



UNIVERSIDAD DE VALLADOLID
FACULTAD DE MEDICINA – HOSPITAL CLÍNICO
UNIVERSITARIO DE VALLADOLID
Grado en Medicina

Influencia de los polimorfismos CYP2C19 en la respuesta de la enfermedad por reflujo gastroesofágico a los IBPs

Autor:

Carlota Gordaliza Pastor

Tutor:

Luis I. Fernández Salazar

Servicio de Aparato Digestivo del HCUV

Dpto. Medicina, Dermatología y Toxicología – Universidad de
Valladolid

Valladolid, junio de 2018

ÍNDICE

- Resumen
- 1. Introducción
- 2. Objetivos
- 3. Material y métodos
 - 3.1. Estudio genético
 - 3.2. Análisis estadístico
- 4. Resultados
- 5. Discusión
- 6. Conclusiones
- 7. Bibliografía

Agradecimientos:

Dr. JA Garrote Adrados, Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Río Hortega (HURH) de Valladolid.

Dra. Alcaide, Dra. Alonso, Dra. Lorenzo y Dra. Macho, Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV).

Este Trabajo Fin de Grado se ha desarrollado en el marco de un proyecto de Beca de Colaboración concedida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte (Anexo 4).

RESUMEN

Introducción: En pacientes con enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) se ha demostrado una asociación entre la pobre respuesta al tratamiento con inhibidores de la bomba de protones (IBPs) y la presencia de polimorfismos en el enzima CYP2C19.

Objetivos: Se pretende caracterizar el impacto de las mutaciones en CYP2C19 en la respuesta a los IBPs de los pacientes con ERGE para poder llevar a cabo un tratamiento más dirigido y personalizado de la misma.

Material y métodos: Se incluyeron 54 pacientes con diagnóstico de ERGE en base al cuestionario GerdQ evaluados de forma consecutiva desde agosto hasta diciembre de 2017 en la consulta de Digestivo del HCUV. Se analizó la presencia de mutaciones en CYP2C19 en 33 de ellos. Se estudió la relación de estas mutaciones y diferentes variables clínicas y epidemiológicas con la respuesta clínica al tratamiento con IBPs prescrito en los 22 pacientes que presentaban una puntuación de GerdQ>7 y pirosis más de 4 días a la semana.

Resultados: Los síntomas dispépticos (6 -85,7%- vs. 4 -26,7%-; $p=0,015$) y la mutación CYP2C19*17 (6 -85,7%- vs. 6 -40%-; $p=0,059$) fueron significativamente más prevalentes en el grupo de no respondedores que en los respondedores. En un análisis de regresión uni y multivariante se ha comprobado que la presencia de síntomas dispépticos (OR 16,5; IC 1,5–183; $p=0,022$), la mutación CYP2C19*17 (OR 9; IC 0,9–94,9; $p=0,068$) y un fracaso a un tratamiento previo con IBPs (OR 8,7; IC 1,1–71,6; $p=0,045$) predicen una falta de respuesta a los IBPs independientemente de la edad, el sexo y el IMC. Además, para el caso concreto de la presencia de síntomas dispépticos esta relación es también independiente de la mutación CYP2C19*17, de un fracaso a un tratamiento previo o del tipo de IBP utilizado ($p<0,08$).

Conclusión: La coexistencia de síntomas dispépticos con el RGE típico y la presencia de mutaciones en el gen CYP2C19 están asociadas a la ERGE refractaria. Estos hallazgos sugieren que ambos factores pueden ser empleados como elementos predictores de la respuesta al tratamiento con IBPs de cara a realizar un manejo de la ERGE más personalizado que permita reducir el gasto sanitario generado por esta patología en la actualidad.

Palabras clave: ERGE refractaria, IBPs, CYP2C19, síntomas dispépticos.

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad por reflujo gastroesofágico (en adelante ERGE) constituye una de las principales patologías que afectan al aparato digestivo. Se define como los síntomas o las complicaciones resultantes del reflujo del contenido gástrico al esófago, aunque puede comprometer a la cavidad oral, laringe, o los pulmones. Se subdivide en dos formas en función de la presencia o no de erosiones esofágicas en el examen endoscópico: la no erosiva (ERNE) y la erosiva (ERE) (1). Su importancia se deriva de su elevada prevalencia, en torno al 15% de la población general, y de las repercusiones que ocasiona en la calidad de vida del paciente así como del impacto económico que genera en cuanto al número de consultas médicas, exploraciones realizadas y tratamientos. Actualmente, el grupo de fármacos más empleado para su tratamiento son los inhibidores de la bomba de protones (en adelante IBPs) cuyo consumo, desde el año 2000 a 2012, se incrementó en un 500% según la Agencia Española del Medicamento y Productos sanitarios (AEMPS) y en el momento actual es uno de los grupos terapéuticos más prescritos en España. El pronóstico del paciente está determinado tanto por el grado de severidad de la ERGE como por la respuesta al tratamiento con IBPs. En relación a esto, recientemente se ha observado la influencia del metabolismo hepático de los IBPs por el sistema del citocromo P450 en la efectividad del tratamiento de la ERGE, siendo los polimorfismos que afectan al enzima CYP2C19 los principales responsables de las diferencias interindividuales en la farmacocinética y farmacodinamia de los IBPs. CYP2C19 está involucrado en el primer paso del metabolismo de todos los IBPs y, debido a que sus metabolitos no tienen efecto inhibitorio de la secreción ácida, el efecto terapéutico depende fundamentalmente de los niveles plasmáticos de IBP, los cuales están determinados por la actividad de CYP2C19. Se han identificado diferentes mutaciones genéticas que afectan a este enzima, siendo la combinación de tres mutaciones la responsable de la mayor parte de las diferencias interindividuales en la actividad de CYP2C19; CYP2C19*2 en el exón 5, CYP2C19*3 en el exón 4 y CYP2C19*17 (2).

Los alelos *2 y *3 provocan una pérdida de función del enzima; por ello, los fenotipos resultantes se clasifican generalmente en tres grupos genotípicos: metabolizadores rápidos (MR: *1/*1), metabolizadores intermedios (IM: *1/*X) y

metabolizadores lentos (ML: *X/*X), donde *1 representa el alelo *wild type* y *X representa el alelo mutado. Los niveles plasmáticos de IBP difieren entre los distintos grupos genotípicos descritos, alcanzando concentraciones mayores y durante más tiempo en el caso de los metabolizadores lentos en comparación con los rápidos. Por otro lado, la presencia del alelo 17* mutado provoca un incremento en la función del enzima, dando lugar a la existencia de metabolizadores ultrarrápidos si la mutación se encuentra en ambos alelos, es decir, en homocigosis (*17/*17) y rápidos si se encuentra en heterocigosis (*1/*17) (3, 4). Debido a que la curación de las lesiones esofágicas en la enfermedad por reflujo erosiva depende de los niveles de la inhibición ácida gástrica y esto difiere entre los diferentes genotipos de CYP2C19, las tasas de curación de las lesiones por esofagitis deberían teóricamente estar influidas por el estado del genotipo CYP2C19. Esta influencia ha sido evaluada tanto en la ERE como en la ERNE en diferentes estudios en los que se ha evidenciado una respuesta distinta a los IBPs en función de los polimorfismos de CYP2C19 que presente el individuo. Además, se ha visto que el papel de este gen es menor en el metabolismo de rabeprazol y esomeprazol en comparación con omeprazol, lansoprazol y pantoprazol, fundamentalmente en los casos de ERE, no quedando demostrado para la ERNE (2, 5, 6, 7). De todo esto se deduce la necesidad de emplear estrategias terapéuticas diferentes tanto en el tipo de IBP como su posología en función de esta característica genética. Este hecho supone la motivación de este trabajo, el cual es innovador en cuanto a la búsqueda de causas genéticas como responsables de la respuesta sintomática al tratamiento con IBPs para llevar a cabo una medicina personalizada, lo que sería la principal aplicación futura de este estudio debido a la alta prevalencia y repercusiones sanitarias y económicas de la ERGE en el sistema sanitario español.

2. OBJETIVOS

En este trabajo se pretende estudiar la influencia de las mutaciones alélicas de CYP2C19 descritas en la respuesta clínica al tratamiento con IBPs de la ERGE, y constituye los primeros pasos de una investigación que podría permitir un tratamiento más dirigido y personalizado de esta patología que lograrse el control de los síntomas y mejorar la calidad de vida de los pacientes además de un mejor

control del reflujo ácido disminuyendo el riesgo de esofagitis y esófago de Barrett y evitando la escalada de dosis y el cambio de IBP y, por tanto, consultas sucesivas.

3. MATERIAL Y MÉTODOS

Los pacientes atendidos de forma consecutiva en las consultas externas de Aparato Digestivo del Hospital Clínico Universitario de Valladolid (HCUV) en primera visita o como consulta de seguimiento por síntomas o diagnóstico de ERGE entre agosto y diciembre de 2017, fueron valorados para su inclusión en este estudio. Se excluyeron los pacientes que cumpliesen alguno de los siguientes criterios:

1. Menos de 18 años o más de 65 años
2. Mujer embarazada
3. Cirugía de esófago o estómago
4. Esofagitis eosinofílica
5. Sospecha de gastrinoma o síndrome de Zollinger-Ellison
6. Varices esofágicas, úlcera gástrica o duodenal
7. Toma de antiinflamatorios no esteroideos
8. Alergia/intolerancia o rechazo a IBPs
9. Cardiopatía isquémica o trastorno del ritmo cardíaco diagnosticados en el último año
10. Acalasia o trastorno motor esofágico primario

Se seleccionaron 54 pacientes con diagnóstico clínico de ERGE en base al cuestionario GerdQ. Se recogieron los datos referentes a peso, talla, hábito tabáquico, tratamiento farmacológico, síntomas (días a la semana con pirosis, con regurgitaciones, con epigastralgia, clínica nocturna y necesidad de antiácidos). Estos datos se obtuvieron de forma retrospectiva en el 72% y prospectiva en el 28%. Se obtuvo la información referente a los hallazgos endoscópicos en el programa de Informes Clínicos del HCUV. Se consideró que los pacientes respondían al IBP indicado por su médico si presentaban cero días de pirosis tras realizar el tratamiento. Se detectaron los polimorfismos mediante PCR-RFLP en los 33 pacientes que aceptaron entrar en el estudio y realizarse una extracción de sangre venosa periférica. Se seleccionaron 22 pacientes con

una puntuación total en la escala de GerdQ superior a 7 y que presentasen pirosis más de 4 días a la semana. El cuestionario GerdQ (Anexo 6) ha sido desarrollado para el diagnóstico y la evaluación del control de síntomas de la ERGE. Esta herramienta constituye una aproximación clínica efectiva basada en los síntomas del paciente que además reduce los costes económicos sanitarios en comparación con otros métodos diagnósticos, principalmente endoscópicos (4, 8). El protocolo del estudio fue aprobado por el comité de ética del HCUV con código PI 17-824 (Anexo 2).

En este estudio se han recogido un total de dieciséis variables de interés, sin contar con la información relativa al polimorfismo CYP2C19. Primeramente, cinco variables relativas a datos personales de los pacientes: fecha de nacimiento (dd/mm/aaaa), sexo (identificando con un 0 el sexo femenino y un 1 si es masculino), talla (centímetros), peso (kilogramos) y número de cigarrillos al día (nótese que para los no fumadores esta variable toma el valor 0). En segundo lugar, cuatro variables para describir el tratamiento recibido previamente para la ERGE en el caso de haberlo realizado, especificando el tipo de IBP, la dosis, el número de veces al día y la duración del mismo. Seguidamente, una valoración cuantitativa de la enfermedad en función del número de días a la semana en los que presente cada uno de los siguientes síntomas a causa de la ERGE: pirosis, regurgitaciones, epigastralgia, náuseas, clínica nocturna y necesidad de toma de antiácidos. Dicha valoración de los síntomas constituye el cuestionario GerdQ que hemos empleado para corroborar el diagnóstico de RGE típico. Los IBPs (en lo que sigue, se indica la dosis y frecuencia de tomas entre paréntesis) que consideramos son omeprazol (20 o 40 mg; 1, 2 o 3 veces al día), lansoprazol (15 o 30 mg; 1, 2 o 3 veces al día), pantoprazol (20 o 40 mg; 1, 2 o 3 veces al día), rabeprazol (10 o 20 mg; 1, 2 o 3 veces al día) y esomeprazol (20 o 40 mg; 1, 2 o 3 veces al día). Por último, se ha incluido una última variable cualitativa para recoger los resultados de una prueba de endoscopia digestiva alta en el caso de que haya sido realizada, clasificándolos en ERNE y ERE en función de los hallazgos (grados A-D de la Clasificación de Los Ángeles).

