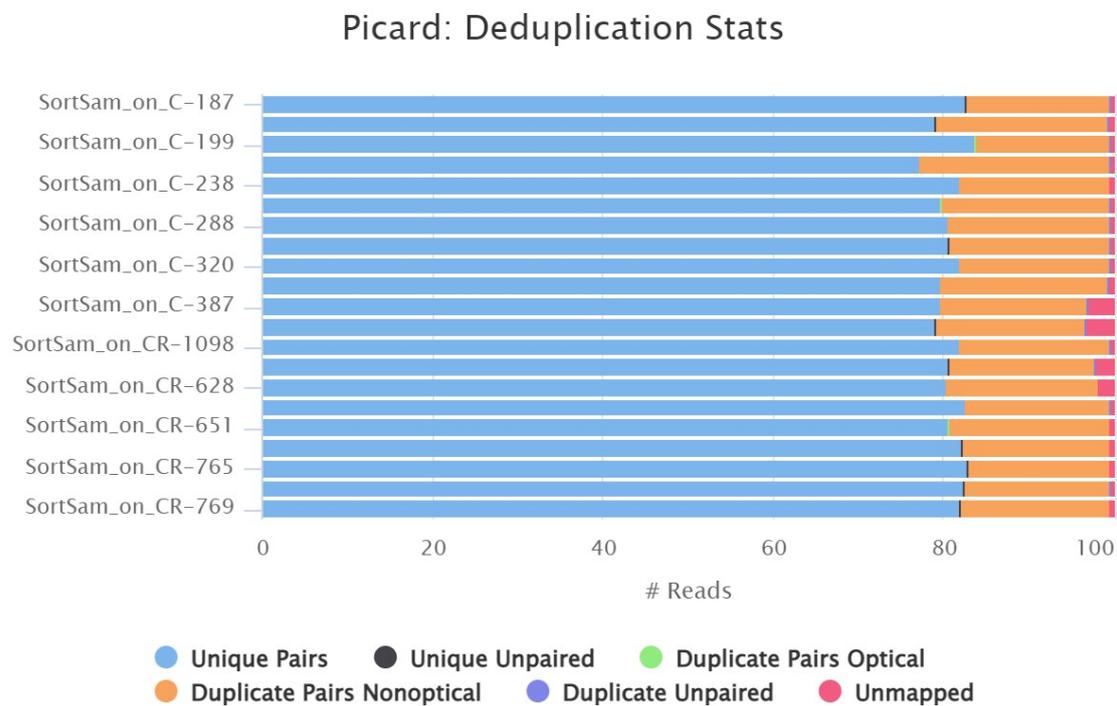


Figura 20. Porcentaje de lecturas por estado de duplicación.

Aunque se trata de un paso controvertido, debido a la posibilidad de perder parte de las lecturas, en el caso de los paneles de captura, como el utilizado en este estudio, se considera conveniente eliminar estos duplicados. Por lo tanto, una vez eliminados los duplicados de PCR, se procedió a la llamada de variantes y al filtrado por valores de calidad ($QUAL \geq 30$) para eliminar posibles errores de secuenciación.

3. ANÁLISIS DE LAS VARIANTES GENÉTICAS IDENTIFICADAS

Tras el alineamiento y una vez aplicados los correspondientes filtros de calidad del mapeo, se detectaron un total de 45.500 variantes genéticas dentro de las regiones diana definidas. Los datos de genotipo se sometieron a un procedimiento estándar de control de calidad (ver apartado [8.2. Estudio de asociación](#) de la metodología) y se preprocesaron para llevar a cabo la imputación de genotipos utilizando el *Michigan Imputation Server*, lo que aumentó la capacidad de detección de variantes no presentes en nuestra muestra de estudio.

Tras este proceso, se retuvieron 16.890 variantes (todas ellas SNVs)^Q para su posterior anotación utilizando SnpEff 5.0e. Esta herramienta realiza la anotación de variantes y predice sus efectos funcionales en genes y proteínas. SnpEff genera un archivo vcf anotado y un informe resumido de las variantes detectadas, que consta de varias secciones ([Figura 21](#)):

- Cuadro resumen principal: contiene información básica sobre la ejecución de SnpEff y algunas estadísticas generales ([Figura 21a](#)). Una misma variante puede tener más de una anotación, debido a múltiples isoformas de un mismo gen, solapamiento de genes en la localización genómica de la variante, y variantes que abarcan varios genes. SnpEff tiene en cuenta todos estos factores, por lo que el número de anotaciones o efectos (62.283) puede ser mayor que el número de variantes (16.890). En nuestro caso, se identificaron 493 advertencias que se deben tener en cuenta en el momento de analizar los genes o transcritos que contienen dichas advertencias.

- Tasa de variantes por cromosoma: se trata de una tabla que muestra el número de variantes y la tasa de variantes por cromosoma. Ninguna de las

^Q El estudio de las variantes clasificadas como pequeñas inserciones o deleciones (indels) se ha dejado para más adelante, ya que se trata de un tipo de polimorfismo menos frecuente en el genoma y con una frecuencia baja en las regiones codificantes de los genes. Las variantes estructurales de mayor tamaño, incluidos los CNVs, se investigaron con otros métodos.

regiones secuenciadas fue invariable. De media, se observó una variante por cada 179.769 bases. Basándonos en la densidad de SNVs, los cromosomas menos variables fueron chrX y chr13, con 1 SNV por cada 2.388.777 y 429.738 bases, respectivamente. Por otro lado, los cromosomas con mayores densidades de variantes observadas fueron chr19 (15,7 SNVs/Mb) y chr16 (10,9 SNVs/Mb).



Figura 21. Informe de SnpEff sobre las variantes identificadas y sus anotaciones.

a) Cuadro resumen principal, b) Número de variantes por tipo, c) Número de variantes por impacto, d) Número de variantes por clase funcional, e) Número de posibles efectos de las variantes por tipo y región, f) Porcentaje de efectos de las variantes por región, g) Cambios de bases en el caso de variantes de un solo nucleótido, h) Transición vs transversiones.

- Número de variantes por tipo: una tabla con una lista del número de variantes, agrupadas por tipo de variante (Figura 21b).
- Número de variantes por impacto: recuento y porcentaje de variantes por impacto (Figura 21c). Las variantes se clasifican por su impacto: alto, moderado, bajo o modificador. En nuestro caso, se identificaron 126 variantes de alto impacto (0,20 %), 15.252 (24,49 %) de impacto moderado, 16.918 (27,16 %) de bajo impacto, y 29.987 (48,15 %) de impacto modificador. Estos niveles de impacto son categorías predefinidas basadas en el efecto de la variante para facilitar su categorización y priorización (Tabla 7).

Tabla 7. Niveles de impacto de las variantes genéticas.

Impacto	Significado	Ejemplo
HIGH	Se supone que la variante tiene un alto impacto (disruptivo) en la proteína, probablemente causando el truncamiento de esta, la pérdida de función o desencadenando la degradación del ARNm mediada por mutaciones terminadoras (NMD, del inglés <i>nonsense-mediated decay</i>).	<i>stop_gained,</i> <i>frameshift_variant</i>
MODERATE	Una variante no disruptiva que podría cambiar la eficacia de la proteína.	<i>missense_variant,</i> <i>inframe_deletion</i>
LOW	Se supone que son variantes en su mayoría inofensivas o que es poco probable que cambien el comportamiento de las proteínas.	<i>synonymous_variant</i>
MODIFIER	Por lo general, se trata de variantes no codificantes o que afectan a genes no codificantes, donde las predicciones son difíciles o no hay pruebas de impacto.	<i>exon_variant,</i> <i>downstream_gene_variant</i>

Tomada de Cingolani, 2022.⁽¹⁰⁵⁾

- Número de variantes por clase funcional: recuento y porcentaje de variantes por clase funcional (Figura 21d). De las variantes identificadas, 82 SNVs (0,26 %) se clasificaron como cambios sin sentido (*nonsense*; se produce un codón de parada que origina una proteína truncada), 15.273 (47,95 %) como cambios de sentido (*missense*, el codón cambia tras el cambio de las bases) y 16.495 (51,79 %) como cambios sinónimos (*silent*, el condón sigue siendo el mismo tras el cambio en la secuencia de ADN). El ratio *missense/silent* fue de 0,9259.

- Número de variantes por efecto: SnpEff anota variantes utilizando «anotaciones funcionales» (p. ej., *downstream_gene_variant*, *stop_gained*, etc.). Estas variantes afectan a «regiones del genoma» (p. ej., *exon*, *intron*). Las dos tablas de la Figura 21e muestran el recuento de efectos por tipo y región. La mayoría de los efectos potenciales (54,45 %) se relacionaron con mutaciones en las regiones exónicas de los genes (Figura 21f).

- Tabla de cambios de bases: recuento de todos los cambios de bases en el caso de SNVs (Figura 21g). Los cambios de bases más frecuentes fueron G>A (5.801 – 34,35 %) y C>T (3.510 – 20,78 %), mientras que los menos frecuentes fueron A>T (243 – 1,43 %) y T>G (276 – 1,63 %).

- Transición vs transversiones (ts/tv): tabla de transiciones frente a transversiones, dividida en "conocidas" (aquellas con campo ID no vacío) y todas las variantes (Figura 21h). Para nuestros datos, la proporción Ts/Tv se situó en torno a 3.0 y la proporción *missense/silent* fue de aproximadamente 1.0, ambos valores esperados para datos humanos.

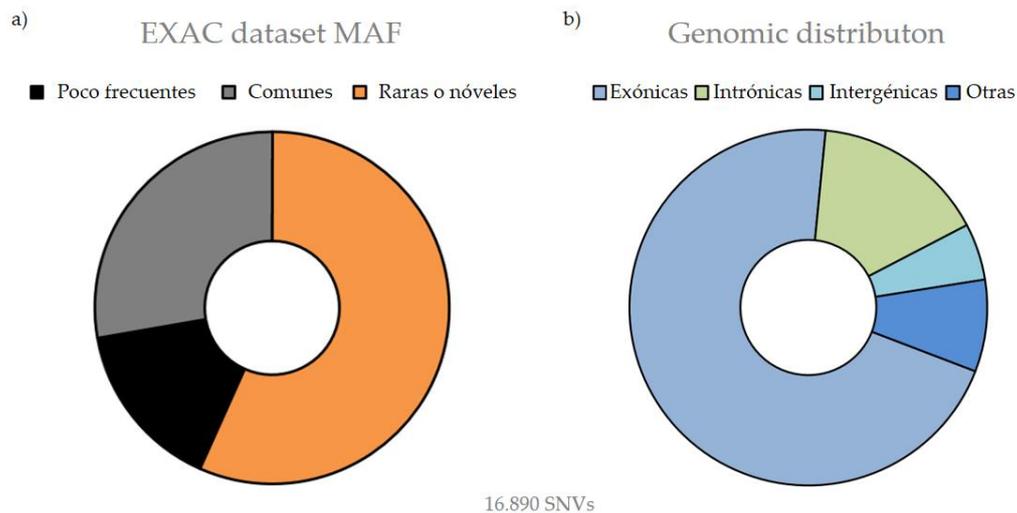


Figura 22. Distribución de las variantes procesadas.

a) Frecuencia alélica en función del MAF informado en ExAC, b) variantes por distribución genómica.

De las 16.890 variantes procesadas (Figura 22a), el 27,8 % eran comunes (MAF > 5 %), mientras que el 15,6 % eran poco frecuentes (MAF entre 1 % y 5 %), y el 56,6 % eran raras o nuevas (MAF < 1 % o ausentes en ExAC o dbSNP).

En cuanto a la «clasificación funcional» del total de variantes únicas procesadas, en la Figura 22b se puede apreciar que se identificaron 11.943 variantes en regiones codificantes (70,71 %, incluyendo 6.058 variantes no sinónimas y 5.885 variantes sinónimas), así como 2.655 variantes intrónicas (15,72 %) y 889 variantes intergénicas (5,26 %). El 8,31 % de los SNVs correspondía a otras variantes, entre las que se incluyen 965 en regiones *up/downstream*, 330 en UTR, 18 de pérdida de inicio (*start loss*), 50 de ganancia o pérdida de parada (*stop gain/loss*), 24 ncRNA (*non-coding RNA*) y 16 en sitios de empalme (*splicing*).

Functional effect

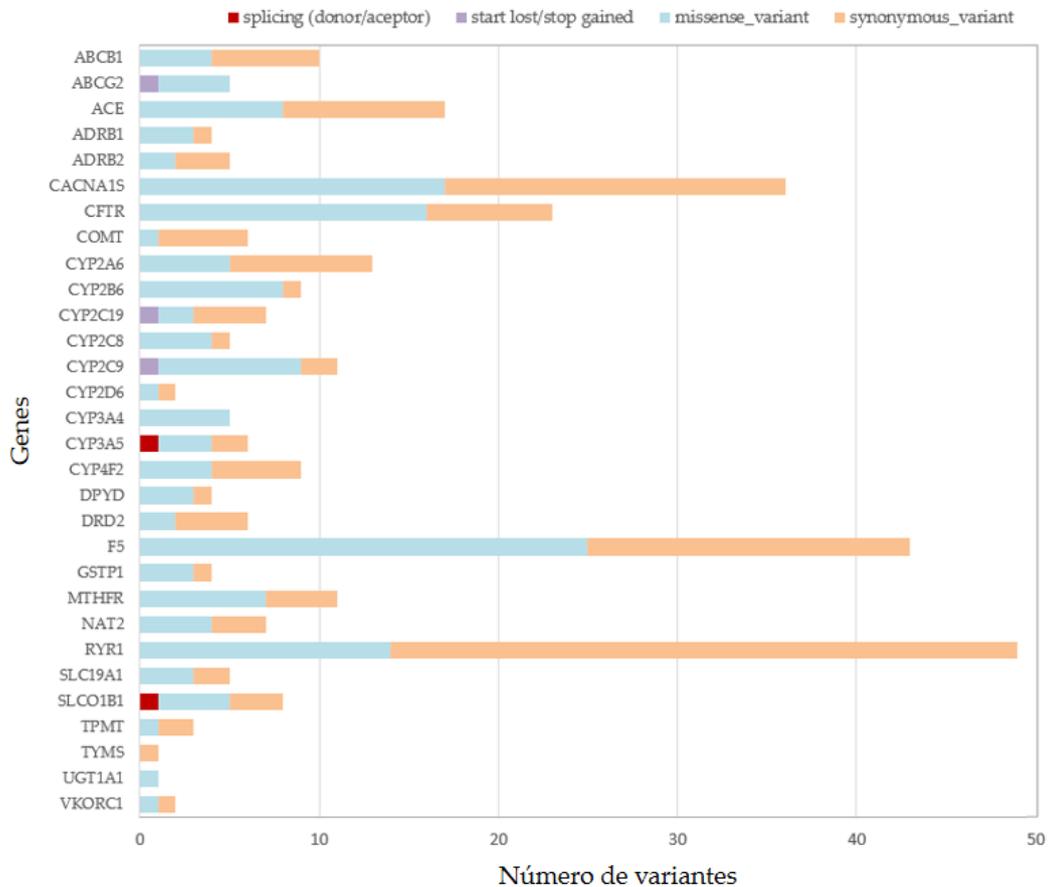


Figura 23. Categorización funcional de las variantes en farmacogenes.

Las clases funcionales se definen como *synonymous* (sinónima), *missense* (no sinónima), *start lost/stop gained* (pérdida de inicio / ganancia de parada) y *splicing* (sitio de empalme donante/aceptor). Para catalogar una variante como de efecto *splicing*, se tuvo en cuenta que su posición se encontrase en el rango de 1-3 pb en el extremo de un exón o de 3-8 pb en el extremo de un intrón.

También analizamos los 32 genes VIP de nivel 1 (genes con pruebas sustanciales que apoyan su importancia en PGx), derivados del sitio web PharmGKB, para detectar cuáles acumulaban un mayor número de SNVs. La **Figura 23** muestra el número de variantes por gen en los diferentes genes VIP, así como la fracción de variantes según la anotación funcional. Observamos que el número de variantes por gen era mayor en los genes *RYR1* y *F5*, mientras que era menor en los genes *TYMS* y *UGT1A1*. Cabe destacar que únicamente están representadas aquellas variantes en regiones codificantes o en zonas reguladoras con alto impacto (disruptivo) en la proteína.

4. ANÁLISIS DE ASOCIACIÓN DE SNVs

4.1. Comparación entre «intervención vs no.intervención»

En una primera aproximación, se comparó a los pacientes con SCA-ICP-stent cuyo tratamiento se prescribió en base al test genético (rama intervenida del estudio de intervención previo) y que experimentaron un evento secundario tras recibir la terapia antiplaquetaria (**grupo G1.1**), con aquellos pacientes con la misma afección y cuyo tratamiento se prescribió en base a las guías clínicas, sin tener en cuenta el perfil genético (rama no intervenida), pero que, de igual modo, sufrieron eventos isquémicos y/o hemorrágicos (**grupo G1.2**). En ambos grupos se produjo un evento secundario, por lo que nuestro objetivo era identificar si existía alguna variante (PGx o relacionada con la enfermedad CV) en alguno de los grupos que pudiera haberse utilizado para prevenir dichos eventos.

Para esta comparativa, el análisis de PCA indicó que la gran mayoría de las observaciones se agrupaban en torno a los valores centrales de ambos componentes (**Figura 24**), lo que sugiere un conjunto de muestras emparentadas entre sí. A pesar de observar una agrupación de muestras relacionadas (al fin y al cabo, las muestras proceden de la misma región geográfica), y aunque había un grupo de tres individuos que se separaba un poco del conjunto, no se descartó ninguna muestra del análisis. No obstante, tanto PC1 y PC2, junto con la edad y el sexo, se utilizaron como covariables en los análisis de asociación.

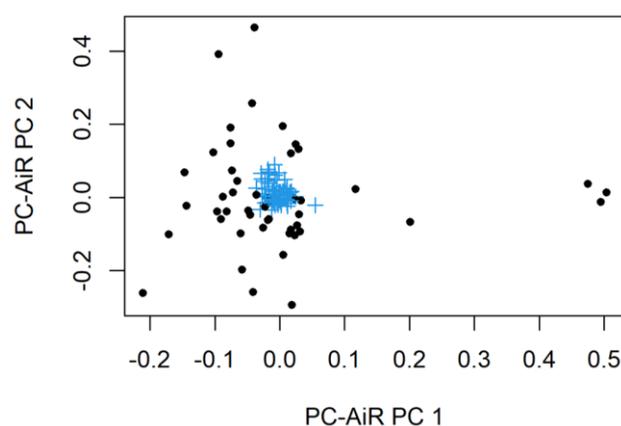


Figura 24. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio de la intervención PGx. Las muestras emparentadas (nivel de parentesco de cuarto/quinto grado) están marcadas en azul.

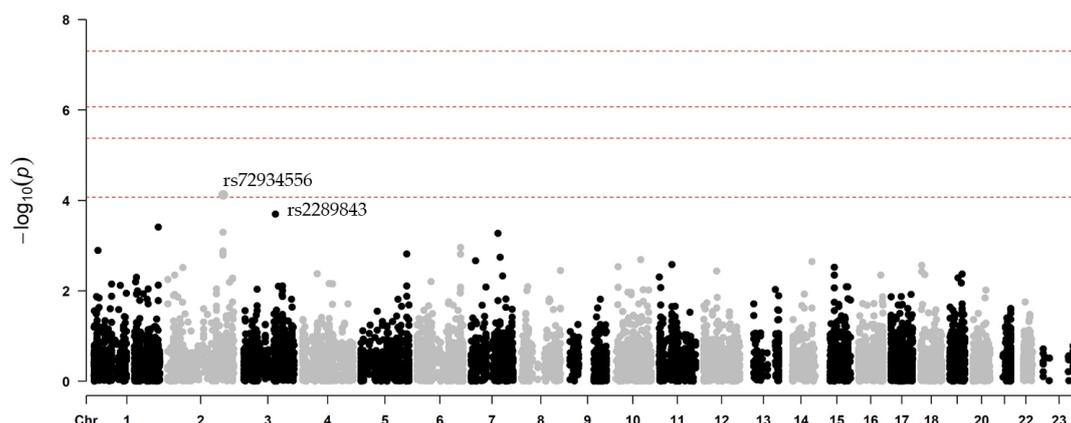


Figura 25. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para la intervención PGx. La posición cromosómica está en el eje x y el $-\log_{10}$ del valor p de asociación está en el eje y. Los cuatro niveles de significación considerados se indican en líneas punteadas: nivel de significación a escala genómica, $-\log_{10}(5e^{-8})$; 95 % de confianza, $-\log_{10}(0.05/N^{\text{rs}})$; 90 % de confianza, $-\log_{10}(0.1/N^{\text{rs}})$, y nivel «sugestivo», $-\log_{10}(1/N^{\text{rs}})$.

Tras realizar el análisis de asociación, ninguna variante genética alcanzó el umbral de significación para todo el genoma (5.0×10^{-8}) en el modelo ajustado por edad, sexo y componentes principales (Figura 25). Sin embargo, dos SNPs resultaron sugestivamente significativos ($p < 1.0 \times 10^{-3}$) (Tabla 8).

Tabla 8. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para la intervención PGx, ajustado por edad, sexo y componentes principales.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p -valor	Beta	SD
rs72934556	2	203990789	T	G	<i>NBEAL1</i>	synon.	0.12	7.52×10^{-5}	1,5489	0,3912
rs2289843	3	124196094	A	T	<i>KALRN</i>	splice reg.*	0.11	2.02×10^{-4}	-1,9878	0,5348
rs2306238	1	237714103	G	A	<i>RYR2</i>	intronic	0.21	0,00039	-1,3291	0,3746
rs72932557	2	203846817	A	T	<i>CARF</i>	missense	0.13	0,00051	1,3520	0,3890
rs624249	6	160679400	C	A	<i>SLC22A2</i>	synon.	0.41	0,00110	0,9859	0,3022
rs6725887	2	203745885	T	C	<i>WDR12</i>	intronic	0.12	0,00143	1,1876	0,3724
rs2112703	5	169127097	C	A	<i>DOCK2</i>	synon.	0.20	0,00153	-1,0522	0,3321
rs10953541	7	107244545	C	T	<i>BCAP29</i>	intronic	0.24	0,00179	1,1782	0,3775
rs11572139	10	96808886	G	A	<i>CYP2C8</i>	intronic	0.29	0,00205	-1,1632	0,3773
rs3783925	14	93411904	A	G	<i>ITPK1</i>	intronic	0.37	0,00225	1,0671	0,3493

Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). La frecuencia alélica se corresponde a la población europea, según gnomAD genomes v3.1.2. Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

* Esta variante está anotada como «*splice_region_variant&synonymous_variant*».

En el cromosoma 2, la variante rs72934556 (c.2871T>G) en el gen *NBEAL1* estaba más presente en aquellos pacientes que experimentaron eventos adversos tras el tratamiento antiagregante convencional (rama no intervenida por test PGx) en comparación con aquellos cuyo tratamiento fue orientado por test genético (0,27 frente a 0,09; $\beta = 1,55$; $p = 7.52 \times 10^{-5}$).

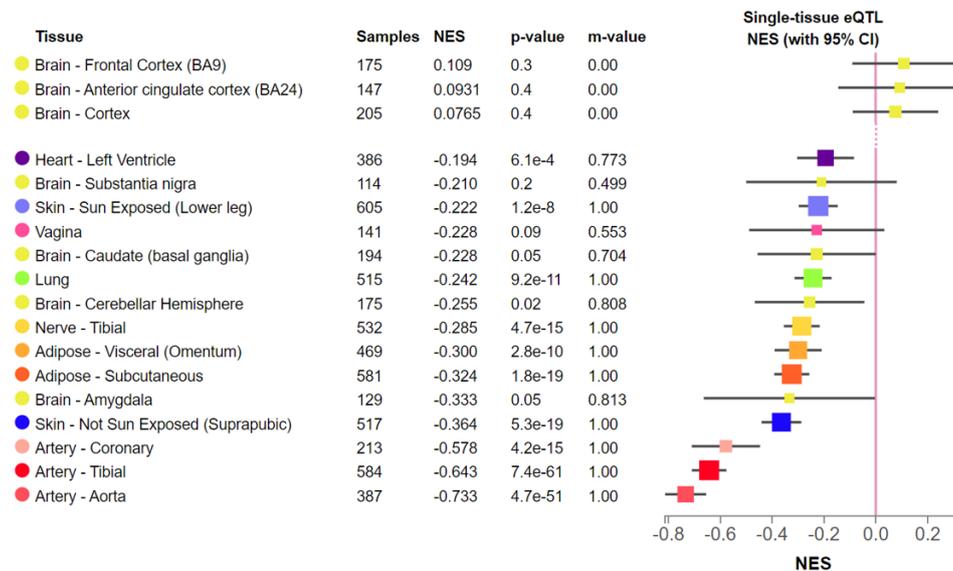


Figura 26. Impacto del rs72934556 en la expresión de *NBEAL1* en diversos tejidos.

El gráfico muestra el tamaño de efecto de la variante rs72934556 sobre la expresión del gen *NBEAL1* en varios tejidos humanos. Datos obtenidos de GTEx. Abreviaturas: eQTL, locus de rasgo cuantitativo que contribuye a la variación de los niveles de expresión (*expression quantitative trait loci*); NES, tamaño del efecto normalizado (*normalized effect size*).

Según la base de datos GTEx (*Genotype-Tissue Expression project*), el alelo menor del rs72934556 se asocia significativamente con una menor expresión de *NBEAL1* en tejido arterial (Figura 26), lo que podría conducir a un aumento del riesgo de EAC en los portadores y, por tanto, predisponerlos a desarrollar eventos recurrentes. Esto concuerda con estudios recientes que señalan a *NBEAL1* como un gen protector frente a la aterosclerosis coronaria, posiblemente a través de la regulación del metabolismo celular del colesterol y la captación de lipoproteínas de baja densidad (LDL, del inglés *low-density lipoproteins*) mediante la modulación de la expresión de LDLR.^(106,107)

El rs72934556, además, se encuentra en LD ($r^2 > 0,8$) con otras dos variantes identificadas en nuestro estudio: el rs72932557 (*CARF* - r^2 : 0.84, D' : 1.00) y el

rs6725887 (*WDR12* - r^2 : 0.84, D' : 1.00), las cuales se han relacionado con la ECV aterosclerótica y con el riesgo genético de eventos recurrentes.⁽¹⁰⁸⁾ Por otro lado, una variante intrónica en *NBEAL1* (rs115654617) se ha asociado con un mayor riesgo de EAC (OR 1,15; $p = 3.12 \times 10^{-18}$),⁽¹⁰⁷⁾ y también está en LD con rs72934556 (r^2 : 0.84, D' : 1.00) en la población ibérica (1kGP: *Iberian populations in Spain* [IBS]).

Otra asociación relevante fue el locus rs2289843 (c.4098A>T), correspondiente a una variante de empalme (*splice variant*) localizada al inicio del exón 27 del gen *KALRN*. Los pacientes que experimentaron un evento secundario tras recibir la terapia antiplaquetaria orientada por test PGx (rama intervenida) presentaron una mayor frecuencia del alelo alternativo *T* en comparación con el grupo de la rama no intervenida (0,16 frente a 0,03; $\beta = -1,99$; $p = 2.02 \times 10^{-4}$).

Las alteraciones en los sitios de empalme, como las causadas por el rs2289843, pueden provocar defectos de *splicing* y cambios en el marco de lectura, lo que puede afectar a la función de la proteína resultante. La kalirina es una proteína con múltiples funciones, entre ellas, inhibir la actividad de la óxido nítrico sintasa inducible y actuar como factor de intercambio de nucleótidos de guanina (GEF, por sus siglas en inglés) para las Rho GTPasas. Varias hipótesis sugieren que las variaciones genéticas en *KALRN* podrían, por tanto, contribuir a la disfunción endotelial y a la progresión de la aterosclerosis.⁽¹⁰⁹⁾

De hecho, la primera evidencia de una asociación entre *KALRN* y la EAC fue comunicada por el estudio Cathgen en 2007.⁽¹⁰⁹⁾ Una investigación en profundidad del gen *KALRN* reveló que un SNP intrónico, rs9289231 (T>G), se encontraba asociado con la EAC de aparición temprana en múltiples conjuntos de datos ($p \leq 0,05$). Además, se observó que el alelo de riesgo de este SNP también se asociaba con una mayor carga aterosclerótica en 145 muestras de aorta humana ($p = 0,03$), lo que refuerza las pruebas del posible papel de *KALRN* en la patogénesis de la ECV aterosclerótica.

4.2. Comparación entre «evento vs no.evento»

A continuación, se comparó a los pacientes con SCA-ICP-stent que experimentaron un evento adverso secundario tras recibir el tratamiento antiagregante plaquetario (**grupo G1**, que incluía pacientes tanto de la rama intervenida como no intervenida), con aquellos pacientes con la misma afección, que recibieron una terapia antiplaquetaria guiada por PGx, y que no sufrieron dichos eventos durante el seguimiento de un año (**grupo G2**). En este caso, nuestro objetivo era determinar si existía alguna variante (PGx o relacionada con la enfermedad CV) en el grupo de pacientes que presentaron eventos isquémicos y/o hemorrágicos que pudiera haberse considerado para prevenir su aparición.

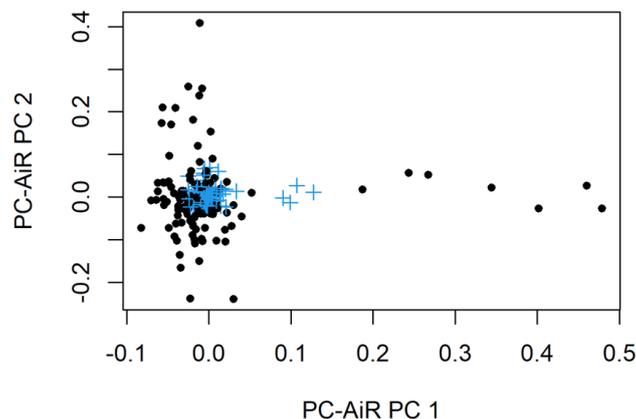


Figura 27. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio del desarrollo de eventos adversos secundarios. Las muestras emparentadas están marcadas en azul.

En esta comparativa, el análisis de PCA reveló que la gran mayoría de las observaciones se agrupaban en torno a los valores centrales de ambos componentes, lo que indica la existencia de un conjunto de muestras emparentadas entre sí de algún modo (**Figura 27**). A pesar de observar muestras relacionadas y de que ciertos individuos mostraban una tendencia a separarse del conjunto, no se descartó ninguna muestra de este análisis. No obstante, tanto PC1 y PC2, junto con la edad y el sexo, se tuvieron en cuenta como covariables en los análisis de asociación.

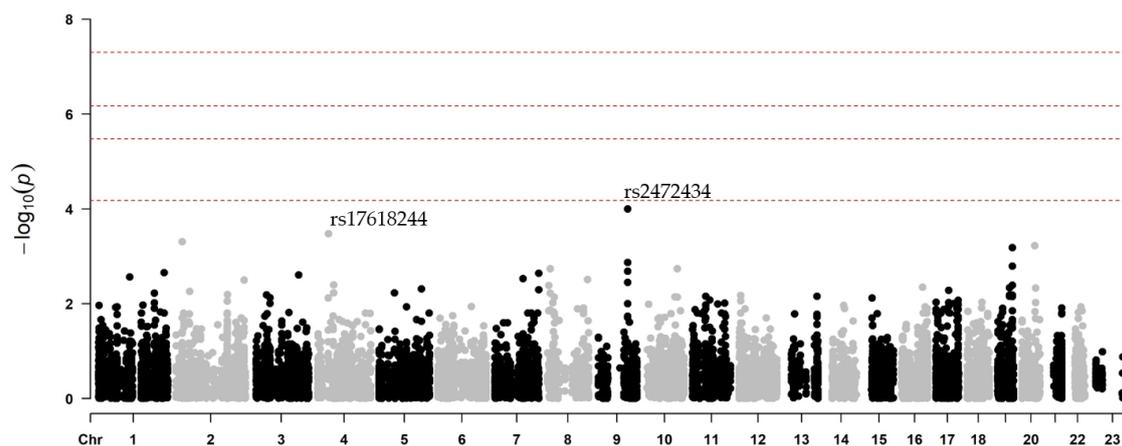


Figura 28. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de eventos adversos secundarios.

