

IDENTIFICACIÓN DE VARIANTES GENÉTICAS EN GENES IMPLICADOS EN LA FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINAMIA DEL CLOPIDOGREL EN EL TRATAMIENTO ANTIAGREGANTE PLAQUETARIO DE ENFERMEDAD CARDIOVASCULAR

VIGILADO Por el Ministerio de Educación Nacional

Hayler Edu Ibarra Arcila, Ana Victoria Valencia Duarte, Cristian Velarde, Liliana Franco, Natalia Gallego, Carlos Martínez, Clara Saldarriaga, Juan Pablo Isaza

CLÍNICA CARDIOVID

Universidad Pontificia Bolivariana

UNIVERSIDAD DE ANTIIOQUIA

MINISTERIO DE CIENCIA, TECNOLOGÍA E INNOVACIÓN

Curso Práctica Profesional Farmacogenética. Autor de correspondencia anavictoria.valencia@upb.edu.co

INTRODUCCIÓN

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la enfermedad con mayor porcentaje de muertes al año en Colombia y el mundo. Se identificó que entre 1993 y 2017 hubo un aumento progresivo en las muertes por enfermedad cardiovascular (Fig.1) (1).

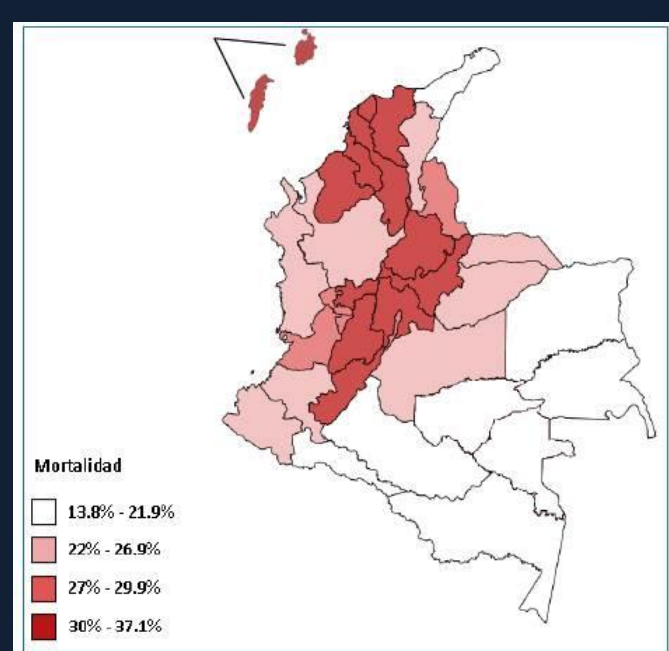
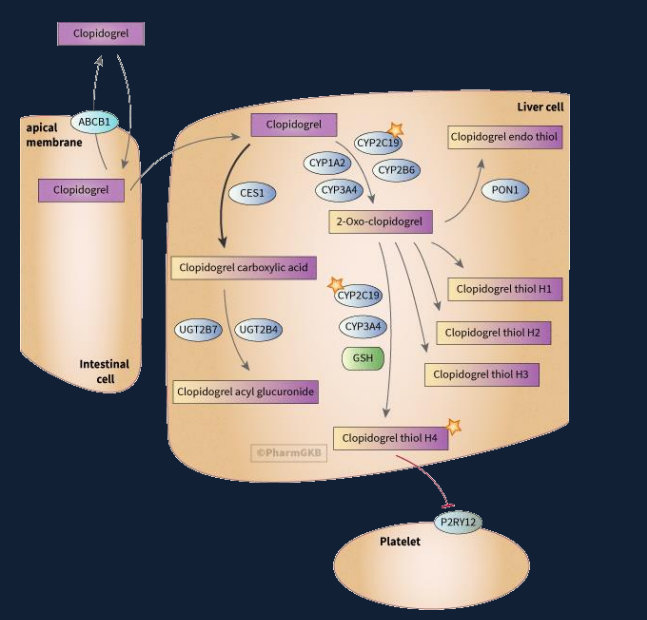


Fig 1. Georeferenciación aumento de la mortalidad por ECV en Colombia 1993-2017 (4)

El tratamiento antiagregante plaquetario con clopidogrel y aspirina es la terapia de referencia en la prevención secundaria de eventos cardiovasculares. El clopidogrel es un profármaco que debe ser activado en el hígado para que su metabolito activo inhiba la reactividad plaquetaria. Existe gran variabilidad interindividual, en la que una inadecuada inhibición plaquetaria aumenta el riesgo de nuevos eventos cardiovasculares y un exceso de inhibición genera eventos de sangrado, en ambos casos se pone en riesgo la vida de los pacientes. La respuesta al clopidogrel es un rasgo multifactorial, en el que los factores genéticos juegan un papel fundamental(2) (3).