En cuanto a las variables peso, nº cigarrillos al día, tratamiento previo recibido y valoración de síntomas, se han llevado a cabo dos evaluaciones clínicas en dos momentos distintos. La primera de ellas, previa a un tratamiento inicial, con

medidas higiénico-dietéticas o IBPs y, la segunda, 9 (21,5) semanas después de haber realizado el tratamiento prescrito por el médico correspondiente en cada caso, con modificación del tipo de IBP y/o de la dosis. Así, hemos analizado la existencia de cambios clínicos en la ERGE de cada paciente y, por tanto, la efectividad del tratamiento pautado (ver Anexo 5).

3.1. ESTUDIO GENÉTICO

Principios básicos

Las enzimas pertenecientes al Citocromo P450 (CYP) son monooxigenasas localizadas principalmente en el hígado con un papel fundamental en el metabolismo oxidativo de determinados fármacos. Se han descrito más de 2000 mutaciones y también se ha demostrado el impacto de ciertos polimorfismos de un único nucleótido (SNPs) en la actividad de dichas enzimas. Su presencia ha sido estudiada en los principales grupos étnicos, así como el patrón de expresión en diferentes tejidos y el número y tipo de fármacos metabolizados por cada CYP. Así, en la población caucásica han sido caracterizados cuatro CYP (1A2, 2D6, 2C9 y 2C19) y 34 alelos como los más polimórficos y, por tanto, con un impacto significativo en el metabolismo hepático de diferentes sustancias (9).

En este trabajo nos hemos centrado en el gen CYP2C19 perteneciente a la subfamilia CYP2C, el cual, según lo dicho previamente, es polimórfico presentando más de 20 variantes descritas. Entre las más frecuentes y causantes de modificaciones en la actividad enzimática se encuentran los alelos *2 y *3, responsables de pérdida de actividad, y *17, responsable del incremento de la misma. Por ello, hemos seleccionado estos alelos para ser estudiados en nuestra muestra de pacientes. En el caso de CYP2C19*2 (rs4244285), la sustitución de la base c.681G>A en el exón 5 causa un defecto en el *splicing* que cambia la proteína (p.Pro227=). En cambio, para el CYP2C19*3 (rs4986893) la sustitución de la base c.636G>A en el exón 4 origina un codón de stop prematuro que genera una proteína truncada (p.Trp212Ter) (2). Hemos clasificado los fenotipos resultantes en metabolizadores rápidos (MR: *1/*1), metabolizadores intermedios (MI: *1/*2, *1/*3) y metabolizadores lentos (ML: *2/*2, *3/*3, *2/*3), donde el *1 representa el alelo salvaje no mutado.

En cuanto al alelo CYP2C19*17, consiste en un SNP -806 C>T que causa una

unión de proteínas nucleares específicas a la región 5'. Esta unión implica un incremento de la transcripción génica y de la actividad enzimática (10). Por ello, este polimorfismo se ha asociado con un fenotipo de metabolizador ultrarrápido (MU) cuando se encuentra presente (*1/*17 o *17/*17) (2, 3).

Extracción de ADN y genotipado (Anexo 7)

Se ha obtenido una muestra de 5-10 ml de sangre venosa periférica de los 33 pacientes que accedieron a ello, de la que, posteriormente, se ha realizado la extracción de ADN a partir de los leucocitos de acuerdo a procedimientos estándar. El análisis genotípico de CYP2C19 se ha llevado a cabo mediante una PCR en tiempo real y un análisis de las curvas de *melting* o fusión usando el kit *LightMix®* para CYP2C19*2 y CYP2C19*3 y *LightSNiP* para CYP2C19*17 (TibMolbiol, Berlin, Germany), y el kit *LightCycler FastStart DNA Master Hybridisation Probes* (Roche Diagnostics, Penzberg, Germany) en un sistema *Light Cycler 2.0* (Roche) siguiendo las instrucciones del fabricante. La preparación de la muestra de la reacción se ha llevado a cabo siguiendo las cantidades resumidas en la Tabla 1.

	H2O-PCR μL	MgCl ₂ 25mM μL	Primers +Sondas μL	Master Mix x10 μL	Muestra o control μL
CYP2C19*2*3	11,4	1,6	2	2	3
CYP2C19*17	12,4	1,6	1	2	3

Tabla 1. Reactivos: Preparación de la mezcla de reacción

El protocolo de la PCR consiste en cuatro pasos programados. En primer lugar, se lleva a cabo la desnaturalización de la muestra y la activación enzimática a 95°C durante 10 minutos. El segundo paso consiste en 45 ciclos de amplificación del ADN pasando por temperaturas de 95°C durante 5 segundos para CYP2C19*2 y *3 y 10 segundos para CYP2C19*17, 60°C 10 segundos y 72°C 15 segundos. En la siguiente fase se realiza el análisis de las curvas de *melting* o curvas de fusión para la identificación de los productos amplificados a 95°C y 40°C, durante 20 segundos cada una de ellas, seguido de una subida de 0,2°C por segundo hasta llegar a 85°C. Finalmente, un último paso de enfriado a 40°C. Para los polimorfismos CYP2C19*2 y CYP2C19*3, se amplifican dos fragmentos de 133 y 164 pb con los primers incluidos en el kit. El alelo *2 es detectado con un oligómero *SimpleProbe®* en el canal 530 y el alelo *3 con sondas marcadas

con fluorocromo *LightCycler-Red 640*[®], detectado en el canal 640. Como ya se ha explicado previamente, los genotipos son identificados mediante las curvas de *melting* en las que se visualizan los puntos de fusión específicos (T_m : temperatura de *melting*) (Figura 1). Con la tecnología de *LightCycler*[®] 2.0, el alelo salvaje CYP2C19*1 muestra una T_m de 54,4°C en el canal 530 y 53,4°C en el canal 640. El alelo *2, exhibe una T_m de 48,6°C en el canal 530 y el *3 de 60,8°C en el canal 640. En el caso de CYP2C19*17, el alelo salvaje muestra una T_m de 60,79°C y el mutado de 51,68°C en el canal 530. Es necesario emplear una compensación de color para identificar correctamente los genotipos en los canales correspondientes.

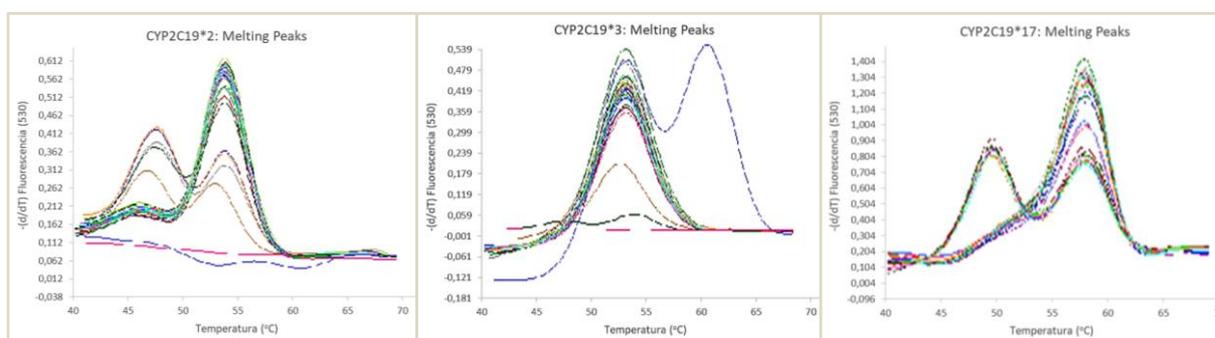


Figura 1: Curvas de melting resultantes de la PCR a tiempo real para CYP2C19*2 (izquierda), CYP2C19*3 (centro) y CYP2C19*17 (derecha).

3.2. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables discretas se han expresado en frecuencias absolutas y relativas y las variables continuas en mediana y rango intercuartílico. Las diferencias entre los grupos de pacientes con y sin respuesta al tratamiento se han comparado con el test de Chi cuadrado con corrección de Fisher en el caso de las variables discretas, y con el test de U Mann Whitney en el caso de las variables continuas. Con un análisis de regresión logística binaria uni y multivariante se calculó el riesgo (odds ratio y su IC al 95%) de no respuesta a los IBPs de las variables asociadas a la falta de respuesta. En general, se consideró el p -valor $< 0,05$ estadísticamente significativo. Sin embargo, aunque para determinados resultados no se alcanza este 5%, se han considerado hallazgos contundentes debido al pequeño tamaño muestral.

4. RESULTADOS

Las características de los pacientes con una puntuación en la escala GerdQ mayor de 7, con más de 4 días a la semana con pirosis y que aceptaron participar

en el estudio se recogen en la Tabla 2. Todos los pacientes eran de raza caucásica y de nacionalidad española. Como se aprecia, un 27,3% ya recibía tratamiento con IBP previamente a este estudio. Además, el 72,7% recibían otros tratamientos.

Edad		48,22 (25,42)
Sexo	Mujer	14 (63,6%)
	Varón	8 (36,4%)
IMC (kg/m²)¹		27,34 (7,72)
IMC (kg/m²) por clases	Normopeso: 18,50 – 24,99	6 (27,3%)
	Sobrepeso: 25 – 29,99	8 (36,4%)
	Obesidad tipo I: 30 – 34,99	3 (13,6%)
	Obesidad tipo II: 35 – 39,99	2 (9,1%)
Tabaquismo	Sí	4 (18,2%)
	No	18 (81,8%)
Puntuación total escala GerdQ		13 (3)
Tratamiento previo²	No	16 (72,7%)
	Sí	6 (27,3%)
	Omeprazol	5 (83,3%)
	Pantoprazol	1 (16,7%)
Otros fármacos³	Sí	16 (72,7%)
	No	6 (16,7%)
ERGE erosiva⁴	Sí	4 (26,7%)
	No	11 (73,3%)
Tratamiento indicado⁵	IBP de tipo 1	14 (63,6%)
	Omeprazol	11 (78,6%)
	Lansoprazol	1 (7,1%)
	Pantoprazol	2 (14,3%)
	IBP de tipo 2	8 (36,4%)
	Esomeprazol	8
Duración del tratamiento (semanas)		9 (21,5)

Tabla 2. Características de los 22 pacientes incluidos en el estudio.

¹3 casos perdidos (n=19).

²El 100% de los pacientes cuyo tratamiento previo fue omeprazol (83,3% de los que recibieron tratamiento previo) lo recibieron a una dosis de 20 mg/24h.

³Los más frecuentes son: procinéticos (25% de los que recibían otros fármacos), inmunosupresores (25%), benzodiazepinas (13,6%) y broncodilatadores (13,6%).

⁴15 de los 22 pacientes tenían gastroscopia realizada. Se considera ERGE erosiva si existe esofagitis.

⁵Dentro de los pacientes con IBP de tipo 1, el 100% de los pacientes con omeprazol (78,6% de los pacientes tratados con IBP de tipo 1) recibieron 20 mg/24h; en el único caso con lansoprazol (7,1% de los pacientes con IBP de tipo 1) la posología fue de 30 mg a demanda; y para el pantoprazol (14,3% de los pacientes con IBP de tipo 1) fue de 40 mg/12h en 1 caso y el de 40 mg/24h en el otro caso. La posología del esomeprazol fue de 40 mg/24h en el 87,5% de los casos y de 40 mg a demanda en el 12,5% restante.

La Figura 2 refleja la validez de la escala GerdQ para la evaluación de la ERGE:

se ha demostrado una reducción de la puntuación total estadísticamente significativa entre la evaluación previa y posterior al tratamiento con IBP indicado - respondedores: 7 (3), no respondedores: 4 (6), $p=0,046$ -. En la parte izquierda de la Figura 1 se puede observar que todos los pacientes partían de una situación clínica similar - respondedores: 13 (3), no respondedores: 13 (5) -, lo que refleja la igualdad en la distribución de los síntomas entre el grupo de pacientes respondedores y no respondedores. Una situación análoga para el síntoma de pirosis se observa en la Figura 3 - respondedores: 7 (1), no respondedores: 7 (2) -. Por otra parte, de la Figura 4 deducimos que la reducción del número de días con pirosis es claramente superior, y con una distribución más homogénea en los pacientes respondedores – respondedores: 7 (1), no respondedores: 3 (6), $p=0,001$ -.