La posición cromosómica está en el eje x y el $-\log_{10}$ del valor p de asociación está en el eje y. Los cuatro niveles de significación considerados se indican en líneas punteadas: nivel de significación a escala genómica, $-\log_{10}(5e^{-8})$; 95 % de confianza, $-\log_{10}(0.05/N^{\circ}rs)$; 90 % de confianza, $-\log_{10}(0.1/N^{\circ}rs)$, y nivel «sugestivo», $-\log_{10}(1/N^{\circ}rs)$.

Tras realizar el análisis de asociación para el fenotipo relacionado con la aparición de eventos, ningún loci alcanzó, tras aplicar la corrección adecuada, el umbral de significación en todo el genoma en el modelo ajustado por edad, sexo y componentes principales (valor p más bajo = 1.0×10^{-04}) (Figura 28).

Tabla 9. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos adversos secundarios, ajustado por edad, sexo y componentes principales.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p -valor	Beta	SD
rs2472434	9	107623249	A	C	<i>ABCA1</i>	intronic	0.28	0.00010	-0,9247	0,2379
rs17618244	4	39448529	G	A	<i>KBL</i>	missense	0.19	0.00034	0,8324	0,2321
rs114193458	2	20989039	C	T	<i>LDAH</i>	intronic	0.004	0.00049	2,4387	0,6996
rs3827066	20	44586023	C	T	<i>ZNF335</i>	intronic	0.17	0.00060	0,8669	0,2526
rs2659122	19	51363026	C	T	<i>KLK3</i>	UTR3	0.73	0.00066	0,7246	0,2127

Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). La frecuencia alélica se corresponde a la población europea, según gnomAD genomes v3.1.2. Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*); UTR3, región 3' no traducida (*unstranlated region*).

No obstante, para ayudar a dilucidar la arquitectura genética subyacente de los eventos adversos durante el periodo de seguimiento, exploramos otros resultados sugestivamente significativos (valor $p < 0,001$) (Tabla 9). En la

[Tabla Suplementaria 1 \(Anexo IX\)](#) se muestra un análisis detallado de las 25 asociaciones más significativas del panel de genes que están relacionadas de algún modo con el desarrollo de eventos a los 12 meses.

El SNP más significativo fue el rs2472434 (c.543+711T>G), una variante intrónica en el gen *ABCA1*. Los portadores del alelo alternativo C presentaron una mayor incidencia de eventos adversos durante el seguimiento de un año en comparación con los no portadores (0,35 frente a 0,19; $\beta = -0,92$; $p = 1.0 \times 10^{-04}$). Además, se identificaron dos loci en alto LD con esta variante, rs2472433 (r^2 : 0.97, D' : 1.00) y rs2472378 (r^2 : 0.87, D' : 1.00), que contribuyeron de manera similar al aumento del riesgo de eventos, tal y como se detalla en la [Tabla Suplementaria 1](#).

El gen *ABCA1* desempeña un papel fundamental en la regulación de la homeostasis del colesterol y en la prevención de la aterosclerosis. Estudios previos han identificado variantes en este gen que pueden dar lugar a la pérdida de función de la proteína, reduciendo el eflujo de colesterol de los macrófagos y promoviendo la acumulación intracelular de lípidos, lo que podría suponer un mayor riesgo de aterosclerosis y eventos recurrentes.^(110,111)

Otra variante relevante fue el rs17618244 en el gen *KLB* (c.2183G>A, p.Arg728Gln), que corresponde a una variante de cambio de sentido (*missense*). En nuestro análisis, los portadores del alelo G ancestral presentaron una mayor tasa de eventos adversos durante los 12 meses de seguimiento en comparación con los no portadores ($\beta = 0,83$; $p = 3.4 \times 10^{-04}$).

El gen *KLB* codifica la proteína transmembrana β -klotho, que forma un complejo con los receptores del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR, por sus siglas en inglés), facilitando la unión de las hormonas FGF21 y FGF19. A través del complejo FGFR4-KLB, FGF19 inhibe la síntesis hepática de ácidos biliares a partir del colesterol. Aunque la relevancia funcional y clínica de las variantes genéticas en *KLB* sigue sin estar clara, varios estudios han demostrado

que la variante rs17618244 en hepatocitos reduce la expresión de *KLB*, contribuyendo a la acumulación intracelular de lípidos. Sin embargo, estudios funcionales sugieren que *KLB* Arg728 (alelo G) disminuye la estabilidad de la proteína en comparación con *KLB* Gln728 (alelo A), lo que podría debilitar la señalización mediada por FGF19 y, en consecuencia, aumentar la síntesis de ácidos biliares, que podría conducir a la disfunción cardiaca.^(112,113)

Entre los principales SNPs, identificamos el rs3827066 (c.2442+202G>A), una variante intrónica en el gen *ZNF335*, aunque la región circundante de 100 kb incluye otros genes relevantes, como *PLTP*, *PCIF1*, *NEURL2* y *MMP9*. Observamos que los portadores del alelo alternativo T presentaron una menor incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos durante el año de seguimiento en comparación con los no portadores ($\beta = 0,87$; $p = 6.0 \times 10^{-04}$).

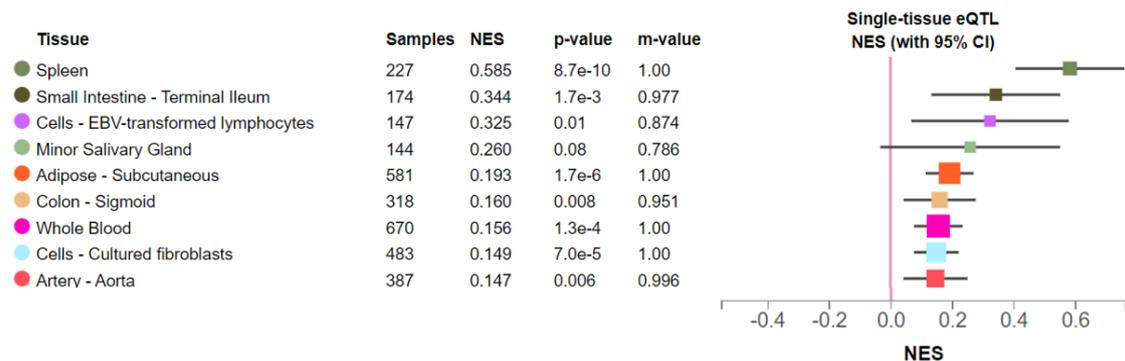


Figura 29. Impacto del rs3827066 en la expresión de *PLTP* en diversos tejidos.

El gráfico muestra el tamaño de efecto de la variante rs3827066 sobre la expresión del gen *PLTP* en varios tejidos humanos. Datos obtenidos de GTEx. Abreviaturas: eQTL, locus de rasgo cuantitativo que contribuye a la variación de los niveles de expresión (*expression quantitative trait loci*); NES, tamaño del efecto normalizado (*normalized effect size*).

Según GTEx, el alelo menor del rs3827066 se asocia con una mayor expresión de *PLTP* en tejidos como el adiposo, el aórtico y el sanguíneo (efectos eQTL; [Figura 29](#)). Dado que la proteína de transferencia de fosfolípidos (*PLTP*, por sus siglas en inglés) es clave para el transporte de colesterol al hígado para su excreción, este incremento en su expresión sugiere un posible papel protector frente a la aterosclerosis y los eventos recurrentes. Esto concuerda con estudios en modelos murinos que muestran que la sobreexpresión de *Pltp* aumenta los

niveles de colesterol de lipoproteínas de alta densidad (HDL-c, por sus siglas en inglés), mientras que su supresión los reduce.⁽¹¹⁴⁾ Además, Lazarenko *et al.*⁽¹¹⁵⁾ identificaron que el polimorfismo *PLTP* rs6065906, en LD con rs3827066 (r^2 : 0.06, D' : 1.00), y previamente relacionado con una disminución del HDL-c, se asocia con una reducción del riesgo de EAC (OR = 0,66; p = 0,002).

Estos hallazgos sugieren que, en pacientes con SCA-ICP-stent, las variantes en genes clave implicados en el metabolismo lipídico, la inflamación vascular y la estabilidad de la placa aterosclerótica podrían desempeñar un papel significativo en la predisposición a eventos adversos. Sin embargo, los mecanismos exactos por los cuales estas variantes influyen en el riesgo de desarrollar eventos isquémicos y/o hemorrágicos aún no están completamente dilucidados, lo que subraya la necesidad de realizar estudios adicionales para profundizar en su impacto y relevancia clínica.

A partir de estos resultados, y en combinación con las variables clínicas más relevantes, se llevó a cabo un análisis de random forest, cuyos resultados se detallan en el apartado “6.Resultados del análisis random forest”.

4.3. Comparación entre «caso vs control»

Por último, se comparó a los pacientes con SCA-ICP-stent (grupo G1&G2, que incluía tanto a pacientes con evento como a aquellos sin evento) con un conjunto de individuos sin ECV estructural (grupo G3). En este caso, nuestro objetivo era determinar si existía alguna variante en el grupo de pacientes con SCA que pudiera contribuir al desarrollo de la ECV y, por tanto, aumentar el riesgo de aparición de eventos isquémicos y/o hemorrágicos.

Para esta comparativa, el análisis de PCA indicó que la gran mayoría de las observaciones se agrupaban en torno a los valores centrales de ambos componentes, lo que sugiere que existe un conjunto de muestras emparentadas entre sí de algún modo (Figura 30). En esta ocasión, se omitió una muestra

por alejarse demasiado del conjunto, y se utilizaron PC1 y PC2 como covariables en los análisis de asociación. También se incluyeron la edad, el sexo y el consumo de tabaco como covariables, dado que se observó una mayor prevalencia de fumadores entre los pacientes con SCA que entre los controles ($p < 0,001$).

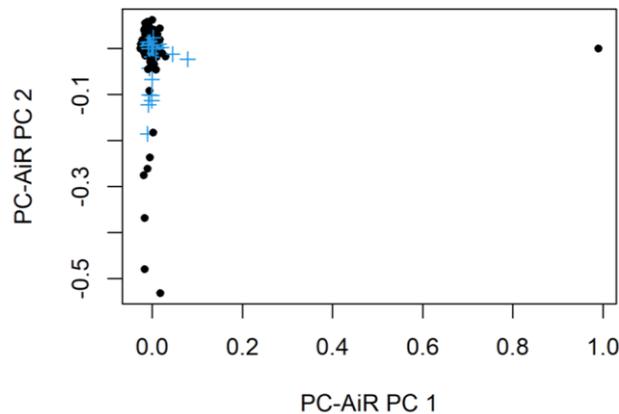


Figura 30. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio del desarrollo de la ECV. Las muestras emparentadas están marcadas en azul.

Tras realizar el análisis de asociación, ninguna variante genética alcanzó el umbral de significación para todo el genoma (5.0×10^{-8}) en el modelo ajustado por edad, sexo, consumo de tabaco y componentes principales (Figura 31). Sin embargo, un polimorfismo resultó sugestivamente significativo ($p = 8.7 \times 10^{-5}$).

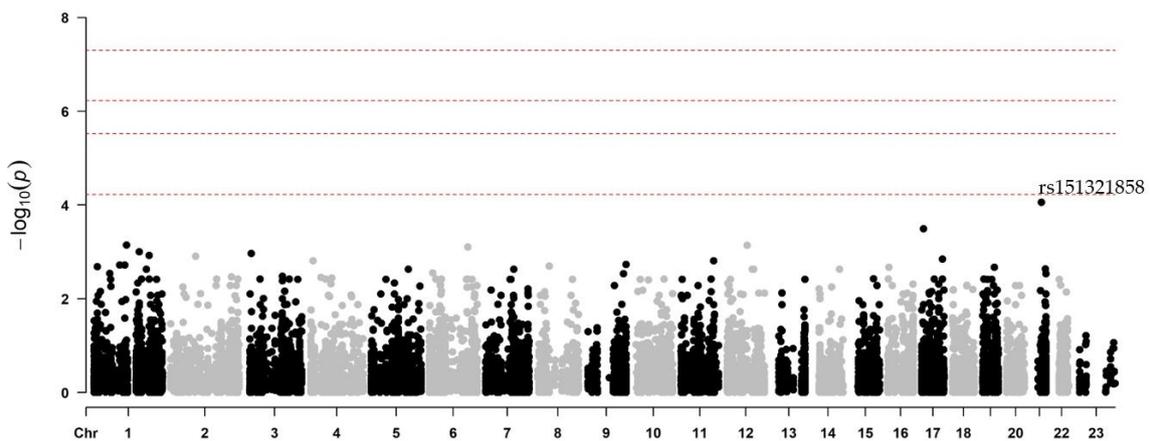


Figura 31. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de la ECV. La posición cromosómica está en el eje x y el $-\log_{10}$ del valor p de asociación está en el eje y. Los cuatro niveles de significación considerados se indican en líneas punteadas: nivel de significación a escala genómica, $-\log_{10}(5e^{-8})$; 95 % de confianza, $-\log_{10}(0.05/N^{\circ}rs)$; 90 % de confianza, $-\log_{10}(0.1/N^{\circ}rs)$, y nivel «sugestivo», $-\log_{10}(1/N^{\circ}rs)$.

No obstante, tras analizar en mayor detalle el rs151321858 (*BACH1*), se comprobó que solo dos individuos en toda nuestra población eran heterocigotos, y ambos pertenecían al «grupo control». Este hallazgo hizo necesario aplicar filtros de priorización adicionales. En lugar de buscar variantes comunes o con un tamaño de efecto reducido, que podrían estar relacionadas con el metabolismo de fármacos, nos centramos en identificar variantes causales de ECV, que pudieran ser responsables tanto del desarrollo de la enfermedad como de la aparición de eventos adversos, independientemente del fármaco administrado. Para ello, se descartaron las variantes de «bajo impacto» y aquellas con un «score > 0» (más prevalentes en controles que en casos).

Tabla 10. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de la ECV, ajustado por edad, sexo, consumo de tabaco y componentes principales.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p-valor	Beta	SD
rs151321858	21	30699637	A	T	<i>BACH1</i>	missense	0.002	8.7×10 ⁻⁵	8,7810	2,2378
rs61804206	1	161658821	A	G	<i>RPL31P11</i> ; <i>FCRLA</i>	intergenic	0.10	0,00099	-1,3171	0,4002
rs11076799	16	4065736	G	A	<i>ADCY9</i>	intronic	0.39	0,00213	-0,7167	0,2334
rs5370	6	12296255	G	T	<i>EDN1</i>	missense	0.22	0,00282	-0,8039	0,2692
rs79689385	14	64763982	A	G	<i>ESR2</i>	intronic	0.04	0,00563	-1,1828	0,4272
rs998488	19	17189468	A	G	<i>MYO9B</i>	intronic	0.13	0,00675	-1,1477	0,4236
rs1800566	16	69745145	G	A	<i>NQO1</i>	missense	0.19	0,00765	-0,6804	0,2547

Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). La frecuencia alélica se corresponde a la población europea, según gnomAD genomes v3.1.2. Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

Se identificaron tres posiciones de interés en genes previamente relacionados con la ECV: el rs11076799 en el gen *ADCY9* (c.1694-8177C>T), el rs5370 en *EDN1* (c.594G>T, p.Lys198Asn) y el rs1800566 en *NQO1* (c.559C>T, p.Pro187Ser). Tal como se detalla en la [Tabla 10](#), los pacientes con SCA presentaron una mayor frecuencia de los alelos alternativos de estas tres variantes en comparación con el grupo control sin ECV estructural ($\beta < 0$; $p < 0,008$).

Las adenilato ciclasas son enzimas asociadas a la membrana que catalizan la formación de AMPc, un segundo mensajero clave en la señalización intracelular. El gen *ADCY9* parece influir en los resultados ateroscleróticos en pacientes tratados con dalcetrapib, un inhibidor de la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP, por sus siglas en inglés) que aumenta el HDL-c. Estudios PGx han demostrado que, en pacientes tratados con este fármaco, el polimorfismo rs1967309 (A>G) en *ADCY9* se asocia con una reducción significativa del riesgo de eventos CV adversos en individuos con el genotipo AA.⁽¹¹⁶⁾ Además, en modelos murinos, Rautureau *et al.*⁽¹¹⁷⁾ descubrieron que la inactivación de *Adcy9* protege contra la aterosclerosis en ausencia de actividad CETP, al reducir la acumulación y proliferación de macrófagos en la pared arterial y mejorar la función endotelial, dos procesos clave en la progresión de la ECV.

La endotelina-1 (ET-1), codificada por el gen *EDN1*, es un potente vasoconstrictor del sistema CV, implicado en la regulación del tono vasomotor y el remodelado vascular. La ET-1 desempeña un papel importante en la patogénesis de la EAC, ya que contribuye a la disfunción endotelial, la inflamación, la modulación del metabolismo lipídico y la formación de placas ateroscleróticas. Estudios de genética molecular han relacionado varios polimorfismos del gen *EDN1* con un mayor riesgo de EAC. En particular, algunos autores han demostrado que los portadores del alelo T de la variante rs5370 (G>T) presentan niveles séricos elevados de ET-1 y niveles reducidos de HDL-c, lo que aumenta el riesgo de aterosclerosis coronaria. Además, variantes en LD con el rs5370 ($r^2 > 0.7$), como rs1800541 (-1394 T>G) y rs3087459 (-974 C>A), se han asociado a un mayor riesgo de IAM y SCA, respectivamente.^(118,119)

La NAD(P)H: quinona oxidoreductasa 1 (NQO1) es una enzima antioxidante clave que protege a las células del estrés oxidativo mediante la detoxificación de quinonas. Su amplia distribución tisular, especialmente en hígado y tejidos CV,

sugiere su relevancia en la protección vascular frente al estrés oxidativo, la inflamación y la aterogénesis. Estudios recientes han relacionado los polimorfismos del gen *NQO1* con un mayor riesgo de EAC y aterosclerosis. En concreto, el rs1800566 (*2, C>T) se asocia con una actividad enzimática reducida o ausente. No obstante, el papel del genotipo portador de este SNP resulta controvertido; por ejemplo, Han *et al.* hallaron que el alelo *T* está asociado a un mayor riesgo de desarrollar placas ateroscleróticas, mientras que otros autores sugieren que este polimorfismo podría tener un efecto protector frente al riesgo de EAC.⁽¹²⁰⁾

En conjunto, estos tres genes se han relacionado previamente con procesos clave responsables de la patogénesis de la ECV, ya que desempeñan un papel significativo en el desarrollo de la aterosclerosis. Esto los convierte en candidatos relevantes para investigar su posible contribución al desarrollo y la progresión del SCA, así como al aumento del riesgo de aparición de eventos isquémicos y/o hemorrágicos.

5. IDENTIFICACIÓN DE POLIMORFISMOS RELACIONADOS CON LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO

Una vez analizadas las tres comparativas planteadas inicialmente para este trabajo, se encontró que todas las variantes genéticas identificadas estaban, en cierto modo, relacionadas con el desarrollo de las ECV. Por esta razón, en la comparativa «evento vs no.evento», se decidió estratificar en función del antiagregante plaquetario prescrito, con el fin de comprobar si existían variantes diferenciales relacionadas con el metabolismo de estos fármacos que pudieran ser utilizadas para personalizar el tratamiento y mejorar los resultados clínicos en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent.

5.1. Eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel

En el caso de los pacientes SCA-ICP-stent a los que se les prescribió el antiagregante clopidogrel, se comparó a los individuos que experimentaron un evento adverso secundario tras recibir el tratamiento con aquellos que no sufrieron tales eventos durante el seguimiento de un año. Nuestro objetivo era determinar si existía alguna variante PGx que pudiera haberse considerado para reducir aún más la incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos.

En esta comparativa, el análisis de PCA reveló que la gran mayoría de las observaciones se acumulaban en los valores centrales de ambos componentes, indicando la existencia de un conjunto de muestras que presentaban cierto grado de parentesco entre sí (Figura 32). En este caso, se omitió una muestra por alejarse demasiado del conjunto y, en los análisis de asociación, se utilizaron PC1 y PC2, junto con la edad y el sexo, como covariables.

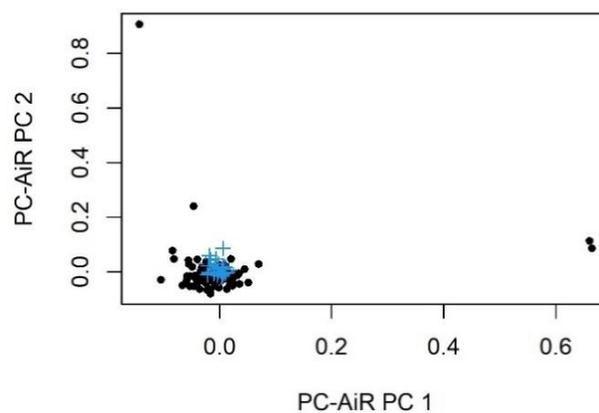


Figura 32. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio de la incidencia de eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel.

Las muestras emparentadas están marcadas en azul.

Tras realizar el análisis de asociación para el fenotipo relacionado con la aparición de eventos isquémicos y/o hemorrágicos en los pacientes tratados con clopidogrel, ningún locus alcanzó, tras aplicar la corrección adecuada, el umbral de significación en todo el genoma en el modelo ajustado por edad, sexo y componentes principales (valor p más bajo = 4.6×10^{-04}) (Figura 33).

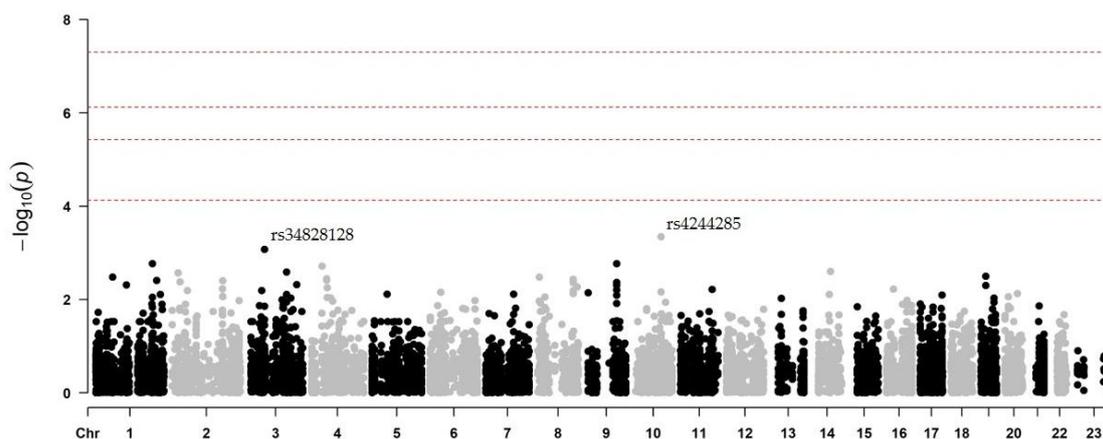


Figura 33. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel.

La posición cromosómica está en el eje x y el $-\log_{10}$ del valor p de asociación está en el eje y. Los cuatro niveles de significación considerados se indican en líneas punteadas: nivel de significación a escala genómica, $-\log_{10}(5e^{-8})$; 95 % de confianza, $-\log_{10}(0.05/N^{\circ}rs)$; 90 % de confianza, $-\log_{10}(0.1/N^{\circ}rs)$, y nivel «sugestivo», $-\log_{10}(1/N^{\circ}rs)$.

En el cromosoma 10, dos polimorfismos en el gen *CYP2C19* (rs4244285 y rs4986894, en completo LD) se asociaron con un mayor riesgo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos ($p = 4.6 \times 10^{-4}$) (Tabla 11). Sin embargo, dado que el grupo de pacientes sin evento estaba compuesto únicamente por individuos de la rama intervenida (genotipados para los polimorfismos en *CYP2C19* y *ABCB1*), este resultado era esperable, ya que a ningún paciente que presentara el alelo de riesgo A para el rs4244285 (*2, c.681G>A) se le prescribió clopidogrel.

Tabla 11. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel, ajustado por edad, sexo y PCs.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p -valor	Beta	SD
rs4244285	10	96541616	G	A	<i>CYP2C19</i>	synon.	0.15	0,00046	-1,9297	0,5785
rs4986894	10	96522365	T	C		upstream				
rs34828128	3	56667213	T	C	<i>FAM208A</i>	synon.	0.02	0,00085	-2,2830	0,7476
rs2472434	9	107623249	A	C	<i>ABCA1</i>	intronic	0.28	0,00171	-0,8835	0,2836
rs17618244	4	39448529	G	A	<i>KLB</i>	missense	0.19	0,00194	0,8797	0,2859
rs4986938	14	64699816	C	T	<i>ESR2</i>	UTR3	0.38	0,00251	-0,6907	0,2300

Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). La frecuencia alélica se corresponde a la población europea, según gnomAD genomes v3.1.2. Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

No obstante, los resultados obtenidos sugieren que el rs2472434 en *ABCA1* (A>C), que resultó ser el polimorfismo más significativo en la comparativa «evento vs no.evento» independientemente del tratamiento recibido, también se encontraba entre los SNPs más significativos al considerar el fármaco prescrito. En este caso, los pacientes que tomaron clopidogrel y que, además, eran portadores del alelo C presentaron una mayor incidencia de eventos adversos durante el seguimiento de un año en comparación con los no portadores (0,34 frente a 0,19; $\beta = -0,88$; $p = 1.7 \times 10^{-03}$). Del mismo modo, se identificó el alelo G ancestral del locus rs17618244 en *KLB* (G>A) como sugestivamente asociado con la incidencia de eventos tras el tratamiento con clopidogrel ($\beta = 0,88$; $p = 1.9 \times 10^{-03}$).

Ruta metabólica del clopidogrel

Realmente nos interesaba investigar si, dentro de los genes descritos como implicados en el metabolismo del clopidogrel, existían variantes genéticas que afectaran a la FC/FD del medicamento. En base a esto, se acotaron los resultados del análisis de asociación a aquellos genes descritos por PharmGKB (Figura 34).

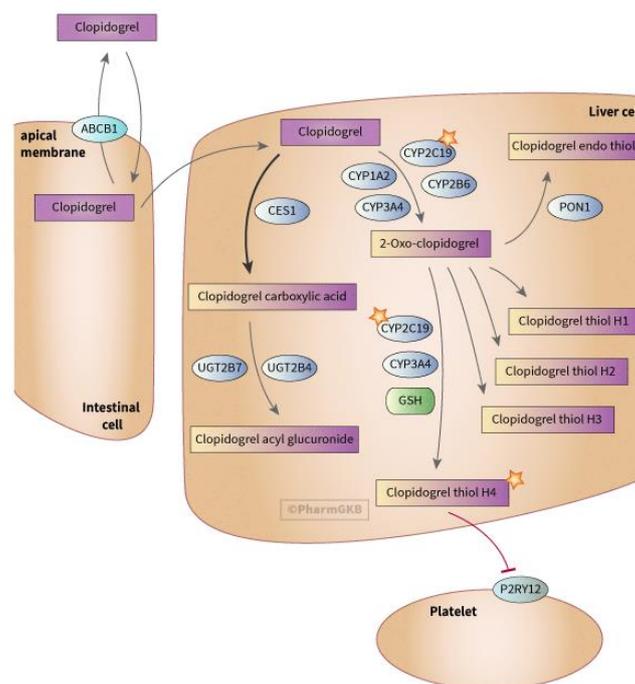


Figura 34. Genes implicados en el metabolismo del clopidogrel. Tomada del sitio web “PharmGKB”.⁽¹²¹⁾

En el cromosoma 7, un polimorfismo en el gen *ABCB1* (rs2235048, c.3699+80C>T), en completo LD con *ABCB1* c.3435C>T, se asoció con una menor incidencia de eventos adversos en aquellos pacientes a los que se les prescribió clopidogrel ($\beta = 0,63$; $p = 0,03322$) (Tabla 12). Sin embargo, al igual que en el caso del *CYP2C19*2*, dado que el grupo de pacientes sin evento estaba compuesto únicamente por individuos de la rama intervenida PGx, este resultado era esperable, ya que a ningún individuo que presentara el genotipo de riesgo AA para el rs1045642 (c.3435 C>T) se le prescribió clopidogrel.

Tabla 12. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel, acotado a los genes implicados en el metabolismo del fármaco.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p-valor	Beta	SD
rs2235048	7	87138511	G	A	<i>ABCB1</i>	intronic	0.47	0,03322	0,6291	0,2961
rs28365062	4	69964271	A	G	<i>UGT2B7</i>	synon.	0.14	0,00917	0,8886	0,3429
rs7439366	4	69964338	T	C	<i>UGT2B7</i>	missense	0.48	0,03090	0,5158	0,2394
rs4244285	10	96541616	G	A	<i>CYP2C19</i>	synon.	0.15	0,00046	-1,9297	0,5785
rs4986894	10	96522365	T	C		upstream				
rs11509438	10	106027059	G	A	<i>GSTO1</i>	missense	0.03	0,02745	-1,4006	0,6430
rs1907637	3	151104838	A	G	<i>P2RY12</i>	upstream	0.87	0,01814	0,9126	0,3876
rs6809699	3	151056598	A	C		synon.				
rs2046934	3	151057642	G	A		intronic				
rs10935838	3	151058247	A	G	intronic					

Solo se muestran las variantes genéticas con valores significativos ($p < 0.05$), agrupadas por genes y ordenadas por la dirección de la ruta que se muestra en la Figura 34. Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

No obstante, dos polimorfismos en el gen *UGT2B7* (rs28365062 y rs7439366, no linkados entre sí) y cuatro en el gen *P2RY12* (rs1907637, rs6809699, rs2046934 y rs10935838, estos tres en completo LD entre sí) se asociaron de igual modo con una menor incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos en los pacientes bajo tratamiento con clopidogrel.

Genes VIP

Del mismo modo, quisimos comprobar si dentro de los genes VIP existían variantes genéticas que pudieran afectar a la FC/FD del fármaco. En base a esto, también se acotaron los resultados del análisis de asociación a aquellos genes descritos por PharmGKB como de nivel 1.

De todas las variantes identificadas, en el cromosoma 10, un polimorfismo en el gen *CYP2C9* (rs28371675, c.481+239C>T) se asoció con la aparición de eventos adversos en los pacientes que tomaron clopidogrel ($\beta = -0,95$; $p = 0,02034$) (Tabla 13). Según GTEx, esta variante actúa como un eQTL que influye en la expresión de *CYP2C19* en diversos tejidos, aumentando, por ejemplo, su expresión en el hígado.

Tabla 13. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel, acotado a los genes VIP de nivel 1.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p-valor	Beta	SD
rs3767511	1	201052199	T	C	CACNA1S	intronic	0.22	0,01242	-0,6332	0,2543
rs4915476	1	201047062	G	A		synon.				
rs2002977	19	41350594	G	A		synon.				
rs8192721	19	41356188	C	T	CYP2A6	synon.	0.08	0,02652	1,0253	0,4665
rs1809811	19	41352840	G	A		synon.				
rs11572136	10	96809051	A	C	CYP2C8	intronic	0.06	0,02034	-1,3307	0,5803
rs28371675	10	96702337	C	T	CYP2C9	intronic	0.17	0,02871	-0,9475	0,4364
rs1046712	1	169510475	G	T	F5	missense	0.18	0,01972	-0,6914	0,2976
rs6025	1	169519049	T	C	F5	missense	0.03	0,04554	2,1126	1,0565
rs6035	1	169521849	T	C	F5	synon.	0.08	0,04587	-0,7909	0,3962
rs1041983	8	18257795	C	T	NAT2	synon.	0.31	0,03657	-0,5199	0,2491
rs1799929	8	18257994	C	T	NAT2	synon.	0.44	0,04796	0,4774	0,2414

Solo se muestran las variantes genéticas con valores significativos ($p < 0.05$), agrupadas por genes ordenados alfabéticamente. Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

En conjunto, los hallazgos de este análisis revelaron varias variantes genéticas de interés que podrían influir en la respuesta al tratamiento con clopidogrel en pacientes con SCA-ICP-stent. En consecuencia, se decidió incluir estas variantes en los análisis posteriores (ver apartado “6.Resultados del análisis random forest”) con el fin de evaluar su potencial como posibles biomarcadores capaces de optimizar la personalización del tratamiento y mejorar la eficacia terapéutica en estos pacientes.

5.2. Eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel

Al igual que en el apartado anterior, en el caso de los pacientes SCA-ICP-stent a los que se les prescribió el antiagregante prasugrel, se comparó a aquellos que experimentaron un evento adverso tras recibir el tratamiento con aquellos que no sufrieron tales eventos durante el seguimiento de un año. El objetivo fue de nuevo determinar si existía alguna variante PGx que pudiera haberse considerado para reducir aún más la incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos.

