



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE MÉXICO**
Facultad de Medicina
División de estudios de posgrado

**HOSPITAL INFANTIL de MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ**

**NIVELES EN SANGRE DE TACROLIMUS SEGÚN GENOTIPO
EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL Y RELACIÓN CON LA
EVOLUCIÓN DEL INJERTO A TRES MESES.**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN:

PEDIATRÍA

PRESENTA:

DRA. ELIDETH MARINA CORNEJO VELA

DIRECTOR DE TESIS: DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO

ASESOR DE TESIS: DRA. MARÍA INÉS DEL PILAR GARCÍA ROCA



MÉXICO D.F., FEBRERO 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

HOJA DE FIRMAS

DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO
Directora de Enseñanza y Desarrollo Académico

TUTORES DE TESIS:



DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO
Jefe del Lab. de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo



DRA. MARÍA INÉS DEL PILAR GARCÍA ROCA
Lab. de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo

DEDICATORIAS

Dedico esta tesis primero que nada a mi familia, especialmente a mi madre, que desde el inicio de mis estudios profesionales he recibido su apoyo incondicional y que sin su ayuda no hubiera sido posible continuar en este camino, a mi hermana y mi sobrino quienes han sido una fortaleza en mi vida para seguir adelante a pesar de las adversidades, así como una inspiración para cuidar de mis pacientes como si fueran ellos mismos. A mi novio quien ha llegado en el mejor momento, quien me hace ver las cosas siempre de forma positiva, con quien se que puedo contar incondicionalmente, con su paciencia y amor ha hecho de mi una mejor persona. A mis compañeros que siempre me brindaron su amistad sincera, quienes en vez de juzgarme me extendieron su mano para ayudarme. A mis tutoras de tesis agradezco la confianza que depositaron en mí para ser parte de este proyecto, que siempre estuvieron en la disposición de ayudarme y que a pesar de las adversidades, me permitieron continuar. A mis pacientes no solo dedico sino que agradezco por ser siempre un ejemplo de lucha y optimismo, quienes me han dejado una huella imborrable y enseñanza infinita, los cuales son mi motor para seguir estudiando y prepararme en lo profesional y en lo espiritual.

ÍNDICE

Introducción.....	1
Marco Teórico.....	2
Antecedentes.....	10
Planteamiento del problema.....	11
Pregunta de investigación.....	12
Justificación.....	13
Objetivos.....	14
Hipótesis.....	15
Metodología.....	16
Plan de Análisis Estadístico.....	19

Descripción de variables.....20

Resultados.....21

Discusión.....26

Conclusión.....28

Cronograma de actividades.....29

Referencias bibliográficas.....30

Limitaciones del estudio.....35

Anexos.....36

INTRODUCCION

El tacrolimus es un fármaco inmunosupresor, potente inhibidor de la calcineurina, que ha destacado su utilidad en la prevención del rechazo en trasplantes de órganos en la población pediátrica. La dosificación adecuada requiere la individualización y continuos ajustes en base al monitoreo farmacológico de niveles en sangre ya que tiene un estrecho margen terapéutico y de seguridad, así como gran variabilidad farmacocinética en niños. El metabolismo de tacrolimus depende de la expresión de las enzimas metabolizadoras *CYP3A4* y *CYP3A5*, que en relación con polimorfismos genéticos tienen amplia variación en la expresión y la función: *CYP3A5* * 1 proporciona la proteína funcional, mientras que la mutación de alelo *CYP3A5* * 3 produce una proteína no activa, llegando a requerir dosis más altas de tacrolimus a fin de alcanzar adecuada biodisponibilidad. La población mexicana presenta una distribución particular de genotipos *CYP3A5* con respecto a otros grupos étnicos, por lo tanto, los regímenes de dosificación derivados de los caucásicos no deben ser extrapolados a ciegas a la población mexicana. Es necesario seguir realizando estudios clínicos de farmacocinética y farmacogenética, en mexicanos, en particular en la población pediátrica para los fármacos con índices terapéuticos estrechos para lo cual los errores de dosificación pueden producir graves consecuencias, como es el caso de tacrolimus. Se necesitan más estudios, para establecer si la determinación de los polimorfismos *CYP3A5* antes del trasplante permite diseñar sistemas adecuados de dosificación, lo que resulte en una mejor supervivencia del injerto con un menor rechazo agudo y episodios de nefrotoxicidad, así como la reducción de otros efectos adversos como hipertensión. Ante esta problemática Este trabajo se centra en niños receptores de trasplante renal, en quienes se determinó el genotipo de *CYP3A5* previo al trasplante con seguimiento a 3 meses para evaluar de forma semanal tanto por clínica como por laboratorio la evolución del injerto con las dosis convencionales de tacrolimus, y los eventos adversos que se hayan presentado con el fin de proponer una dosis de tacrolimus de acuerdo al genotipo.