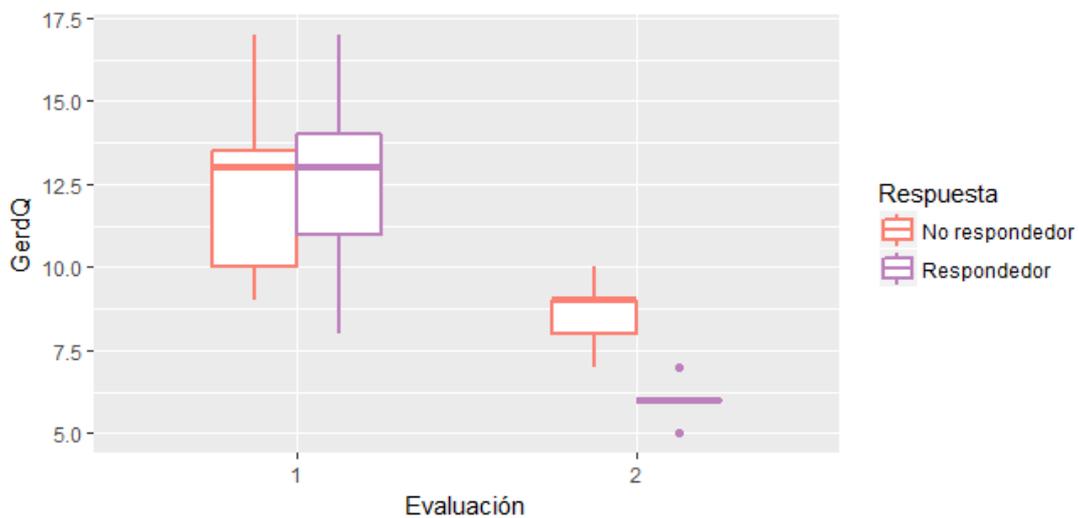


Figura 2. Puntuación total en la escala GerdQ antes y después (evaluación 1 y 2, respectivamente) del tratamiento con IBP en respondedores y no respondedores.



Figura 3. Número de días con pirosis en el momento de la inclusión en el estudio en respondedores y no respondedores al tratamiento indicado posteriormente con IBP.



Figura 4. Reducción del número de días con pirosis entre la evaluación anterior y posterior a recibir el tratamiento indicado con IBP en respondedores y no respondedores a dicho tratamiento.

En la Tabla 3 se recoge una comparación de diferentes variables clínicas y genéticas entre los pacientes considerados respondedores, es decir, los que presentan cero días con pirosis tras recibir el tratamiento con IBP, y los no respondedores al mismo. La presencia de síntomas dispépticos: epigastralgia y/o náuseas - respondedores: 4 (26,7%), no respondedores: 6 (85,7%), $p=0,015$ - y la mutación CYP2C19*17 - respondedores: 6 (40%), no respondedores: 6 (85,7%), $p=0,059$ - se asociaron a la falta de respuesta al IBP indicado (Figuras 5 y 6). Empleando un criterio de respuesta al tratamiento menos estricto (reducción del número de días con pirosis superior a cuatro), se obtiene una significación estadística superior para la comparación de las diferencias existentes entre respondedores y no respondedores para ambas variables: síntomas dispépticos – respondedores: 5 (29,4%), no respondedores: 5 (100%), $p=0,01$ -, y la mutación CYP2C19*17 – respondedores: 7 (41,2%), no respondedores: 5 (100%), $p=0,03$ -.

		Respondedores (n=15)	No respondedores (n=7)	p-valor
Edad (años)		52,01 (26,81)	44,42 (24,93)	0,698
Sexo	Mujeres	9 (60%)	5 (71,4%)	0,671
	Varones	6 (40%)	2 (28,6%)	
Tabaquismo	Sí	4 (26,7%)	0	0,187
	No	11 (73,3%)	7(100%)	
IMC (kg/m²)¹		27,85 (5,29)	24,72 (13,28)	0,432
Tratamiento previo²	Sí	2 (13,3%)	4 (57,1%)	0,054
	No	13 (86,7%)	3 (42,9%)	
Diferencia de puntuación en Escala GerdQ³		7 (3)	4 (6)	0,046
Tipo de IBP⁴	IBP1	11 (73,3%)	3 (42,9%)	0,182
	IBP2	4 (26,7%)	4 (57,1%)	
Duración del tratamiento prescrito (semanas)		9 (24)	8 (16)	0,493
Síntomas dispépticos⁵	Sí	4 (26,7%)	6 (85,7%)	0,015
	No	11 (73,3%)	1 (14,3%)	
CYP2C19*2*3⁶	*1/*1 (MR)	12 (80%)	7 (100%)	0,295
	*1/*2 (MI)	3 (20%)	0	
CYP2C19*17⁷	*1/*1 (no MU)	9 (60%)	1 (14,3%)	0,059
	*1/*17 (MU)	6 (40%)	6 (85,7%)	

Tabla. 3. Comparación de pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento prescrito con test de Chi cuadrado con corrección de Fisher y de U Mann Whitney.

¹ 3 casos perdidos (n=19).

² Un 27,3% de los pacientes seleccionado recibieron tratamiento previo con IBP. Dentro de ellos, el 83,3% fue con omeprazol a una dosis de 20 mg/24h en todos los casos.

³ Diferencia en la puntuación en la escala GerdQ (ver Anexo 6) entre la evaluación 1 y la 2, es decir, previamente y posterior a realizar el tratamiento con IBP indicado.

⁴ IBP de tipo 1: omeprazol, pantoprazol, lansoprazol. IBP de tipo 2: esomeprazol y rabeprazol.

⁵ Los síntomas dispépticos recogidos son la presencia de epigastralgia y/o náuseas en el momento de la inclusión en el estudio.

⁶ Alelos *2 y *3 de CYP2C19. *1/*1 representa el alelo *wild type* y, por tanto, el fenotipo metabolizador rápido (MR); mientras que *1/*2 representa la presencia del alelo *2 en heterocigosis y, por tanto, el fenotipo metabolizador intermedio (MI). 13,6% de los 22 pacientes presentaron el alelo *2 en heterocigosis.

⁷ Alelo *17 de CYP2C19. *1/*17 representa la presencia del alelo *17 en heterocigosis y, por tanto, el fenotipo metabolizador ultrarrápido (MU). 54,5% de los 22 pacientes presentaron el alelo *17 en heterocigosis.



Figura 5. Presencia de síntomas dispépticos antes de recibir el tratamiento con IBP en respondedores y no respondedores al mismo (Test Chi-Cuadrado, $p=0,015$).

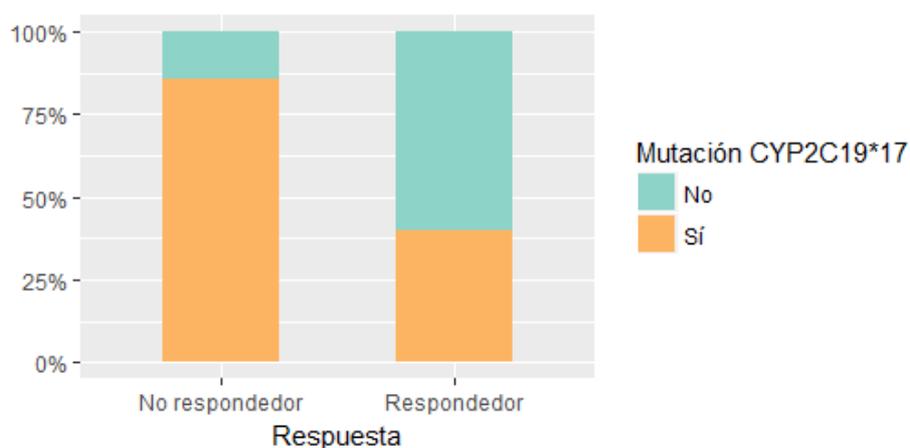


Figura 6. Presencia de la mutación CYP2C19*17 en respondedores y no respondedores al tratamiento indicado con IBP (Test Chi-Cuadrado, $p=0,059$).

Se ha realizado un análisis de regresión logística binaria univariante para las variables Síntomas dispépticos, CYP2C19*17, Tratamiento previo y Tipo de IBP (Tabla 4) que ha demostrado que las tres primeras constituyen factores de riesgo para la no respuesta al tratamiento con IBP ($p<0,1$). Analizando los datos mediante regresión multivariante (Tabla 5) se ha comprobado que esta relación es independiente de la edad, el sexo y el IMC (Síntomas dispépticos: OR 18,312, IC 1,379-243,15, $p=0,028$; CYP2C19*17: OR 13,2, IC 0,861-202,488, $p=0,064$; Tratamiento previo: OR 7,149, IC 0,767-66,604; $p=0,084$); y en el caso concreto de la variable Síntomas dispépticos lo es también de CYP2C19*17, del Tratamiento previo (OR 10,845; $p=0,084$) y del Tipo de IBP (OR 13,554; $p=0,051$). Las OR para la variable CYP2C19*17 indican que un tamaño muestral más grande permitiría obtener una mayor significación estadística ($p=0,180$ y 0,136).

Análisis univariante:		p-valor	OR	IC 95%
1	Síntomas dispépticos	0,022	16,5	1,487 – 183,070
2	CYP2C19*17	0,068	9	0,854 – 94,899
3	Tratamiento previo	0,045	8,667	1,049 – 71,569
4	Tipo de IBP¹	0,177	3,667	0,557 – 24,132

Tabla 4. Resultados de cuatro análisis de regresión univariante para predecir la falta respuesta al tratamiento a partir de las variables asociadas: síntomas dispépticos, mutación CYP2C19*17 y tratamiento previo. ¹La variable Tipo de IBP se superpone con la variable Tratamiento previo (el 100% -14/14- de los tratados con IBP de tipo 1 no tuvieron tratamiento previo, el 75% -6/8- de los tratados con IBP de tipo 2, sí).

Análisis multivariante:		p-valor	OR	IC 95%
1	Síntomas dispépticos	0,028	18,312	1,379 – 243,150
	Edad	0,790	0,988	0,906 – 1,078
	Sexo	0,765	1,476	0,115 – 18,981
	IMC	0,608	1,071	0,824 – 1,392
2	CYP2C19*17	0,064	13,2	0,861 – 202,488
	Edad	0,234	0,947	0,867 – 1,036
	Sexo	0,732	1,512	0,142 – 16,046
	IMC	0,918	1,014	0,776 – 1,326
3	Tratamiento previo	0,084	7,149	0,767 – 66,604
	Edad	0,404	0,966	0,891 – 1,048
	Sexo	0,691	1,605	0,156 – 16,563
	IMC	0,762	1,037	0,819 – 1,313
4	Síntomas dispépticos	0,078	10,845	0,766 – 153,594
	CYP2C19*17	0,180	6,394	0,425 – 96,223
	Tratamiento previo	0,432	2,731	0,223 – 33,484
5	Síntomas dispépticos	0,051	13,554	0,986 – 186,274
	CYP2C19*17	0,136	7,513	0,530 – 106,500
	Tipo de IBP	0,839	1,282	0,117 – 14,084

Tabla 5. Cinco análisis multivariantes realizados mediante regresión logística binaria.

5. DISCUSIÓN

La ERGE constituye una de las principales patologías que afectan al aparato digestivo en la actualidad. Se trata de un proceso multifactorial cuyas causas no están claramente definidas, aunque se ha descrito el papel de relajaciones del esfínter esofágico inferior y de la hernia de hiato en su desarrollo. Típicamente, los síntomas de ERGE comienzan en la edad media de la vida, lo que sugiere que contribuyen en su fisiopatología factores ambientales y del estilo de vida. Entre estos destacan características de la alimentación, como el tipo de alimentos ingeridos (grasas, alimentos picantes, bebidas gaseosas, ultraprocesados, etc.) y medidas higiénicas (evitar el decúbito tras la ingesta, ingerir los alimentos despacio, etc.); la obesidad y el tabaquismo. Entre otros

factores del estilo de vida se incluyen el estrés, eventos vitales negativos y el alcoholismo. Otros aspectos como el estatus socioeconómico y una dieta “occidentalizada” se han sugerido como potenciales factores de riesgo de la ERGE, pero no han sido demostrados (11). La alta prevalencia de la ERGE se combina con la actitud demandante de la población hacia la medicina y el fenómeno de medicalización de la sociedad que se está viviendo en la actualidad, lo que en conjunto hace que exista una clara sobreutilización de los IBPs, potenciado además por sus escasos efectos secundarios y su alta efectividad. Por otro lado, la existencia de protocolos terapéuticos exigentes provoca un alto número de consultas repetidas y el empleo de recursos sanitarios, lo que conlleva un gran gasto económico. A pesar de ser los inhibidores de la secreción gástrica más potentes y representar la primera línea de tratamiento de la ERGE, existen unas tasas de pacientes refractarios al mismo de hasta el 30% (12). En este estudio, la prevalencia de ERGE refractaria fue del 22,7%, acorde con la literatura publicada.