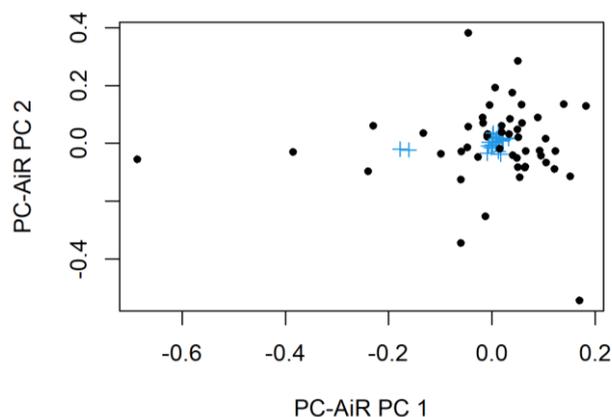


Figura 35. Gráfico en dos dimensiones de PC1 y PC2 para el estudio de la incidencia de eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel. Las muestras emparentadas están marcadas en azul.

El análisis de PCA mostró que la mayoría de las observaciones se agrupaban en torno a los valores centrales de ambos componentes (Figura 35). A pesar de la existencia de un conjunto de muestras emparentadas entre sí, no se descartó ningún individuo de este análisis. No obstante, tanto PC1 y PC2, junto con la edad y el sexo, se incluyeron como covariables en los análisis de asociación.

Una vez realizado el análisis de asociación para el fenotipo relacionado con la aparición de eventos isquémicos y/o hemorrágicos en los pacientes tratados con prasugrel, ningún locus alcanzó el umbral de significación en todo el genoma, tras aplicar la corrección adecuada, en el modelo ajustado por edad, sexo y componentes principales (valor p más bajo = 2.6×10^{-04}) (Figura 36).

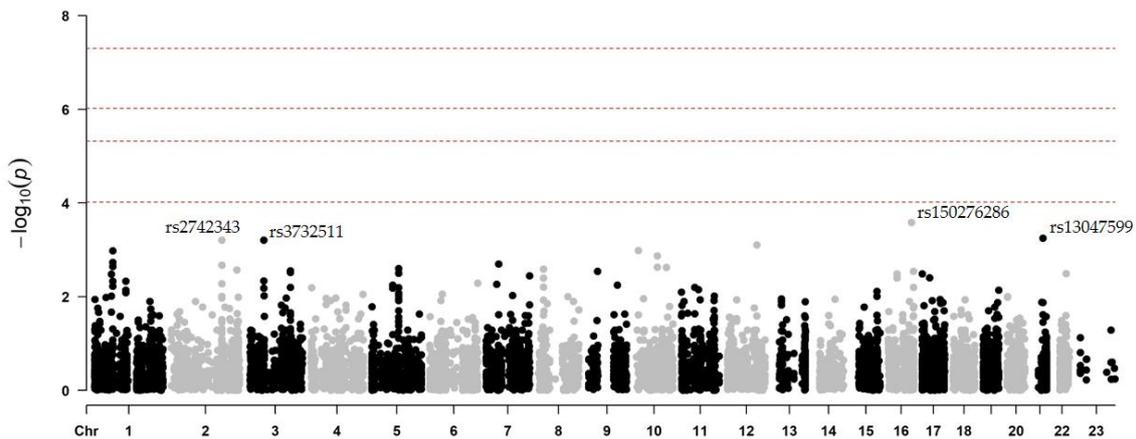


Figura 36. Diagrama de Manhattan de los resultados de asociación para el desarrollo de eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel.

La posición cromosómica está en el eje x y el $-\log_{10}$ del valor p de asociación está en el eje y. Los cuatro niveles de significación considerados se indican en líneas punteadas: nivel de significación a escala genómica, $-\log_{10}(5e^{-8})$; 95 % de confianza, $-\log_{10}(0.05/N^{\text{rs}})$; 90 % de confianza, $-\log_{10}(0.1/N^{\text{rs}})$, y nivel «sugestivo», $-\log_{10}(1/N^{\text{rs}})$.

En el cromosoma 21, el polimorfismo rs13047599 en el gen *SON* (c.4723C>T, p.Arg1575Cys) se asoció con la aparición de eventos isquémicos y/o hemorrágicos (Tabla 14). En este caso, los portadores del alelo alternativo *T* que tomaron prasugrel presentaron una mayor incidencia de eventos en comparación con los no portadores (0,84 frente a 0,57; $\beta = -1,31$; $p = 5.7 \times 10^{-4}$).

El gen *SON* codifica una proteína nuclear esencial para el procesamiento eficaz de los pre-mRNAs y participa en la regulación del ciclo celular y la respuesta inflamatoria. En este sentido, un estudio previo identificó a *SON* como un determinante central en las actividades de los macrófagos, modulando procesos como la autofagia, la respuesta al interferón de tipo I y la expresión génica del inflammasoma.⁽¹²²⁾

Tabla 14. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel, ajustado por edad, sexo y PCs.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p-valor	Beta	SD
rs150276286	16	81902879	C	G	PLCG2	synon.	0.01	0,00026	-3,6496	1,0675
rs13047599	21	34926260	C	T	SON	missense	0.67	0,00057	-1,3065	0,3844
rs2742343	2	179569436	A	G	TTN	synon.	0.03	0,00062	-3,1466	1,0184
rs3732511	3	56766435	C	G	ARHGEF3	synon.	0.12	0,00062	-1,8055	0,5398
rs2888805	12	104380734	G	A	TDG	missense	0.10	0,00079	-2,5707	0,8042
rs6686	10	12209752	T	C	NUDT5	synon.	0.50	0,00104	-1,2772	0,3958
rs61781311	1	66087620	G	T	LEPR	intronic	0.17	0,00105	-1,3725	0,4255
rs2472434	9	107623249	A	C	ABCA1	intronic	0.28	0,00572	-1,2671	0,4631
rs3827066	20	44586023	C	T	ZNF335	intronic	0.17	0,02880	1,0502	0,4836

Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). La frecuencia alélica se corresponde a la población europea, según gnomAD genomes v3.1.2. Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

Asimismo, en el cromosoma 3, el locus rs3732511 (c.1155G>C) en el gen *ARHGEF3* también se asoció con una mayor incidencia de eventos adversos en los portadores del alelo alternativo G y que, además, fueron tratados con prasugrel (0,28 frente a 0,07; $\beta = -1,81$; $p = 6.2 \times 10^{-4}$).

ARHGEF3 codifica un factor de intercambio de nucleótidos de guanina que activa las RhoGTPasas RhoA y RhoB, responsables de regular la morfología y agregación celulares, el reordenamiento del citoesqueleto y la activación transcripcional. Estudios previos han identificado el rs1354034 como un eQTL asociado con una mayor expresión de *ARHGEF3* en plaquetas, además de con variaciones en el volumen plaquetario medio y en la activación plaquetaria.⁽¹²³⁾

Por último, en relación con los polimorfismos más significativos en la comparativa «evento vs no.evento» independientemente del tratamiento recibido, los resultados de este subanálisis sugieren que el rs2472434 en *ABCA1* (c.543+711T>G) permanece asociado a un mayor riesgo de eventos en pacientes

que tomaron prasugrel. En este caso, los portadores del alelo C presentaron una mayor incidencia de eventos adversos durante el seguimiento de un año en comparación con los no portadores (0,40 frente a 0,20; $\beta = -1,27$; $p = 5.7 \times 10^{-03}$). Del mismo modo, el alelo C ancestral del rs3827066 en *ZNF335* (c.2442+202G>A) se asoció de manera sugestiva con el desarrollo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos en este contexto ($\beta = 1,05$; $p = 0,0288$).

Ruta metabólica del prasugrel

Al igual que en el caso del clopidogrel, nos interesaba determinar si, dentro de los genes implicados en el metabolismo del prasugrel, existían variantes genéticas que afectaran a la FC/FD del medicamento. Por esta razón, se acotaron los resultados del análisis de asociación a aquellos genes descritos por PharmGKB (Figura 37).

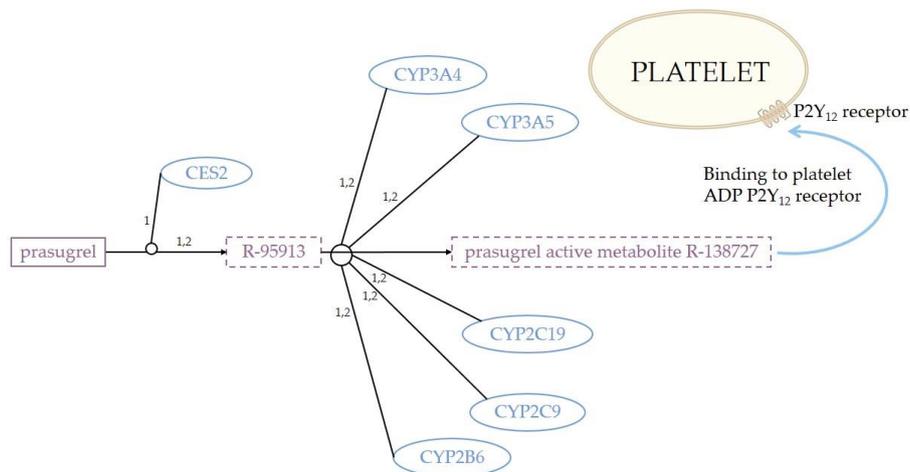


Figura 37. Genes implicados en el metabolismo del prasugrel. Tomada del sitio web “PharmGKB”.⁽¹²¹⁾

Identificamos varias variantes comunes en el gen *P2RY12* que se asociaron de manera sugestiva con una mayor incidencia de eventos adversos en los pacientes tratados con prasugrel (Tabla 12). El SNP más significativo fue el rs6798347 (c.-3858C>T), con una mayor frecuencia del alelo A en los pacientes que presentaron un evento, en comparación con aquellos sin evento (0,34 frente a 0,12; $\beta = -1,38$; $p = 0,0031$). Curiosamente, esta variante no se asoció con un mayor riesgo de eventos adversos en los pacientes tratados con clopidogrel ($p = 0,2296$).

Asimismo, el haplotipo de *P2RY12* compuesto por los rs6809699, rs2046934 y rs10935838 se asoció con un mayor riesgo de eventos adversos en los pacientes que recibieron prasugrel ($\beta = -1,12$; $p = 0,0248$), mientras que este mismo haplotipo se asoció con una menor incidencia de eventos en aquellos pacientes tratados con clopidogrel ($\beta = 0,66$; $p = 0,0392$). Además, la variante rs1907637, que se relacionó con una menor incidencia de eventos en los pacientes que recibieron clopidogrel, no mostró una asociación significativa en aquellos a los que se les prescribió prasugrel ($p = 0,08413$).

Tabla 15. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel, acotado a los genes implicados en el metabolismo del fármaco.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p-valor	Beta	SD
rs145425445	19	41518133	G	A	<i>CYP2B6</i>	intronic	0.002	0,01682	-3,8537	1,7053
rs6798347	3	151106158	G	A	<i>P2RY12</i>	upstream	0.21	0,00306	-1,3835	0,4747
rs6809699	3	151056598	A	C		synon.				
rs2046934	3	151057642	G	A	<i>P2RY12</i>	intronic	0.83	0,02485	-1,1209	0,5048
rs10935838	3	151058247	A	G		intronic				
rs4680400	3	151103370	G	A	<i>P2RY12</i>	upstream	0,38	0,03189	-0,8758	0,4097
rs7612010	3	151087648	A	G	<i>P2RY12</i>	intronic	0,58	0,04839	-0,7429	0,3763
rs1128503	7	87179601	A	G	<i>ABCB1</i>	synon.	0.57	0,02383	0,7863	0,3492
rs2235048	7	87138511	G	A	<i>ABCB1</i>	intronic	0.47	0,12761	0,5471	0,3591
rs28365062	4	69964271	A	G	<i>UGT2B7</i>	synon.	0.14	0,22006	-0,7218	0,5886
rs7439366	4	69964338	T	C	<i>UGT2B7</i>	missense	0.48	0,50312	-0,3026	0,4520
rs4244285	10	96541616	G	A		synon.				
rs4986894	10	96522365	T	C	<i>CYP2C19</i>	upstream	0.15	0,10404	0,7931	0,4879
rs1907637	3	151104838	A	G	<i>P2RY12</i>	upstream	0.87	0,08413	-0,9485	0,5492

Solo se muestran las variantes genéticas con valores significativos ($p < 0.05$), agrupadas por genes y ordenadas por la dirección de la ruta que se muestra en la [Figura 37](#). A partir de la línea de puntos, se muestran las variantes que resultaron significativas en el estudio de los eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel. Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

Además de examinar los genes implicados en la ruta del prasugrel, también evaluamos si las variantes asociadas previamente con el desarrollo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos en pacientes tratados con clopidogrel se replicaban en el grupo tratado con prasugrel. Ninguna de las variantes estudiadas, entre las que se encontraban el rs1128503 en *ABCB1* (en LD con c.3435C>T; $p = 0,1276$), el rs4244285 en *CYP2C19* ($p = 0,1040$) y los SNPs en *UGT2B7* (rs28365062, $p = 0,2201$ y rs7439366, $p = 0,5031$), mostró una asociación significativa con el riesgo de presentar un evento en los pacientes que recibieron prasugrel. No obstante, al analizar el gen *ABCB1*, el polimorfismo rs1128503 (c.1446T>C), no linkado con *ABCB1* c.3435C>T, resultó estar asociado con una menor incidencia de eventos adversos en estos pacientes ($\beta = 0,79$; $p = 0,0238$).

Genes VIP

Del mismo modo, quisimos comprobar si dentro de los genes VIP existían variantes genéticas que pudieran afectar a la FC o FD del fármaco. Por ello, también se acotaron los resultados de este análisis a aquellos genes descritos por PharmGKB como de nivel 1.

Entre las variantes más significativas, encontramos que el SNP rs4891 (c.555T>C) en *GSTP1* se asoció con una mayor incidencia de eventos adversos en los pacientes portadores del alelo menor C tratados con prasugrel (0,40 frente a 0,22; $\beta = -1,14$; $p = 0,01171$) (Tabla 16). A pesar de que *GSTP1* no está directamente implicado en la ruta metabólica de PharmGKB, algunos estudios sugieren que este fármaco podría actuar como sustrato de la enzima glutatión S-transferasa, involucrada en el metabolismo de xenobióticos (Figura 11). Además, estudios previos han identificado asociaciones entre polimorfismos en *GSTP1*, como rs1695 (A>G), rs4891 (T>C) y rs8191439 (G>A), y episodios hemorrágicos en pacientes asiáticos con SCA.⁽¹²⁴⁾

Tabla 16. Anotación de los principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel, acotado a los genes VIP de nivel 1.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p-valor	Beta	SD
rs2231156	4	89020427	C	A	ABCG2	intronic	0.09	0,01076	-1,7625	0,7012
rs4891	11	67353970	T	C	GSTP1	synon.	0.35	0,01171	-1,1411	0,4558
rs1537514	1	11848068	G	C		UTR3				
rs2066462	1	11854896	G	A	MTHFR	synon.	0.09	0,01761	-1,6030	0,6946
rs2066470	1	11863057	G	A		synon				
rs56183942	1	201022376	G	A	CACNA1S	synon.	0.01	0,01831	-3,9692	1,6654
rs11568318	2	234665498	C	A	UGT1A1	upstream	0.06	0,02308	1,3329	0,5936
rs1801252	10	115804036	A	G	ADRB1	missense	0.13	0,02750	1,3019	0,5931
rs2002977	19	41350594	G	A						
rs8192721	19	41356188	C	T	CYP2A6	synon.	0.08	0,02924	1,9303	0,9078
rs1809811	19	41352840	G	A						
rs2511521	11	113285299	G	A	DRD2	intronic	0.76	0,03007	0,9094	0,4226

Solo se muestran las variantes genéticas con valores significativos ($p < 0.05$). Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

6. RESULTADOS DEL ANÁLISIS DE RANDOM FOREST

Una vez completados los análisis de asociación para las diferentes comparativas planteadas en este trabajo, aplicamos un algoritmo de «random forest» con el objetivo de evaluar la capacidad predictiva de las variantes genéticas identificadas, así como de las variables clínicas seleccionadas, y determinar la importancia relativa de cada una de ellas en la susceptibilidad de desarrollar eventos adversos durante el periodo de seguimiento. Este análisis se realizó únicamente para la comparativa «evento vs no.evento», dado que consideramos que era la más relevante a la hora de evaluar los modelos propuestos y aplicar los resultados en la mejora del algoritmo de decisión actualmente empleado en la práctica clínica.

6.1. Eventos secundarios independientemente del tratamiento prescrito

Comenzamos el análisis de random forest con la comparativa «evento vs no.evento», sin tener en cuenta el tipo de fármaco antiagregante prescrito. El análisis reveló que el genotipo rs2472434 (*ABCA1*) era la principal variable predictora entre las propuestas dentro del modelo, destacando claramente en el esquema de clasificación (Figura 38).

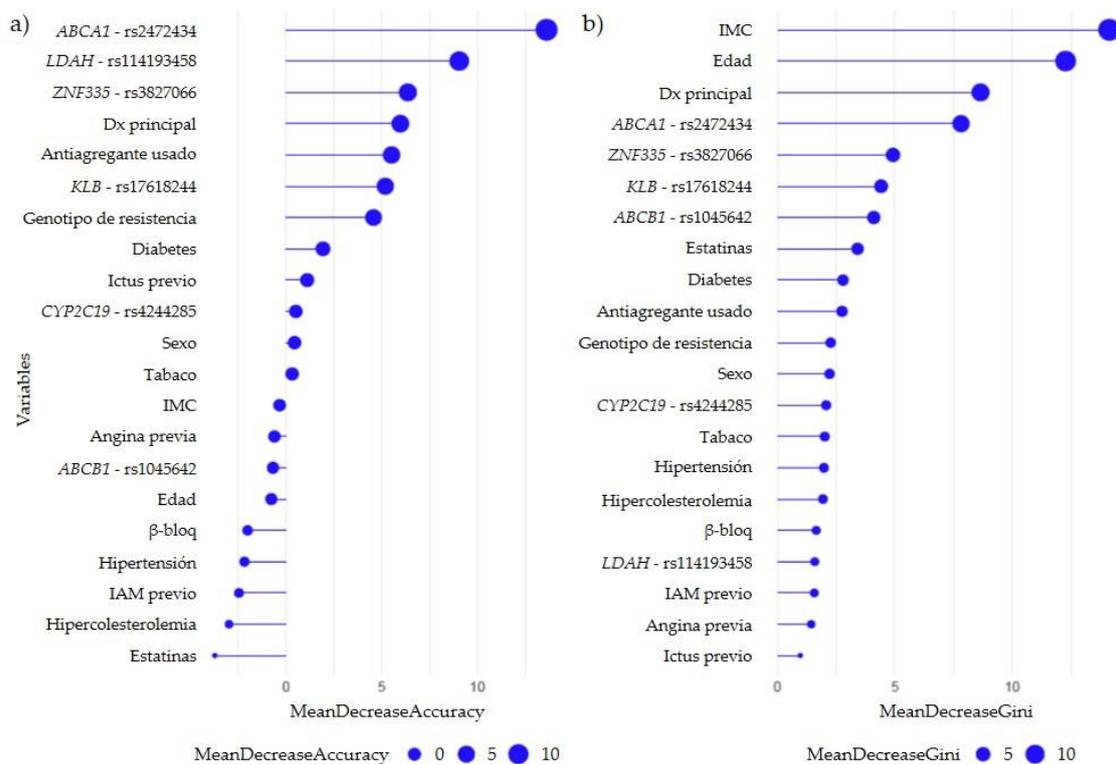


Figura 38. Gráfico de importancia para cada una de las variables del análisis de random forest para el desarrollo de eventos adversos durante el periodo de seguimiento. Las variables están ordenadas de mayor a menor importancia en la clasificación entre pacientes con evento y pacientes sin evento. a) Estadístico MDA (*Mean Decrease Accuracy*). Este gráfico se genera a partir de cada una de las iteraciones (cada uno de los árboles de decisión generados) y permite ver qué variables, de ser omitidas, tendrían un mayor efecto en la pérdida de precisión del modelo. b) Estadístico MDG (*Mean Decrease Gini*). Este gráfico se interpreta de forma similar, pero se genera a partir del modelo completo, no de cada iteración.

En base al estadístico MDA (*Mean Decrease Accuracy*), el genotipo de *ABCA1* y el diagnóstico principal en el momento del ingreso se identificaron como unas de las variables que mejor definían la diferencia entre grupos en el conjunto de entrenamiento. Al evaluar el modelo completo mediante el

estadístico MDG (*Mean Decrease Gini*), dichas variables mantuvieron su relevancia a la hora de separar entre los grupos de estudio. Este hecho refuerza el valor predictivo de estas variables, junto con otras variables clínicas, como el IMC y la edad, que también demostraron una capacidad discriminativa significativa en el análisis global.

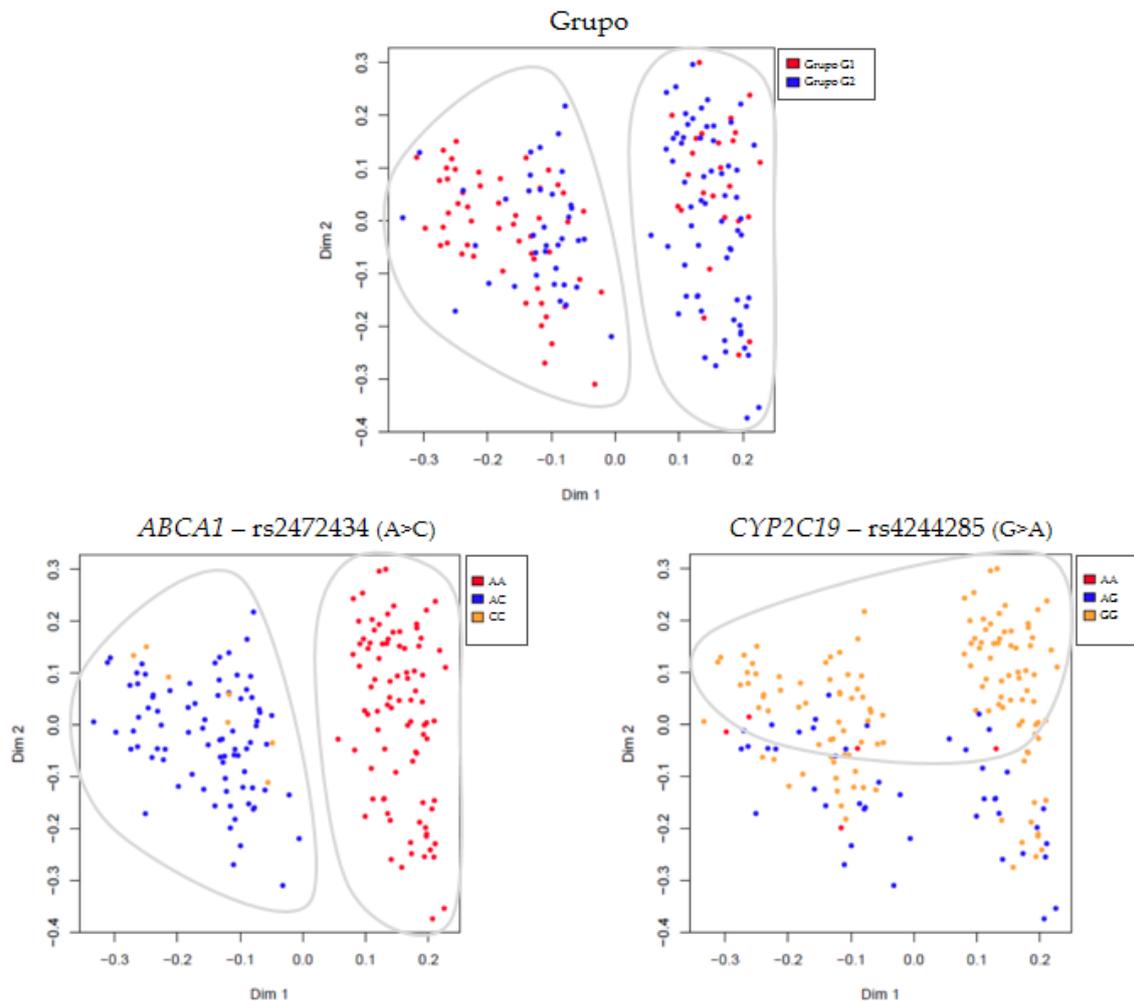


Figura 39. Gráficos de escalado multidimensional clásico (MDS) en la comparativa «evento vs no.evento», independientemente del tratamiento prescrito.

En el gráfico se representan las dos primeras dimensiones obtenidas del análisis MDS a partir de las distancias entre muestras, recogidas en la «matriz de proximidad». Por tanto, se espera que las muestras parecidas (con valores semejantes en las variables) queden próximas en el gráfico, mientras que las muestras muy diferentes queden alejadas. El algoritmo representa las muestras gráficamente según la distancia que tienen entre sí, y, luego, aplica color en función de la variable de interés. Los círculos de color gris se han añadido manualmente para facilitar la comprensión de la información en el texto.

En la [Figura 39](#) se presentan los gráficos de escalado multidimensional (MDS, por sus siglas en inglés) generados a partir del «conjunto de entrenamiento» y en función de todas las variables incluidas en el modelo «random forest» (no solo las variables genéticas). Las dos primeras dimensiones recogen las mayores fuentes de variabilidad entre las muestras.

En el gráfico de «grupo», se puede apreciar que a lo largo del eje X se forman dos clústeres bastante bien diferenciados: el clúster de la derecha es más homogéneo respecto a algunas variables y está compuesto principalmente por muestras del grupo G2 (pacientes sin eventos adversos durante el periodo de seguimiento), mientras que el clúster de la izquierda, más heterogéneo, incluye muestras de ambos grupos. Casualmente, estos clústeres coinciden, casi en su totalidad, con la agrupación según la variante rs2472434 (*ABCA1*), lo que sugiere que una de las mayores fuentes de variabilidad entre las muestras parece estar asociada a esta variante; el grupo G2 se asocia predominantemente con el genotipo AA, mientras que el grupo G1 se relaciona con el genotipo AC+CC.

La segunda mayor fuente de varianza, representada en el eje Y, no permite una separación tan clara entre los grupos, pero coincide con una separación relativa según el genotipo rs4244285 (*CYP2C19*). Esto indicaría que esta variante parece estar asociada a la segunda mayor fuente de variabilidad, y que la combinación de ambos marcadores proporciona una mayor precisión en la clasificación, especialmente en el grupo G2 sin evento.

Por tanto, la variante en *ABCA1* parece ser la que está más asociada con el desarrollo de eventos adversos, independientemente del tratamiento que reciban los pacientes. No obstante, esta asociación no es perfecta, por lo que sería interesante realizar un análisis más detallado que tenga en cuenta el tipo de antiagregante utilizado. Esto permitiría identificar si existe algún patrón de separación potencialmente vinculado al tratamiento administrado.

Por último, se evaluó el rendimiento pronóstico de las variables incluidas en el modelo establecido. La curva ROC mostró un valor de AUC de 0.625, lo que indica una capacidad moderada de discriminación (Figura 40). El modelo logró clasificar correctamente al 60 % de los pacientes, con una sensibilidad del 43,75 % y una especificidad del 75,76 %. Estos resultados sugieren que, aunque la variable *ABCA1* permitió una clara diferenciación en el conjunto de entrenamiento, su rendimiento en el conjunto de prueba fue subóptimo, lo que dificultó la correcta clasificación de los pacientes.

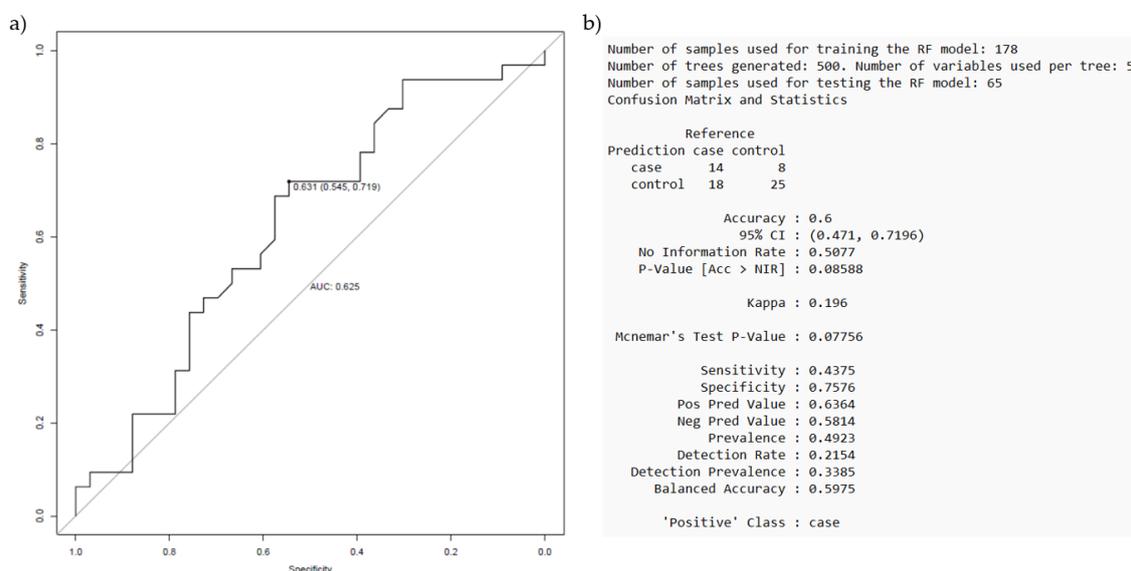


Figura 40. Rendimiento del modelo establecido en la comparativa «evento vs no.evento», independientemente del tratamiento prescrito.

a) Curva ROC con estadísticos AUC e índice de Youden, b) Parámetros utilizados para el entrenamiento del modelo «random forest» con el conjunto de entrenamiento y «matriz de confusión» obtenida a partir de la evaluación del modelo con el conjunto de prueba.

El valor de p obtenido ($p = 0,07756$) se aproximó al umbral de significación estadística ($p < 0,05$), ya que el modelo tendía a clasificar con mayor precisión a aquellos pacientes que no presentaban eventos adversos durante el periodo de seguimiento (grupo G2). Sin embargo, en el caso de los pacientes con evento (grupo G1), el modelo planteado no logró superar la precisión esperada por azar.

6.2. Eventos secundarios tras el tratamiento con clopidogrel

El análisis de random forest para la comparativa «evento vs no.evento» en pacientes tratados con clopidogrel identificó el «genotipo de resistencia al clopidogrel», definido por las variantes en los genes *CYP2C19* y *ABCB1*, como la principal variable predictora dentro del modelo, ya que destacó de manera evidente en el esquema de clasificación, como se muestra en la [Figura 41](#).

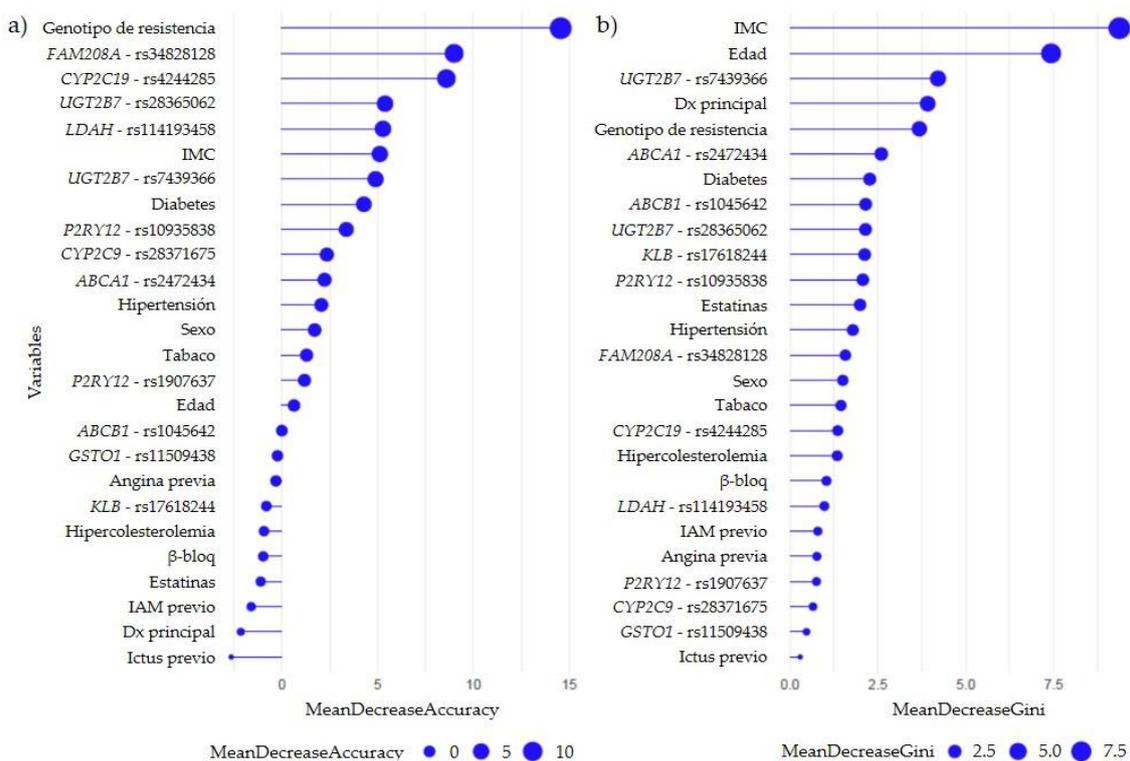


Figura 41. Gráfico de importancia para cada una de las variables del análisis de random forest para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con clopidogrel.