Se han identificado variantes genéticas involucradas en la respuesta al clopidogrel, algunas de ellas, con un papel demostrado en la farmacocinética del profármaco (fig. 2), sin embargo, en pacientes de población colombiana, estas variantes no responden por la mayoría de los eventos recurrentes (trabajos previos del grupo). Es necesario identificar la variación genética en los genes implicados en la farmacocinética y farmacodinamia del clopidogrel propia de nuestra población, como base para la aplicación de la medicina de precisión en enfermedades cardiovasculares.

Fig. 2 Biotransformación del clopidogrel y los genes involucrados en la absorción, metabolismo y farmacocinética del metabolito activo.



1. Díaz-Realpe JE, Muñoz-Martínez J, Sierra-Torres CH. Cardiovascular disease risk factors in people working at a Colombian health institution. Rev Salud Publica. 2007;9(1):64-75.
2. Xi-Ling J, Snehal S, Lawrence JL, Schmidt S. Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Clopidogrel. Clin Pharmacokinet. 2015;54(2):147-66.
3. Snoep JD, Hovens MMC, Eikenboom JCJ, van der Bom JG, Jukema JW, Huisman M V. Clopidogrel Nonresponsiveness In Patients Undergoing Percutaneous Coronary Intervention With Stenting: A Systematic Review And Meta-Analysis. Am Heart J. 2007;154(2):221-31.
4. Mortality from Cardiovascular Diseases in Colombia. An analysis of public policies [georeferenciación del porcentaje promedio de mortalidad por ECV, Colombia 1993-2017. Barranquilla, Salud Uninorte, 2020.

MÉTODOS

Cohorte de pacientes con síndrome coronario agudo (SCA) temprano captados en un centro de referencia de la ciudad de Medellín. Los pacientes recibieron una dosis carga de clopidogrel y al menos 4 horas después se les tomó una muestra de sangre periférica para la medición de agregación plaquetaria residual en respuesta al clopidogrel por y para extraer su ADN.

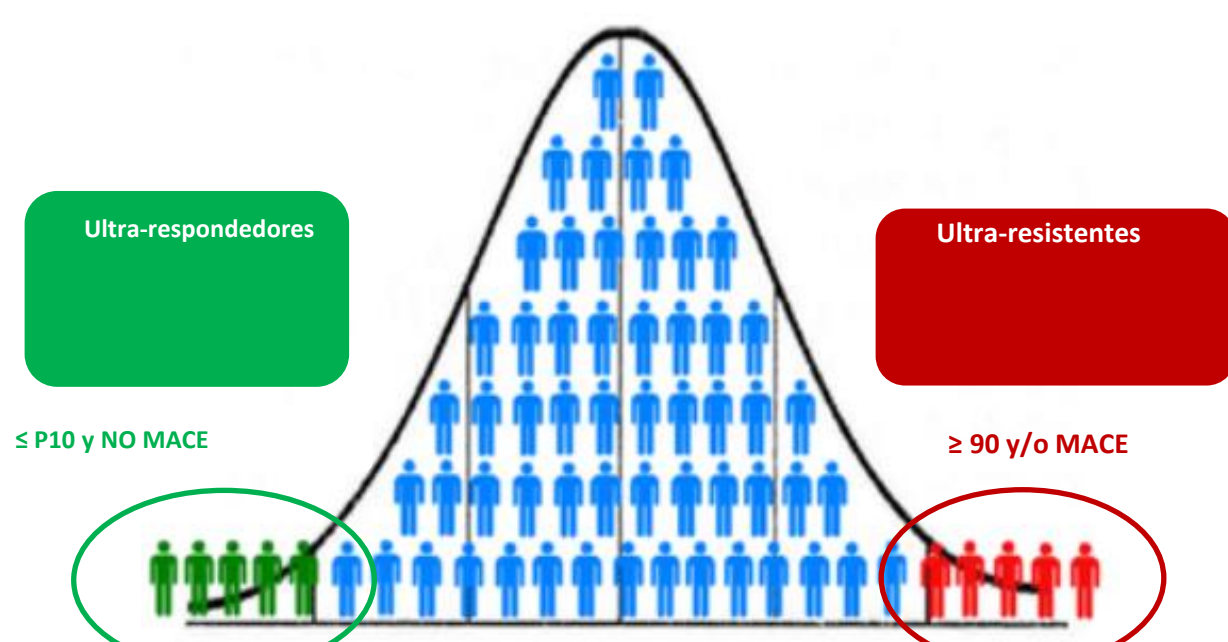


Fig. 3. Fenotipos extremos para la respuesta a la reactividad plaquetaria en respuesta al clopidogrel.