Con el objetivo de encontrar una explicación genética a este hecho, varios estudios han demostrado la asociación entre determinados polimorfismos del gen CYP2C19 y el metabolismo enzimático de los IBPs. En particular, la presencia de los alelos CYP2C19*2 y CYP2C19*3 se ha relacionado con un procesamiento enzimático deficiente que confiere al individuo la característica de metabolizador lento (ML) si se encuentra en homocigosis, intermedio (MI) si se encuentra en heterocigosis y rápido si no presenta dichas mutaciones, tratándose en ese caso del alelo salvaje CYP2C19*1. Por otro lado, el alelo *17 se ha relacionado con un metabolismo ultrarrápido (UM) (2). Se ha demostrado en estudios previos que la distribución de estos alelos difiere entre las distintas poblaciones y grupos étnicos. CYP2C19*2 es el alelo responsable del fenotipo metabolizador lento (ML) más prevalente en la población caucásica, con una frecuencia del 17-18,1%. Estas cifras son similares en africanos (17,3%), superiores a la prevalencia en población hispana (10%) y afroamericana (12%), pero inferiores a la descrita en asiáticos, en quienes asciende hasta un 27,9 - 29% en japoneses y hasta un 40% en chinos (12, 13). Por el contrario, el alelo CYP2C19*3 es muy poco frecuente o se encuentra totalmente ausente en población caucásica, mientras que es común en asiáticos (japoneses: 12,8 -

13%, chinos: 6%) (2); la forma homocigota *2/*2 presenta también esta distribución (14). En cuanto a CYP2C19*17, ha sido identificado con una prevalencia notablemente superior en población caucásica, alcanzando porcentajes del 27,2% en polacos, 20,1% en daneses, 22% en noruegos y, por otro lado, de un 27,1% en iraníes (10). En estos trabajos citados, los métodos de selección se han basado fundamentalmente en variables objetivas como los hallazgos endoscópicos (esofagitis por reflujo), niveles plasmáticos de IBP, valores de pH-metría y manometría, además de la clínica. En el presente estudio, la muestra de pacientes está formada por individuos caucásicos. El alelo más prevalente ha sido el CYP2C19*17, presentándose en el 41,4% (12 de 29 pacientes diagnosticados de ERGE mediante la escala GerdQ), seguido en frecuencia por el CYP2C19*2, presente en el 13,8% (4 de 29 pacientes con ERGE). Para ambos alelos, la mutación se encuentra en su forma heterocigota en el 100% de los casos. No se ha detectado la presencia del alelo CYP2C19*3 en ningún individuo. Así, hemos encontrado una menor tasa de respuesta sintomática de la ERGE al tratamiento prescrito en aquellos pacientes que presentan un fenotipo metabolizador ultrarrápido: dentro de los no respondedores, el 85,7% presentan el alelo *17 frente a un 40% dentro de los respondedores. En otros trabajos se ha demostrado que la respuesta al tratamiento de los pacientes que presentan las mutaciones es dependiente del tipo de IBP (tipo 1: omeprazol, pantoprazol y lansoprazol; tipo 2: esomeprazol y rabeprazol), con una mayor tasa de respuesta a los IBP de tipo 2 (5, 12, 13, 14). En contraposición, en este trabajo no se han encontrado dichas diferencias y, por tanto, no tenemos argumentos para considerar un tipo de IBP u otro en base a los polimorfismos detectados. Es preciso comentar que la selección de pacientes llevada a cabo se ha basado únicamente en la clínica de ERGE, considerando una puntuación en el cuestionario GerdQ superior a 7 y la presencia de pirosis más de 4 días a la semana, que son criterios relativamente estrictos aunque basados en la impresión subjetiva del paciente sobre su patología que, por otra parte, reflejan de manera más real su preocupación y valoran mejor su pérdida de calidad de vida.

Por otra parte, hallazgos recientes han demostrado que la dispepsia funcional es un factor de riesgo para una respuesta deficiente a la inhibición ácida gástrica

y, dada la alta prevalencia de ambas enfermedades, es bien sabido que estas entidades se solapan con frecuencia (12). En consonancia con estos estudios, en el grupo de pacientes con ERGE que hemos estudiado la prevalencia de síntomas dispépticos fue de casi un 50% (45,5%). Además, esta fue perceptiblemente mayor en el grupo refractario. De acuerdo con esto, un análisis sistemático reveló que la epigastralgia ($p=0,064$) y las náuseas ($p=0,023$) fueron más frecuentes y se asociaron con un mayor riesgo de ERGE refractaria, siendo superior la significación estadística cuando se consideró una combinación de ambos síntomas dispépticos ($p=0,015$). Además, hemos evidenciado que un fracaso previo al tratamiento con IBPs se asocia a una falta de respuesta para un futuro tratamiento con estos fármacos. Esto lleva a pensar que en estos pacientes podrían ser más efectivos, y por tanto estar más indicados, otros tratamientos a procinéticos, antieméticos, medidas higiénico-dietéticas, etc.

Finalmente, se puede afirmar que la presencia de síntomas dispépticos, la mutación CYP2C19*17 y un fracaso a un tratamiento previo con IBPs predicen una falta de respuesta a los IBPs independientemente de la edad, el sexo y el IMC. Además, la presencia de síntomas dispépticos predice una falta de respuesta al tratamiento con IBP independientemente de la presencia de la mutación CYP2C19*17, de un fracaso a un tratamiento previo o del tipo de IBP utilizado. Podríamos afirmar lo mismo para la variable CYP2C19*17 si la muestra de pacientes con ERGE estudiada fuera más grande.

Este estudio presenta ciertas limitaciones entre las que destacan una muestra pequeña de individuos, la existencia de pacientes que habían realizado un tratamiento con IBPs previamente a la inclusión en el estudio y el hecho de que las variables no se hayan recogido de forma prospectiva en todos los casos. Además, la alta prevalencia de síntomas dispépticos en la muestra de pacientes con ERGE interfiere el análisis de una posible relación entre la refractariedad al tratamiento con IBPs de tipo 1 y las características genéticas. Esto podría haber sido mejor estudiado de haber tenido una muestra de pacientes con ERGE clara y sin síntomas dispépticos, o seleccionada en función a variables como los valores de pH-metría, los niveles plasmáticos de IBP o la curación endoscópica de las lesiones esofágicas.

6. CONCLUSIONES

Hasta la mitad de los pacientes con ERGE presentan síntomas dispépticos que constituyen un claro factor de riesgo para la falta de respuesta al tratamiento prescrito con IBPs, siendo esta relación independiente del tipo de fármaco y de otras variables. La presencia de mutaciones en el gen CYP2C19, que suponen una metabolización alterada de los IBPs, también se asocia con una mayor refractariedad a dicho tratamiento. Estos hallazgos pueden guiar el manejo de la ERGE refractaria en la práctica clínica actual permitiendo una resolución más rápida de los síntomas, mejorando la calidad de vida de los pacientes, evitando consultas repetidas y reduciendo el gasto sanitario. Sin embargo, estudios de eficiencia deberán demostrar la utilidad del análisis genético como herramienta predictora de esta respuesta para poder apoyar el empleo de una medicina personalizada en el tratamiento de la ERGE.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Katz PO, Gerson LB, Vela MF. Guidelines for the diagnosis and management of gastroesophageal reflux disease. *Am J Gastroenterol*. 2013 Mar; 108(3):308–28. doi:10.1038/ajg.2012.444.
2. Furuta T, Sugimoto M, Shirai N. Individualized therapy for gastroesophageal reflux disease: potential impact of pharmacogenetic testing based on CYP2C19. *Mol Diagn Ther* 2012; 16: 223-234 [PMID: 22873740 DOI: 10.2165/11634960-000000000-00000].
3. Li-Wan-Po A, Girard T, Farndon P, Cooley C, Lithgow J. Pharmacogenetics of CYP2C19: functional and clinical implications of a new variant CYP2C19*17. *British Journal of Clinical Pharmacology*. 2010;69(3):222-230. doi:10.1111/j.1365-2125.2009.03578.x.
4. Wang M, Zhang J-Z, Kang X-J, et al. Relevance between GerdQ score and the severity of reflux esophagitis in Uygur and Han Chinese. *Oncotarget*.2017;8(43):74371-74377. doi:10.18632/oncotarget.20146.
5. Hillman L, Yadlapati R, Thuluvath AJ, Berendsen MA, Pandolfino JE. A review of medical therapy for proton pump inhibitor nonresponsive gastroesophageal reflux disease. *Dis Esophagus*. 2017;30:1–15.
6. Kawara F, Fujita T, Morita Y, et al. Factors associated with residual gastroesophageal reflux disease symptoms in patients receiving proton

- pump inhibitor maintenance therapy. *World Journal of Gastroenterology*. 2017;23(11):2060-2067. doi:10.3748/wjg.v23.i11.2060.
7. Lin Y-A, Wang H, Gu Z-J, et al. Effect of CYP2C19 Gene Polymorphisms on Proton Pump Inhibitor, Amoxicillin, and Levofloxacin Triple Therapy for Eradication of Helicobacter Pylori. *Medical Science Monitor: International Medical Journal of Experimental and Clinical Research*. 2017;23:2701-2707. doi:10.12659/MSM.901514.
 8. Jonasson, C., Moum, B. , Bang, C. , Andersen, K. R. and Hatlebakk, J. G. (2012), Randomised clinical trial: a comparison between a GerdQ-based algorithm and an endoscopy-based approach for the diagnosis and initial treatment of GERD. *Aliment Pharmacol Ther*, 35: 1290-1300. doi:10.1111/j.1365-2036.2012.05092.x.
 9. Preissner SC, Hoffmann MF, Preissner R, Dunkel M, Gewiess A, et al. (2013) Polymorphic Cytochrome P450 Enzymes (CYPs) and Their Role in Personalized Therapy. *PLoS ONE* 8(12): e82562. doi:10.1371/journal.pone.0082562.
 10. Dehbozorgi, M., Kamalidehghan, B., Hosseini, I., Dehghanfar, Z., Sangtarash, M. H., Firoozi, M., Ahmadipour, F., Meng, G. Y., Houshmand, M. Prevalence of the CYP2C19*2 (681 G>A), *3 (636 G>A) and *17 (-806 C>T) alleles among an Iranian population of different ethnicities. *Molecular Medicine Reports* 17, no. 3 (2018): 4195-4202. <https://doi.org/10.3892/mmr.2018.8377>.
 11. Çela L, Kraja B, Hoti K, et al. Lifestyle Characteristics and Gastroesophageal Reflux Disease: A Population-Based Study in Albania. *Gastroenterology Research and Practice*. 2013;2013:936792. doi:10.1155/2013/936792.
 12. D'Alessandro A, Zito F, Pesce M, et al. Specific dyspeptic symptoms are associated with poor response to therapy in patients with gastroesophageal reflux disease. *United European Gastroenterology Journal*. 2017;5(1):54-59. doi:10.1177/2050640616650061.
 13. Deshpande N, V. S, V. V. RK, et al. Rapid and ultra-rapid metabolizers with CYP2C19*17 polymorphism do not respond to standard therapy with proton pump inhibitors. *Meta Gene*. 2016;9:159-164. doi:10.1016/j.mgene.2016.06.004.
 14. Zendejdel N, Biramijamal F, Hossein-Nezhad A et al. Role of cytochrome P450 2C19 genetic polymorphisms in the therapeutic efficacy of omeprazole in Iranian patients with erosive reflux esophagitis. *Arch Iran Med* 2010; 13: 406–12.

ANEXOS

Anexo 1. Póster en miniatura.

Influencia de los polimorfismos CYP2C19 en la respuesta de la enfermedad por reflujo gastroesofágico a los IBPs

Autor: Carlota Gordaliza Pastor

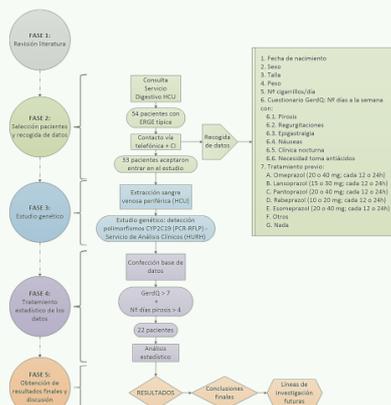
Tutor: Luis I. Fernández Salazar (Servicio de Aparato Digestivo del HCUV)

1 Introducción

La enfermedad por reflujo gastroesofágico (ERGE) constituye una de las principales patologías que afectan al aparato digestivo en la actualidad. Su importancia se deriva de su elevada prevalencia (15% de la población general), de las repercusiones que ocasiona en la calidad de vida del paciente y del gasto sanitario que genera. En estos pacientes se ha demostrado una asociación entre un fracaso al tratamiento con IBPs (fármacos de elección) y la presencia de polimorfismos en el enzima CYP2C19.