Las variables están ordenadas de mayor a menor importancia en la clasificación entre pacientes con evento y pacientes sin evento. a) Estadístico MDA, generado a partir de cada una de las iteraciones. b) Estadístico MDG, generado a partir del modelo completo, no de cada iteración.

Al analizar el conjunto de entrenamiento mediante el gráfico MDA, además del genotipo de resistencia, otras variantes genéticas, como las de los genes *UGT2B7* (rs28365062 y rs7439366) y *ABCA1* (rs2472434), también mostraron una notable capacidad para diferenciar entre los grupos. Asimismo, al evaluar el modelo completo a través del gráfico MDG, se observó que estas variantes, junto con el IMC y la edad, mantuvieron su relevancia al permitir una mejor separación entre los grupos de estudio.

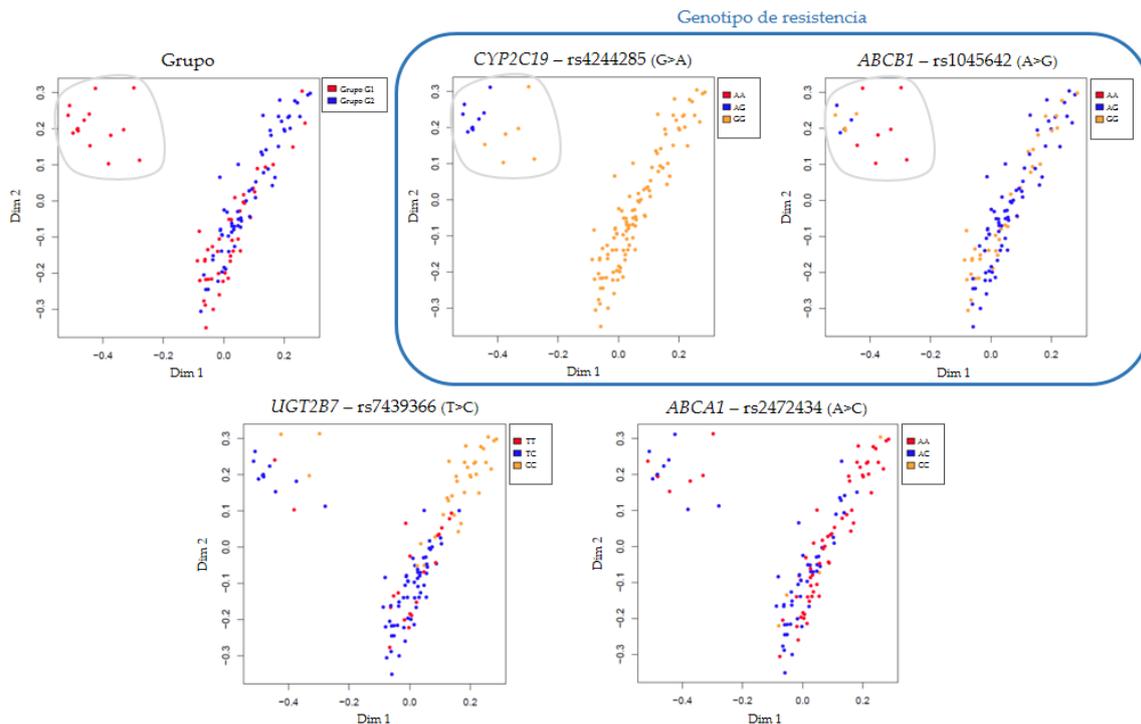


Figura 42. Gráficos de escalado multidimensional clásico (MDS) en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con clopidogrel.

El análisis MDS se genera a partir del «conjunto de entrenamiento» y en función de todas las variables que se añadieron en el modelo «random forest». En el gráfico se representan las dos primeras dimensiones obtenidas del análisis MDS a partir de las distancias entre muestras, recogidas en la «matriz de proximidad». El algoritmo representa las muestras gráficamente según la distancia que tienen entre sí, y, luego, aplica color en función de la variable de interés. Los círculos de color gris se han añadido manualmente para facilitar la comprensión de la información en el texto.

Al examinar los gráficos MDS generados a partir del «conjunto de entrenamiento» (Figura 42), se puede apreciar en el eje X una clara separación entre un clúster relativamente homogéneo de muestras pertenecientes al grupo G1 (en rojo) y otro clúster, más disperso, que incluye muestras tanto de G1 como de G2 (rojo y azul). Además, resulta interesante comprobar que todos los individuos tratados con clopidogrel y con genotipo AG para *CYP2C19**2 pertenecen a este subclúster de muestras G1, separado del resto, al igual que todas las muestras con genotipo AA para *ABCB1* c.3435C>T. Esta clara diferenciación sugiere que el subgrupo G1 se corresponde con un conjunto muy concreto de individuos resistentes al clopidogrel, lo que refuerza la idea de que la mayor fuente de variabilidad proviene de ese subgrupo de muestras, definido por la variable «genotipo de resistencia».

Además de la separación horizontal, existe una separación vertical en el eje Y, correspondiente a la segunda mayor fuente de variabilidad, aparentemente asociada a los genotipos rs7439366 (*UGT2B7*) y rs2472434 (*ABCA1*). Aunque estas variantes no lograron establecer una separación nítida entre los grupos G1 y G2, el grupo G2 parece asociarse predominantemente con los genotipos CC y AA, respectivamente. La coincidencia de estos genotipos con la segunda mayor fuente de varianza sugiere que la combinación de ambos marcadores podría mejorar la precisión de la clasificación. Además, el hecho de que exista un conjunto de individuos que se agrupa y que, a su vez, comparte alguna de estas variantes resalta su interés para futuras investigaciones.

Sin embargo, es importante tener en cuenta que los gráficos MDS se generan a partir del conjunto de entrenamiento, por lo que, aunque puedan orientar los resultados, es fundamental centrarse en los gráficos de importancia (Figura 41) y las curvas ROC (Figura 43) para obtener conclusiones más sólidas acerca del modelo propuesto.

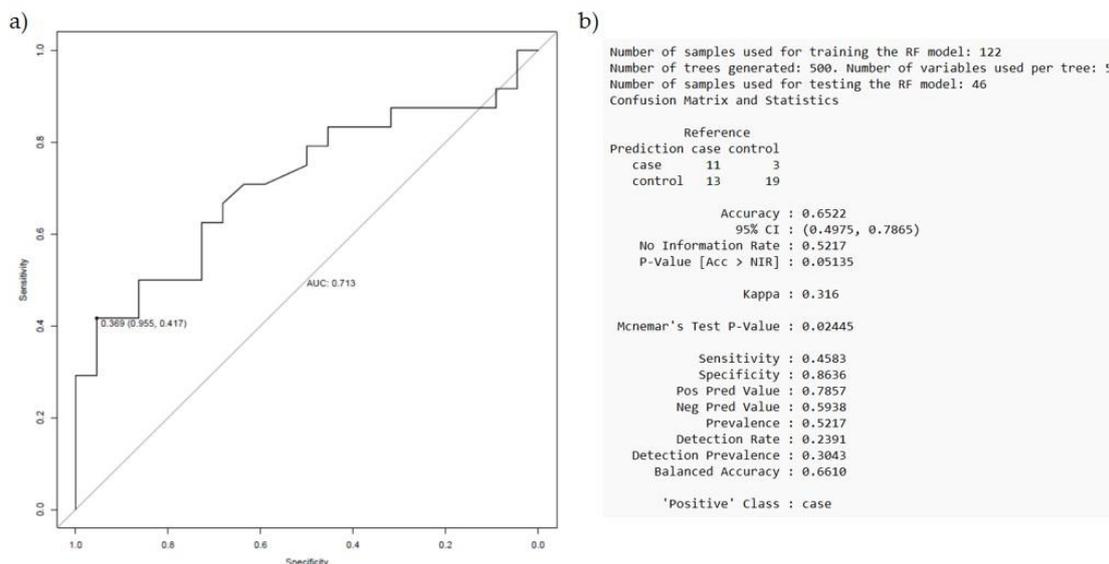


Figura 43. Rendimiento del modelo establecido en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con clopidogrel.

a) Curva ROC con estadísticos AUC e índice de Youden, b) Parámetros utilizados para el entrenamiento del modelo «random forest» con el conjunto de entrenamiento y «matriz de confusión» obtenida a partir de la evaluación del modelo con el conjunto de prueba.

Al evaluar, por tanto, el rendimiento pronóstico del modelo propuesto, este mostró un valor de AUC de 0.713, logrando clasificar correctamente al 65,22 % de los pacientes, con un 45,83 % de sensibilidad y un 86,36 % de especificidad (Figura 43). El valor de p de 0,02445 indica que el modelo establecido presenta una elevada capacidad predictiva para distinguir entre pacientes con y sin evento, mostrando una tendencia a clasificar con mayor precisión a aquellos que no presentaban eventos adversos tras el tratamiento con clopidogrel (grupo G2).

6.3. Eventos secundarios tras el tratamiento con prasugrel

El análisis de random forest para la comparativa «evento vs no.evento» en pacientes tratados con prasugrel reveló que el genotipo rs2472434 (*ABCA1*) era, al igual que en el estudio general independiente del tratamiento prescrito, la principal variable predictora entre las propuestas dentro del modelo, destacando de manera evidente en el esquema de clasificación (Figura 44).

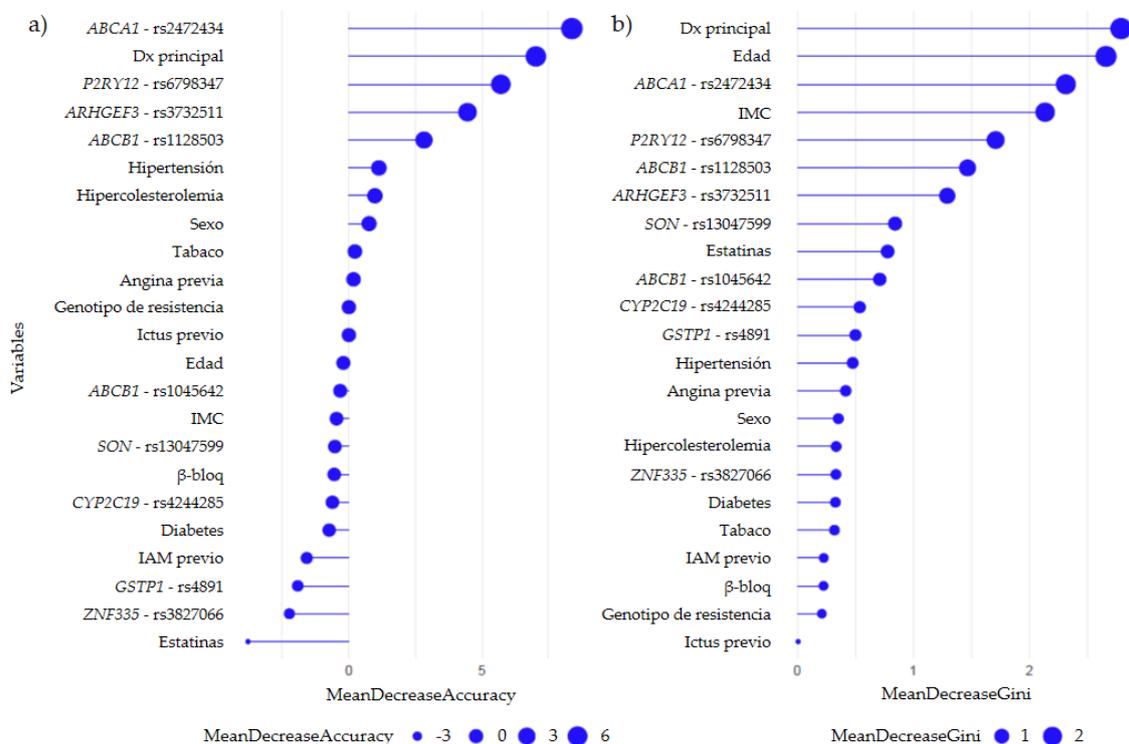


Figura 44. Gráfico de importancia para cada una de las variables del análisis de random forest para el desarrollo de eventos tras el tratamiento con prasugrel. Las variables están ordenadas de mayor a menor importancia en la clasificación entre pacientes con evento y pacientes sin evento. a) Estadístico MDA, generado a partir de cada una de las iteraciones. b) Estadístico MDG, generado a partir del modelo completo, no de cada iteración.

Al analizar el conjunto de entrenamiento (gráfico MDA), el genotipo de *ABCA1* y el diagnóstico principal en el momento del ingreso se identificaron como unas de las variables que mejor definían la diferencia entre los grupos. Al evaluar el modelo completo (gráfico MDG), estas variables, junto con la edad y el IMC, mantuvieron su relevancia a la hora de separar a los pacientes entre los grupos de estudio.

Tal como se ilustra en la [Figura 45](#), el análisis de los gráficos MDS generados a partir del «conjunto de entrenamiento» en pacientes tratados con prasugrel no revela una separación clara en función de los grupos, lo que impide establecer una relación con las variables de estudio.

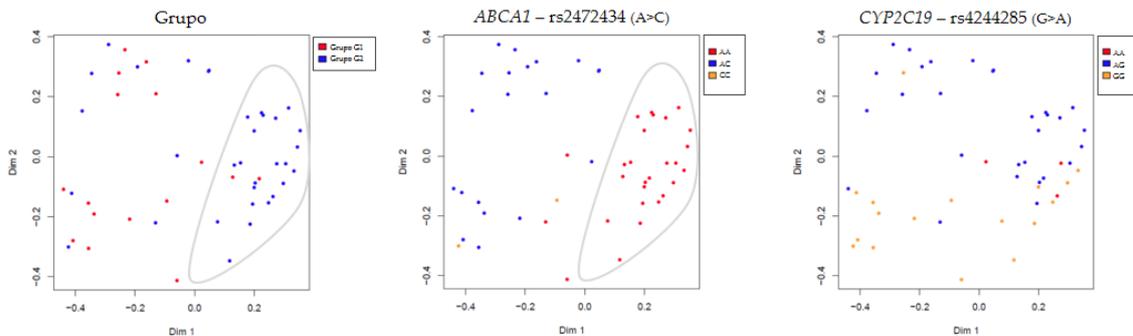


Figura 45. Gráficos de escalado multidimensional clásico (MDS) en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con prasugrel.

El análisis MDS se genera a partir del «conjunto de entrenamiento» y en función de todas las variables que se añadieron en el modelo «random forest». En el gráfico se representan las dos primeras dimensiones obtenidas del análisis MDS a partir de las distancias entre muestras, recogidas en la «matriz de proximidad». El algoritmo representa las muestras gráficamente según la distancia que tienen entre sí, y, luego, aplica color en función de la variable de interés. Los círculos de color gris se han añadido manualmente para facilitar la comprensión de la información en el texto.

No obstante, puede observarse una aparente mayor agrupación del grupo G2 hacia la derecha en el eje X, mientras que el grupo G1 muestra una tendencia a separarse verticalmente a lo largo del eje Y. Además, resalta el hecho de que la mayoría de las muestras con el genotipo AA para el rs2472434 en *ABCA1* pertenecen al grupo G2, aunque esta variante no constituya, por sí sola, una fuente de variabilidad lo suficientemente marcada como para lograr una adecuada discriminación entre los grupos.

Por último, se evaluó el rendimiento pronóstico de las variables incluidas en el modelo establecido. La curva ROC mostró un valor de AUC de 0.607, lo que sugiere una capacidad moderada de discriminación (Figura 46). El modelo logró clasificar correctamente al 62,5 % de los pacientes, con una sensibilidad del 33,33 % y una especificidad del 80 %. Dado que el valor de p obtenido fue de 0.5, el modelo propuesto no demostró una buena capacidad predictiva para distinguir entre los pacientes tratados con prasugrel con y sin eventos adversos durante el periodo de seguimiento, lo cual podría atribuirse al reducido tamaño muestral de los grupos empleados.

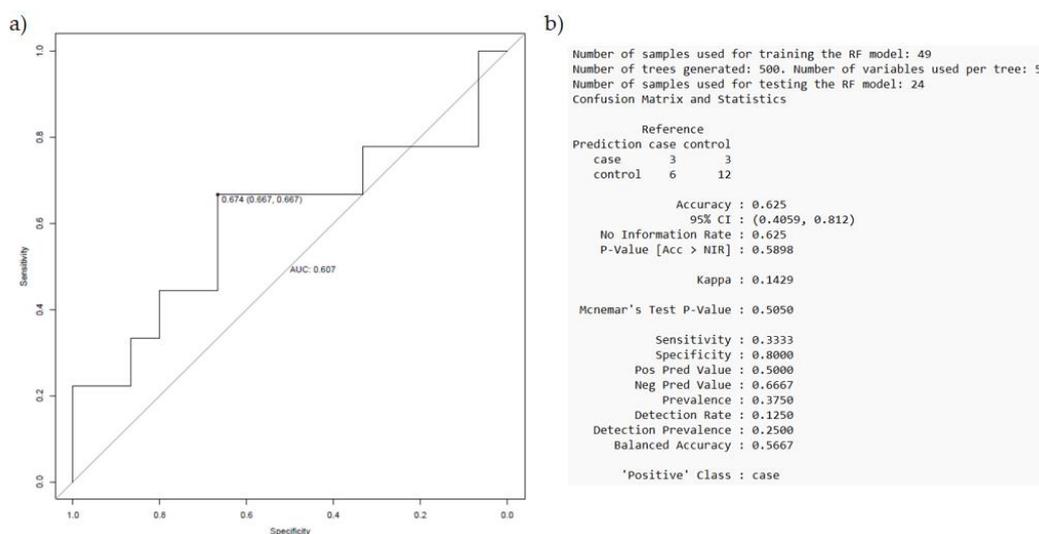


Figura 46. Rendimiento del modelo establecido en la comparativa «evento vs no.evento» tras el tratamiento con prasugrel.

a) Curva ROC con estadísticos AUC e índice de Youden, b) Parámetros utilizados para el entrenamiento del modelo «random forest» con el conjunto de entrenamiento y «matriz de confusión» obtenida a partir de la evaluación del modelo con el conjunto de prueba.

7. VALIDACIÓN DEL PANEL DE GENES

Las variantes propuestas en este trabajo no se confirmaron mediante validación ortogonal. Esto se debió principalmente a dos motivos. En primer lugar, el objetivo de nuestro próximo proyecto consiste en combinar datos ómicos y realizar un GWAS + EWAS (*epigenome-wide association study*) con estas muestras, además de otras que se han ido reclutando. Por lo tanto, preferimos utilizar las muestras disponibles para este nuevo proyecto. En segundo lugar, existen ciertas evidencias que sugieren que la NGS es una técnica robusta para la detección de SNVs e indels, lo que nos permite confiar en los resultados proporcionados por la secuenciación sin necesidad de validación adicional.⁽¹²⁵⁾ En 2023, Choate *et al.*⁽¹²⁶⁾ confirmaron que las variantes SNVs e indels de hasta 68 pb pueden evaluarse con precisión mediante NGS sin necesidad de confirmación de la secuencia mediante Sanger, siempre que las variantes cumplan con los umbrales adecuados de cobertura y frecuencia alélica. En este sentido, revisamos la profundidad de secuenciación (DP, del inglés *read depth*) de las posiciones reflejadas a lo largo del trabajo y todas ellas tuvieron una DP > 50. Además, no hemos informado de estas posiciones como responsables de los principales eventos isquémicos y/o hemorrágicos relacionados con el tratamiento antiagregante plaquetario, sino que las hemos sugerido para futuros estudios que pudieran confirmar o no dicha asociación.

V. DISCUSIÓN



La creciente preocupación ante la subpoblación de pacientes con SCA-ICP-stent que desarrollan complicaciones isquémicas y/o hemorrágicas recurrentes a pesar de recibir la terapia DAPT guiada por test genético, nos condujo a la búsqueda de nuevas variantes genéticas que pudieran mejorar la precisión del algoritmo actualmente empleado en la práctica clínica ([Anexo I](#)). El hecho de individualizar y personalizar la terapia con el fin de racionalizar los tratamientos y definir los pacientes que responderán mejor a un fármaco específico nos permitirá, en última instancia, aplicar una MP basada en el perfil genético.

Cabe destacar que esta investigación se planteó como un análisis exploratorio, utilizando un enfoque basado en la secuenciación masiva, para identificar posibles factores genéticos asociados a la variabilidad en la respuesta antiplaquetaria en este subgrupo de pacientes. Hasta el momento, no existen estudios similares al planteado en este trabajo en los que se explore la incidencia de eventos adversos tras el DAPT utilizando un panel de genes dirigido, que analice conjuntamente la mayoría de los loci PGx clínicamente relevantes y una gran proporción de loci asociados al desarrollo de la propia ECV.

Debido a la ausencia de asociaciones significativas, no podemos extrapolar nuestros hallazgos, pero sí podemos proponer nuevas hipótesis sobre los mecanismos moleculares que sería conveniente analizar en futuros estudios con el fin de esclarecer las posibles causas de la aparición de eventos adversos a los 12 meses tras el tratamiento. Con la intención de compensar la falta de evidencia funcional sobre las variantes identificadas, recurrimos a las bases de datos PubMed, GTEx y *Gene Expression Omnibus* (GEO) para obtener información relevante referida a los genes que contienen los SNPs identificados y su relación con las ECV.

Curiosamente, los diferentes análisis realizados sin tener en cuenta el tratamiento farmacológico prescrito revelaron que los genes afectados funcionalmente por las variantes identificadas no se relacionan con la FC o FD de los fármacos antiagregantes, como se esperaba obtener en un principio. En su lugar, estos genes están implicados en procesos biológicos que desencadenan el desarrollo de la aterosclerosis coronaria, como el metabolismo de lípidos, la función endotelial o la inflamación. Este hecho plantea un cambio de paradigma en la forma de abordar los estudios PGx, ya que no solo deben centrarse en las rutas metabólicas de los fármacos, sino también en la evolución de la enfermedad subyacente.

En conclusión, el enfoque combinado que se ha empleado en este trabajo contribuye a una mejor comprensión del complejo proceso que implica el desarrollo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos en el contexto del SCA. Tal y como se ha expuesto a lo largo del apartado de «[Resultados](#)», los hallazgos de este estudio apuntan a nuevas líneas de investigación que podrían explorarse en estudios futuros con la intención de seguir avanzando en este campo. A continuación, para delimitar la extensión de esta tesis, presentamos aquellos hallazgos que hemos considerado más relevantes para su discusión.

1. FACTORES DE RIESGO CV NO GENÉTICOS ASOCIADOS A UNA MAYOR INCIDENCIA DE EVENTOS ADVERSOS

La **edad** media de nuestra cohorte de pacientes fue de 66 años, siendo mayor en mujeres que en hombres (69 vs 64 años, $p < 0,001$). Este hallazgo concuerda con los datos reportados por la Asociación Americana del Corazón (AHA, del inglés *American Heart Association*) en su informe de 2016,⁽¹²⁷⁾ el cual indica que las mujeres tienden a desarrollar patologías CV a una edad más avanzada que los hombres (72 vs 65 años). Este fenómeno probablemente se deba a los cambios hormonales asociados a la menopausia, los cuales contribuyen a aumentar el riesgo de factores como la dislipidemia, la hipertensión, la diabetes y la obesidad, incrementando en consecuencia el riesgo CV en las mujeres.⁽¹²⁸⁾

El proceso de envejecimiento provoca importantes cambios celulares y estructurales en el sistema CV que, a la larga, deterioran su funcionamiento y aumentan el riesgo de cardiopatías. Según la AHA, la incidencia de ECV aumenta con la edad en ambos sexos, pasando del 40 % en los adultos de 40-59 años, al 75 % en los de 60-79 años, y al 86 % en los mayores de 80 años. Este aumento está relacionado con procesos biológicos propios del envejecimiento, como el estrés oxidativo, la inflamación crónica y la disfunción mitocondrial, que favorecen el deterioro CV y el riesgo de desarrollar otras afecciones, como fragilidad, obesidad y diabetes.⁽¹²⁸⁾

En nuestro estudio, aunque no se observaron diferencias significativas de edad entre los pacientes que sufrieron eventos y los que no (66,8 vs 64,8 años, $p = 0,202$), el análisis de random forest identificó la «edad» como una variable predictora importante de estos eventos adversos, tanto cuando se consideró el fármaco antiagregante prescrito como independientemente del tratamiento recibido. Esto concuerda con el hecho de que la edad avanzada constituye un factor de riesgo bien documentado de MACEs tras una ICP, debido a la

fragilidad, la multimorbilidad, las lesiones coronarias complejas, y el mayor riesgo de complicaciones isquémicas y hemorrágicas en estos pacientes. Sin embargo, existen pocos estudios que aborden en profundidad el impacto de la edad avanzada en la aparición de estos eventos, particularmente en pacientes de edad muy avanzada (≥ 80 años), que a menudo son excluidos o están infrarrepresentados en los ensayos clínicos.⁽¹²⁹⁾

En cuanto al IMC, aunque nuestra población presentaba un ligero sobrepeso ($28,6 \pm 4,6$ kg/m²), no se observaron diferencias significativas entre los pacientes que sufrieron eventos y aquellos que no ($28,9$ vs $28,4$ kg/m²; $p = 0,369$). No obstante, al igual que con la edad, el análisis de random forest también identificó al «IMC» como una variable predictora de la aparición de estos eventos adversos tras recibir la terapia DAPT.

Estos resultados coinciden con estudios previos que han demostrado que la obesidad, especialmente la abdominal, está estrechamente relacionada con un mayor riesgo de ECV ateroesclerótica en personas mayores. Teniendo en cuenta que la prevalencia de la obesidad en adultos de más de 60 años alcanza el 37,5 % en los hombres y el 39,4 % en las mujeres, un IMC elevado o la obesidad central suponen un riesgo significativo para el desarrollo de ECV en esta población.⁽¹²⁸⁾

Desde un punto de vista fisiopatológico, la obesidad y los factores metabólicos asociados, como la resistencia a la insulina, la inflamación crónica de bajo grado y el depósito ectópico de grasa, aumentan el gasto cardíaco y contribuyen a la disfunción endotelial, el estrés oxidativo y la inflamación crónica. A nivel molecular, el tejido adiposo promueve una inflamación subclínica que, junto con la disfunción del endotelio vascular y la acumulación de adipocitos en la estría grasa (lesión ateroesclerótica temprana), favorece un estado protrombótico que contribuye al estrechamiento de la luz vascular.⁽¹³⁰⁾

Entre los pacientes con SCA-ICP-stent, documentamos una mayor incidencia de **antecedentes CV previos** entre los que presentaron un evento adverso durante el seguimiento de un año, en comparación con los que no lo presentaron (47,7 % vs 30,4%, $p = 0,008$). De acuerdo con nuestros resultados, se ha observado que alrededor del 22 % de los pacientes con un SCA previo experimentan episodios isquémicos recurrentes a pesar de las opciones terapéuticas disponibles. De hecho, en un estudio que incluyó 21.890 pacientes con antecedentes de un evento isquémico, se encontró que el 18,3 % presentó muerte CV, IAM o ictus dentro de los cuatro años de seguimiento.⁽⁴⁴⁾

Teniendo en cuenta lo comentado sobre la edad avanzada, un metaanálisis reciente mostró que los antecedentes de infarto de miocardio en ancianos son un factor predictivo de eventos adversos graves tras la ICP. El IAM previo es responsable de la disminución de la fracción de eyección del ventrículo izquierdo (FEVI) y de la insuficiencia cardiaca; además, los pacientes tienen más probabilidades de desarrollar una enfermedad coronaria compleja, lo que en consecuencia se traduce en una mayor mortalidad y MACEs tras la ICP. Del mismo modo, Wang *et al.*, investigaron la interacción entre el IAMCEST, el sexo y la edad y el riesgo de MACE, y observaron que las mujeres de más edad con IAMCEST presentaban el mayor riesgo de MACEs.⁽¹²⁹⁾

En resumen, nuestras observaciones destacan la importancia de la edad avanzada, el IMC elevado y la presencia de antecedentes CV como predictores independientes de una mayor incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos tras una ICP. A medida que la población envejece y aumenta la prevalencia de obesidad, resulta esencial continuar investigando el manejo óptimo de la terapia DAPT en este grupo vulnerable de pacientes, además de considerar estos factores en el algoritmo de decisión de prescripción, para mitigar el riesgo de eventos recurrentes.

A raíz de lo planteado, cabe mencionar que un estudio de 2020 propuso la **puntuación ABCD-GENE** (*Age, Body Mass Index, Chronic Kidney Disease, Diabetes Mellitus, and Genotyping*) como herramienta de estratificación de riesgo con el fin de identificar a los pacientes con mayor riesgo de HTPR y eventos adversos tras el tratamiento con clopidogrel. Aunque los portadores de alelos *CYP2C19* LoF presentan un metabolismo reducido del clopidogrel, esto solo explica una fracción de la respuesta FD, ya que existen factores clínicos que contribuyen de igual modo a mayores tasas de HTPR y complicaciones trombóticas. Esta herramienta incorpora, por tanto, cinco predictores independientes de HTPR: cuatro clínicos (edad > 75 años, IMC > 30 kg/m², enfermedad renal crónica [tasa de filtración glomerular < 60 ml/min] y DM) y uno genético (alelos *CYP2C19* LoF). Los resultados sugieren que esta puntuación puede ser muy útil en la práctica clínica para optimizar la terapia antiplaquetaria y mejorar los resultados en los pacientes de alto riesgo, ya que en los pacientes con una puntuación ABCD-GENE ≥ 10 , debe considerarse la administración a largo plazo de inhibidores orales de P2Y₁₂ distintos del clopidogrel, al tener mayor riesgo de eventos CV tras una ICP.⁽¹³¹⁾ La incorporación de herramientas como la puntuación ABCD-GENE puede ayudar a personalizar los tratamientos y mejorar los resultados clínicos en la población anciana. No obstante, quizá sería conveniente incluir factores genéticos adicionales para aumentar la capacidad predictiva y la utilidad clínica de esta puntuación, en lugar de basarse en un único factor de forma aislada.

2. PAPEL DE *ABCA1* EN LA HOMEOSTASIS DEL COLESTEROL Y EN EL RIESGO DE EVENTOS ADVERSOS

A lo largo de este trabajo se han propuesto numerosas variantes susceptibles de ser investigadas en profundidad en análisis posteriores, ya que cada una de ellas puede contribuir mínimamente (riesgo poligénico) al complejo mecanismo de desarrollo de eventos adversos tras el tratamiento con DAPT. Sin embargo, el objetivo principal de este trabajo era proponer nuevas variantes candidatas para su inclusión en el algoritmo de prescripción, por lo que, una vez revisada la evidencia publicada hasta la fecha, creemos que el rs2472434 en *ABCA1* es la variante predictora más prometedora y susceptible de ser evaluada desde el punto de vista clínico.

El análisis exploratorio de variantes realizado en este trabajo identificó al rs2472434 (c.543+711T>G), una variante intrónica en el gen *ABCA1*, como «sugestivamente» asociada con la incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos durante el seguimiento de un año, independientemente del tratamiento que reciban los pacientes ($\beta = -0,92$; $p = 1.0 \times 10^{-04}$), así como al considerar el tratamiento prescrito ($\beta = -0,88$; $p = 1.7 \times 10^{-03}$ para clopidogrel y $\beta = -1,27$; $p = 5.7 \times 10^{-03}$ para prasugrel). Además, el análisis de random forest destacó al genotipo rs2472434 como la principal variable predictora en nuestro modelo planteado, lo que refuerza su posible papel en el aumento de la incidencia de eventos adversos tras recibir la terapia DAPT en nuestra población.