Se clasificaron los individuos como ultra respondedores y ultra-resistentes al clopidogrel, de acuerdo a su reactividad plaquetaria y a la presencia de nuevos eventos.

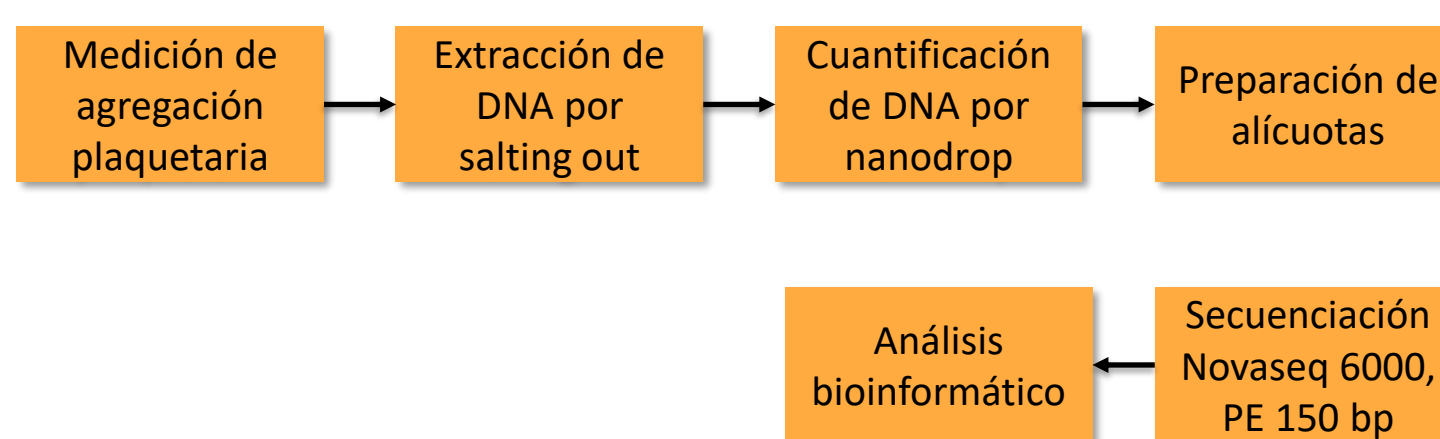


Fig 4. Flujo de trabajo para procesamiento y análisis de muestras de pacientes

Se realizó extracción de DNA por salting-out, cuantificación de DNA por Nanodrop. Se realizó secuenciación de exoma completo en la plataforma Novaseq 6000, PE 150 bp (Fig 4).

Se emplearon las herramientas bioinformáticas descritas (figura 5) para la evaluación de calidad de las secuencias, edición, mapeo y anotación de variantes en los genes candidatos descritos en la figura 2.