Objetivos

Se pretende caracterizar el impacto de las **mutaciones en CYP2C19** en la **respuesta a los IBPs** de los pacientes con **ERGE** para poder llevar a cabo un **tratamiento más dirigido y personalizado** de la misma.



Conclusiones

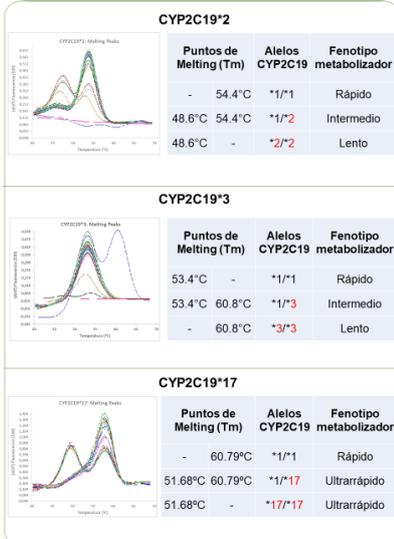
- Hasta la mitad de los pacientes con ERGE presentan **síntomas dispépticos** que constituye un **claro predictor de la falta de respuesta** al tratamiento prescrito con IBPs.
- La presencia de **mutaciones en el gen CYP2C19** también se asocia a una mayor **refractariedad** a dicho tratamiento.
- Estos hallazgos pueden **guiar el manejo de la ERGE** refractaria en la práctica clínica actual permitiendo una resolución más rápida de los síntomas, mejorando la calidad de vida de los pacientes, evitando consultas repetidas y reduciendo el gasto sanitario.

2 Material y métodos

Se incluyeron 54 pacientes con diagnóstico de ERGE en base al cuestionario GerdQ evaluados de forma consecutiva desde 08/2017 a 12/2017 en la consulta de Digestivo del HCU. Se analizó la presencia de mutaciones en CYP2C19 en 33 de ellos. Se analizó la relación de estas mutaciones y diferentes variables clínicas y epidemiológicas con la respuesta clínica al tratamiento con IBPs prescrito en los 22 pacientes que presentaban una puntuación de GerdQ-7 y pirosis más de 4 días a la semana. Se consideró que los pacientes respondían al IBP indicado si presentaban cero días de pirosis tras realizar el tratamiento.

Estudio genético

Los alelos *2, *3 y *17 constituyen unas de las variantes polimórficas más frecuentes y responsables de modificaciones en la actividad enzimática de CYP2C19. El análisis genotípico se ha llevado a cabo mediante una PCR en tiempo real y un análisis de las curvas de melting.



3 Resultados

Características de los 22 pacientes incluidos en el estudio:

Edad		48,22 (25,42)
Sexo	Mujer	14 (63,6%)
	Varón	8 (36,4%)
IMC (kg/m ²)		27,34 (7,72)
IMC (kg/m ²) por clases	Normopeso: 18,50 – 24,99	6 (27,3%)
	Sobrepeso: 25 – 29,99	8 (36,4%)
	Obesidad tipo I: 30 – 34,99	3 (13,6%)
	Obesidad tipo II: 35 – 39,99	2 (9,1%)
Tabaquismo	Sí	4 (18,2%)
	No	18 (81,8%)
Puntuación total escala GerdQ		13 (3)
Tratamiento previo ¹	No	16 (72,7%)
	Sí	6 (27,3%)
	Omeprazol Pantoprazol	5 (83,3%) 1 (16,7%)
Otros fármacos ²	Sí	16 (72,7%)
	No	6 (15,7%)
ERGE erosiva ³	Sí	4 (26,7%)
	No	11 (73,3%)
Tratamiento indicado ⁴	IBP de tipo 1	14 (63,6%)
	Omeprazol	11 (78,6%)
	Lansoprazol	1 (7,1%)
	Pantoprazol	2 (14,3%)
IBP de tipo 2	Esomeprazol	8 (36,4%)
		8
Duración del tratamiento (semanas)		9 (21,5)

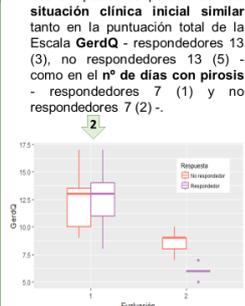
¹EI 100% de los pacientes cuyo tratamiento previo fue omeprazol (83,3% de los que recibieron tratamiento previo) lo recibieron a una dosis de 20 mg/24h.
²Protonicosos (25%), inmunosupresores (25%), benzodiazepinas (13,6%) y broncodilatadores (13,6%).
³15 de los 22 pacientes tenían gastroscopia realizada. Se considera ERGE erosiva si existe esofagitis.
⁴IBP de tipo 1: posología de 20 mg/24h en el 100% de los pacientes con omeprazol, 30 mg a demanda el caso con lansoprazol, y 40 mg/12h en un caso y de 40 mg/24h en el otro de pantoprazol. IBP de tipo 2: posología de 40 mg/24h en el 87,5% de los casos y de 40 mg a demanda en el 12,5% restante para esomeprazol.

Comparación de distintas variables en pacientes respondedores y no respondedores al tratamiento prescrito:

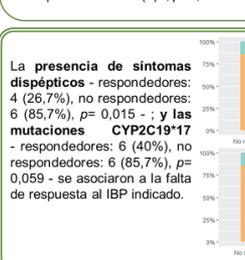
	Respondedores (n=15)	No respondedores (n=7)	p-valor ¹	
Edad (años)	52,01 (26,81)	44,42 (24,93)	0,698	
Sexo	Mujeres Varones	9 (60%) 6 (40%)	5 (71,4%) 2 (28,6%)	0,671
Tabaquismo	Sí No	4 (26,7%) 11 (73,3%)	0 7 (100%)	0,187
IMC (kg/m ²)		27,85 (5,29)	24,72 (13,28)	0,432
Tratamiento previo	Sí	2 (13,3%)	4 (57,1%)	0,054
	No	13 (86,7%)	3 (42,9%)	
Tipo de IBP	IBP1	11 (73,3%)	3 (42,9%)	0,182
	IBP2	4 (26,7%)	4 (57,1%)	
Duración del tratamiento prescrito (semanas)		9 (24)	8 (16)	0,493
Síntomas dispépticos ²	Sí	4 (26,7%)	6 (85,7%)	0,015
	No	11 (73,3%)	1 (14,3%)	
CYP2C19*2 ³	*1/*1 (MR)	12 (80%)	7 (100%)	0,295
	*1/*2 (MI)	3 (20%)	0	
CYP2C19*17	*1/*1	9 (60%)	1 (14,3%)	0,059
	(no MU)	6 (40%)	6 (85,7%)	

¹Test de Chi cuadrado con corrección de Fisher y de U Mann Whitney.
²Epigastralgia y/o náuseas en el momento de la inclusión en el estudio.

Los 22 pacientes partían de una situación clínica inicial similar tanto en la puntuación total de la Escala GerdQ - respondedores 13 (3), no respondedores 13 (5) - como en el nº de días con pirosis - respondedores 7 (1) y no respondedores 7 (2) -.



La reducción del nº de días con pirosis entre la evaluación previa y posterior al tratamiento con IBP es superior y con una distribución más homogénea en los pacientes respondedores - 7 (1) - que en no respondedores - 3 (6) -; p=0,001.



La presencia de síntomas dispépticos (OR 16,5; IC 1,5-183; p=0,022), la mutación CYP2C19*17 (OR 9; IC 0,9-94,9; p=0,068) y un fracaso a un tratamiento previo con IBPs (OR 8,7; IC 1,1-71,6; p=0,045) son factores predictores de la falta de respuesta al tratamiento con IBPs de forma independiente de la edad, el sexo y el IMC.

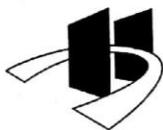
La presencia de síntomas dispépticos predice una falta de respuesta al tratamiento con IBP independientemente de la presencia de la mutación CYP2C19*17, del tipo de IBP empleado y de un fracaso de un tratamiento previo con IBPs (p<0,08).

Agradecimientos:
Dr. JA Garrote Adrados, Servicio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Río Hortega de Valladolid.
Dra. Alcaide, Dra. Alonso, Dra. Lorenzo y Dra. Macho, Servicio de Aparato Digestivo del Hospital Clínico Universitario de Valladolid.



Este Trabajo Fin de Grado se ha desarrollado en el marco de un proyecto de Beca de Colaboración concedida por el Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.

Anexo 2. Documento del Comité Ético de Investigación Clínica (CEIC) sobre la evaluación de este proyecto de investigación.



**COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA
ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE (CEIC-VA-ESTE-HCUV)**

Valladolid a 26 de Octubre de 2017

En la reunión del CEIC/CEIm ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE del 26 de octubre de 2017, se procedió a la evaluación de los aspectos éticos del siguiente proyecto de investigación.

PI 17-824 TFG	INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS CYP2C19 EN LA RESPUESTA DE LA ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFÁFICO A LOS IBPs	I.P.: LUIS I. FERNÁNDEZ SALAZAR EQUIPO: CARLOTA GORDALIZA PASTOR DIGESTIVO RECIBIDO: 18-10-2017
------------------	---	--

A continuación les señalo los acuerdos tomados por el CEIC/CEIm ÁREA DE SALUD VALLADOLID – ESTE en relación a dicho Proyecto de Investigación:

Considerando que el Proyecto contempla los Convenios y Normas establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética, se hace constar el **informe favorable** y la **aceptación** del Comité Ético de Investigación Clínica del Área de Salud Valladolid Este para que sea llevado a efecto dicho Proyecto de Investigación.

Un cordial saludo.

F. Javier Álvarez
Dr. F. Javier Álvarez.
CEIC/CEIm Área de Salud Valladolid Este
Hospital Clínico Universitario de Valladolid
Farmacología,
Facultad de Medicina,
Universidad de Valladolid,
c/ Ramón y Cajal 7,
47005 Valladolid
alvarez@med.uva.es,
jalvarezgo@saludcastillayleon.es
tel.: 983 423077

Anexo 3. Documento sobre la conformidad de la dirección del Hospital Clínico Universitario de Valladolid para la realización de este proyecto de investigación.



HOSPITAL CLINICO UNIVERSITARIO
Avda. Ramón y Cajal, 3
Telf. 983 42 00 00
47003 - VALLADOLID



CONFORMIDAD DE LA DIRECCIÓN DEL CENTRO

Don Francisco Javier Vadillo Olmo,
Director Gerente del
Hospital Clínico Universitario de Valladolid,

CODIGO HOSPITAL	TITULO	INVESTIGADOR PRINCIPAL SERVICIO PROMOTOR
PI 17-824 TFG	INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS CYP2C19 EN LA RESPUESTA DE LA ENFERMEDAD POR REFLUJO GASTROESOFÁFICO A LOS IBPs	I.P.: LUIS I. FERNÁNDEZ SALAZAR EQUIPO: CARLOTA GORDALIZA PASTOR DIGESTIVO RECIBIDO: 18-10-2017

En relación con el citado Proyecto de Investigación, de acuerdo a la evaluación favorable a su realización en este Hospital por parte del CEIC Área Valladolid Este en su sesión del 26-10-2017.

Se Informa favorablemente la realización del dicho estudio en el Hospital Clínico Universitario de Valladolid,

Lo que firma en Valladolid, a 26 de octubre de 2017

EL DIRECTOR GERENTE

D. Francisco Javier Vadillo Olmo



Anexo 4. Documento de la concesión de la Beca de Colaboración del Ministerio de Educación, Cultura y Deporte.



Sr/Sra. D/Dña.
GORDALIZA PASTOR, CARLOTA
C/ Julio Senador Gómez 244
47014, VALLADOLID
VALLADOLID

CREDENCIAL BECA-COLABORACIÓN CURSO 2017/2018

N.I.F.: 71175126Q

Pongo en su conocimiento que de conformidad con lo dispuesto en la Convocatoria de Beca-Colaboración, Resolución de 4 de agosto de 2017, de la Secretaría de Estado de Educación, Formación Profesional y Universidades (B.O.E. de 12 de agosto de 2017), y disposiciones complementarias, le ha sido concedida una Beca para el presente curso académico 2017/2018 con las características que se especifican:

CLASE DE BECA : **Beca Colaboración**
CUANTÍA : **2.000,00 €**
CURSO Y ESTUDIOS : **6 ° Graduado o Graduada en Medicina por la Universidad de Valladolid**
UNIVERSIDAD : **UNIV. DE VALLADOLID**
DEPARTAMENTO DE COLABORACIÓN : **MEDICINA, DERMATOLOGÍA Y TOXICOLOGÍA**

El importe de la beca le será ingresado en la cuenta y entidad bancaria indicada por Vd. en la solicitud de la beca, cuyos datos son los siguientes:

ENTIDAD: OFICINA: DC: CUENTA:

Son obligaciones de los becarios de Colaboración entre otras:

Seguir durante el curso 2017/2018, por enseñanza oficial, los estudios que se encuentra matriculado.