El gen *ABCA1*, localizado en el cromosoma 9q31, codifica una proteína integral de membrana que pertenece a la superfamilia de transportadores ABC. Este gen se expresa ampliamente en diversos tejidos humanos, como el hígado, el intestino, los pulmones y el corazón. A nivel celular, *ABCA1* es la proteína más abundante en las células inflamatorias, especialmente en los macrófagos.⁽¹³²⁾

Funciones biológicas de ABCA1

Se ha establecido que ABCA1 desempeña un papel fundamental en la regulación de la homeostasis del colesterol y en la prevención de la aterosclerosis coronaria, ya que interviene en el eflujo celular de colesterol y fosfolípidos, facilitando así la síntesis de lipoproteínas de alta densidad (HDL, del inglés *high-density lipoproteins*) y promoviendo el transporte inverso del colesterol (RCT, del inglés *reverse cholesterol transport*), que limita la formación y progresión de las placas ateroscleróticas.⁽¹³²⁾

Su función principal es exportar el exceso de colesterol libre desde las células, especialmente macrófagos y células musculares lisas vasculares (CMLV), hacia la apoA-I (apolipoproteína A1) pobre en lípidos circulante, generando partículas nacientes de HDL (Figura 47). Estas partículas de HDL participan en la eliminación del exceso de colesterol libre desde los tejidos periféricos, incluidas las placas ateroscleróticas, hacia el hígado para su excreción biliar. Este proceso, conocido como RCT, es esencial para prevenir la acumulación intracelular de lípidos, que es tóxica para las células y podría suponer un mayor riesgo de aterosclerosis y de eventos recurrentes.⁽¹¹⁰⁾

La importancia de ABCA1 en la regulación del colesterol se evidencia en afecciones como la «enfermedad de Tangier», un trastorno autosómico recesivo en el que ambos alelos portan mutaciones que conducen a la pérdida de función de ABCA1 y, en consecuencia, a un eflujo de colesterol reducido. Esta enfermedad se caracteriza por niveles séricos extremadamente bajos de HDL-c y una mayor susceptibilidad a la aterosclerosis prematura. En estudios con modelos murinos, la delección de *Abca1* promueve la formación de placas ateroscleróticas, mientras que su sobreexpresión aumenta la concentración circulante de HDL-c y protege contra la aterosclerosis.⁽¹³³⁾

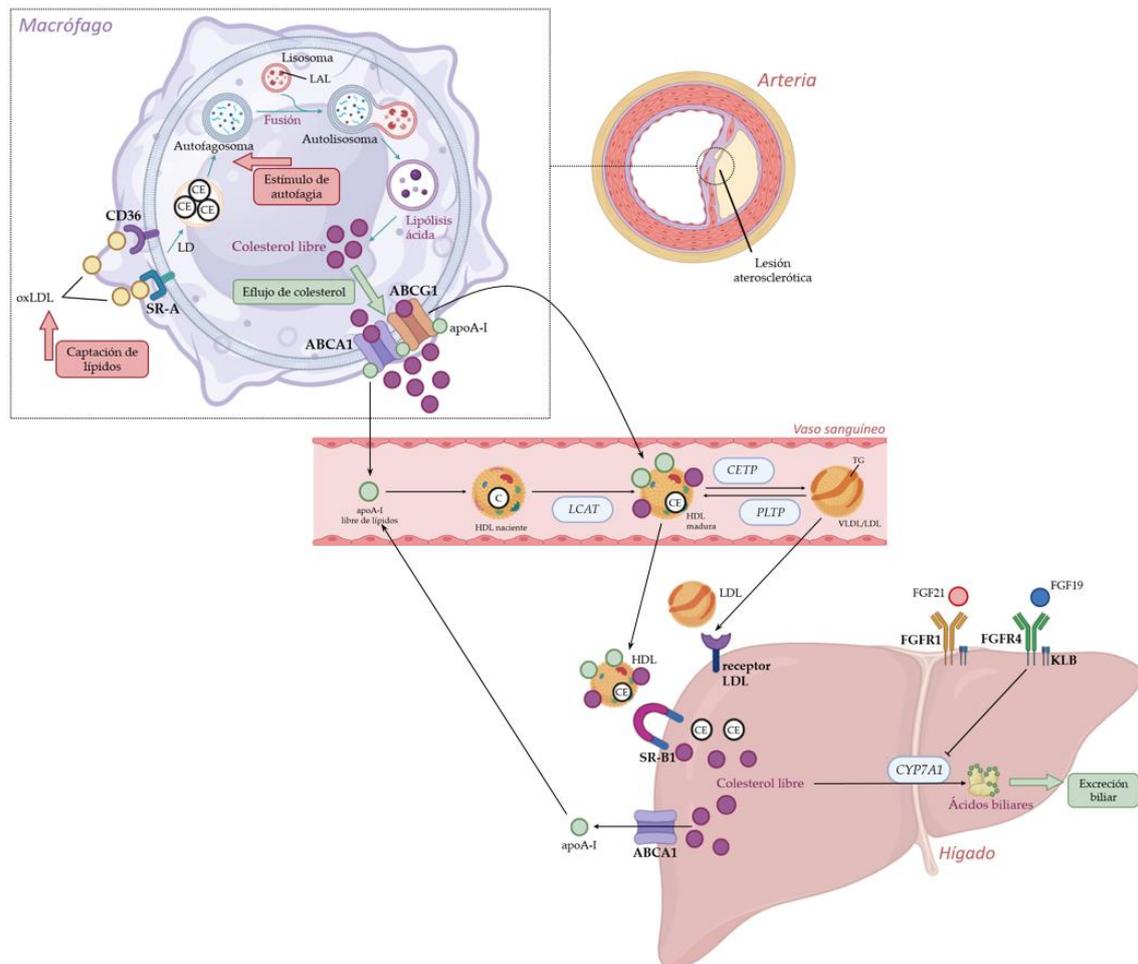


Figura 47. Mecanismos moleculares del transporte inverso del colesterol.

El RCT implica el transporte de colesterol desde las células periféricas (incluidas las células espumosas de los macrófagos en las placas ateroscleróticas) de vuelta al hígado para su posterior excreción y, por tanto, desempeña un papel importante en la reducción de la aterosclerosis. Los macrófagos cargados de colesterol en la pared arterial transportan el colesterol libre intracelular a través de transportadores dependientes de ATP de la superfamilia ABC (ABCA1 y ABCG1) a la membrana celular y a receptores extracelulares (eflujo de colesterol), evitando así la formación de células espumosas. Mientras que ABCA1 lipida preferentemente pequeñas partículas de HDL, concretamente apoA-I, para formar HDL nacientes, ABCG1 estimula el eflujo neto de colesterol hacia HDL más grandes, pero no hacia apoA-I pobre en lípidos. La apoA-I pobre en lípidos también se sintetiza en el hígado o en el intestino y se secreta en el plasma a través del ABCA1 hepático o intestinal. Una vez en la circulación, la apoA-I interactúa con los fosfolípidos para formar pre- β -HDL nacientes. Tras la transferencia de colesterol a las partículas de HDL, el siguiente paso en la biología de las HDL es la esterificación del colesterol adquirido por la lecitina-colesterol aciltransferasa (LCAT) para formar éster de colesterol (CE), lo que da lugar a las HDL maduras. En humanos (pero no en ratones), el CE en el núcleo de las HDL maduras puede ser: 1) transferido por la proteína de transferencia de ésteres de colesterol (CETP) a lipoproteínas ricas en triglicéridos (VLDL y LDL) para su eliminación a través del aclaramiento hepático por el receptor LDLR, o 2) captado selectivamente a través del SR-B1, que actúa como receptor hepático para el CE en las HDL. Una vez en el hígado, el CE se hidroliza y el colesterol libre se convierte en ácidos biliares, principalmente por la vía neutra (clásica) del CYP7A1. Los ácidos biliares pasan a través del conducto biliar al intestino, donde son excretados (5 %) o recirculados (95 %).

Abreviaturas: ABCG1, ATP-Binding Cassette G1 Transporter; ABCA1, ATP-Binding Cassette A1 Transporter; apoA-I, apolipoproteína A1; C, colesterol; CE, éster de colesterol (*cholesterol ester*); CETP, Cholesteryl ester transfer protein; CYP7A1, Cytochrome P450 Family 7 Subfamily A Member 1; FGF19, Fibroblast growth factor 19; FGF21, Fibroblast growth factor 21; FGFR1, Fibroblast growth factor receptor 1; FGFR4, Fibroblast growth factor receptor 4; HDL, lipoproteína de alta densidad (*high-density lipoprotein*); KLB, Klotho- β ; LD, gota lipídica (*lipid droplet*); LAL, lipasa ácida lisosomal; LCAT, Lecithin-cholesterol acyltransferase; oxLDL, lipoproteína oxidada de baja densidad; PLTP, Phospholipid transfer protein; SR-A, scavenger receptor class A; SR-B1, scavenger receptor class B type I; TG, triglicéridos; VLDL/LDL, lipoproteínas de muy baja/baja densidad (*very low/low density lipoprotein*).

Tomada de Antúnez-Rodríguez *et al.*, 2024.⁽⁸⁵⁾

Además de participar en el metabolismo de lípidos, ABCA1 también puede disminuir la inflamación de los macrófagos, ya que reduce la secreción de citocinas y quimiocinas proinflamatorias al tiempo que permite a las células espumosas similares a los macrófagos, las células endoteliales y las CMLV eliminar su sobrecarga de lípidos. Se ha observado que la inactivación de ABCA1 aumenta la inflamación, mientras que su sobreexpresión disminuye los niveles de interleucina-6 y factor de necrosis tumoral- α en células endoteliales aórticas (efectos antiinflamatorios).⁽¹³³⁾

Polimorfismos en ABCA1 y su relación con la ECV

El gen ABCA1 contiene 50 exones y es altamente polimórfico. Según la base de datos de variaciones genéticas del *National Center for Biotechnology Information* (NCBI), se han descrito más de 5.000 polimorfismos en este gen o cerca de él. Varias de estas variantes (intrónicas, *missense* o localizadas en la región promotora) pueden conducir a la pérdida de función de la proteína ABCA1, lo que promueve la reducción del eflujo de colesterol y los niveles de HDL, y aumenta el riesgo de aterosclerosis y ECV. De hecho, se ha observado que aproximadamente el 10 % de las personas con niveles séricos muy bajos de HDL son portadoras de ciertas variantes en ABCA1, lo que subraya la importancia de este gen en la homeostasis de las HDL.⁽⁸⁵⁾

Dado el papel crucial que desempeña ABCA1 en la formación de HDL y en el eflujo de colesterol, diversos estudios sobre SNPs en la región codificante

de *ABCA1* han mostrado diferentes asociaciones entre los niveles plasmáticos de lípidos y la susceptibilidad a la cardiopatía coronaria. Las variantes de tipo *missense* rs2230806 (G>A, R219K), rs2066718 (A>G, V771M) y rs4149313 (G>A, M8831I) (pacientes con genotipos GG, AA y GG, respectivamente) se han asociado con un papel protector frente a la EAC. Sin embargo, el alelo T del SNP rs9282541 (G>A, R230C) ha mostrado un aumento del riesgo de progresión de la cardiopatía coronaria. Además, las variantes R219K y M8831I se han relacionado con un aumento de los niveles circulantes de HDL-c y una reducción de los triglicéridos, mientras que la variante V771M aumenta tanto los niveles de HDL-c como de apoA-I. Estos resultados indican que los polimorfismos del gen *ABCA1* pueden servir como indicador de riesgo o de protección de las ECV, aunque son necesarios más estudios para explorar el impacto de las variantes de *ABCA1* en los perfiles lipídicos plasmáticos y su implicación en el desarrollo de la aterosclerosis coronaria.⁽¹¹⁰⁾

Nuestro estudio halló que el rs2472434, una variante intrónica localizada en *ABCA1* y en LD con las variantes rs2472433 y rs2472378, aumentaba el riesgo de eventos. Hasta la fecha no hay estudios que hayan investigado estas variantes en el contexto de la ECV; sin embargo, diversos estudios de GWAS han identificado varios SNPs comunes en regiones no codificantes de *ABCA1* que pueden influir en el desarrollo de la ECV. El polimorfismo C-565T (rs2422493) en la región promotora del gen no solo se ha asociado con cambios en la expresión de *ABCA1*, sino también con la gravedad de la aterosclerosis. Además, se ha observado que cuatro SNPs del promotor de *ABCA1* (G-395C, C-290T, C-7T y -14 > T) tienen un impacto significativo en la concentración de HDL. Sin embargo, también se ha observado que ciertas variantes intrónicas de *ABCA1*, como G-191C (rs1800976), C69T (rs1800977), C-17G (rs2740483) y 319insG, pueden modular la expresión génica sin necesariamente alterar los niveles séricos de lípidos, y están estrechamente relacionadas con los resultados clínicos en pacientes con EAC.⁽¹¹⁰⁾

A pesar de la falta de literatura respecto a la variante rs2472434 (A>C) en el contexto de los SCA, el análisis GTEx mostró que el alelo de riesgo C se asocia significativamente con una menor expresión de *ABCA1* en el hígado (Figura 48), lo que podría suponer un mayor riesgo de aterosclerosis y eventos recurrentes debido a una reducción del eflujo de colesterol y, en consecuencia, a una mayor acumulación de lípidos en las placas ateroscleróticas.

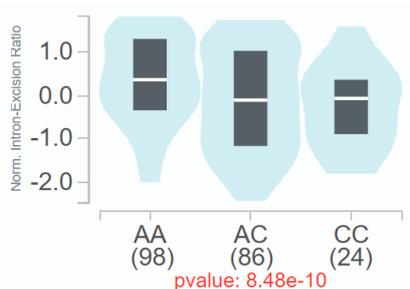


Figura 48. Diagrama de violín que muestra la expresión de *ABCA1* en función de los genotipos del rs2472434 en hígado.

En consonancia con esta hipótesis, un análisis transcripcional realizado por Suresh *et al.*⁽¹³⁴⁾ reveló que *ABCA1* estaba regulado a la baja en el transcriptoma de pacientes con IAM que presentaron eventos recurrentes. Sus resultados mostraron que las alteraciones en la vía de transporte del colesterol durante la presentación inicial del IAM se asocian a una mayor gravedad de la enfermedad. Sin embargo, para comprender mejor el mecanismo a través del cual los SNPs identificados pueden influir en la expresión de *ABCA1*, será necesario reconstituirlos *in vitro* y evaluar su funcionalidad a niveles basales y en respuesta a diversos estímulos reguladores.

Homeostasis del colesterol y riesgo de eventos adversos

Llegados a este punto, destaca el hecho de que otros polimorfismos identificados en este análisis exploratorio se han relacionado, de algún modo, con el metabolismo de lípidos (p. ej., el rs17618244 en *KLB* o el rs3827066 en *ZNF335*), un importante factor de riesgo en el desarrollo del SCA. Esto pone de manifiesto que, aunque cada variante ejerce un efecto modesto, una combinación de SNPs puede tener una influencia sustancial en los niveles de lípidos.

En concreto, todas las variantes identificadas, pero sobre todo el rs2472434 en *ABCA1*, contribuyen a la reducción de los niveles de HDL, un actor clave en la protección frente a la aterotrombosis, ya que interviene en varios mecanismos reguladores, como la capacidad de eflujo de colesterol, la actividad antioxidante, antitrombótica y antiinflamatoria. Además, se ha observado que las HDL desempeñan un papel en el aumento de la reactividad plaquetaria tras la interrupción del tratamiento con antagonistas de los receptores P2Y₁₂. En particular, el fenómeno de rebote tras la interrupción del clopidogrel en pacientes que reciben DAPT se ha asociado a una alteración del perfil lipídico. La pérdida del bloqueo de los receptores P2Y₁₂ puede representar un importante impulso protrombótico y proinflamatorio, sobre todo en los pacientes con mayor riesgo CV, como los que tienen un HDL bajo. Sin embargo, las relaciones entre los niveles de HDL, la agregabilidad plaquetaria y los eventos adversos asociados son complejas y aún están por dilucidar.^(115,135)

Según Đukanović *et al.*,⁽¹³⁵⁾ los niveles bajos de HDL pueden contribuir indirectamente a aumentar la agregabilidad plaquetaria al incrementar la captación de LDL oxidadas (oxLDL) en los adipocitos inflamatorios a través de la vía PPAR γ /CD36. Así, en la deficiencia de HDL, llega más oxLDL a las plaquetas, por lo que el mecanismo descrito aumenta su activación. Por otro lado, las HDL altamente oxidadas parecen ejercer un efecto protrombótico y proinflamatorio dependiente de la dosis a través del receptor CD36: el bloqueo de su unión a CD36 atenúa la estimulación plaquetaria.

Estas hipótesis se ven respaldadas por el hecho de que los pacientes con niveles más bajos de HDL muestran mayores cambios en los marcadores inflamatorios liberados por las plaquetas activadas tras la interrupción del clopidogrel y el cese de su efecto antitrombótico. De hecho, la interacción bidireccional entre la inflamación y los lípidos se considera un rasgo distintivo

de la aterosclerosis, por lo que son necesarios más estudios para aclarar el papel de las variantes génicas identificadas en la determinación de la susceptibilidad a los eventos adversos tras el tratamiento y si ello se debe al solapamiento génico entre estos dos procesos fisiopatológicos interactuantes de la aterogénesis.^(85,136)

En base a lo expuesto, la acumulación de lípidos y la inflamación de la pared vascular son las dos características fundamentales de las ECV. Existen pruebas concluyentes de que ABCA1 es una molécula crítica implicada tanto en el metabolismo del colesterol y la producción de HDL, como en la inflamación. Además, teniendo en cuenta que ABCA1 es más abundante en los macrófagos y que su función es mantener la homeostasis del colesterol, es necesario seguir investigando para comprender mejor el mecanismo molecular subyacente por el que ABCA1 contribuye a la posible aparición de eventos CV adversos a través de los macrófagos y del desarrollo de la aterosclerosis.

3. PAPEL DE *CYP2C19* COMBINADO CON *ABCB1* EN LA RESISTENCIA AL CLOPIDOGREL

Tal y como se ha detallado en el capítulo anterior, todas las variantes genéticas identificadas en la primera aproximación del estudio (independientemente del fármaco prescrito) están, en cierto modo, relacionadas con procesos implicados en el desarrollo de las ECV (p. ej., metabolismo de lípidos, disfunción endotelial o inflamación), y no con el metabolismo (FC/FD) de los fármacos antiagregantes. Por este motivo, decidimos estratificar el análisis de asociación según el medicamento pautado, lo que nos permitió obtener algunos resultados prometedores que se comentarán en las páginas siguientes.

El clopidogrel continúa siendo uno de los antiagregantes plaquetarios más utilizados en el manejo de los pacientes con SCA debido a su eficacia y a su menor riesgo hemorrágico en comparación con otras alternativas más recientes. Sin embargo, existe una gran variabilidad en la respuesta al fármaco, lo que

conlleva que los pacientes con una respuesta subóptima al clopidogrel (malos respondedores) presenten una reactividad plaquetaria elevada y, en consecuencia, un mayor riesgo de eventos adversos recurrentes.

Esta variabilidad en la eficacia terapéutica se ha relacionado con factores no genéticos como la edad, el IMC, las comorbilidades y las interacciones medicamentosas, entre otros. Sin embargo, la respuesta al clopidogrel es altamente heredable y se ha asociado a polimorfismos genéticos relacionados con la FC/FD del fármaco. Un estudio GWAS realizado en una amplia población amish, determinó que aproximadamente el 70 % de la variabilidad en la respuesta al clopidogrel puede deberse a factores genéticos, siendo *CYP2C19**2 el factor predictivo más potente, aunque esta variante solo representaba aproximadamente el 12 % de la variación global en la reactividad plaquetaria.^(55,137)

En nuestro estudio, observamos que los pacientes tratados con clopidogrel y portadores del «genotipo de resistencia» –definido por las variantes en los genes *CYP2C19* (alelo A para el rs4244285) y *ABCB1* (genotipo AA para el rs1045642)– presentaban una mayor incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos durante el año de seguimiento. Además, el análisis de random forest identificó el «genotipo de resistencia» como la principal variable predictora para el desarrollo de eventos adversos tras la implantación del stent.

Cabe destacar que estos hallazgos concuerdan con los resultados obtenidos en el análisis PGx del ensayo TRITON-TIMI 38, un ensayo controlado y aleatorizado que incluyó exclusivamente a pacientes con SCA-ICP. En dicho estudio, tanto los alelos *CYP2C19* LoF como el genotipo *ABCB1* TT fueron predictores significativos e independientes de MACEs en pacientes tratados con clopidogrel. De hecho, los pacientes tratados con clopidogrel y que presentaban ambas variantes genéticas tenían un mayor riesgo de sufrir eventos adversos (HR combinado = 1,97; IC del 95 %: 1,38-2,82; $p = 0,0002$).⁽⁷⁰⁾

A raíz de estos resultados, numerosos estudios se han centrado en identificar los determinantes genéticos que afectan a la respuesta al clopidogrel. El clopidogrel es un profármaco que requiere absorción intestinal y su posterior biotransformación en metabolitos activos por las enzimas hepáticas del CYP. Estudios previos realizados en pacientes con EAC sometidos a ICP han mostrado una mayor incidencia de trombosis en los PM de *CYP2C19* tratados con clopidogrel, lo que ha establecido al gen *CYP2C19* como el determinante genético más validado en la respuesta variable al fármaco en diferentes grupos étnicos. El polimorfismo más estudiado a nivel mundial es el *CYP2C19**2 (rs4244285), un alelo LoF que se asocia con una reducción de la actividad enzimática, concentraciones plasmáticas más bajas de metabolito activo y una mayor HTPR. Todo ello conduce a una reducción de los efectos antiplaquetarios (menor eficacia terapéutica) y, en consecuencia, a un aumento del riesgo de complicaciones trombóticas, especialmente tras una ICP. Sin embargo, en europeos, este SNP solo explica el 14 % de la variabilidad global en la respuesta al clopidogrel, lo que implica la existencia de otras posibles contribuciones genéticas.^(63,138)

Otro gen candidato relacionado con una respuesta variable al clopidogrel es *ABCB1*, que codifica el transportador de eflujo intestinal P-gp, ya que se ha demostrado que la inhibición de este transportador influye en la biodisponibilidad del fármaco. El polimorfismo *ABCB1* C3435T (rs1045642) es uno de los más estudiados en la literatura PGx y se cree que juega un papel importante en la expresión y función de la P-gp. En este sentido, investigaciones previas sugieren que, cuando reciben tratamiento con clopidogrel, los individuos portadores del genotipo *TT* tienen niveles reducidos del metabolito activo del fármaco, probablemente por una expresión aumentada del transportador. Sin embargo, los datos que respaldan la importancia clínica del genotipo *ABCB1* *TT* en pacientes tratados con clopidogrel han sido variables; algunos estudios han sugerido que los portadores del polimorfismo *ABCB1* C3435T presentan un

mayor riesgo de resultados clínicos adversos tras una ICP, mientras que otros no han identificado ninguna asociación significativa.⁽²¹⁾

Estas discrepancias en la literatura pueden deberse, en parte, al hecho de que existe una tendencia a analizar los efectos de cada una de las variantes genéticas de manera aislada, en lugar de evaluar el efecto combinado de ambos polimorfismos. Algunos estudios previos, aunque no todos, han mostrado que la combinación de los polimorfismos en *CYP2C19* y *ABCB1* podría estar asociada con los resultados clínicos adversos en pacientes con SCA sometidos a ICP.

En línea con nuestros hallazgos, un estudio reciente de Galeazzi *et al.* evaluó la correlación entre los genotipos *CYP2C19* y *ABCB1* y la aparición de eventos CV en pacientes ancianos con SCA bajo tratamiento con DAPT. Los autores observaron que los pacientes clasificados como «PM» (portadores del alelo *A* para *CYP2C19**2, ausencia de *CYP2C19**17, y genotipo *TT* para *ABCB1* 3435C>T) presentaban un mayor riesgo de episodios trombóticos (OR = 1,26; IC del 95 %: 1,099-1,45; $p = 0,027$), en comparación con los NM y UM.⁽¹³⁹⁾ Estos datos refuerzan la hipótesis de que la combinación de los polimorfismos *CYP2C19* y *ABCB1* puede ofrecer una mejor predicción del riesgo de eventos trombóticos que el análisis de un solo gen.

Por otro lado, el ensayo RAPID STEMI, que incluyó pacientes con IAMCEST, demostró que el tratamiento con prasugrel de los pacientes portadores del alelo de riesgo *CYP2C19**2 y del genotipo *ABCB1* *TT* reducía significativamente la HTPR (un reconocido factor predictivo de MACEs) a los 30 días, en comparación con el tratamiento estándar con clopidogrel. En consecuencia, en el contexto del tratamiento antiagregante plaquetario, tanto los alelos *CYP2C19* LoF como el genotipo *ABCB1* *TT* (genotipo de riesgo) han demostrado ser predictores independientes de MACEs (OR= 6,58; IC del 95 %: 1,24-34,92; $p = 0,03$) en pacientes tratados con clopidogrel tras una ICP.⁽¹⁴⁰⁾

Por el contrario, en un estudio realizado en una cohorte de pacientes asiáticos sometidos a ICP y tratados con clopidogrel, Park *et al.* advirtieron que, aunque la presencia simultánea de *CYP2C19* *2/*2 (PM) y *ABCB1* TT constituía un fuerte factor predictivo independiente de MACEs (HR = 4.51, IC del 95 %: 1.92-10.58, $p < 0,001$), la adición del estado combinado de ambas variantes de riesgo a un modelo clínico de referencia que también contenía factores de riesgo tradicionales no aportó un valor pronóstico incremental significativo.⁽¹⁴¹⁾

El tamaño relativamente pequeño de las muestras, junto con los resultados discrepantes en los esfuerzos de replicación, han dificultado la obtención de conclusiones firmes. No obstante, dado que la enzima metabolizadora y el transportador de fármacos actúan de manera conjunta en la FC del clopidogrel, el genotipado combinado de ambos polimorfismos antes del inicio del tratamiento podría ser un factor predictivo importante del fracaso terapéutico y de los posibles resultados clínicos adversos tras una ICP.

Por lo tanto, a pesar de los resultados contradictorios, es necesario seguir investigando el efecto acumulativo de estas variantes en poblaciones específicas, como la española. En este sentido, resulta razonable reconsiderar la reinclusión de la variante *ABCB1* C3435T en el algoritmo de decisión. La integración de esta información podría optimizar la personalización de la terapia antiplaquetaria en pacientes sometidos a ICP, maximizando su eficacia y reduciendo el riesgo de complicaciones CV adversas asociadas con la resistencia al clopidogrel.

4. PAPEL DE *UGT2B7* EN LA RESPUESTA AL CLOPIDOGREL

Además de las variantes mencionadas en el capítulo anterior, que determinan el «genotipo de resistencia al clopidogrel», el análisis de asociación, junto con los resultados del análisis de random forest, han sugerido la existencia de ciertas variantes, que, en nuestro caso, se han relacionado con una menor incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos tras recibir dicho fármaco. Asimismo, estos polimorfismos no mostraron asociación con la aparición de eventos en pacientes que tomaron prasugrel. Por lo tanto, es necesario evaluar estos marcadores en una población más amplia y con características similares para poder determinar si las posiciones candidatas deberían incluirse en el algoritmo de prescripción, en un intento de mejorar la prevención de eventos adversos tras la ICP.

Nuestro estudio identificó que, en pacientes tratados con clopidogrel, las variantes genéticas *UGT2B7*1c* (rs28365062, c.735A>G) y *UGT2B7*2* (rs7439366, c.802T>C) (Tabla 17) se asociaron con una menor incidencia de eventos adversos durante el periodo de seguimiento. Estos hallazgos indican que la variabilidad en la actividad de *UGT2B7* podría afectar a la FC del clopidogrel y, en consecuencia, a su eficacia clínica. En consonancia con los resultados de asociación, el análisis de random forest reveló que el genotipo CC para el rs7439366 (*UGT2B7*) protegía contra el desarrollo de eventos en pacientes NM para *CYP2C19* (*1/*1).

Tabla 17. Características de los polimorfismos identificados en el gen *UGT2B7*.

ID SNP	Gen	Cambio nucleótido	Efecto	Exon	Cambio en la función
rs7439366	<i>UGT2B7</i>	c.802T > C	<i>missense</i>	2/6	aumento de actividad
rs28365062	<i>UGT2B7</i>	c.735A > G	<i>synonymous</i>	2/6	aumento de actividad

Las UDP-glucuronosiltransferasas (UGTs) constituyen una superfamilia de enzimas metabólicas de fase II que catalizan la «reacción de glucuronidación», es decir, la adición de ácido glucurónico a un sustrato. Esta reacción facilita la eliminación de compuestos endógenos y exógenos al incrementar su solubilidad

en la orina y favorecer su excreción biliar, debido al mayor tamaño de los compuestos glucuronidados. Por lo tanto, la glucuronidación puede aumentar la eficacia o la toxicidad de ciertos medicamentos.

La superfamilia UGT incluye diversas isoformas que se expresan sobre todo en el hígado, el tracto gastrointestinal y los riñones, debido a su papel crucial en la desintoxicación y excreción de compuestos. En humanos, se han identificado 22 isoenzimas con diferentes especificidades de sustrato, aunque en ocasiones solapadas, que se agrupan en cuatro familias. Las UGT1 y UGT2 se encargan principalmente del metabolismo de xenobióticos, incluidos los fármacos, mientras que las UGT3 y UGT8 metabolizan exclusivamente compuestos endógenos. La actividad de las enzimas UGT individuales se ve alterada por factores como la edad, la dieta, estados patológicos, la inducción/inhibición por xenobióticos, el origen étnico, polimorfismos genéticos y factores hormonales.

La enzima UGT2B7 es una de las UGTs humanas más activas, con una expresión predominante en el hígado y los riñones. Esta isoforma desempeña un papel fundamental en la glucuronidación y desintoxicación de numerosos fármacos, incluidos los opioides, así como de ácidos grasos saturados e insaturados. El gen *UGT2B7*, altamente polimórfico, se localiza en el cromosoma 4q13 y contiene 6 exones. El primer y segundo exón codifican el «dominio de unión al sustrato» de UGT2B7, mientras que la región comprendida entre el tercer y sexto exón codifica el «dominio de unión al ácido UDP-glucurónico».⁽¹⁴²⁾

Polimorfismos en *UGT2B7* y su relación con el metabolismo de fármacos

Existen varios factores que regulan la actividad de la enzima UGT2B7, entre los cuales los polimorfismos genéticos destacan como uno de los más relevantes. Las variantes en este gen pueden afectar a los perfiles FC de numerosos endo- y xenobióticos, lo que podría influir potencialmente en los resultados terapéuticos de diversos fármacos.

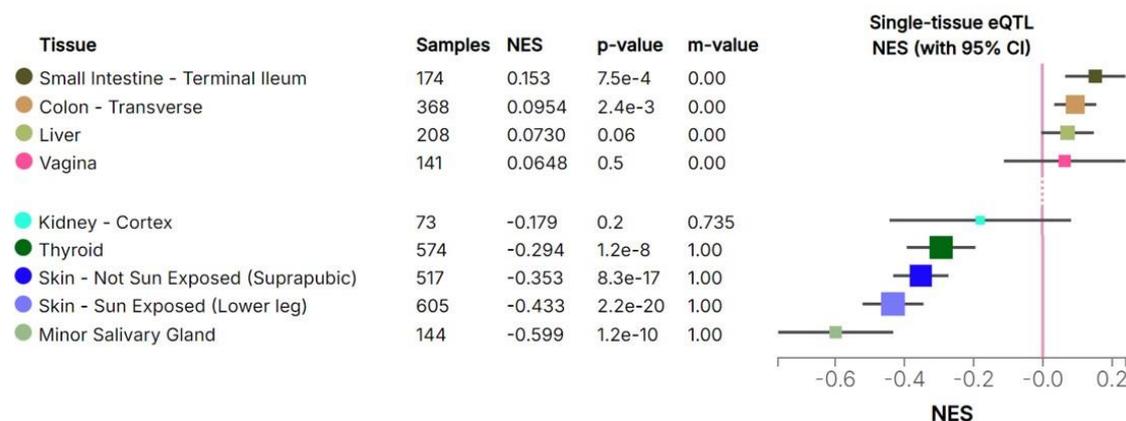


Figura 49. Impacto del rs7439366 en la expresión de *UGT2B7* en diversos tejidos.