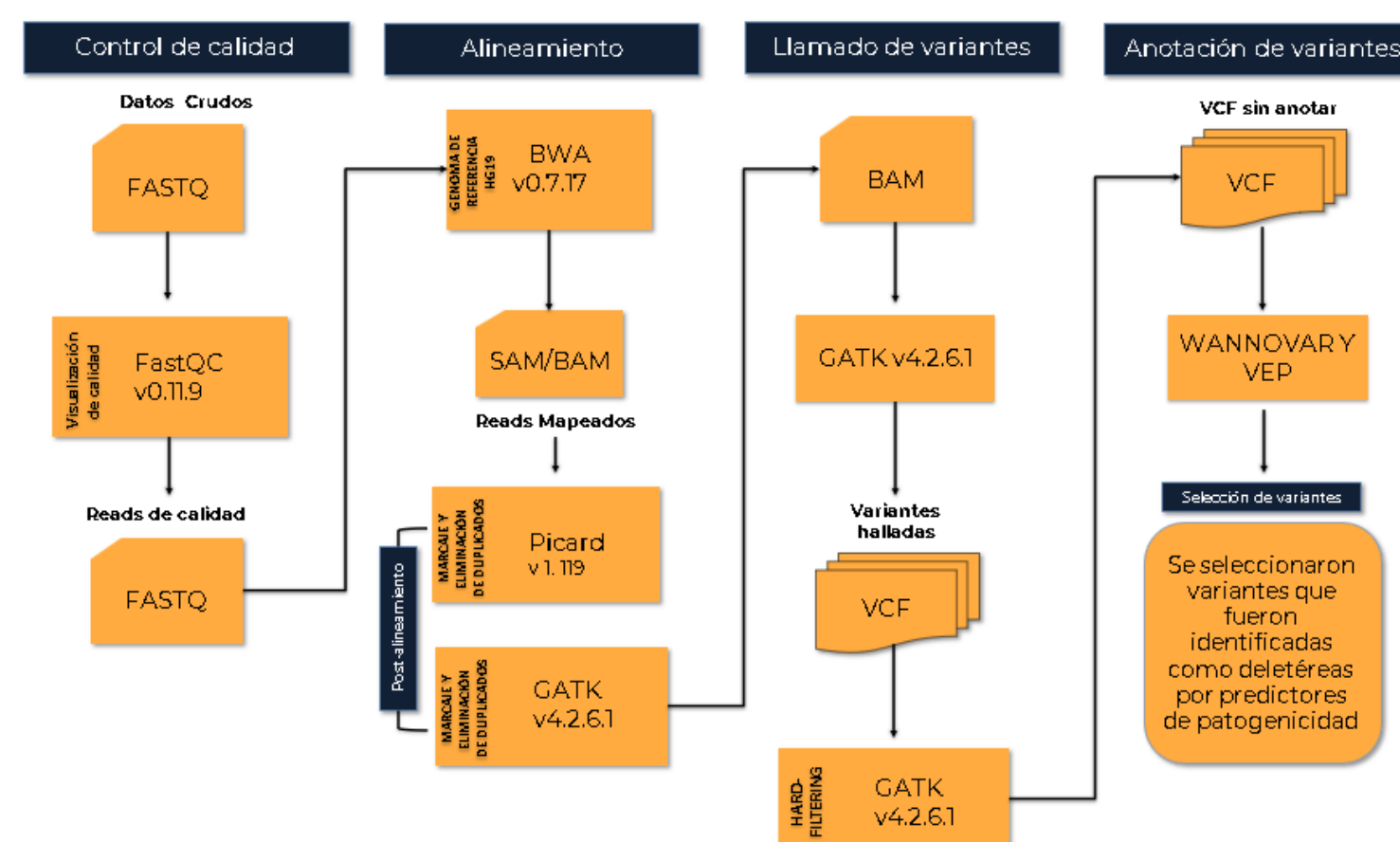


Fig 5. Flujo de trabajo anotación de variantes

RESULTADOS

Tabla 1. Características fenotípicas de los grupos de pacientes

Característica	Resistentes clopidogrel	Respondedor clopidogrel
Edad	56.1(5.7)	51.7(4.5)
Sexo (%Hombres)	45	91.7
Frecuencia Reincidencia de eventos cardiovasculares (%MACE)	5	0
% Reactividad plaquetaria en respuesta a ADP	79 (7.8)	21(8.3)
% Reactividad plaquetaria en respuesta al AAS	17.2 (16.2)	6.0(10.5)
Cuento Plaquetario (103/mm3)	271(84.9)	249(32.5)
Colesterol Total	213.9(42.5)	204.1(34.6)
Triglicéridos	158.3(63.1)	177.7(71.7)
Colesterol HDL	37.8(8.6)	32.6(7.8)
Colesterol LDL	144.5(36.7)	136.0(30.7)
Creatinina ((mg/dL)	0.76(0.19)	0.82(0.10)
Hemoglobina Glicada	6.3(1.7)	5.5(0.25)
IMC	23.3(1.7)	25.7(2.2)