Prestar su colaboración en la universidad en la que está matriculado en el curso 2017/2018, a razón de tres horas diarias durante ocho meses a contar desde la fecha de incorporación al destino en los términos recogidos en el proyecto de colaboración. En el caso de enseñanzas no presenciales, ver artículo 5. e) de la convocatoria.

Dentro del mes siguiente a la finalización de la colaboración, presentar certificación acreditativa del Departamento de haber prestado la colaboración en los términos previstos en el proyecto, en la unidad de becas de su Universidad.

Contra esta Resolución, podrá interponer recurso contencioso-administrativo en el plazo de dos meses ante la Sala de lo Contencioso-Administrativo de la Audiencia Nacional, sin perjuicio del recurso potestativo de reposición que podrá interponerse según lo dispuesto en los artículos 116 y 117 de la Ley 30/92 en la redacción dada por la Ley 4/99.

Madrid, 06 de noviembre de 2017

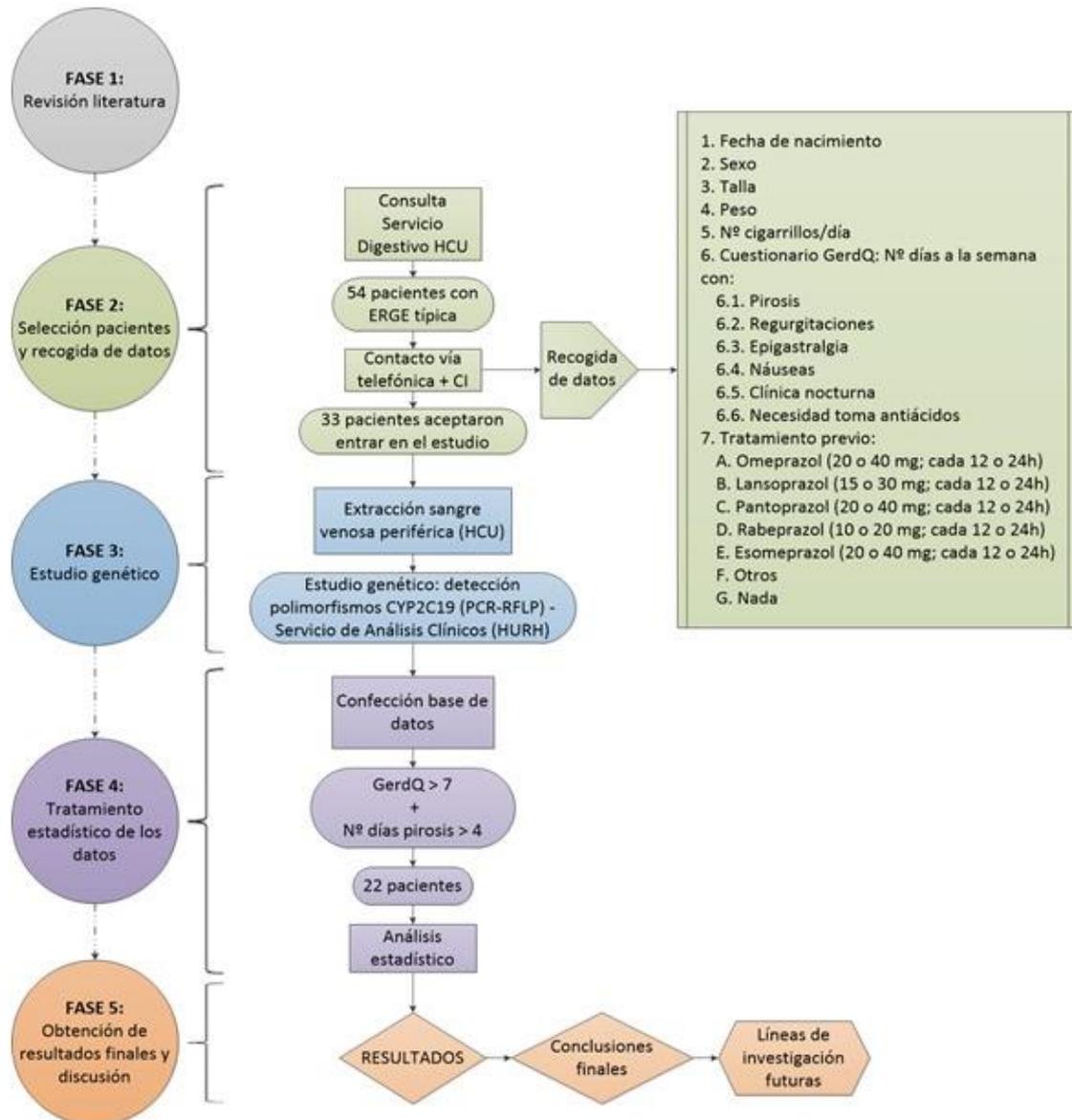
EL SECRETARIO DE ESTADO DE EDUCACIÓN,
FORMACIÓN PROFESIONAL Y UNIVERSIDADES



SUBDIRECCIÓN GENERAL DE BECAS, AYUDAS AL ESTUDIO Y PROMOCIÓN EDUCATIVA

csv: 274137847740308359832421

Anexo 5. Cronograma del proyecto.



Anexo 6. Escala o cuestionario GerdQ.

GerdQ questionnaire.

Question	Frequency score (points) for symptom			
	0 day	1 day	2-3 days	4-7 days
1. How often did you have a burning feeling behind your breastbone (heartburn)?	0	1	2	3
2. How often did you have stomach contents (liquid or food) moving upwards to your throat or mouth (regurgitation)?	0	1	2	3
3. How often did you have pain in the centre of the upper stomach?	3	2	1	0
4. How often did you have nausea?	3	2	1	0
5. How often did you have difficulty getting a good night's sleep because of your heartburn and/or regurgitation?	0	1	2	3
6. How often did you take additional medication for your heartburn and/or regurgitation, other than what the physician told you to take) (such as Tums, Roloids, Maalox?)	0	1	2	3

GerdQ is a self-administered tool that asks patients to score the frequency of symptoms during the previous 7 days. A 0-3 frequency scoring system is used for the positive predictors of GORD (heartburn, regurgitation, sleep disturbance due to reflux symptoms or use of over-the-counter (OTC) medications) and a reversed 3-0 scoring system is used for the negative predictors of GORD (epigastric pain and nausea) giving a total GerdQ score range of 0-18. Sleep disturbance and use of OTC medication are items used for judging the impact of GORD, giving a separate impact score ranging from 0-6.

Anexo 7. Estudio genético.

7.1. CYP2C19*2*3



User Developed or Modified Test Method

CYP2C19-2-3 14032018

Experiment

Creation Date	Mar-14-2018 16:11:52	Last Modified Date	Mar-14-2018 18:22:07
Operator	LCUser	Owner	LCUser
Start Time	Mar-14-2018 17:17:54	End Time	Mar-14-2018 18:08:01
Run State	Completed	Software Version	LCS4 4.1.1.21
Macro		Macro Owner	
Templates	CYP2C19-2-3 Run Protocol		
Run Notes			

Programs

Program Name	DESNAT					
Cycles	1	Analysis Mode	None			

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
95	00:10:00	20	0	0	0	None

Program Name	CICLADO					
Cycles	45	Analysis Mode	None			

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
95	00:00:05	20	0	0	0	None
60	00:00:10	20	0	0	0	None
72	00:00:15	20	0	0	0	None

Program Name	FUSION					
Cycles	1	Analysis Mode	None			

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
95	00:00:20	20	0	0	0	None
40	00:00:20	20	0	0	0	None
85	00:00:00	0.2	0	0	0	Continuous

Program Name	FRIO					
Cycles	1	Analysis Mode	None			

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
40	00:00:30	20	0	0	0	None

Tm *2 (Tm Calling)

Settings

Channel	530	Color Compensation	CC 530-640 10122013 JUAN [530, 640, 705]		
Program	FUSION				
Show Shoulders	Off	High Sensitivity	Off	Max Peaks	2

Calibrators

Channel	Tm Calibrator	Expected TM
530	(None)	
560	(None)	
610	(None)	
640	(None)	
670	(None)	
705	(None)	

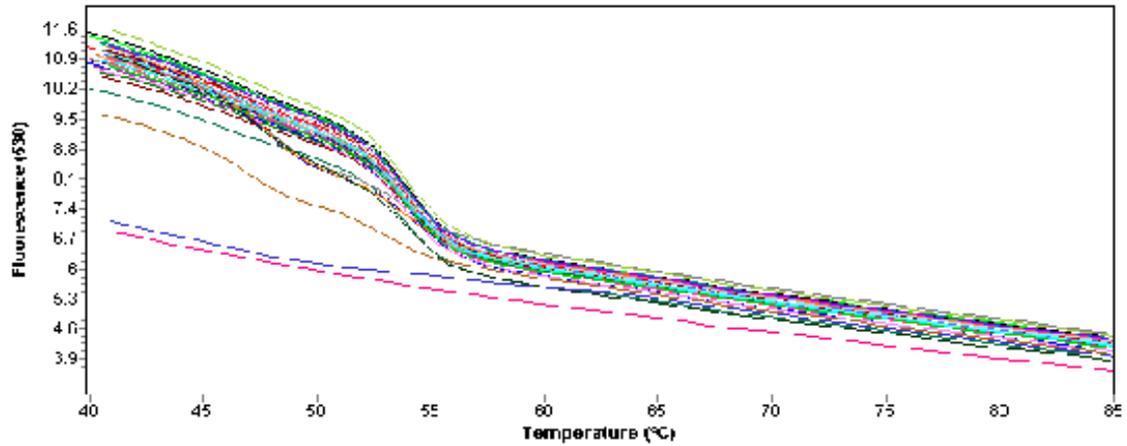
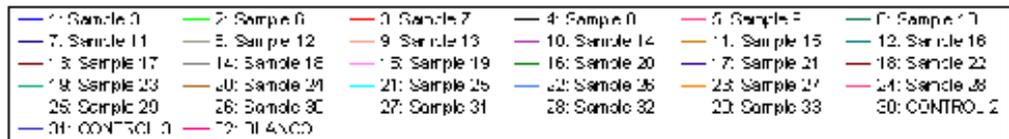
Results

Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2			
			Tm	Area	Wide	High	Tm	Area	Wide	High
<input checked="" type="checkbox"/>	1	1	0.00	0.00	0.00	0.00	54.83	1.01	2.71	0.22
<input checked="" type="checkbox"/>	2	2	0.00	0.00	0.00	0.00	54.77	1.07	2.60	0.23
<input checked="" type="checkbox"/>	3	3	0.00	0.00	0.00	0.00	54.86	1.02	2.79	0.23
<input checked="" type="checkbox"/>	4	4	0.00	0.00	0.00	0.00	54.89	1.01	2.80	0.23
<input checked="" type="checkbox"/>	5	5	0.00	0.00	0.00	0.00	54.78	0.97	2.82	0.22
<input checked="" type="checkbox"/>	6	1 2uL	0.00	0.00	0.00	0.00	55.41	1.14	2.85	0.26
<input checked="" type="checkbox"/>	7	CONTROL2	49.33	0.82	2.36	0.21	55.16	1.37	2.88	0.31
<input checked="" type="checkbox"/>	8	CONTROL3								
<input checked="" type="checkbox"/>	9	BLANCO								