El gráfico muestra el tamaño de efecto de la variante rs7439366 sobre la expresión del gen *UGT2B7* en varios tejidos humanos. Datos obtenidos de GTEx. Abreviaturas: eQTL, locus de rasgo cuantitativo que contribuye a la variación de los niveles de expresión (*expression quantitative trait loci*); NES, tamaño del efecto normalizado (*normalized effect size*).

Según PharmGKB, las variantes genéticas *UGT2B7* están clasificadas dentro de los niveles 3 y 4 para fármacos como la codeína, la oxicodona, la morfina, el fentanilo, la carbamazepina o el efavirenz, lo que indica que aún se requieren más pruebas clínicas antes de que estas variantes puedan utilizarse como biomarcadores de respuesta a fármacos. Entre los SNPs más estudiados, se encuentra *UGT2B7*2* (rs7439366), un polimorfismo común (MAF = 0.335) localizado en el exón 2, que resulta en un cambio en la posición 268 de tirosina a histidina (p.Tyr268His) y en un aumento de la expresión de *UGT2B7* en diversos tejidos (Figura 49). También destaca *UGT2B7*1c* (rs28365062), una variante silenciosa (*synonymous*, MAF = 0.149), localizada en el mismo exón.⁽¹⁴²⁾

Estudios recientes centrados en los opioides han señalado que los pacientes con el genotipo *UGT2B7 C802T TT* (rs7439366) presentaban una menor respuesta a la oxicodona y una menor necesidad de codeína en comparación con los portadores del genotipo CC. Sin embargo, el alelo *UGT2B7*2 C802T* no se asoció a un aumento de las dosis requeridas de morfina en pacientes con dolor oncológico, ya que la concentración plasmática de este fármaco en los pacientes con genotipo CC fue significativamente inferior a la observada en aquellos con genotipo CT o TT. Dado que la glucuronidación es el principal mecanismo

responsable de la eliminación de aproximadamente dos tercios de la morfina del organismo, es plausible que una mayor actividad de UGT2B7, asociada al alelo C, pueda influir en la eficacia del tratamiento, al requerir un aumento de la dosis.⁽¹⁴²⁾

Por otro lado, se ha sugerido que las variantes *UGT2B7*1c* (735A>G) y *UGT2B7*2* (802T>C) contribuyen a la variabilidad interindividual en la concentración plasmática de efavirenz. Un análisis exploratorio centrado en polimorfismos de la vía del metabolismo secundario de este fármaco encontró que, entre los individuos con genotipo PM para *CYP2B6*, la variante *UGT2B7*1c* se asociaba con mayores concentraciones de efavirenz ($p = 0,006$). No obstante, un metanálisis posterior no logró demostrar ninguna asociación estadísticamente significativa entre el rs28365062 (*UGT2B7*1c*) y la concentración de efavirenz, posiblemente debido a que los estudios incluidos en su análisis evaluaron el efecto de este polimorfismo independientemente del estado de *CYP2B6*. En cuanto al *UGT2B7*2* (rs7439366), aunque anteriormente se había asociado de forma independiente con alteraciones en la FC del efavirenz, este metanálisis tampoco encontró un efecto estadísticamente significativo, a pesar de que los individuos con un genotipo *TT* presentaban concentraciones de fármaco inferiores a las de los pacientes homocigotos para el alelo C.⁽¹⁴³⁾

En lo que respecta a los antiagregantes plaquetarios, un GWAS realizado en pacientes del ensayo PLATO tratados con ticagrelor identificó tres loci genéticos (*SLCO1B1*, *CYP3A4* y *UGT2B7*) asociados con los niveles de ticagrelor en pacientes caucásicos con SCA; sin embargo, el modesto efecto genético de estas variantes no se tradujo en un impacto significativo sobre la eficacia o la seguridad del fármaco. Basándose en esta premisa, Zhu *et al.* realizaron un ensayo clínico con voluntarios chinos sanos para examinar el impacto de variantes como *CYP2C19*2* y *UGT2B7*2*, entre otros SNPs, en la FC del ticagrelor y la recuperación de la función plaquetaria, sin encontrar efectos significativos de ningún polimorfismo.⁽¹⁴⁴⁾

Influencia de *UGT2B7* en el metabolismo del clopidogrel

Como ya se ha comentado a lo largo de todo el trabajo, el clopidogrel es un profármaco que se metaboliza por dos vías distintas (Figura 50). Aproximadamente el 10 % de la dosis absorbida sigue una vía de metabolismo oxidativo de dos pasos (CYP) para producir el metabolito activo cis 5-tiol, mientras que la mayor parte de la dosis se metaboliza mediante reacciones secuenciales de hidrólisis en ácido carboxílico de clopidogrel inactivo (CES1) y conjugación en acil- β -D-glucurónido de clopidogrel (UGT).

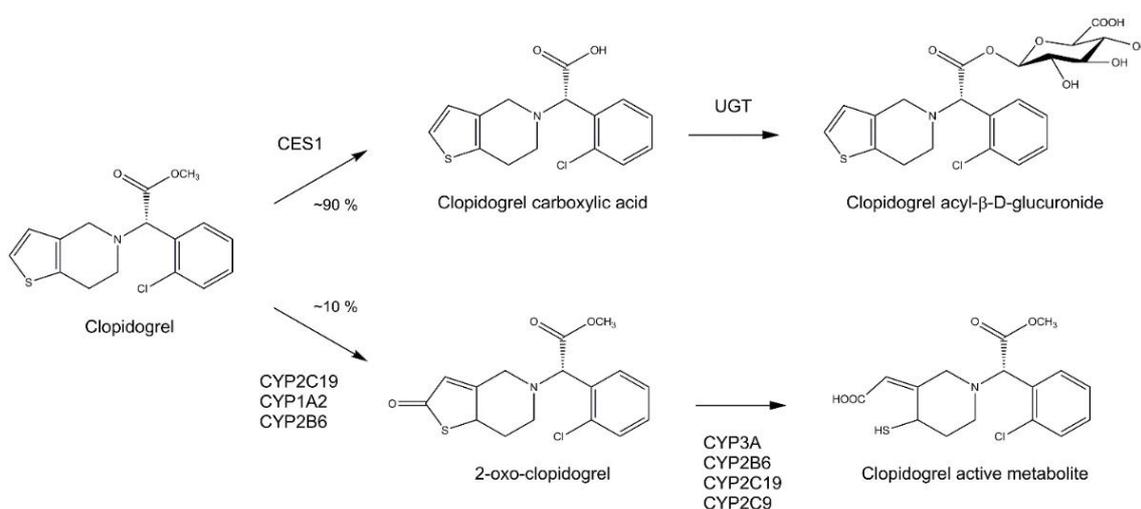


Figura 50. Vías del metabolismo del clopidogrel.

Tomada de Kahma *et al.*, 2018.⁽¹⁴⁵⁾

En 2018, Kahma *et al.*⁽¹⁴⁵⁾ identificaron a *UGT2B7* y *UGT2B4* como las principales isoformas responsables de la formación del acil- β -D-glucurónido en el hígado humano. Inhibidores de *UGT2B4* y *UGT2B7*, como el fluconazol y la ketamina, redujeron en un 90 % la glucuronidación del ácido carboxílico de clopidogrel en microsomas de hígado humano. Aunque existe una falta de evidencia en cuanto a la contribución de *UGT2B7* en la variabilidad en la respuesta al clopidogrel, la actividad reducida de esta isoforma, asociada con el genotipo *TT* para el rs7439366, podría disminuir la eliminación de metabolitos del fármaco e influir potencialmente en su eficacia y seguridad.

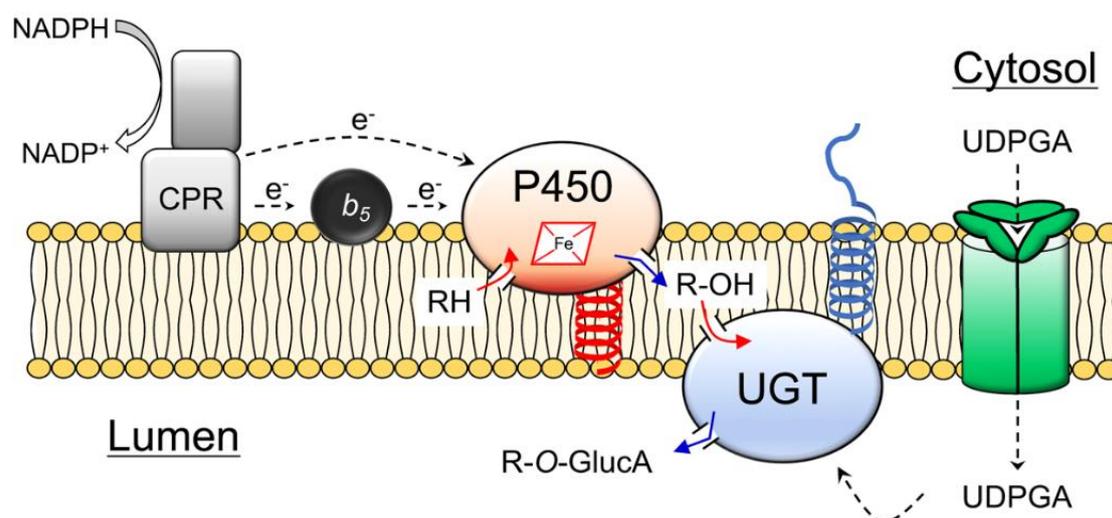


Figura 51. Topología postulada de CYP (P450) y UGT en la membrana del retículo endoplásmico y metabolismo secuencial de fármacos catalizado por estas enzimas.

Tomada de Miyauchi *et al.*, 2021.⁽¹⁴⁶⁾

Tal y como comentamos al inicio de este apartado, en consonancia con los resultados de asociación, el análisis de random forest reveló que el genotipo CC para el rs7439366 (*UGT2B7*) protegía contra la aparición de eventos adversos tras el tratamiento con clopidogrel en pacientes GG para el rs4244285 (*CYP2C19*).

Hasta hace poco, se creía que ambas enzimas funcionaban por separado porque catalizan reacciones distintas y presentan topologías de membrana opuestas en el retículo endoplásmico: los CYP, orientados hacia el citosol, y la mayor parte de las UGTs, situadas en el lado luminal (Figura 51). Sin embargo, dado que algunos compuestos son metabolizados secuencialmente por los CYP y las UGT (p. ej., el clopidogrel o la morfina), es razonable considerar que ambas enzimas pueden interactuar entre sí y regular la función del otro para maximizar la velocidad de la reacción cooperativa. Miyauchi *et al.* presentaron líneas de evidencia de que la asociación entre CYP y UGT constituye una «interacción proteína-proteína funcional» capaz de modificar sus capacidades enzimáticas, ya sea aumentando o suprimiendo las actividades de CYP y UGT, permitiendo a UGT adquirir una nueva especificidad de sustrato o inhibiendo la unión de sustratos a CYP. Así pues, estas interacciones funcionales entre CYP y UGT

permitirían avanzar en nuestra comprensión de las grandes diferencias interindividuales en la capacidad de metabolización de fármacos, contribuyendo a una atención más segura y personalizada mediante la adaptación de la terapia a las necesidades específicas de cada paciente.⁽¹⁴⁶⁾

En este contexto, Kahma *et al.*⁽¹⁴⁵⁾ demostraron que el metabolito acil- β -D-glucuronido de clopidogrel actúa como un potente «inhibidor basado en el mecanismo»^R de la actividad CYP2C8 en microsomas de hígado humano.^S Esto sugiere que la proximidad y la interacción entre las enzimas CYP y UGT podrían facilitar la interacción de los metabolitos glucuronidos con las enzimas CYP. Una revisión posterior reveló que la coexpresión de *UGT2B7* suprimía la actividad de CYP3A4, sentando la primera evidencia de que la asociación CYP-UGT afecta a la capacidad de CYP y que ambas enzimas regulan mutuamente su actividad a través de esta interacción.⁽¹⁴⁶⁾

La información funcional de las variantes genéticas UGT con asociaciones clínicas es esencial para comprender la variación interindividual en la respuesta a los fármacos y la susceptibilidad a la toxicidad. No obstante, este trabajo consiste en un análisis exploratorio, por lo que son necesarios más estudios para esclarecer la influencia del estado de los portadores de *UGT2B7*2* en las concentraciones intracelulares de clopidogrel y sus metabolitos, así como el papel de este gen en el efecto clínico (eficacia y toxicidad), ya que puede tener implicaciones para la individualización de la terapia o la dosificación de los antiagregantes plaquetarios.

^R Los «[inhibidores basados en el mecanismo](#)» son moléculas no reactivas que a través de catálisis enzimática se transforman en especies activas que inhiben la enzima.

^S Los «[microsomas hepáticos](#)» son orgánulos parenquimatosos de este órgano, que catalizan transformaciones metabólicas en su mayor parte, por enzimas del retículo endoplasmático.

5. EVOLUCIÓN DE LOS ESTUDIOS PGx EN LAS ECV

Hasta la fecha, la mayoría de los estudios PGx se han centrado exclusivamente en el análisis de los mecanismos FC/FD responsables de la variabilidad en la respuesta a los fármacos. No obstante, el conocimiento incompleto de las vías celulares implicadas y de las redes de interacción génica limita la comprensión de una proporción significativa de la heredabilidad «ausente», la cual expone a muchos pacientes a un riesgo elevado de sufrir eventos adversos recurrentes. En consecuencia, no solo es necesario seguir investigando los factores moduladores de la respuesta farmacológica, sino también tratar de explorar los procesos biológicos responsables de la patogénesis de la enfermedad, que podrían influir de igual modo en la predisposición a eventos adversos, independientemente del tratamiento prescrito.

En el momento de redactar este capítulo, no se han realizado estudios que analicen de forma conjunta los marcadores PGx y aquellos relacionados con el desarrollo de la propia enfermedad. Si bien los investigadores disponen de paneles PGx para evaluar la respuesta individual a fármacos específicos, incluidos los antiagregantes plaquetarios, así como paneles para ECV, actualmente no existen paneles que combinen ambos aspectos. Nuestro estudio es el primero en diseñar y analizar un panel de genes que incluye la mayoría de los loci PGx clínicamente relevantes, junto con una gran proporción de loci asociados a los principales eventos isquémicos y/o hemorrágicos relacionados con el tratamiento antiagregante plaquetario. Este enfoque ha permitido identificar nuevas variantes candidatas –en genes no considerados previamente– relacionadas con la incidencia de eventos en pacientes con SCA sometidos a ICP, sin necesidad de una hipótesis previa.

En este sentido, nuestros hallazgos plantean una novedosa observación: en los diferentes análisis realizados, y en particular en aquellos que no consideraron

el tratamiento prescrito, las variantes genéticas que alcanzaron los valores de p más bajos están principalmente relacionadas con el desarrollo y la gravedad de la ECV, más que con el metabolismo de los antiagregantes plaquetarios. En concreto, tres procesos biológicos resultaron estar principalmente afectados: el metabolismo de lípidos, la inflamación vascular y la disfunción endotelial. Estos procesos interrelacionados se han asociado directamente con la gravedad de la EAC, dado que desempeñan un papel clave en el desarrollo de la aterosclerosis y, por ende, en la posible predisposición a futuros eventos CV adversos.

Estudios recientes han demostrado que la aterosclerosis es un proceso inflamatorio crónico que tiene lugar en los vasos coronarios y provoca daño y disfunción endotelial. La inflamación persistente promueve la acumulación subendotelial de lipoproteínas, iniciando la formación de la placa aterosclerótica y haciéndola vulnerable a la rotura, lo que aumenta el riesgo de trombosis y oclusión luminal. La entrada, retención y oxidación de las lipoproteínas genera daños endoteliales que desencadenan respuestas inmunitarias tanto innatas como adaptativas. Las células inmunitarias reclutadas (monocitos y macrófagos) orquestan las lesiones ateroscleróticas tempranas mediante la liberación de citocinas proinflamatorias, que aceleran la formación de células espumosas y favorecen la progresión de la lesión y el SCA a través de diversas cascadas inflamatorias.⁽¹⁴⁷⁾ Comprender la compleja interacción entre estos procesos y el riesgo de EAC resulta esencial para reevaluar los factores de riesgo que propagan las lesiones arteriales y diseñar estrategias terapéuticas más eficaces.

En línea con nuestros resultados, el único estudio que presenta un enfoque similar al propuesto por nuestro grupo fue el realizado por Liu *et al.* en una cohorte de pacientes chinos con SCA en tratamiento con clopidogrel y aspirina tras una ICP. El objetivo de dicho estudio fue identificar nuevas variantes genéticas asociadas con la incidencia de MACEs a los 18 meses mediante un estudio a gran escala en dos etapas: la secuenciación WES en una cohorte de

descubrimiento y la secuenciación dirigida en una cohorte de replicación. Identificaron ocho nuevas variantes genéticas asociadas a los MACEs, entre ellas, rs17064642 (*MYOM2*) y rs140410716 (*ECHS1*), localizadas en dos genes que desempeñan un papel importante en la función cardiaca. En particular, los niveles de expresión de estos dos genes estaban regulados a la baja tanto en modelos animales como en pacientes con fenotipos relacionados con los MACEs. Además, llevaron a cabo un metaanálisis que confirmó que las variantes genéticas de *PON1*, pero no las de *CYP2C19*, contribuían a los resultados CV en los pacientes chinos Han.⁽¹⁴⁸⁾

Otro estudio de asociación realizado por Verma *et al.*⁽⁵⁵⁾ reveló que *CYP2C19*2* era el principal determinante genético de la respuesta variable al clopidogrel en individuos de ascendencia europea. En un intento de identificar otras variantes asociadas con la HTPR, dichos autores realizaron un segundo GWAS ajustando los resultados para *CYP2C19*2*. Tras este ajuste, ningún otro SNP alcanzó el umbral de significación genómica; sin embargo, entre las variantes sugestivamente asociadas destacaron el rs151216272 en *LINGO2* ($p = 1.59 \times 10^{-07}$), previamente asociado con el IMC y la DM; y el rs35464072 en *NR3C2* ($p = 2.75 \times 10^{-07}$), que se ha asociado con la esquizofrenia y con la inflamación inducida por ox-LDL en células endoteliales coronarias humanas. Estos hallazgos refuerzan la necesidad de explorar la arquitectura genética del fenotipo de respuesta al clopidogrel más allá de *CYP2C19*.⁽¹⁴⁹⁾

Recientemente, Yang *et al.* llevaron a cabo el primer GWAS de respuesta al clopidogrel en una cohorte afroamericana. A diferencia de los estudios realizados en otras poblaciones, estos autores no encontraron ninguna asociación entre las variantes de *CYP2C19* y la respuesta al clopidogrel, pero identificaron una posible variante funcional en la región promotora del gen *THSD7A* (rs7792678), que se asoció con un mayor riesgo de HTPR ($p = 4.56 \times 10^{-9}$). Se ha demostrado

que *THSD7A* puede inhibir la migración de células endoteliales primarias, lo que daría lugar a la disfunción endotelial, y se ha relacionado a este gen con diversos procesos patológicos, incluida la EAC.⁽¹⁵⁰⁾

En última instancia, la predisposición al desarrollo de nuevos episodios CV parece estar determinada precisamente por la contribución acumulativa de numerosas variantes genéticas polimórficas, cada una de las cuales se caracteriza por un efecto relativamente débil o moderado sobre los diferentes procesos implicados en el desarrollo de la propia enfermedad. No obstante, incluso si el efecto genético es pequeño, puede ser bastante informativo y contribuir a una exploración mecanicista de las redes moleculares implicadas en este fenotipo complejo.⁽¹⁵¹⁾

Por tanto, considerando los resultados de este trabajo y la evidencia disponible en diversas poblaciones, se justifica un cambio de paradigma en el enfoque PGx clásico. Este cambio es particularmente relevante en el campo de las ECV, donde la complejidad de los procesos subyacentes al desarrollo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos tras la ICP requiere de una aproximación más amplia, que incluya una unión consistente entre el perfil molecular del individuo y el perfil clínico de la enfermedad, permitiendo así una mejor estratificación del riesgo. Las futuras investigaciones PGx deberían incluir, además de los genes que influyen en la respuesta farmacológica, aquellos relacionados con la predisposición a la enfermedad y a los procesos patológicos que la desencadenan. Este enfoque facilitaría la identificación de biomarcadores capaces de predecir el riesgo de eventos adversos y contribuiría al desarrollo de estrategias terapéuticas personalizadas que aborden de manera efectiva los diversos mecanismos implicados en la recurrencia de eventos CV.

Puntuaciones de riesgo poligénicas

En los últimos años, las puntuaciones de riesgo poligénicas (PRS, del inglés *polygenic risk score*) han ganado popularidad como herramientas prometedoras para estimar el efecto acumulativo de la variación genética en todo el genoma sobre un fenotipo concreto, lo que mejora la clasificación de los pacientes en función de su genotipo. Los PRS se calculan como la suma ponderada de los tamaños de efecto de todas las variantes incorporadas, de modo que permiten agrupar las firmas genéticas complejas en una única puntuación que se correlaciona con la predisposición genética al rasgo en cuestión. Aunque los PRS han demostrado ser eficaces para identificar con mayor precisión a individuos con riesgo de padecer enfermedades comunes, su aplicación en PGx ha sido menos explorada, por lo que resulta interesante evaluar su potencial para predecir la respuesta farmacológica individual.⁽¹⁴⁾

En el contexto de la PGx CV, Zhao *et al.* evaluaron si un PRS basado en polimorfismos derivados de GWAS, previamente asociados con el pronóstico de la EAC, podría predecir el riesgo de MACEs en pacientes chinos. En los análisis de variante única, tres SNPs relacionados con el riesgo de EAC, por estar implicados en el metabolismo de lípidos y el desarrollo de aterosclerosis (rs579459 en *ABO*, rs4420638 en *APOC1* y rs2107595 en *HDAC9*), se asociaron con un mayor riesgo de MACEs ($p < 0,01$). Además, un PRS compuesto por estos tres SNPs se correlacionó positivamente con un mayor riesgo de MACEs, incluso después de ajustar por variables clínicas ($p < 0,01$).⁽¹⁵²⁾

Por su parte, Lewis *et al.* utilizaron evidencias previas para diseñar un PRS de respuesta al clopidogrel que incluía seis SNPs, entre ellos el *CYP2C19*2*, relacionados con la reactividad plaquetaria al tratamiento. A pesar de que ninguno de los polimorfismos se asoció individualmente con el riesgo de MACEs, el PRS se correlacionó con el rasgo ($p = 0,01$), demostrando así el valor

predictivo de los pequeños efectos acumulativos de múltiples variantes y sentando las bases para el uso de variantes adicionales, además de las variantes de *CYP2C19*.⁽¹³⁷⁾

En concreto, para fenotipos complejos como los eventos isquémicos y/o hemorrágicos, múltiples factores genéticos y no genéticos desempeñan un papel fundamental en el desarrollo o la prevención del resultado clínico. Esto sugiere que la incorporación de un PRS que integre variantes genéticas relacionadas con el metabolismo de los fármacos y con la propia evolución de la enfermedad, junto con variables clínicas, podría mejorar la predicción del riesgo individual a desarrollar eventos adversos tras el tratamiento antiagregante. Los avances en las técnicas de secuenciación y la expansión de biobancos con pacientes fenotipados y con historiales de medicación detallados ofrecen nuevas oportunidades para investigar con mayor profundidad el uso de los PRS en PGx. No obstante, para ampliar aún más la utilidad del uso de estas puntuaciones, será importante desarrollar marcos teóricos que permitan extender las asociaciones de variantes únicas a haplotipos, y que, además, evalúen con más detalle el valor predictivo de los PRS en la prevención secundaria.

6. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La principal limitación de nuestro estudio fue el **tamaño de la muestra**, un reto habitual en la investigación PGx debido a la dificultad de reclutar un número suficiente de participantes que permita alcanzar la potencia estadística necesaria para detectar asociaciones significativas. Esto se debe a que los estudios PGx suelen limitarse a individuos con una enfermedad determinada, de los cuales solo una pequeña fracción toma el fármaco de interés, y, de estos, una fracción aún menor podría desarrollar una RAM concreta.⁽⁸⁾ De hecho, una revisión de 23 GWAS PGx realizados entre 2007 y 2010⁽¹⁵³⁾ mostró que los GWAS de respuesta a fármacos tenían una media de 570 participantes y los GWAS de RAMs

presentaban una proporción de casos/control de 70/120. Las estimaciones para 2015-2020 mostraron que estas cifras están aumentando gracias a la realización de estudios PGx en el contexto de ensayos clínicos aleatorizados o consorcios internacionales (p. ej., PGRN-RIKEN), que facilitan el reclutamiento de grandes cohortes y la replicación de los resultados.^(8,14) En este sentido, nuestra participación en el proyecto europeo U-PGx nos brinda acceso a una colección de muestras, actualmente liberada para su uso, y la oportunidad de colaborar con otros grupos de investigación, con el objetivo de replicar nuestros hallazgos en otras poblaciones, lo que podría ampliar el impacto de los resultados obtenidos.

Debido a esta primera limitación, la capacidad para identificar asociaciones genómicas con los **resultados clínicos** individuales fue limitada debido al escaso número de eventos adversos observados. Para hacer frente a este inconveniente, los eventos individuales se agruparon en «eventos primarios», «eventos secundarios» y «eventos hemorrágicos». En consecuencia, nuestros análisis relativos a la asociación de variantes con los resultados clínicos deben considerarse altamente exploratorios y generadores de hipótesis. A pesar de ello, las variantes identificadas mostraron una asociación con una menor incidencia de eventos adversos durante el periodo de seguimiento, por lo que será necesario realizar estudios más amplios y con mayor potencia estadística para replicar estos hallazgos.

Otra limitación fue el **tamaño del panel** y, en última instancia, el número de variantes identificadas. No obstante, una ventaja de nuestro panel es que no solo se centra en genes cardíacos y metabólicos con evidencia previa, sino que también se extiende 300 pb aguas arriba y aguas abajo de las posiciones de interés. Este diseño personalizado permitió analizar tanto regiones codificantes como variantes no codificantes que podrían ser relevantes, pero que habrían pasado desapercibidas en un análisis WES. El hecho de que el 96,4 % de los polimorfismos genéticos identificados en los GWAS PGx se localicen en regiones

no codificantes subraya la importancia de las variantes reguladoras en la respuesta a los fármacos. Sin embargo, estas variantes reguladoras rara vez se incluyen en los estudios PGx, a pesar de que se sabe que los elementos reguladores tienen efectos estructurales y funcionales de gran alcance sobre las regiones genómicas o los productos génicos que regulan.⁽⁹⁾

Por otra parte, debido a que este trabajo consiste en un estudio observacional retrospectivo, centrado exclusivamente en el análisis de variantes genéticas, no se incluyeron **enfoques complementarios** que permitieran evaluar los efectos de las variantes identificadas en el fenotipo relativo a la aparición de eventos en pacientes con SCA sometidos a ICP. La inclusión de ensayos que midieran factores plasmáticos de activación/inflamación endotelial, niveles de lípidos y/o reactividad plaquetaria habría sido útil para confirmar las hipótesis generadas a partir de los resultados obtenidos de la secuenciación.

Por último, la mayoría de los participantes incluidos en el estudio eran de **ascendencia europea**. Por lo tanto, hay que tener cuidado al interpretar los resultados de asociación y al extrapolar estos hallazgos a poblaciones de diferentes orígenes étnicos. Esto puede ser especialmente importante en el caso de polimorfismos cuya frecuencia varía considerablemente entre poblaciones.⁽¹³⁷⁾ Por ejemplo, las variantes más comunes en otras poblaciones, pero con una frecuencia baja en poblaciones de ascendencia europea, pueden no haber sido detectadas en nuestra población (p. ej., *CYP2C19*3* es más común en poblaciones asiáticas y no aparece en la nuestra). Este hecho resalta la importancia de validar las variantes candidatas en otros grupos étnicos antes de trasladar nuestros resultados a otras poblaciones.

7. PERSPECTIVAS FUTURAS

A lo largo de este trabajo se han propuesto ciertos polimorfismos, en concreto el rs2472434 (*ABCA1*) y el rs7439366 (*UGT2B7*), junto con el «genotipo de resistencia» utilizado actualmente en nuestro hospital para orientar el tratamiento, como posibles candidatos a estudiar en nuestra población a partir de ahora. Sin embargo, debido a las limitaciones existentes, sería recomendable realizar un estudio prospectivo o un ensayo clínico aleatorizado para evaluar la influencia de estos marcadores en la predicción del riesgo de eventos CV recurrentes. Al mismo tiempo, es preciso evaluar funcionalmente las variantes candidatas para asegurar que el efecto que hipotetizamos sobre ellas es real, así como complementar los estudios de asociación con otras aproximaciones que refuercen los resultados genéticos.

Uno de los principales obstáculos para la aplicación clínica de las pruebas PGx es la dificultad para traducir los resultados genéticos en decisiones de prescripción procesables (p. ej., ajustar la dosis del fármaco para maximizar su eficacia y minimizar su toxicidad, o evitar el uso del fármaco). Este proyecto se ha centrado en el desarrollo de una nueva metodología que permita adaptar y personalizar la terapia, con el fin de identificar a los pacientes que podrían responder peor a un tratamiento específico, lo que desencadenaría un cambio en la decisión de prescripción. No obstante, es importante señalar que el conocimiento de un fenotipo «normal» puede ser igualmente valioso. En nuestro caso, según el análisis de random forest, la combinación de variables clínicas y genéticas tiene una alta sensibilidad a la hora de predecir los buenos respondedores, es decir, aquellos pacientes con pocas probabilidades de sufrir eventos isquémicos y/o hemorrágicos tras el tratamiento con clopidogrel. Una estrategia que se podría explorar, al menos en el contexto del SCA, sería comenzar en el momento de la ICP con el tratamiento antiagregante más

potente y, una vez se disponga de los resultados genéticos, cambiar a clopidogrel (desescalada del tratamiento guiada por el genotipo). Este enfoque optimizaría la terapia antiplaquetaria y mejoraría los resultados clínicos al reducir el riesgo de hemorragias (prasugrel) o disnea (ticagrelor) sin aumentar los episodios isquémicos.

Finalmente, a pesar de los avances que se han realizado en PGx, las variantes comunes que se conocen en la actualidad solo explican parcialmente la variabilidad observada en la respuesta a los fármacos. Investigaciones recientes sugieren que la variabilidad genética individual se correlaciona con los patrones de metilación del ADN, los llamados loci de rasgos cuantitativos de metilación (mQTL, por sus siglas en inglés). Estos mQTLs representan aspectos importantes y, en gran parte, inexplorados de la regulación de los genes implicados en el metabolismo y el transporte de fármacos. Caracterizar estas posiciones permitirá conocer el estado de activación de ciertas regiones genómicas y, por tanto, su posible implicación en la transmisión del fenotipo y la predisposición a ciertas condiciones complejas, como el desarrollo de eventos adversos tras el tratamiento con DAPT. En este sentido, nuestro próximo proyecto integrará las «ómicas» para validar los resultados obtenidos con NGS mediante un estudio GWAS en una muestra de mayor tamaño y combinar estos hallazgos con un estudio EWAS. De esta forma, se pretende dilucidar los mecanismos moleculares implicados en la respuesta farmacológica e identificar nuevos biomarcadores (variantes genéticas o patrones de metilación) para su aplicación clínica en la prevención de eventos.

En un horizonte próximo, las estrategias de elección de tratamiento deberían considerar un enfoque multifactorial que aborde las interacciones entre el riesgo genético y los factores ambientales, con el fin de proporcionar modelos predictivos de respuesta farmacológica más precisos y avanzar así hacia una medicina más personalizada.

VI. CONCLUSIONES



1. En nuestra cohorte de pacientes con síndrome coronario agudo sometidos a intervención coronaria percutánea con implantación de stent, la edad avanzada, un índice de masa corporal elevado y los antecedentes cardiovasculares previos fueron los factores de riesgo cardiovascular asociados de forma independiente a una mayor incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos tras el tratamiento con doble terapia antiagregante.