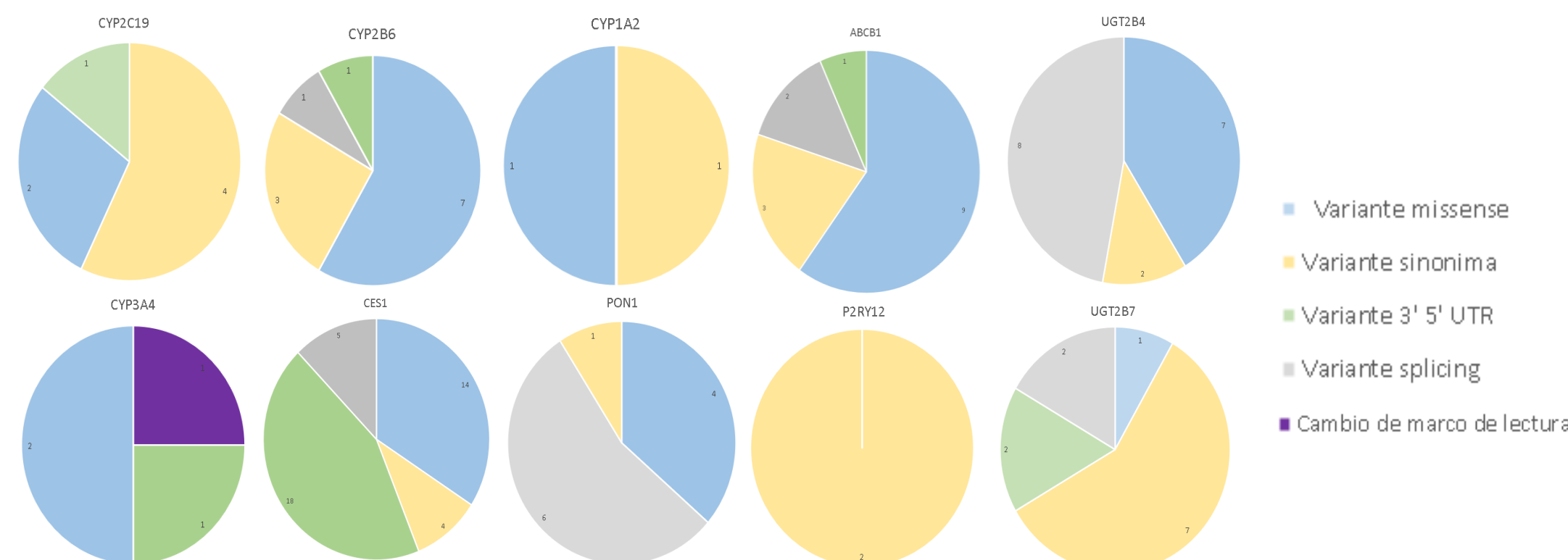


Figura 5. Tipos de variantes identificadas en genes candidatos: sin sentido (azul), sinónima (amarillo) splicing (verde), 3' 5' UTR (gris), cambio del marco de lectura (morado).

Tabla 2. Anotación de variantes en genes candidatos

Gen	Variante	Tipo de cambio	Frec en Resistentes	Frec en Respondedores	P value	ATH	pres	LRT	pred	MutAss	MutTa	s	P2	HDIV	P2	HVAR	SIFT pred	SP DS	SP DS	SP DS	SP DS	SP DS	SP DS	SP DS	SP DS
CYP2C19	rs17894712	variante pérdida de sentido	0.0278	0.0000	0.600	T	-	U	M	N	H	D	P	B	T	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs2442875	variante sinónima	0.03	0.17	0.427	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.28	0.28	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs135591605	variante pérdida de sentido	0.00	0.00	0.600	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.15	0.15	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
ABCB1	rs1395931317	variante pérdida de sentido	0.00	0.04	0.400	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs2032582	variante pérdida de sentido	0.00	0.25	0.649	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs2291109	variante pérdida de sentido	0.00	0.00	0.600	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs5852620	variante pérdida de sentido	0.00	0.00	0.600	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs58375387	variante pérdida de sentido	0.00	0.04	0.400	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.01	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs59241388	variante pérdida de sentido	0.00	0.04	0.400	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
CES1	rs2825264	variante pérdida de sentido	0.00	0.04	0.400	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs114119971	variante pérdida de sentido	0.00	0.00	0.600	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs115629050	variante pérdida de sentido	0.06	0.04	0.650	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.01	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs144498758	variante pérdida de sentido	0.03	0.00	0.600	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs2307227	variante pérdida de sentido	0.06	0.04	0.650	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs3826190	variante pérdida de sentido	0.25	0.21	0.480	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
CYP2B6	rs62028647	variante pérdida de sentido	0.28	0.29	0.566	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.06	
	rs71647871	variante pérdida de sentido	0.00	0.04	0.400	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs1927209	variante pérdida de sentido	0.06	0.00	0.356	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
CYP3A4	rs28399499	variante pérdida de sentido	0.06	0.00	0.356	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
	rs4898910	variante pérdida de sentido	0.06	0.08	0.528	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	
PON1	CM971236	variante pérdida de sentido	0.14	0.13	0.598	T	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

CONCLUSIONES

Se observó una gran variabilidad genética en los genes estudiados, 21 variantes fueron caracterizadas como patogénicas con un efecto deletéreo sobre la función o expresión de la proteína codificada y por lo tanto, con potencial efecto sobre la respuesta al clopidogrel.

El presente estudio es una primer fase de descripción de la variación con potencial efecto en la respuesta al medicamento, por lo tanto, no esperamos encontrar diferencias estadísticamente significativas entre los grupos de comparación, se realizará un estudio analítico con una muestra más amplia en el que se espera encontrar un grupo de estas variantes genéticas que permitan una adecuada clasificación entre respondedores y no-respondedores al clopidogrel.