Results

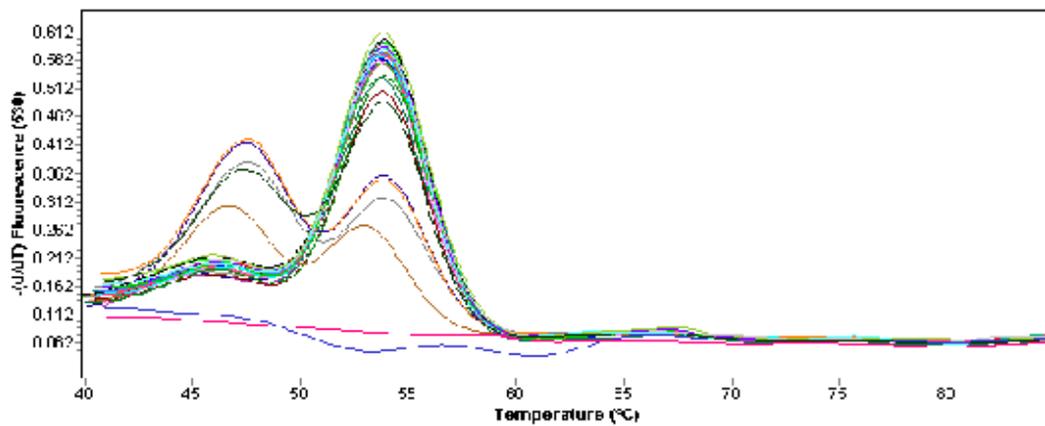
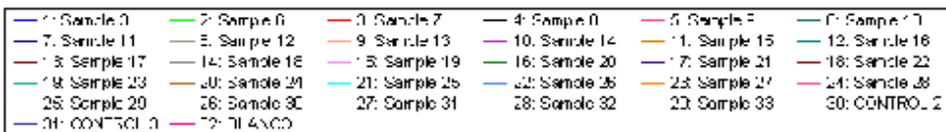
Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2			
			Tm	Area	Wide	High	Tm	Area	Wide	High
<input checked="" type="checkbox"/>	1	Sample 3	0.00	0.00	0.00	0.00	53.81	2.26	2.69	0.52
<input checked="" type="checkbox"/>	2	Sample 6	0.00	0.00	0.00	0.00	53.90	2.35	2.73	0.54
<input checked="" type="checkbox"/>	3	Sample 7	0.00	0.00	0.00	0.00	53.70	2.40	2.60	0.54
<input checked="" type="checkbox"/>	4	Sample 8	0.00	0.00	0.00	0.00	53.88	2.36	2.70	0.54
<input checked="" type="checkbox"/>	5	Sample 9	0.00	0.00	0.00	0.00	53.82	2.24	2.76	0.53
<input checked="" type="checkbox"/>	6	Sample 10	0.00	0.00	0.00	0.00	53.69	2.10	2.69	0.49
<input checked="" type="checkbox"/>	7	Sample 11	0.00	0.00	0.00	0.00	53.66	2.29	2.61	0.52
<input checked="" type="checkbox"/>	8	Sample 12	0.00	0.00	0.00	0.00	53.84	2.24	2.78	0.53
<input checked="" type="checkbox"/>	9	Sample 13	0.00	0.00	0.00	0.00	53.90	2.24	2.76	0.53
<input checked="" type="checkbox"/>	10	Sample 14	0.00	0.00	0.00	0.00	53.79	2.18	2.71	0.52
<input checked="" type="checkbox"/>	11	Sample 15	0.00	0.00	0.00	0.00	53.85	2.25	2.69	0.53
<input checked="" type="checkbox"/>	12	Sample 16	0.00	0.00	0.00	0.00	53.72	2.35	2.56	0.54
<input checked="" type="checkbox"/>	13	Sample 17	0.00	0.00	0.00	0.00	53.75	1.96	2.65	0.46
<input checked="" type="checkbox"/>	14	Sample 18	47.65	1.11	2.54	0.30	53.90	1.20	2.73	0.26
<input checked="" type="checkbox"/>	15	Sample 19	0.00	0.00	0.00	0.00	53.61	2.20	2.62	0.53
<input checked="" type="checkbox"/>	16	Sample 20	0.00	0.00	0.00	0.00	53.76	2.14	2.58	0.49
<input checked="" type="checkbox"/>	17	Sample 21	47.46	1.39	2.46	0.36	53.87	1.38	2.85	0.31
<input checked="" type="checkbox"/>	18	Sample 22	0.00	0.00	0.00	0.00	53.85	2.26	2.72	0.54
<input checked="" type="checkbox"/>	19	Sample 23	0.00	0.00	0.00	0.00	53.70	2.34	2.61	0.55
<input checked="" type="checkbox"/>	20	Sample 24	46.71	0.89	2.70	0.24	52.84	1.04	2.64	0.22
<input checked="" type="checkbox"/>	21	Sample 25	0.00	0.00	0.00	0.00	53.63	2.25	2.57	0.52
<input checked="" type="checkbox"/>	22	Sample 26	0.00	0.00	0.00	0.00	53.80	2.20	2.65	0.53
<input checked="" type="checkbox"/>	23	Sample 27	47.45	1.39	2.48	0.37	53.86	1.38	2.74	0.30
<input checked="" type="checkbox"/>	24	Sample 28	0.00	0.00	0.00	0.00	53.78	2.10	2.65	0.51
<input checked="" type="checkbox"/>	25	Sample 29	0.00	0.00	0.00	0.00	53.86	2.20	2.71	0.54
<input checked="" type="checkbox"/>	26	Sample 30	0.00	0.00	0.00	0.00	53.75	2.12	2.64	0.51
<input checked="" type="checkbox"/>	27	Sample 31	0.00	0.00	0.00	0.00	53.76	2.40	2.58	0.57
<input checked="" type="checkbox"/>	28	Sample 32	0.00	0.00	0.00	0.00	53.90	2.18	2.75	0.55
<input checked="" type="checkbox"/>	29	Sample 33	0.00	0.00	0.00	0.00	53.77	2.18	2.69	0.54
<input checked="" type="checkbox"/>	30	CONTROL 2	47.14	1.80	1.90	0.34	53.91	2.00	2.89	0.46
<input checked="" type="checkbox"/>	31	CONTROL 3								
<input checked="" type="checkbox"/>	32	BLANCO								

Melting Curves



User Developed or Modified Test Method

Melting Peaks



Tm #3 (Tm Calling)

Settings

Channel	640	Color Compensation	CC 530-640 10122013 JUAN [530, 640, 705]		
Program	FUSION				
Show Shoulders	Off	High Sensitivity	Off	Max Peaks	2

Calibrators

Channel	Tm Calibrator	Expected TM
530	(None)	
560	(None)	
610	(None)	
640	(None)	
670	(None)	
705	(None)	

Results

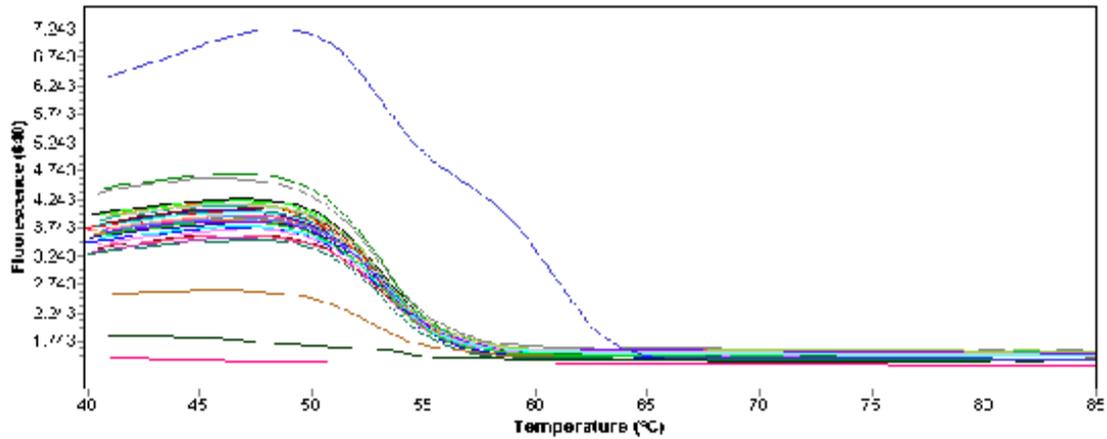
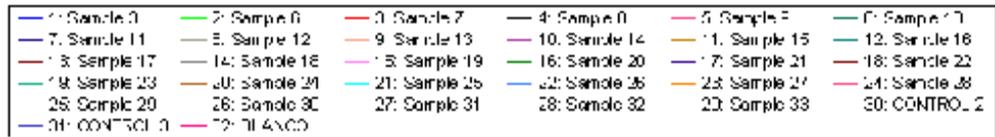
Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2			
			Tm	Area	Wide	High	Tm	Area	Wide	High
<input checked="" type="checkbox"/>	1	1	53.65	0.95	2.30	0.19				
<input checked="" type="checkbox"/>	2	2	53.82	0.93	2.41	0.19				
<input checked="" type="checkbox"/>	3	3	53.85	0.97	2.40	0.20				
<input checked="" type="checkbox"/>	4	4	53.88	0.87	2.44	0.18				
<input checked="" type="checkbox"/>	5	5	53.88	0.88	2.51	0.19				
<input checked="" type="checkbox"/>	6	1 2uL	54.00	2.38	2.16	0.45				
<input checked="" type="checkbox"/>	7	CONTROL2								
<input checked="" type="checkbox"/>	8	CONTROL3	53.95	1.65	2.12	0.39	51.46	1.21	2.56	0.38
<input checked="" type="checkbox"/>	9	BLANCO								

Results

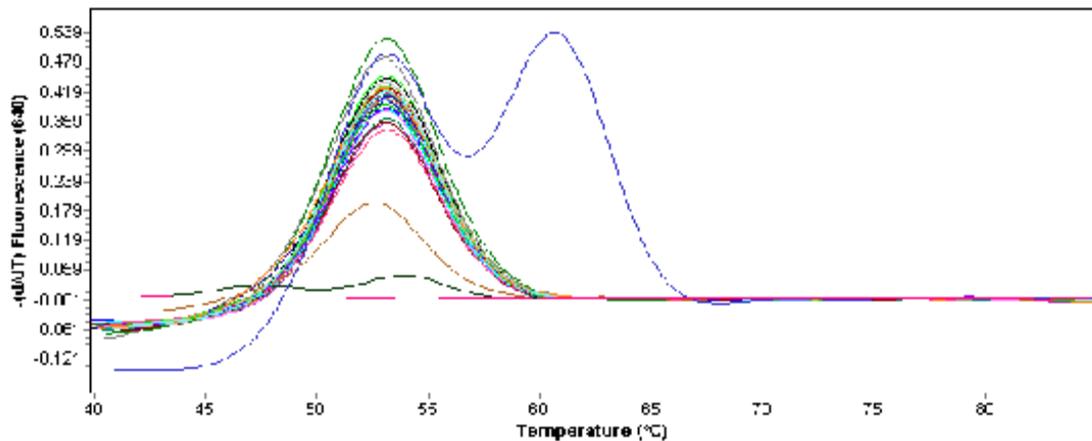
Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2			
			Tm	Area	Wide	High	Tm	Area	Wide	High
<input checked="" type="checkbox"/>	1	Sample 3	53.04	2.25	2.22	0.42				
<input checked="" type="checkbox"/>	2	Sample 6	53.03	2.42	2.18	0.49				
<input checked="" type="checkbox"/>	3	Sample 7	53.09	2.37	2.23	0.46				
<input checked="" type="checkbox"/>	4	Sample 8	53.07	2.47	2.17	0.48				
<input checked="" type="checkbox"/>	5	Sample 9	53.09	2.30	2.24	0.44				
<input checked="" type="checkbox"/>	6	Sample 10	53.03	2.01	2.26	0.39				
<input checked="" type="checkbox"/>	7	Sample 11	53.03	2.07	2.23	0.43				
<input checked="" type="checkbox"/>	8	Sample 12	53.10	2.27	2.27	0.44				
<input checked="" type="checkbox"/>	9	Sample 13	53.16	2.27	2.24	0.44				
<input checked="" type="checkbox"/>	10	Sample 14	53.10	1.90	2.24	0.38				
<input checked="" type="checkbox"/>	11	Sample 15	53.05	2.17	2.19	0.44				
<input checked="" type="checkbox"/>	12	Sample 16	53.10	2.19	2.18	0.43				
<input checked="" type="checkbox"/>	13	Sample 17	53.06	1.90	2.26	0.38				
<input checked="" type="checkbox"/>	14	Sample 18	53.03	2.89	2.18	0.51				
<input checked="" type="checkbox"/>	15	Sample 19	52.98	1.98	2.25	0.42				
<input checked="" type="checkbox"/>	16	Sample 20	53.09	2.97	2.17	0.55				
<input checked="" type="checkbox"/>	17	Sample 21	53.22	2.21	2.25	0.41				
<input checked="" type="checkbox"/>	18	Sample 22	53.16	2.32	2.23	0.45				
<input checked="" type="checkbox"/>	19	Sample 23	53.00	2.33	2.22	0.48				
<input checked="" type="checkbox"/>	20	Sample 24	52.62	1.08	2.37	0.21				
<input checked="" type="checkbox"/>	21	Sample 25	53.04	2.24	2.25	0.42				
<input checked="" type="checkbox"/>	22	Sample 26	53.00	2.17	2.23	0.43				
<input checked="" type="checkbox"/>	23	Sample 27	53.05	2.49	2.16	0.45				
<input checked="" type="checkbox"/>	24	Sample 28	53.22	1.75	2.25	0.36				
<input checked="" type="checkbox"/>	25	Sample 29	53.23	2.04	2.24	0.41				
<input checked="" type="checkbox"/>	26	Sample 30	53.14	2.09	2.22	0.42				
<input checked="" type="checkbox"/>	27	Sample 31	53.15	2.39	2.20	0.46				
<input checked="" type="checkbox"/>	28	Sample 32	53.15	2.31	2.21	0.45				
<input checked="" type="checkbox"/>	29	Sample 33	53.09	2.29	2.22	0.44				
<input checked="" type="checkbox"/>	30	CONTROL 2	47.43	0.13	2.57	0.03	53.86	0.22	3.00	0.05
<input checked="" type="checkbox"/>	31	CONTROL 3	53.19	2.60	2.08	0.55	30.69	2.30	2.39	0.58
<input checked="" type="checkbox"/>	32	BLANCO								