2. Utilizando un enfoque de secuenciación masiva, diseñamos el primer panel de genes personalizado para el análisis simultáneo de genes implicados en el metabolismo y transporte de fármacos, así como aquellos asociados con el desarrollo de la enfermedad cardiovascular. Este enfoque nos ha permitido identificar nuevas variantes candidatas –en genes no contemplados previamente– relacionadas con la aparición de eventos adversos secundarios tras la intervención coronaria percutánea, sin necesidad de una hipótesis previa.

3. En un primer análisis de asociación, independientemente del antiagregante prescrito, ningún polimorfismo alcanzó el umbral de significación genómica tras la corrección. No obstante, variantes en genes relacionados con el metabolismo de lípidos, la inflamación vascular y la disfunción endotelial, que están implicadas en procesos clave en el desarrollo de la aterosclerosis en pacientes con síndrome coronario agudo, podrían estar asociadas con la predisposición a sufrir eventos adversos recurrentes en este grupo de pacientes.

Sin embargo, los mecanismos exactos por los cuales estas variantes influyen en el riesgo de eventos aún no están completamente dilucidados, lo que subraya la necesidad de realizar estudios adicionales para profundizar en su impacto y relevancia clínica.

4. El análisis exploratorio realizado en este trabajo identificó la variante intrónica rs2472434 (c.543+711T>G) en el gen *ABCA1* como una candidata prometedora

para predecir el riesgo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos, tanto de manera global como en función del tratamiento prescrito.

Los hallazgos obtenidos sugieren que la predisposición a eventos recurrentes es atribuible a factores relacionados con la propia enfermedad cardiovascular, ya que este gen está relacionado con el metabolismo de lípidos y la prevención de la aterosclerosis coronaria, más que a una respuesta inadecuada a la terapia antiplaquetaria.

5. En análisis de asociación posterior, al estratificar a los pacientes en base al antiagregante pautado, se identificaron variantes implicadas en la ruta metabólica del clopidogrel, algunas con alta evidencia (*CYP2C19* y *ABCB1*) y otras nuevas (*UGT2B7*), que podrían contribuir a la variabilidad en la respuesta al fármaco, afectando tanto a su efectividad como al riesgo, en consecuencia, de eventos adversos recurrentes.

6. En los pacientes tratados con clopidogrel, la presencia del «genotipo de resistencia» –definido por las variantes en los genes *CYP2C19* (alelo A para el rs4244285) y *ABCB1* (genotipo AA para el rs1045642)– podría estar asociada con un mayor riesgo de eventos isquémicos y/o hemorrágicos. Incluir el genotipado combinado de ambos polimorfismos antes de iniciar el tratamiento antiplaquetario, en lugar de analizar únicamente *CYP2C19**2, podría mejorar la capacidad predictiva de la respuesta al clopidogrel y del riesgo de eventos adversos tras la implantación del stent.

7. Del mismo modo, en pacientes tratados con clopidogrel, la variante *missense* *UGT2B7**2 (rs7439366, c.802T>C) se asoció con una menor incidencia de eventos isquémicos y/o hemorrágicos tras recibir dicho fármaco. Además, el análisis de random forest reveló que el genotipo CC para el rs7439366 protegía contra la aparición de eventos adversos en pacientes con genotipo GG para el *CYP2C19**2 (rs4244285, c.681G>A).

8. Nuestros hallazgos subrayan la necesidad de seguir explorando la arquitectura genética asociada al fenotipo de respuesta al clopidogrel más allá del *CYP2C19*, lo que plantea un cambio de paradigma en el enfoque farmacogenético clásico. Las investigaciones futuras en este campo deberían incluir no solo los genes implicados en la respuesta farmacológica, sino también aquellos relacionados con la predisposición a la enfermedad y a los procesos patológicos que la desencadenan.

9. En base a los resultados de este estudio, la incorporación de una puntuación de riesgo poligénico, que integre variantes genéticas asociadas al metabolismo de los fármacos y a la propia evolución de la enfermedad, junto con variables clínicas, podría mejorar la predicción del riesgo individual de eventos adversos tras la terapia antiagregante y facilitar la personalización del tratamiento en pacientes con síndrome coronario agudo.

10. Una vez validados los resultados, podrían emplearse para llevar a cabo una predicción más precisa de aquellos pacientes con pocas probabilidades de sufrir eventos isquémicos y/o hemorrágicos tras el tratamiento con clopidogrel, y para guiar estrategias de desescalada del tratamiento basadas en el genotipo en pacientes con síndrome coronario agudo tratados con prasugrel o ticagrelor.

BIBLIOGRAFÍA



1. Zhou ZW, Chen XW, Sneed KB, Yang YX, Zhang X, He ZX, et al. Clinical association between pharmacogenomics and adverse drug reactions. *Drugs*. 2015;75(6):589–631.
2. Maggo SDS, Savage RL, Kennedy MA. Impact of new genomic technologies on understanding adverse drug reactions. *Clin Pharmacokinet*. 2016;55(4):419–36.
3. Yiannakopoulou E. Pharmacogenomics of acetylsalicylic acid and other nonsteroidal anti-inflammatory agents: Clinical implications. *Eur J Clin Pharmacol*. 2013;69(7):1369–73.
4. genosalut [Internet]. 2020. Available from: <https://www.genosalut.com/noticias/vida-saludable/en-que-consiste-la-medicina-personalizada/>
5. Saiz Rodríguez M. Farmacogenética del clopidogrel en pacientes sometidos a neurointervención percutánea. Universidad Autónoma de Madrid; 2019.
6. Magavern EF, Kaski JC, Turner RM, Drexel H, Janmohamed A, Scourfield A, et al. The role of pharmacogenomics in contemporary cardiovascular therapy: A position statement from the European Society of Cardiology Working Group on Cardiovascular Pharmacotherapy. *Eur Hear J - Cardiovasc Pharmacother*. 2022;8(1):85–99.
7. Llerena A, Baca-García E, Felip E, Guillén E, Isidoro M, Arenas J, et al. Farmacogenómica: El camino hacia la personalización del tratamiento. Fundación Instituto Roche. 2021.
8. Pirmohamed M. Pharmacogenomics: current status and future perspectives. *Nat Rev Genet*. 2023;24(6):350–62.
9. Lauschke VM, Ingelman-Sundberg M. Prediction of drug response and adverse drug reactions: From twin studies to Next Generation Sequencing. *Eur J Pharm Sci*. 2019; 130:65–77.
10. Cacabelos R, Naidoo V, Corzo L, Cacabelos N, Carril JC. Genophenotypic factors and pharmacogenomics in adverse drug reactions. *Int J Mol Sci*. 2021;22(24):13302.
11. Montané E, Santesmases J. Adverse drug reactions. *Med Clin (Barc)*. 2020;154(5):178–84.
12. van der Wouden CH, Cambon-Thomsen A, Cecchin E, Cheung KC, Dávila-Fajardo CL, Deneer VH, et al. Implementing Pharmacogenomics in Europe: Design and Implementation Strategy of the Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. *Clin Pharmacol Ther*. 2017;101(3):341–58.
13. Ji Y, Si Y, McMillin GA, Lyon E. Clinical pharmacogenomics testing in the era of next generation sequencing: challenges and opportunities for precision medicine. *Expert Rev Mol Diagn*. 2018;18(5):411–21.
14. Auwerx C, Sadler MC, Reymond A, Kutalik Z. From pharmacogenetics to pharmacogenomics: Milestones and future directions. *Hum Genet Genomics Adv*. 2022;3(2):100100.
15. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. 2006;7(2):85–97.
16. Sánchez Ramos JG. Resultados de la terapia antiagregante guiada por genotipado de los polimorfismos en los genes CYP2C19 y ABCB1 en pacientes sometidos a intervención coronaria percutánea con stent. Universidad de Granada; 2017.
17. Zhang W, NG HW, Shu M, Luo H, Su Z, Ge W, et al. Comparing genetic variants detected in the 1000 genomes project with SNPs determined by the International HapMap Consortium. *J Genet*. 2015;94(4):731–40.
18. Russell LE, Zhou Y, Almousa AA, Sodhi JK, Nwabufo CK, Lauschke VM. Pharmacogenomics in the era of next generation sequencing – from byte to bedside. *Drug Metab Rev*. 2021;53(2):253–78.
19. Gong L, Whirl-Carrillo M, Klein TE. PharmGKB, an Integrated Resource of Pharmacogenomic Knowledge. *Curr Protoc*. 2021;1(8):e226.

20. Whirl-Carrillo M, McDonagh E, Hebert J, Gong L, Sangkuhl K, Thorn C, et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92(4):414–7.
21. Duarte JD, Cavallari LH. Pharmacogenetics to guide cardiovascular drug therapy. *Nat Rev Cardiol.* 2021;18(9):649–65.
22. Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Curr Drug Targets.* 2018;19(1):38–54.
23. Zhou Y, Lauschke VM. The genetic landscape of major drug metabolizing cytochrome P450 genes—an updated analysis of population-scale sequencing data. *Pharmacogenomics J.* 2022;22(5–6):284–93.
24. Zanger UM, Klein K, Thomas M, Rieger JK, Tremmel R, Kandel BA, et al. Genetics, epigenetics, and regulation of drug-metabolizing cytochrome P450 enzymes. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;95(3):258–61.
25. Zanger UM, Turpeinen M, Klein K, Schwab M. Functional pharmacogenetics/genomics of human cytochromes P450 involved in drug biotransformation. *Anal Bioanal Chem.* 2008;392(6):1093–108.
26. Hillgren KM, Keppler D, Zur AA, Giacomini KM, Stieger B, Cass CE, et al. Emerging transporters of clinical importance: An update from the international transporter consortium. *Clin Pharmacol Ther.* 2013;94(1):52–63.
27. Yiannakopoulou EC. Pharmacogenomics of phase II metabolizing enzymes and drug transporters: clinical implications. *Pharmacogenomics J.* 2013;13(2):105–9.
28. Evans WE, Mcleod HL. Pharmacogenomics — Drug Disposition, Drug Targets, and Side Effects. *N Engl J Med.* 2003;348(6):538–49.
29. Pereira NL, Sargent DJ, Farkouh ME, Rihal CS. Genotype-based clinical trials in cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol.* 2015;12(8):475–87.
30. Lin X, Tang W, Ahmad S, Lu J, Colby C, Zhu J, et al. Applications of targeted gene capture and next-generation sequencing technologies in studies of human deafness and other genetic disabilities. *Hear Res.* 2012;288(1–22):67–76.
31. Abdullah-Koolmees H, van Keulen AM, Nijenhuis M, Deneer VHM. Pharmacogenetics Guidelines: Overview and Comparison of the DPWG, CPIC, CPNDS, and RNPgX Guidelines. *Front Pharmacol.* 2021;11:595219.
32. Whirl-Carrillo M, McDonagh EM, Hebert JM, Gong L, Sangkuhl K, Thorn CF, et al. Pharmacogenomics knowledge for personalized medicine. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92(4):414–7.
33. Kabbani D, Akika R, Wahid A, Daly AK, Cascorbi I, Zgheib NK. Pharmacogenomics in practice: a review and implementation guide. *Front Pharmacol.* 2023;14:1189976.
34. Schildcrout JS, Denny JC, Bowton E, Gregg W, Pulley JM, Basford MA, et al. Optimizing drug outcomes through pharmacogenetics: A case for preemptive genotyping. *Clin Pharmacol Ther.* 2012;92(2):235–42.
35. Donohue MM, Tirschwell DL. Implications of pharmacogenetic testing for patients taking warfarin or clopidogrel. *Curr Neurol Neurosci Rep.* 2011;11(1):52–60.
36. Roden DM, Van Driest SL, Mosley JD, Wells QS, Robinson JR, Denny JC, et al. Benefit of Preemptive Pharmacogenetic Information on Clinical Outcome. *Clin Pharmacol Ther.* 2018;103(5):787–94.
37. Rasmussen-Torvik LJ, Stallings SC, Gordon AS, Almoguera B, Basford MA, Bielinski SJ, et al. Design and anticipated outcomes of the eMERGE-PGx project: A multicenter pilot for preemptive pharmacogenomics in electronic health record systems. *Clin Pharmacol Ther.* 2014;96(4):482–9.

38. Cavallari LH, Johnson JA. Use of a multi-gene pharmacogenetic panel reduces adverse drug effects. *Cell Reports Med.* 2023;4(5):101021.
39. Rodriguez-Alvarez E, Lanborena N, Borrell LN. Cardiovascular disease risk factors in Spain: A comparison of native and immigrant populations. *PLoS One.* 2020;15(11):e0242740.
40. Binazon O, Dubois-Gaché A, Nanau RM, Neuman MG. Efficacy and safety of platelet inhibitors. *J Pharm Pharm Sci.* 2013;16(1):1–39.
41. Vogel B, Claessen BE, Arnold S V., Chan D, Cohen DJ, Giannitsis E, et al. ST-segment elevation myocardial infarction. *Nat Rev Dis Prim.* 2019;5(1):39.
42. Instituto Nacional de Estadística. Estadística de Defunciones según la causa de muerte. Año 2020. [Internet]. INE Notas de prensa. 2020. Available from: https://www.ine.es/prensa/edcm_2020.pdf
43. Poznyak A V., Sadykhov NK, Kartuesov AG, Borisov EE, Melnichenko AA, Grechko A V., et al. Hypertension as a risk factor for atherosclerosis: Cardiovascular risk assessment. *Front Cardiovasc Med.* 2022;9:959285.
44. Bhatt DL, Lopes RD, Harrington RA. Diagnosis and Treatment of Acute Coronary Syndromes: A Review. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2022;327(7):662–75.
45. Collet JP, Thiele H, Barbato E, Bauersachs J, Dendale P, Edvardsen T, et al. 2020 ESC Guidelines for the management of acute coronary syndromes in patients presenting without persistent ST-segment elevation. *Eur Heart J.* 2021;42(14):1289–367.
46. Nardin M, Verdoia M, Laera N, Cao D, De Luca G. New Insights into Pathophysiology and New Risk Factors for ACS. *J Clin Med.* 2023;12(8):2883.
47. Franchi F, Rollini F, Angiolillo DJ. Antithrombotic therapy for patients with STEMI undergoing primary PCI. *Nat Rev Cardiol.* 2017;14(6):361–79.
48. Grove EL, Würtz M, Thomas MR, Dalby Kristensen S. Antiplatelet therapy in acute coronary syndromes. *Expert Opin Pharmacother.* 2015;16(14):2133–47.
49. Moon JY, Franchi F, Rollini F, Rivas-Rios JR, Kureti M, Cavallari LH, et al. Role of genetic testing in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2018;11(2):151–64.
50. Rollini F, Franchi F, Angiolillo DJ. Switching P2Y12-receptor inhibitors in patients with coronary artery disease. *Nat Rev Cardiol.* 2016;13(1):11–27.
51. Jiang X-L, Samant S, Lesko LJ, Schmidt S. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Clopidogrel. *Clin Pharmacokinet.* 2015;54(2):147–66.
52. Tantry US, Navarese EP, Bliden KP, Gurbel PA. Acetylsalicylic acid and clopidogrel hyporesponsiveness following acute coronary syndromes. *Kardiol Pol.* 2018;76(9):1312–9.
53. Akhtar T, Bandyopadhyay D, Ghosh RK, Aronow WS, Lavie CJ, Yadav N. Advances in the Pharmacogenomics of Antiplatelet Therapy. *Am J Ther.* 2020;27(5):e477–84.
54. 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-medications (Including Proton Pump Inhibitors), and pre-existent variability in platelet f. *J Am Coll Cardiol.* 2013;61(8):872–9.
55. Verma SS, Bergmeijer TO, Gong L, Reny JL, Lewis JP, Mitchell BD, et al. Genome-wide Association Study of Platelet Reactivity and Cardiovascular Response in Patients Treated With Clopidogrel: A Study by the International Clopidogrel Pharmacogenomics Consortium. *Clin Pharmacol Ther.* 2020;108(5):1067–77.
56. Tomaniak M, Kołtowski Ł, Kochman J, Huczek Z, Rdzanek A, Pietrasik A, et al. Can prasugrel decrease the extent of periprocedural myocardial injury during elective percutaneous coronary intervention? *Polish Arch Intern Med.* 2017;127(11):730–40.

57. Wiviott SD, Braunwald E, McCabe C, Montalescot G, Ruzyllo W, Gottlieb S, et al. Prasugrel versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2007;357(20):2001–15.
58. Franchi F, Angiolillo DJ. Novel antiplatelet agents in acute coronary syndrome. *Nat Rev Cardiol*. 2015;12(1):30–47.
59. Wallentin L, Becker R, Budaj A, Cannon C, Emanuelsson H, Held C, et al. Ticagrelor versus clopidogrel in patients with acute coronary syndromes. *N Engl J Med*. 2009;361(11):1045–57.
60. McFadyen JD, Schaff M, Peter K. Current and future antiplatelet therapies: Emphasis on preserving haemostasis. *Nat Rev Cardiol*. 2018;15(3):181–91.
61. Beitelshes AL, Voora D, Lewis JP. Personalized antiplatelet and anticoagulation therapy: Applications and significance of pharmacogenomics. *Pharmgenomics Pers Med*. 2015;8:43–61.
62. 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(2):246–51.
63. Castrichini M, Luzum JA, Pereira N. Pharmacogenetics of Antiplatelet Therapy. *Annu Rev Pharmacol Toxicol*. 2023;63:211–29.
64. Gower MN, Ratner LR, Williams AK, Rossi JS, Stouffer GA, Lee CR. Clinical utility of CYP2C19 genotype-guided antiplatelet therapy in patients at risk of adverse cardiovascular and cerebrovascular events: a review of emerging evidence. *Pharmgenomics Pers Med*. 2020;13:239–52.
65. Thomas CD, Williams AK, Lee CR, Cavallari LH. Pharmacogenetics of P2Y12 receptor inhibitors. *Pharmacotherapy*. 2023;43(2):158–75.
66. Lee CR, Luzum JA, Sangkuhl K, Gammal RS, Sabatine MS, Stein CM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium Guideline for CYP2C19 Genotype and Clopidogrel Therapy: 2022 Update. *Clin Pharmacol Ther*. 2022;112(5):959–67.
67. Nguyen AB, Cavallari LH, Rossi JS, Stouffer GA, Lee CR. Evaluation of race and ethnicity disparities in outcome studies of CYP2C19 genotype-guided antiplatelet therapy. *Front Cardiovasc Med*. 2022;9:991646.
68. Perry CG, Shuldiner AR. Pharmacogenomics of anti-platelet therapy: How much evidence is enough for clinical implementation? *J Hum Genet*. 2013;58(6):339–45.
69. Li M, Wang H, Xuan L, Shi X, Zhou T, Zhang N, et al. Associations between P2RY12 gene polymorphisms and risks of clopidogrel resistance and adverse cardiovascular events after PCI in patients with acute coronary syndrome. *Med*. 2017;96(14):e6553.
70. Mega J, Close S, Wiviott S, Shen L, Walker J, Simon T, et al. Genetic variants in ABCB1 and CYP2C19 and cardiovascular outcomes after treatment with clopidogrel and prasugrel in the TRITON-TIMI 38 trial: A pharmacogenetic analysis. *Lancet*. 2010;376(9749):1312–9.
71. Sawayama Y, Yamamoto T, Tomita Y, Asada K, Yagi N, Fukuyama M, et al. Comparison between Clopidogrel and Prasugrel Associated with CYP2C19 Genotypes in Patients Receiving Percutaneous Coronary Intervention in a Japanese Population. *Circ J*. 2020;84(9):1575–81.
72. Wallentin L, James S, Storey RF, Armstrong M, Barratt BJ, Horrow J, et al. Effect of CYP2C19 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on outcomes of treatment with ticagrelor versus clopidogrel for acute coronary syndromes: a genetic substudy of the PLATO trial. *Lancet (London, England)*. 2010 Oct;376(9749):1320–8.
73. Varenhorst C, Eriksson N, Johansson Å, Barratt BJ, Hagström E, Åkerblom A, et al. Effect of genetic variations on ticagrelor plasma levels and clinical outcomes. *Eur Heart J*. 2015;36(29):1901–12.

74. Pereira NL, Farkouh ME, So D, Lennon R, Geller N, Mathew V, et al. Effect of Genotype-Guided Oral P2Y₁₂ Inhibitor Selection vs Conventional Clopidogrel Therapy on Ischemic Outcomes after Percutaneous Coronary Intervention: The TAILOR-PCI Randomized Clinical Trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2020;324(8):761–71.
75. Claassens DMF, Vos GJA, Bergmeijer TO, Hermanides RS, van 't Hof AWJ, van der Harst P, et al. A Genotype-Guided Strategy for Oral P2Y₁₂ Inhibitors in Primary PCI. *N Engl J Med.* 2019;381(17):1621–31.
76. Notarangelo FM, Maglietta G, Bevilacqua P, Cereda M, Merlini PA, Villani GQ, et al. Pharmacogenomic Approach to Selecting Antiplatelet Therapy in Patients With Acute Coronary Syndromes: The PHARMCLO Trial. *J Am Coll Cardiol.* 2018;71(17):1869–77.
77. Hulot JS, Chevalier B, Belle L, Cayla G, Khalife K, Funck F, et al. Routine CYP2C19 Genotyping to Adjust Thienopyridine Treatment After Primary PCI for STEMI: Results of the GIANT Study. *JACC Cardiovasc Interv.* 2020;13(5):621–30.
78. Cavallari LH, Lee CR, Beitelshes AL, Cooper-DeHoff RM, Duarte JD, Voora D, et al. Multi-site Investigation of Outcomes with Implementation of CYP2C19 Genotype-Guided Antiplatelet Therapy after Percutaneous Coronary Intervention. *JACC Cardiovasc Interv.* 2018;11(2):181–91.
79. Deiman BALM, Tonino PAL, Kouhestani K, Schrover CEM, Scharnhorst V, Dekker LRC, et al. Reduced number of cardiovascular events and increased cost-effectiveness by genotype-guided antiplatelet therapy in patients undergoing percutaneous coronary interventions in the Netherlands. *Netherlands Hear J.* 2016;24(10):589–99.
80. Sánchez-Ramos J, Dávila-Fajardo CL, Toledo-Frías P, Díaz-Villamarín X, Martínez-González LJ, Martínez-Huertas S, et al. Results of genotype-guided antiplatelet therapy in patients who undergone percutaneous coronary intervention with stent. *Int J Cardiol.* 2016;225:289–95.
81. Dávila-Fajardo CL, Sánchez-Ramos J, Díaz-Villamarín X, Martínez-González LJ, Toledo-Frías P, Martínez-Huertas S, et al. The study protocol for a non-randomized controlled clinical trial using a genotype-guided strategy in a dataset of patients who undergone percutaneous coronary intervention with stent. *Data Br.* 2016;10:518–24.
82. Hershberger R, Siegfried J. Update 2011: Clinical and Genetic Issues in Familial Dilated Cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol.* 2011;57(16):1641–9.
83. Kalayinia S, Goodarzynejad H, Maleki M, Mahdiah N. Next generation sequencing applications for cardiovascular disease. *Ann Med.* 2018;50(2):91–109.
84. Han SM, Park J, Lee JH, Lee SS, Kim H, Han H, et al. Targeted Next-Generation Sequencing for Comprehensive Genetic Profiling of Pharmacogenes. *Clin Pharmacol Ther.* 2017;101(3):396–405.
85. Antúnez-Rodríguez A, García-Rodríguez S, Pozo-Agundo A, Sánchez-Ramos JG, Moreno-Escobar E, Triviño-Juárez JM, et al. Targeted next-generation sequencing panel to investigate antiplatelet adverse reactions in acute coronary syndrome patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting. *Thromb Res.* 2024;240:109060.
86. Freeman B, Smith N, Curtis C, Hockett L, Mill J, Craig IW. DNA from buccal swabs recruited by mail: Evaluation of storage effects on long-term stability and suitability for multiplex polymerase chain reaction genotyping. *Behav Genet.* 2003;33(1):67–72.
87. Gómez-Martín A, Hernández AF, Martínez-González LJ, González-Alzaga B, Rodríguez-Barranco M, López-Flores I, et al. Polymorphisms of pesticide-metabolizing genes in children living in intensive farming communities. *Chemosphere.* 2015;139:534–40.
88. Wijdicks M. Advance Your Genomic Research Using Targeted Resequencing with SeqCap EZ Library [Internet]. 2011. Available from: https://resources.perkinelmer.com/corporate/pdfs/downloads/cst_rghs_uk_ngs_wijdicks.pdf

89. Rodríguez Muñoz A. High-throughput strategies for molecular diagnosis of nonsyndromic inherited retinal dystrophies. Universitat Politècnica de València; 2020.
90. Deanov A Al. Next Generation Sequencing: An Introduction. 2022.
91. Van Den Berge K, Hembach KM, Sonesson C, Tiberi S, Clement L, Love MI, et al. RNA Sequencing Data: Hitchhiker's Guide to Expression Analysis. *Annu Rev Biomed Data Sci.* 2019;2:139–73.
92. Cock PJA, Fields CJ, Goto N, Heuer ML, Rice PM. The Sanger FASTQ file format for sequences with quality scores, and the Solexa/Illumina FASTQ variants. *Nucleic Acids Res.* 2010;38(6):1767–71.
93. Muzzey D, Evans EA, Lieber C. Understanding the Basics of NGS: From Mechanism to Variant Calling. *Curr Genet Med Rep.* 2015;3(4):158–65.
94. Ebbert MTW, Wadsworth ME, Staley LA, Hoyt KL, Pickett B, Miller J, et al. Evaluating the necessity of PCR duplicate removal from next-generation sequencing data and a comparison of approaches. *BMC Bioinformatics.* 2016;17(Suppl 7):239.
95. Such E, Solé F. Guía de aplicación clínica de la secuenciación masiva en síndromes mielodisplásicos y leucemia mielomonocítica crónica. Grupo Español de Síndromes Mielodisplásicos (GESMD). 2017.
96. Gulilat M, Lamb T, Teft WA, Wang J, Dron JS, Robinson JF, et al. Targeted next generation sequencing as a tool for precision medicine. *BMC Med Genomics.* 2019;12(1):81.
97. Richards S, Aziz N, Bale S, Bick D, Das S, Gastier-Foster J, et al. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: A joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genet Med.* 2015;17(5):405–24.
98. Byun J, Han Y, Gorlov IP, Busam JA, Seldin MF, Amos CI. Ancestry inference using principal component analysis and spatial analysis: A distance-based analysis to account for population substructure. *BMC Genomics.* 2017;18(1):789.
99. Conomos MP, Miller M, Thornton T. Robust inference of population structure for ancestry prediction and correction of stratification in the presence of relatedness. *Genet Epidemiol.* 2015;39(4):276–93.
100. Conomos MP, Reiner AP, Weir BS, Thornton TA. Model-free Estimation of Recent Genetic Relatedness. *Am J Hum Genet.* 2016;98(1):127–48.
101. Su R, Li Y, Zink D, Loo LH. Supervised prediction of drug-induced nephrotoxicity based on interleukin-6 and -8 expression levels. *BMC Bioinformatics.* 2014;15(Suppl 16):S16.
102. Rodríguez-Gallego E, Gómez J, Pacheco YM, Peraire J, Viladés C, Beltrán-Debón R, et al. A baseline metabolomic signature is associated with immunological CD4 + T-cell recovery after 36 months of antiretroviral therapy in HIV-infected patients. *Aids.* 2018;32(5): 565–73.
103. Crooks KR, Farwell Hagman KD, Mandelker D, Santani A, Schmidt RJ, Temple-Smolkin RL, et al. Recommendations for Next-Generation Sequencing Germline Variant Confirmation: A Joint Report of the Association for Molecular Pathology and National Society of Genetic Counselors. *J Mol Diagnostics.* 2023;25(7):411–27.
104. Koboldt DC. Best practices for variant calling in clinical sequencing. *Genome Med.* 2020;12(1):91.
105. Cingolani P. Variant Annotation and Functional Prediction: SnpEff. *Methods Mol Biol.* 2022;2493:289–314.
106. Zhao Q, Liu R, Chen H, Yang X, Dong J, Bai M, et al. Transcriptome-wide association study reveals novel susceptibility genes for coronary atherosclerosis. *Front Cardiovasc Med.* 2023;10:1149113.

107. Bindesbøll C, Aas A, Ogmundsdottir MH, Pankiv S, Reine T, Zoncu R, et al. NBEAL1 controls SREBP2 processing and cholesterol metabolism and is a susceptibility locus for coronary artery disease. *Sci Rep.* 2020;10(1):4528.
108. Zabalza M, Subirana I, Lluís-Ganella C, Sayols-Baixeras S, de Groot E, Arnold R, et al. Association Between Coronary Artery Disease Genetic Variants and Subclinical Atherosclerosis: An Association Study and Meta-analysis. *Rev Española Cardiol (English Ed.)*. 2015;68(10):869–77.
109. Wang L, Hauser ER, Shah SH, Pericak-Vance MA, Haynes C, Crosslin D, et al. Peakwide mapping on chromosome 3q13 identifies the kalirin gene as a novel candidate gene for coronary artery disease. *Am J Hum Genet.* 2007;80(4):650–63.
110. Wang J, Xiao Q, Wang L, Wang Y, Wang D, Ding H. Role of ABCA1 in Cardiovascular Disease. *J Pers Med.* 2022;12(6):1010.
111. Jacobo-Albavera L, Domínguez-Pérez M, Medina-Leyte DJ, González-Garrido A, Villarreal-Molina T. The Role of the ATP-Binding Cassette A1 (ABCA1) in Human Disease. *Int J Mol Sci.* 2021;22(4):1593.
112. Aaldijk AS, Verzijl CRC, Jonker JW, Struik D. Biological and pharmacological functions of the FGF19- and FGF21-coreceptor beta klotho. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2023;14:1150222.
113. Panera N, Meroni M, Longo M, Crudele A, Valenti L, Bellacchio E, et al. The KLB rs17618244 gene variant is associated with fibrosing MAFLD by promoting hepatic stellate cell activation. *EBioMedicine.* 2021;65:103249.
114. Kathiresan S, Willer CJ, Peloso G, Demissie S, Musunuru K, Schadt E, et al. Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. *Nat Genet.* 2009;41(1):56–65.
115. Lazarenko V, Churilin M, Azarova I, Klyosova E, Bykanova M, Ob'edkova N, et al. Comprehensive Statistical and Bioinformatics Analysis in the Deciphering of Putative Mechanisms by Which Lipid-Associated GWAS Loci Contribute to Coronary Artery Disease. *Biomedicines.* 2022;10(2):259.
116. Tardif JC, Rheaume E, Lemieux Perreault LP, Grégoire JC, Feroz Zada Y, Asselin G, et al. Pharmacogenomic determinants of the cardiovascular effects of dalcetrapib. *Circ Cardiovasc Genet.* 2015;8(2):372–82.
117. Rautureau Y, Deschambault V, Higgins M-È, Rivas D, Mecteau M, Geoffroy P, et al. ADCY9 (Adenylate Cyclase Type 9) Inactivation Protects From Atherosclerosis Only in the Absence of CETP (Cholesteryl Ester Transfer Protein). *Circulation.* 2018;138(16):1677–92.
118. Ebrahimi N, Asadikaram G, Mohammadi A, Jahani Y, Moridi M, Masoumi M. The association of endothelin-1 gene polymorphism and its plasma levels with hypertension and coronary atherosclerosis. *Arch Med Sci.* 2019;17(3):613–20.
119. Ponasenka A, Sinitskaya A, Sinitsky M, Khutornaya M, Barbarash O. The Role of Polymorphism in the Endothelial Homeostasis and Vitamin D Metabolism Genes in the Severity of Coronary Artery Disease. *Biomedicines.* 2023;11(9):2382.
120. Lee WS, Ham W, Kim J. Roles of NAD(P)H:quinone Oxidoreductase 1 in Diverse Diseases. *Life.* 2021;11(12):1301.
121. Sangkuhl K, Klein TE, Altman RB. Clopidogrel pathway. *Pharmacogenet Genomics.* 2010;20(7):463–5.
122. Gregory DJ, DeLoid GM, Salmon SL, Metzger DW, Kramnik I, Kobzik L. SON DNA-binding protein mediates macrophage autophagy and responses to intracellular infection. *FEBS Lett.* 2020;594(17):2782–99.

123. Zou S, Teixeira AM, Kostadima M, Astle WJ, Radhakrishnan A, Simon LM, et al. SNP in human ARHGEF3 promoter is associated with DNase hypersensitivity, transcript level and platelet function, and Arhgef3 KO mice have increased mean platelet volume. *PLoS One*. 2017;12(5):e0178095.
124. Yuan D, Shi X, Guo L, Wang G, Zhao Y, Yang Y, et al. Lower Platelet Aggregation Is a Risk Factor for Dual Antiplatelet Therapy-Associated Bleeding: A Preliminary Retrospective Study with Genotype Analysis. *Med Sci Monit*. 2020;26:e923758.
125. Arteche-López A, Ávila-Fernández A, Romero R, Riveiro-Álvarez R, López-Martínez MA, Giménez-Pardo A, et al. Sanger sequencing is no longer always necessary based on a single-center validation of 1109 NGS variants in 825 clinical exomes. *Sci Rep*. 2021;11(1):5697.
126. Choate LA, Koleilat A, Harris K, Vidal-Folch N, Guenzel A, Newman J, et al. Confirmation of Insertion, Deletion, and Deletion-Insertion Variants Detected by Next-Generation Sequencing. *Clin Chem*. 2023;69(10):1155–62.
127. Mozaffarian D, Benjamin EJ, Go AS, Arnett DK, Blaha MJ, Cushman M, et al. Heart Disease and Stroke Statistics-2016 Update: A Report From the American Heart Association. *Circulation*. 2016;133(4):e38–360.
128. Rodgers JL, Jones J, Bolleddu SI, Vanthenapalli S, Rodgers LE, Shah K, et al. Cardiovascular risks associated with gender and aging. *J Cardiovasc Dev Dis*. 2019;6(2):19.
129. Jalali A, Hassanzadeh A, Najafi MS, Nayebirad S, Dashtkoohi M, Karimi Z, et al. Predictors of major adverse cardiac and cerebrovascular events after percutaneous coronary intervention in older adults: a systematic review and meta-analysis. *BMC Geriatr*. 2024;24(1):337.
130. Held C, Hadziosmanovic N, Aylward PE, Hagström E, Hochman JS, Stewart RAH, et al. Body Mass Index and Association With Cardiovascular Outcomes in Patients With Stable Coronary Heart Disease – A STABILITY Substudy. *J Am Heart Assoc*. 2022;11(3):e023667.
131. Angiolillo DJ, Capodanno D, Danchin N, Simon T, Bergmeijer TO, ten Berg JM, et al. Derivation, Validation, and Prognostic Utility of a Prediction Rule for Nonresponse to Clopidogrel: The ABCD-GENE Score. *JACC Cardiovasc Interv*. 2020;13(5):606–17.
132. Schumacher T, Benndorf RA. ABC transport proteins in cardiovascular disease - A brief summary. *Molecules*. 2017;22(4):589.
133. Yu X-H, Tang C-K. ABCA1, ABCG1, and Cholesterol Homeostasis. *Adv Exp Med Biol*. 2022;1377:95–107.
134. Suresh R, Li X, Chiriac A, Goel K, Terzic A, Perez-Terzic C, et al. Transcriptome from circulating cells suggests dysregulated pathways associated with long-term recurrent events following first-time myocardial infarction. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;74:13–21.
135. Đukanović N, Obradović S, Zdravković M, Đurašević S, Stojković M, Tosti T, et al. Lipids and antiplatelet therapy: Important considerations and future perspectives. *Int J Mol Sci*. 2021;22(6):3180.
136. LeBlanc M, Zuber V, Andreassen BK, Witoelar A, Zeng L, Bettella F, et al. Identifying Novel Gene Variants in Coronary Artery Disease and Shared Genes with Several Cardiovascular Risk Factors. *Circ Res*. 2016;118(1):83–94.
137. Lewis JP, Backman JD, Reny JL, Bergmeijer TO, Mitchell BD, Ritchie MD, et al. Pharmacogenomic polygenic response score predicts ischaemic events and cardiovascular mortality in clopidogrel-treated patients. *Eur Hear J - Cardiovasc Pharmacother*. 2020;6(4):203–10.
138. Ingelman-Sundberg M, Pirmohamed M. Precision medicine in cardiovascular therapeutics: Evaluating the role of pharmacogenetic analysis prior to drug treatment. *J Intern Med*. 2024;295(5):583–98.

139. Galeazzi R, Olivieri F, Spazzafumo L, Rose G, Montesanto A, Giovagnetti S, et al. Clustering of ABCB1 and CYP2C19 Genetic Variants Predicts Risk of Major Bleeding and Thrombotic Events in Elderly Patients with Acute Coronary Syndrome Receiving Dual Antiplatelet Therapy with Aspirin and Clopidogrel. *Drugs and Aging*. 2018;35(7):649–56.
140. So D, Wells G, McPherson R, Labinaz M, Le May M, Glover C, et al. A prospective randomized evaluation of a pharmacogenomic approach to antiplatelet therapy among patients with ST-elevation myocardial infarction: The RAPID STEMI study. *Pharmacogenomics J*. 2016;16(1):71–8.
141. Park MW, Her SH, Kim CJ, Suncho J, Park GM, Kim TS, et al. Evaluation of the incremental prognostic value of the combination of CYP2C19 poor metabolizer status and ABCB1 3435 TT polymorphism over conventional risk factors for cardiovascular events after drug-eluting stent implantation in East Asians. *Genet Med*. 2016;18(8):833–41.
142. Jarrar Y, Lee S-J. The Functionality of UDP-Glucuronosyltransferase Genetic Variants and their Association with Drug Responses and Human Diseases. *J Pers Med*. 2021;11(6):554.
143. Ayuso P, Neary M, Chiong J, Owen A. Meta-analysis of the effect of CYP2B6, CYP2A6, UGT2B7 and CAR polymorphisms on efavirenz plasma concentrations. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(11):3281–90.
144. Zhu Q, Zhong W, Wang X, Mai L, He G, Chen J, et al. Pharmacokinetic and Pharmacogenetic Factors Contributing to Platelet Function Recovery After Single Dose of Ticagrelor in Healthy Subjects. *Front Pharmacol*. 2019;10:209.
145. Kahma H, Filppula AM, Neuvonen M, Tarkiainen EK, Tornio A, Holmberg MT, et al. Clopidogrel carboxylic acid glucuronidation is mediated mainly by UGT2B7, UGT2B4, and UGT2B17: Implications for pharmacogenetics and drug-drug interactions. *Drug Metab Dispos*. 2018;46(2):141–50.
146. Miyauchi Y, Takechi S, Ishii Y. Functional Interaction between Cytochrome P450 and UDP-Glucuronosyltransferase on the Endoplasmic Reticulum Membrane: One of Post-translational Factors Which Possibly Contributes to Their Inter-Individual Differences. *Biol Pharm Bull*. 2021;44(11):1635–44.
147. Attiq A, Afzal S, Ahmad W, Kandeel M. Hegemony of inflammation in atherosclerosis and coronary artery disease. *Eur J Pharmacol*. 2024;966:176338.
148. Liu X, Xu H, Xu H, Geng Q, Mak WH, Ling F, et al. New genetic variants associated with major adverse cardiovascular events in patients with acute coronary syndromes and treated with clopidogrel and aspirin. *Pharmacogenomics J*. 2021;21(6):664–72.
149. Chen X, Li W, Chang C. NR3C2 mediates oxidised low-density lipoprotein-induced human coronary endothelial cells dysfunction via modulation of NLRP3 inflammasome activation. *Autoimmunity*. 2023;56(1):2189135.
150. Yang G, Alarcon C, Chanfreau C, Lee NH, Friedman P, Nutescu E, et al. Investigation of genomic and transcriptomic risk factors in clopidogrel response in African Americans. *MedRxiv [Preprint]*. 2023;2023.12.05.23299140.
151. Zeggini E, Gloyne AL, Barton AC, Wain L V. Translational genomics and precision medicine: Moving from the lab to the clinic. *Science*. 2019;365(6460):1409–13.
152. Zhao C, Zhu P, Shen Q, Jin L. Prospective association of a genetic risk score with major adverse cardiovascular events in patients with coronary artery disease. *Med*. 2017;96(51):e9473.
153. Daly AK. Genome-wide association studies in pharmacogenomics. *Nat Rev Genet*. 2010;11(4):241–6.

AGRADECIMIENTOS



En primer lugar, me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a todos los pacientes que amablemente y de forma desinteresada dieron su consentimiento para participar en este estudio. Sin su colaboración y confianza, este proyecto de tesis doctoral no habría sido posible. Asimismo, me gustaría extender mi agradecimiento a los profesionales sanitarios de los diferentes centros y servicios que, de forma directa o indirecta, contribuyeron a la realización de este proyecto. En especial, a Jesús, cardiólogo que inició esta línea de investigación con su tesis en 2016 y cuyos resultados fueron fundamentales para sentar las bases de este trabajo.

En segundo lugar, quiero dar las gracias a mis directores de tesis por depositar su confianza en mí y por darme la oportunidad de trabajar bajo su tutela. Gracias a ambos por vuestra comprensión en los momentos más difíciles y por las oportunidades que me habéis brindado. Luisja, gracias por haberme dado esa primera oportunidad como alumna de máster en la Unidad de Genómica, por iniciarme en el mundo de la genómica, y por ponerme en contacto con Cristina. Cristina, gracias por haberme dado la oportunidad de formar parte de tu grupo de investigación, en un primer momento formando parte del proyecto europeo y, más adelante, ofreciéndome la posibilidad de realizar esta tesis doctoral. Muchas gracias por transmitirme tu pasión por la farmacogenética y por todo lo que me has enseñado a lo largo de este proceso.

Gracias mi tutor de tesis, Antonio Hernandez, por su disponibilidad, paciencia y amabilidad. Tus consejos a lo largo de todo el proceso me han servido de mucho.

Gracias a mis compañeras del grupo de farmacogenética, a Ana y Sonia, por los buenos consejos, por las risas compartidas y por lo que hemos aprendido juntas en el camino, tanto en lo profesional como en lo personal.

Dicho esto, hace unos días llegó a mi una frase que decía: “este año fui una persona difícil de acompañar, sin embargo, hubo quienes se quedaron”, y no puede tener más razón. La realización de una tesis siempre es un camino largo y complicado, pero también hay momentos buenos y personas que están ahí, haciendo el camino más fácil. Agradezco de forma muy especial a todos aquellos amigos/as con los que he compartido tan buenos momentos y que han sido parte de mi familia todos estos años.

Gracias a mi amiga Ana por aparecer en mi vida hace 10 años, por enseñarme tanto, por acompañarme en las duras y en las maduras y por ser ejemplo en tantos aspectos de la vida. ¿Quién me iba a decir a mí que ese día que me enseñaste la Unidad iba a ser el comienzo de una bonita amistad? Tantos viajes juntas, anécdotas, horas de laboratorio, confesiones al abrigo de un buen vermut (siempre de Saint Germain) o una cerveza, tardes de gym, noches de Ganivet o, más recientemente, videollamadas. Espero que sigamos compartiendo y celebrando muchos momentos juntas. Te quiero amiga.

Gracias a todos mis compañeros de la Unidad de Genómica de GENyO, Antonio, Belén, Espe, Clara, Elena, Juanmi, Vero, y todas aquellas personas que han rotado por allí en estos años, que no han sido pocas. Con ellos comencé esta etapa y, sin lugar a dudas, han marcado un punto de inflexión en mi vida y han hecho más llevadero los días de laboratorio. Nunca olvidaré todos los momentos que he vivido junto a vosotros, las risas, los ratos de cantina, los viernes de salir a desayunar fuera, y todo lo que hemos compartido fuera de Genyo. Muchas gracias por todos esos buenos ratos, ha sido un placer compartir esta etapa con vosotros.

Jose “Heavy”, muchas gracias por ser tan buen amigo y estar siempre disponible para una buena cerveza de esas que sirven para evadirse o para una llamada de emergencia en momentos de crisis. Junto con Alex, gracias por todas esas tardes de “vicios” (el resto, no seais mal pensados, que me refiero a billares y futbolines), días

de barbacoas y muchos muchos viernes de cervezas. Y gracias a ese grupo de “planes improvisados” o “miércoles de café y copas”, que aunque está un poco abandonado por circunstancias de la vida, hemos pasado muy buenos ratos juntos.

Paula, mi yogui, ¿qué sería de mi último año de vorágine sin mis clases de yoga de los lunes? Y, obviamente, esas charlas infinitas en nuestra esquina de Alhamar, tardes de cine en el Madrigal y esas quedadas improvisadas que nos sacamos de la manga. Me has enseñado mucho, a escucharme, a confiar en mis capacidades (que a veces ni yo misma sé de lo que soy capaz) y a comprender que hay muchas formas de ver y vivir la vida. Muchas gracias por ser y estar.

A mi “yoguis”, muchas gracias por todos esos lunes en la Petite en los que a veces Paula nos ha hecho “sufrir” y sudar de lo lindo cuando viene motivada, de todas las enseñanzas.

A mis “niñas del vino”, a las que conocí de manera fortuita en una cata de vino a la fui sola sin muchas expectativas. Pili, muchas gracias por todo, por los cafés en los que solo hablo yo porque necesito desahogarme, por las excursiones al campo, los miles de planes que tenemos en el tintero y que por falta de tiempo no hemos hecho (pero haremos), las risas y los viajes, y por tu manera tan calmada de ser, que aunque no lo creas, me ha ayudado mucho en muchos momentos. Sara, muchas gracias por ser tan espontánea y tan clara con tus ideas. Se te echa mucho de menos, aunque tus audios (casi podcast) siempre me sacan una sonrisa.

A mis compis del gym, y en especial a Francis. No sé si acabaré con un culo Do-It, pero lo que está claro es que las tardes de gimnasio han sido un oasis de paz al que poder acudir cada vez que tenía un mal día y donde se me ha olvidado todo.

A mis amigas de siempre, Carmen, Paola y Gloria. Aunque sea en la distancia y a través de llamadas, muchas gracias por estar ahí.

Y por último, pero no menos importante, a toda mi familia, en especial a mis padres que me apoyan en todo momento y saben impulsarme para perseguir mis sueños, aunque eso haya significado tenerme un poco lejos. A ellos, gracias por enseñarme los valores de la vida y por confiar en mí. Os quiero mucho.

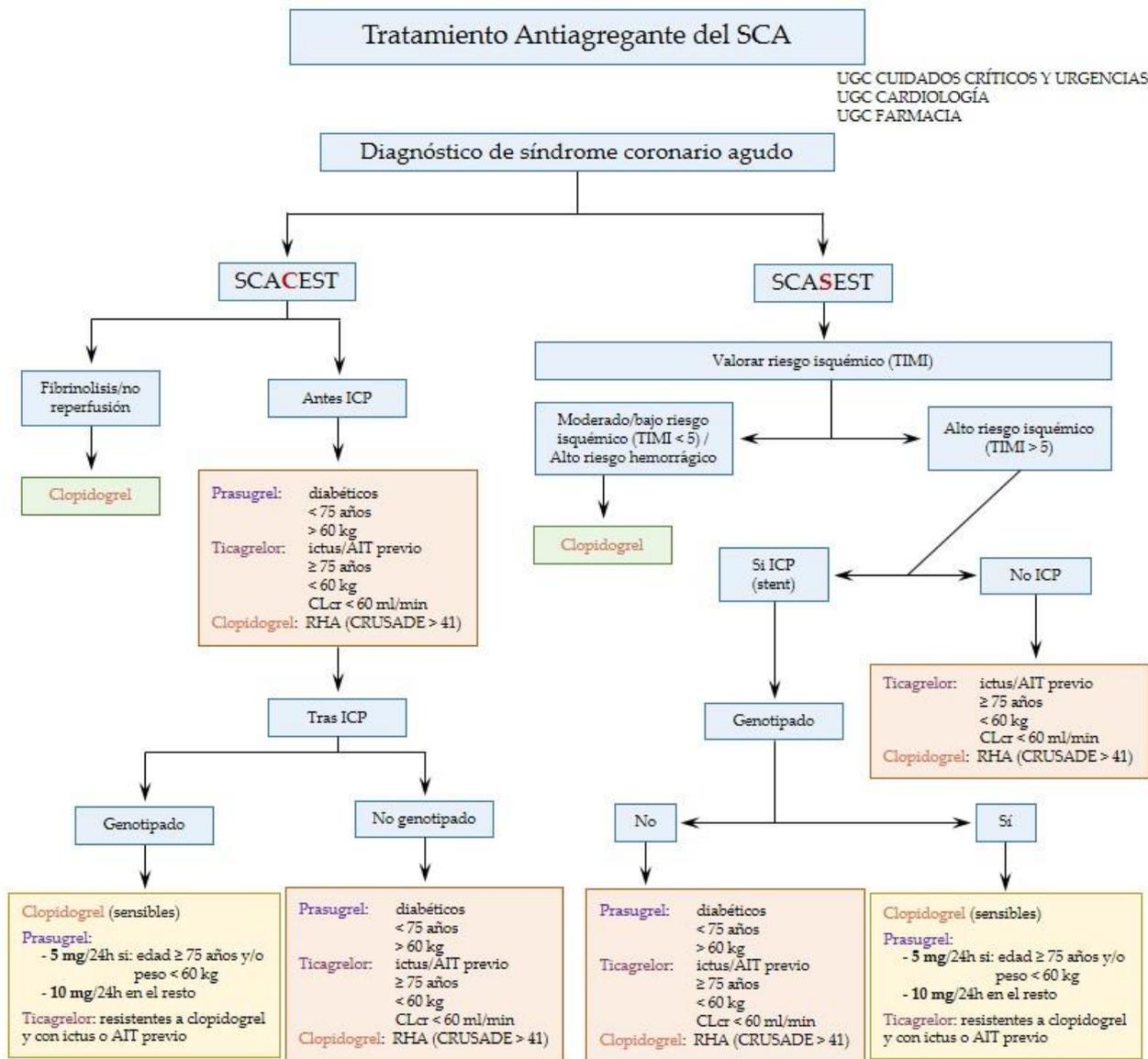
Gracias a mi hermano David, por estar siempre ahí para todo y por ser un “regustón”. Cuántos viajes, largas conversaciones y actividades hemos disfrutado juntos. Mucho ánimo en esta nueva etapa que comienzas y recuerda que siempre estaré ahí para ti. Te quiero mucho.

A todos vosotros, muchas gracias.

ANEXOS



Anexo I. Algoritmo de elección del tratamiento antagonista P2Y₁₂



Anexo II. Aprobación del comité de ética de investigación biomédica de la provincia de Granada para el estudio en pacientes con síndrome coronario agudo



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE IGUALDAD, SALUD Y POLÍTICAS SOCIALES

D. FIDEL FERNANDEZ QUESADA, EN CALIDAD DE PRESIDENTE DEL COMITÉ DE ÉTICA DE LA INVESTIGACIÓN BIOMEDICA DE LA PROVINCIA DE GRANADA (CEIM/CEI GRANADA)

C É R T I F I C A :

Que este Comité ha evaluado favorablemente el proyecto de investigación titulado: “Elaboración de un algoritmo de decisión que valore el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares empleando la tecnología NGS para conocer la respuesta a los antiagregantes plaquetarios en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent ” de Código peiba 1874-N-18, siendo el investigador principal del mismo D^a. Cristina Lucia Davila Fajardo del Servicio de Farmacia Hospitalaria el H. S. Cecilio -Campus de la Salud de Granada considerando que,

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el proyecto.

Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.

Lo que firmo en Granada a catorce de diciembre de dos mil dieciocho.


Fdo.: Fidel Fernández Quesada



Anexo III. Hoja de información al paciente y consentimiento informado para el estudio en pacientes con síndrome coronario agudo

UGC FARMACIA - HOSPITALES GRANADA



Servicio Andaluz de Salud
CONSEJERÍA DE SALUD



PFIZER-UNIVERSIDAD DE GRANADA-JUNTA DE ANDALUCÍA
CENTRE FOR GENOMICS AND ONCOLOGICAL RESEARCH

DOCUMENTO DE INFORMACIÓN PARA EL PROYECTO: Elaboración de un algoritmo de decisión que valore el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares empleando la tecnología NGS para conocer la respuesta a los antiagregantes plaquetarios en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent:

EN QUE CONSISTE: Las UGC de Farmacia (Hospital Virgen de las Nieves) y Cardiología (Hospital San Cecilio) de Granada, en colaboración con el distrito metropolitano de atención primaria y el centro de investigación GenYo, todos ellos conocedores de la gran variabilidad en la respuesta a los medicamentos y en la predisposición a la aparición de enfermedades cardiovasculares dependiendo de la genética de los pacientes, están realizando un estudio genético a fin de identificar nuevas variaciones en nuestros ADN capaces de predecir una mayor o menor predisposición a sufrir una enfermedad cardiovascular o una respuesta diferente a la normal para los medicamentos utilizados frente este tipo de enfermedades.

Siendo usted una persona sana, que no padece ningún tipo de enfermedad cardiovascular, mayor de edad, es candidata/o a participar en este estudio como individuo del grupo "CONTROL".

Le pedimos su autorización para tomarle una muestra de saliva y estudiar su material genético, a partir del cual comparando su ADN y el de otros individuos sanos, con el ADN de pacientes que hayan sufrido algún tipo de evento cardiovascular importante, podríamos conocer nuevas pequeñas variaciones genéticas responsables de las diferencias interindividuales en la aparición de enfermedades cardiovasculares y en la respuesta a medicamentos utilizados en el tratamiento de estas patologías.

COMO SE REALIZA: Este estudio genético se realiza a través de una muestra de saliva, que se recoge con una torunda (una especie de *Chupachups* pequeño). Además, se le solicitará que, una vez tomada la muestra de saliva, la realización de una serie de pruebas: Ecocardiograma, ECG, prueba de esfuerzo, medidas de presión arterial y una analítica sanguínea (bioquímica normal). Una vez donada esta muestra de saliva y realizadas estas pruebas no se requerirá que realice ningún tipo de seguimiento.

QUE EFECTOS LE PRODUCIRÁ: Ninguno

EN QUÉ LE BENEFICIARÁ: Una vez finalizado el estudio, en caso de que usted sea portador de alguna de las variaciones genéticas asociadas a un mayor riesgo cardiovascular o una respuesta diferente a la normal frente alguno de los medicamentos utilizados contra estas enfermedades, pondremos esta información a su disposición.

OTRAS ALTERNATIVAS EN SU CASO: Usted es un individuo sano, puede decidir libremente participar o no en este estudio.

QUÉ RIESGOS TIENE: Ninguno

OTRA INFORMACIÓN: La muestra quedará en el banco de muestras para utilizarla en otras investigaciones (registrada en el registro nacional de biobancos como colección privada), salvo que usted manifieste de manera específica lo contrario.

Si requiere información adicional se puede poner en contacto con nuestro personal de Farmacia en el teléfono: 958 020371

CONSENTIMIENTO INFORMADO – CONSENTIMIENTO POR ESCRITO DEL PACIENTE

Yo (Nombre y Apellidos):.....

- **He leído el documento informativo que acompaña a este consentimiento (Información al Paciente)**

He podido hacer preguntas sobre el estudio “Elaboración de un algoritmo de decisión que valore el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares empleando la tecnología NGS para conocer la respuesta a los antiagregantes plaquetarios en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent”

He recibido suficiente información sobre el estudio “Elaboración de un algoritmo de decisión que valore el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares empleando la tecnología NGS para conocer la respuesta a los antiagregantes plaquetarios en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent”

He hablado con el profesional sanitario informador: SONIA GARCÍA RODRÍGUEZ

Comprendo que mi participación es voluntaria y soy libre de participar o no en el estudio.

- **Se me ha informado que todos los datos obtenidos en este estudio serán confidenciales y se tratarán conforme establece la Ley Orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal 15/99 y el Reglamento (UE) 2016/679 del Parlamento europeo y del Consejo de 27 de abril de 2016 de Protección de Datos (RGPD).**
- **Se me ha informado de que la donación/información obtenida sólo se utilizará para los fines específicos del estudio.**
- **Deseo ser informado/a de mis datos genéticos y otros de carácter personal que se obtengan en el curso de la investigación, incluidos los descubrimientos inesperados que se puedan producir, siempre que esta información sea necesaria para evitar un grave perjuicio para mi salud o la de mis familiares biológicos.**
Sí No
- **Acepto la utilización de la muestra en futuros proyectos de investigación relacionados o no con la enfermedad o proceso.**
- **Comprendo que puedo retirarme del estudio:**
 - Cuando quiera
 - Sin tener que dar explicaciones
 - Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos

Presto libremente mi conformidad para participar en el proyecto “Elaboración de un algoritmo de decisión que valore el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares empleando la tecnología NGS para conocer la respuesta a los antiagregantes plaquetarios en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent”

Firma del paciente

Firma del profesional sanitario informador (o representante legal en su caso)

Nombre y apellidos:.....

Nombre y apellidos:

Fecha:

Fecha:

Revocación del Consentimiento informado

Yo, D./Dña. _____ revoco el consentimiento informado otorgado para el estudio "Elaboración de un algoritmo de decisión que valore el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares empleando la tecnología NGS para conocer la respuesta a los antiagregantes plaquetarios en pacientes con SCA sometidos a ICP con implantación de stent"

Solicito:

Revocación total: las muestras biológicas e información asociada serán destruidas excepto aquellas que ya hayan sido utilizadas en proyectos.

Revocación parcial: solicito que mis muestras NO sean utilizadas para para la/s siguiente/s finalidad/es:

Investigación

Docencia

Calidad

Firma del paciente

Firma del profesional sanitario informador (o representante legal en su caso)

Nombre y apellidos:.....

Nombre y apellidos:..... Fecha:

.....

Fecha:

Anexo VII. Publicaciones derivadas de esta Tesis Doctoral

Artículo publicado

Antúnez-Rodríguez A, García-Rodríguez S, Pozo-Agundo A, Sánchez-Ramos JG, Moreno-Escobar E, Triviño-Juárez JM, Martínez-González LJ, Dávila-Fajardo CL. *Targeted next-generation sequencing panel to investigate antiplatelet adverse reactions in acute coronary syndrome patients undergoing percutaneous coronary intervention with stenting*. Thromb Res. 2024 Aug;240:109060. doi: 10.1016/j.thromres.2024.109060. Epub 2024 Jun 6. Pubmed PMID: 38875847. Factor de impacto: 3.7 (Q1, Peripheral vascular disease, 21/96).

Comunicación científica

Antúnez-Rodríguez A, García-Rodríguez S, Pozo-Agundo A, Sánchez-Ramos JG, Moreno-Escobar E, Triviño-Juárez JM, Martínez-González LJ, Dávila-Fajardo CL. *Identificación de polimorfismos UGT2B7 asociados a la respuesta al clopidogrel en pacientes con síndrome coronario agudo mediante un panel personalizado*. 69 Congreso Nacional de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria (SEFH). 2024. A Coruña (España). Participativo – Póster.

Anexo VIII. Otras publicaciones en farmacogenética

Castaño-Amores C, Antúnez-Rodríguez A, Pozo-Agundo A, García-Rodríguez S, Martínez-González LJ, Dávila-Fajardo CL. *Genetic polymorphisms in ADRB1, ADRB2 and CYP2D6 genes and response to beta-blockers in patients with acute coronary syndrome*. Biomed Pharmacother. 2023 Dec 31;169:115869. doi: 10.1016/j.biopha.2023.115869. Epub 2023 Nov 10. Pubmed PMID: 37952358. Factor de impacto: 6.9 (D1, Pharmacology & pharmacy, 15/354).

Swen JJ, van der Wouden CH, Manson LE, Abdullah-Koolmees H, Blagec K, Blagus T, Böhringer S, Cambon-Thomsen A, Cecchin E, Cheung KC, Deneer VH, Dupui M, Ingelman-Sundberg M, Jonsson S, Joefield-Roka C, Just KS, Karlsson MO, Konta L, Koopmann R, Kriek M, Lehr T, Mitropoulou C, Rial-Sebbag E, Rollinson V, Roncato R, Samwald M, Schaeffeler E, Skokou M, Schwab M, Steinberger D, Stingl JC, Tremmel R, Turner RM, van Rhenen MH, Dávila Fajardo CL, Dolžan V, Patrinos GP, Pirmohamed M, Sunder-Plassmann G, Toffoli G, Guchelaar HJ; Ubiquitous Pharmacogenomics Consortium. *A 12-gene pharmacogenetic panel to prevent adverse drug reactions: an open-label, multicentre, controlled, cluster-randomised crossover implementation study*. Lancet. 2023 Feb 4;401(10374):347-356. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01841-4. Pubmed PMID: 36739136.

Factor de impacto: 98.4 (D1, Medicine, general & internal, 1/329).

Anexo IX. Material suplementario

Tabla Suplementaria 1. Anotación de los 25 principales SNPs identificados en el análisis de asociación para el desarrollo de MACEs, ajustado por edad, sexo y componentes principales.

ID	CHR	POS	REF	ALT	GEN	Func.	EAF	p-valor	Beta	SD
rs2472434	9	107623249	A	C	<i>ABCA1</i>	intronic	0.27	0.00010	-0.9247	0.2379
rs17618244	4	39448529	G	A	<i>KLB</i>	exonic	0.25	0.00034	0.8324	0.2321
rs114193458	2	20989039	C	T	<i>LDAH</i>	intronic	0.02	0.00049	2.4387	0.6996
rs3827066	20	44586023	C	T	<i>ZNF335</i>	intronic	0.19	0.00060	0.8669	0.2526
rs2659122	19	51363026	C	T	<i>KLK3</i>	UTR3	0.30	0.00066	0.7246	0.2127
rs2472433	9	107623326	C	T	<i>ABCA1</i>	intronic	0.24	0.00136	-0.7751	0.2419
rs2455069	19	51728641	A	G	<i>CD33</i>	exonic	0.43	0.00162	-0.6172	0.1958
rs35141404	10	112404302	G	A	<i>RBM20</i>	exonic	0.19	0.00182	-0.7724	0.2477
rs2409653	8	10677792	T	C	<i>PINX1</i>	intronic	0.08	0.00183	1.1410	0.3661
rs2472378	9	107623570	G	T	<i>ABCA1</i>	intronic	0.24	0.00206	-0.7452	0.2419
rs7517389	1	230910339	G	A	<i>CAPN9</i>	exonic	0.05	0.00222	-1.4413	0.4712
rs2230064	7	154667643	G	A	<i>DPP6</i>	exonic	0.34	0.00229	0.6161	0.2021
rs2713731	3	158416973	A	T	<i>RARRES1</i>	intronic	0.03	0.00248	1.7928	0.5925
rs2228606	1	109878903	C	G	<i>SORT1</i>	exonic	0.02	0.00272	-2.4123	0.8047
rs6979218	7	99893148	C	G	<i>CASTOR3-SPDYE3</i>	intergenic	0.27	0.00297	0.6660	0.2242
rs57593250	8	141460918	C	T	<i>TRAPPC9</i>	exonic	0.09	0.00309	-1.0083	0.3408
rs61739560	8	141461074	A	G	<i>TRAPPC9</i>	exonic	0.09	0.00309	-1.0083	0.3408
rs116142311	2	239013472	G	A	<i>ESPNL</i>	exonic	0.02	0.00319	1.9999	0.6783
rs2487058	9	107623626	C	T	<i>ABCA1</i>	intronic	0.24	0.00354	-0.7266	0.2492
rs3796529	4	57797414	C	T	<i>REST</i>	exonic	0.19	0.00402	0.7104	0.2470
rs1058205	19	51363398	C	T	<i>KLK3</i>	UTR3	0.18	0.00407	0.7101	0.2472
rs2920676	8	6302671	C	T	<i>MCPH1</i>	exonic	0.04	0.00414	-1.3839	0.4827
rs72795149	16	73068495	G	A	<i>ZFH3</i>	intronic	0.05	0.00449	1.1497	0.4046
rs2002977	19	41350594	G	A	<i>CYP2A6</i>	exonic	0.06	0.00465	1.1568	0.4088
rs6125402	20	47244450	G	A	<i>PREX1</i>	exonic	0.13	0.00470	-0.8027	0.2839

Las coordenadas de las variantes están codificadas para el genoma hg19 (GRCh37). La frecuencia alélica se corresponde a la población europea, según gnomAD genomes v3.1.2. Abreviaturas: ID, identificador del polimorfismo; CHR, cromosoma; POS, posición; REF, alelo de referencia; ALT, alelo alternativo; Func, efecto funcional; EAF, frecuencia alélica de efecto (*effect allele frequency*); Beta (β), coeficiente beta correspondiente a la medida de magnitud del efecto (*effect size*); SD, desviación estándar (*standard deviation*).