User Developed or Modified Test Method

Melting Curves



Melting Peaks



7.2. CYP2C19*17

LightCycler[®] Software Version 4.1

User Developed or Modified Test Method

CYP2C19-17 14032018

Experiment

Creation Date	3/14/2018 16:37:35	Last Modified Date	3/14/2018 18:32:59
Operator	LC User	Owner	LC User
Start Time	3/14/2018 17:29:25	End Time	3/14/2018 18:23:43
Run State	Completed	Software Version	LC8+ 4.1.1.21
Macro		Macro Owner	
Templates			
Run Notes			

Programs

Program Name	DESMAT		
Cycles	1	Analysis Mode	None

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
95	00:10:00	20	0	0	0	None

Program Name	CICLADO		
Cycles	45	Analysis Mode	None

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
95	00:00:10	20	0	0	0	None
60	00:00:10	20	0	0	0	None
72	00:00:15	20	0	0	0	None

Program Name	FUSION		
Cycles	1	Analysis Mode	None

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
95	00:00:20	20	0	0	0	None
40	00:00:20	20	0	0	0	None
85	00:00:00	0.2	0	0	0	Continuous

Program Name	FRIO		
Cycles	1	Analysis Mode	None

Target (°C)	Hold (hh:mm:ss)	Slope (°C/s)	Sec Target (°C)	Step size (°C)	Step Delay (cycles)	Acquisition Mode
40	00:00:30	20	0	0	0	None

CYP2C19-17 14032018

4/20/2018

Page 1 of 3

Tm CYP2C19*17 (Tm Calling)

Settings

Channel	530	Color Compensation	Off
Program	FUSION		
Show Shoulders	Off	High Sensitivity	Off
		Max Peaks	2

Calibrators

Channel	Tm Calibrator	Expected Tm
530	(None)	
640	(None)	
705	(None)	

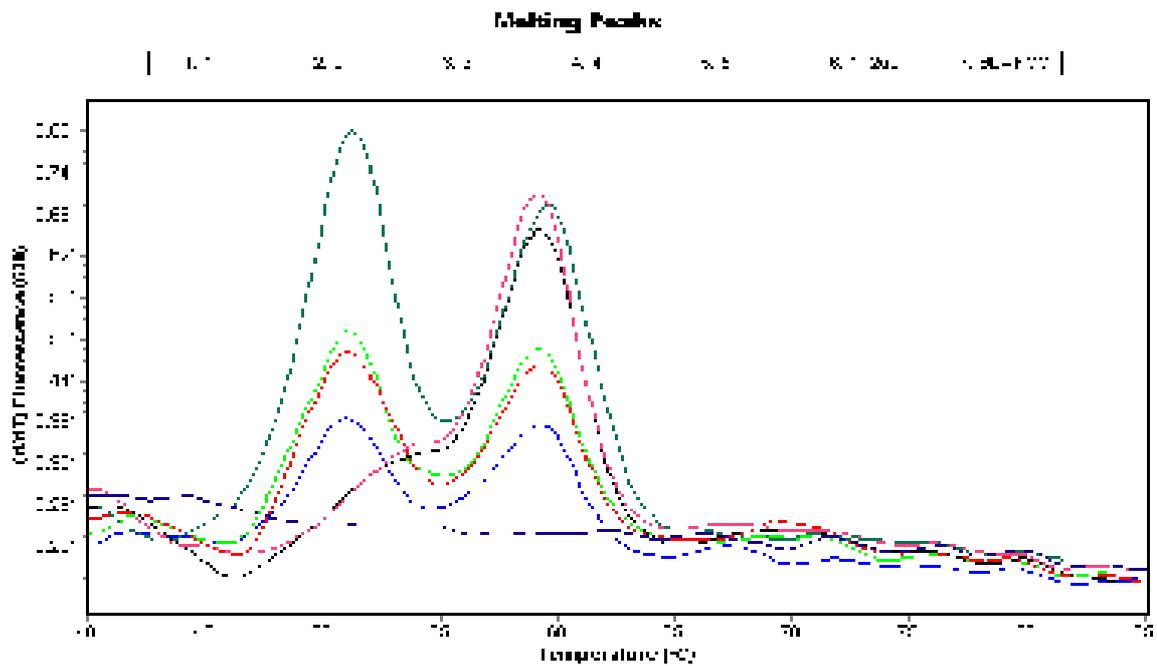
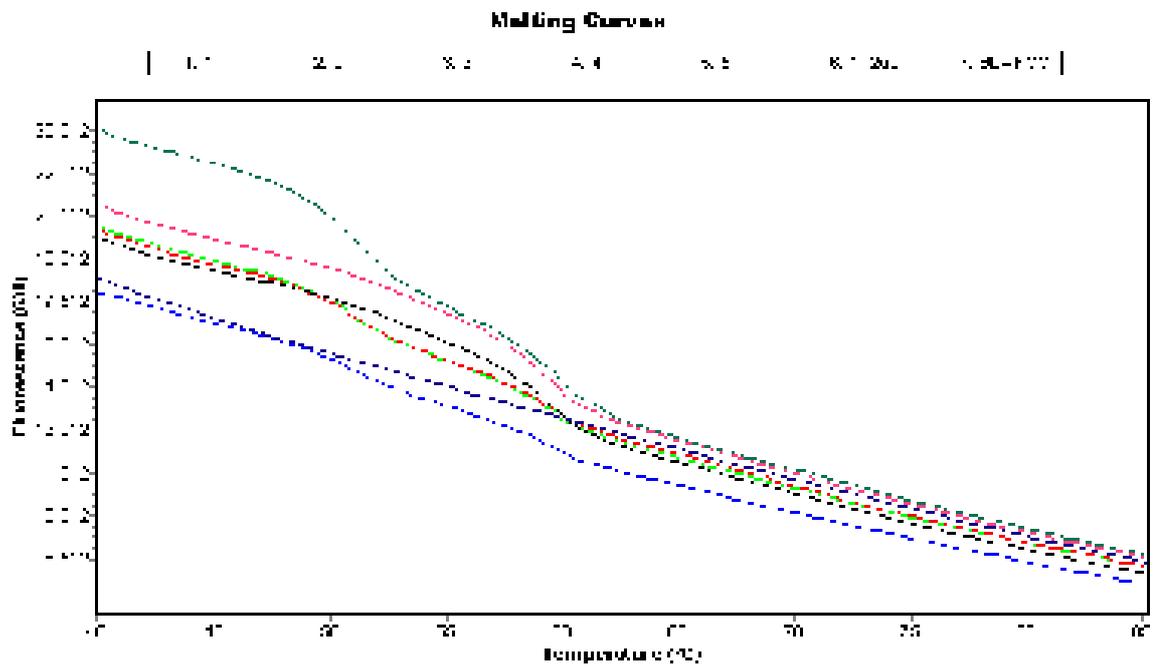
Results

Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2			
			Tm	Area	Wide	High	Tm	Area	Wide	High
<input type="checkbox"/>	1	1	51.06	0.90	2.68	0.19	59.24	1.06	2.30	0.19
<input type="checkbox"/>	2	2	51.04	1.42	2.78	0.31	59.13	1.57	2.31	0.29
<input type="checkbox"/>	3	3	51.11	1.45	2.56	0.29	59.10	1.43	2.39	0.27
<input type="checkbox"/>	4	4					59.24	2.09	2.84	0.46
<input type="checkbox"/>	5	5	0.00	0.00	0.00	0.00	59.20	2.33	2.54	0.47
<input type="checkbox"/>	6	1 2uL	51.24	2.53	2.64	0.58	59.60	2.52	2.44	0.48
<input type="checkbox"/>	7	BLANCO								

Results

Inc	Pos	Sample Name	Peak 1				Peak 2			
			Tm	Area	Wide	High	Tm	Area	Wide	High
<input type="checkbox"/>	1	Sample 3	0.00	0.00	0.00	0.00	58.10	4.80	2.57	0.59
<input type="checkbox"/>	2	Sample 6	0.00	0.00	0.00	0.00	58.02	5.13	2.46	1.02
<input type="checkbox"/>	3	Sample 7	0.00	0.00	0.00	0.00	58.02	5.21	2.46	1.03
<input type="checkbox"/>	4	Sample 8	49.70	1.98	3.06	0.60	58.21	3.06	2.56	0.63
<input type="checkbox"/>	5	Sample 9	49.78	1.86	2.69	0.56	58.13	2.86	2.54	0.58
<input type="checkbox"/>	6	Sample 10	0.00	0.00	0.00	0.00	57.86	4.87	2.42	0.96
<input type="checkbox"/>	7	Sample 11	0.00	0.00	0.00	0.00	58.26	4.47	2.59	0.93
<input type="checkbox"/>	8	Sample 12	0.00	0.00	0.00	0.00	57.94	5.26	2.48	1.06
<input type="checkbox"/>	9	Sample 13	0.00	0.00	0.00	0.00	57.84	5.19	2.44	1.00
<input type="checkbox"/>	10	Sample 14	0.00	0.00	0.00	0.00	57.86	4.14	2.42	0.80
<input type="checkbox"/>	11	Sample 15	49.53	2.16	2.83	0.63	57.88	2.98	2.46	0.57
<input type="checkbox"/>	12	Sample 16	0.00	0.00	0.00	0.00	57.86	5.25	2.56	1.07
<input type="checkbox"/>	13	Sample 17	49.69	1.72	3.27	0.56	58.23	2.66	2.80	0.59
<input type="checkbox"/>	14	Sample 18	49.72	2.73	2.83	0.66	57.81	3.00	2.53	0.60
<input type="checkbox"/>	15	Sample 19	49.66	2.37	2.77	0.65	57.79	3.12	2.50	0.63
<input type="checkbox"/>	16	Sample 20	0.00	0.00	0.00	0.00	57.98	5.46	2.72	1.18
<input type="checkbox"/>	17	Sample 21	0.00	0.00	0.00	0.00	57.78	5.31	2.59	1.09
<input type="checkbox"/>	18	Sample 22	49.75	1.92	3.38	0.64	58.03	3.03	2.66	0.64
<input type="checkbox"/>	19	Sample 23	0.00	0.00	0.00	0.00	57.96	5.09	2.63	1.07
<input type="checkbox"/>	20	Sample 24	0.00	0.00	0.00	0.00	57.91	5.21	2.66	1.11
<input type="checkbox"/>	21	Sample 25	49.86	1.66	3.62	0.59	58.13	2.56	2.60	0.53

User Developed or Modified Test Method



User Developed or Modified Test Method

Melting Peaks

- | | | | | |
|--------------|--------------|--------------|--------------|--------------|
| 1 Sample 1 | 2 Sample 8 | 3 Sample 7 | 4 Sample 6 | 5 Sample 9 |
| 6 Sample 10 | 7 Sample 11 | 8 Sample 12 | 9 Sample 13 | 10 Sample 14 |
| 11 Sample 15 | 12 Sample 16 | 13 Sample 17 | 14 Sample 18 | 15 Sample 19 |
| 16 Sample 20 | 17 Sample 21 | 18 Sample 22 | 19 Sample 23 | 20 Sample 24 |
| 21 Sample 25 | 22 Sample 26 | 23 Sample 27 | 24 Sample 28 | 25 Sample 29 |
| 26 Sample 30 | 27 Sample 31 | 28 Sample 32 | 29 Sample 33 | 30 Sample 34 |
| 31 Sample 35 | 32 Sample 36 | | | |