MARCO TEÓRICO

La enfermedad renal crónica, se define como el daño renal que se presenta por un tiempo igual o mayor a 3 meses, con presencia de anormalidades estructurales y/o funcionales del riñón, con o sin disminución de la velocidad de filtración glomerular (VFG) y una o más de las siguientes características:

Alteración en exámenes de orina o sangre

Alteraciones en estudios de imagen

Alteraciones en la biopsia renal

También se considera enfermedad renal crónica a una VFG menor de $60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$, igual o mayor a 3 meses con o sin otros signos descritos previamente. ⁽¹⁾

Las guías K/DOQI clasifican a la enfermedad renal crónica en 5 estadios ⁽²⁾:

Estadio 1: VFG mayor a $90\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$

Estadio 2: VFG entre 89 y $60\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$

Estadio 3: VFG entre 59 y $30\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$

Estadio 4: VFG entre 29 y $15\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$

Estadio 5: VFG menor a $15\text{mL}/\text{min}/1.73\text{m}^2$ se considera Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERCT). ⁽³⁻⁶⁾

Las implicaciones de la ERCT son diferentes en los niños en comparación con los adultos, ya que además de anemia, hipertensión arterial, desequilibrio hidroelectrolítico, enfermedad óseo-metabólica, proteinuria y oliguria, afecta el desarrollo neuropsicológico y de diferentes órganos, por lo que el reemplazo de la función renal es de suma importancia. ^(5, 7, 8)

El trasplante renal (TR), se prefiere sobre las terapias de reemplazo renal dialítica (diálisis peritoneal y hemodiálisis) ya que restablece la función renal, promueve el crecimiento adecuado, corrige la osteodistrofia, evita la anemia, disminuye el estrés producido por el tratamiento con diálisis, promueve mejor desarrollo psicosocial, aumenta la calidad de vida y a largo plazo tiene menor costo que la diálisis. ⁽⁹⁻¹¹⁾

La supervivencia del injerto depende de múltiples factores entre los que destacan la calidad del tejido renal, compatibilidad injerto-huésped, condiciones preexistentes, la edad del receptor y del donador, diferencias raciales, transfusiones de sangre previas, tiempo de isquemia fría, entre otros. ^(8,12)

El rechazo es la principal complicación inmunológica posterior al trasplante y de acuerdo a su aparición en el momento post-trasplante se clasifica en:

Hiperagudo: se presenta en las primeras horas post-trasplante, es causada por la presencia de anticuerpos preformados dirigidos contra antígenos endoteliales del donante.

Agudo: aparece dentro de los primeros meses post-trasplante, es un proceso de lesión vascular y parenquimatosa en el que intervienen linfocitos T y anticuerpos.

La nefropatía crónica o daño crónico: se distingue por fibrosis y alteraciones vasculares con pérdida de la función del injerto. Los cambios se observan en arterias, túbulos, intersticio y glomérulos, los cuales pueden aparecer después de episodios repetidos de rechazo agudo. ⁽¹³⁾

El mecanismo inmunológico relacionado con el rechazo del injerto se inicia por el reconocimiento del injerto a través del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) del receptor, el cual activa a los linfocitos T mediante la interacción del antígeno (HLA del donador) y el TCR (T cell receptor) del linfocito del huésped. Esta interacción promueve la fosforilación de la tirosina presente en la fosfolipasa C gamma, del receptor, y la hidrólisis del fosfatidil difosfato (PIP2) con la subsecuente aparición del inositol trifosfato (IP3) y el diacilglicerol (DAG), estas moléculas promueven el incremento de calcio y la activación de la proteína cinasa C (PKC) y dan lugar a la estimulación del factor nuclear activador de linfocitos T (NFAT); estos factores pasan al núcleo celular y se acoplan a regiones promotoras en el DNA y promueven la producción de interleucina 2 (IL-2), interleucina 4 (IL-4) y factores citotóxicos. ^(12, 14) La Calcineurina (PPP3C) es una enzima que cataliza la reacción de defosforilación de una fosfoproteína, es dependiente del calcio y una proteína fosfatasa estimulada por la calmodulina. Es responsable de la activación de la transcripción de la IL-2, proteína a su vez responsable de la estimulación del crecimiento y diferenciación de los linfocitos T.

El conocimiento de los mecanismos inmunológicos del rechazo ha permitido la generación de terapias dirigidas a prevenir o revertir la actividad inmunológica contra el injerto por parte del receptor.

Existen diversas estrategias terapéuticas encaminadas a la prevención del rechazo, intentando en lo posible de individualizar la terapia, las cuales han sido agrupadas en las siguientes tres etapas:

1. Etapa de inducción en la cual se establece una pauta profiláctica para prevenir y retrasar el rechazo agudo, en la que son administradas elevadas dosis de inmunosupresor. Entre los fármacos empleados se encuentran anticuerpos antilinfocitos poli o monoclonales, anticuerpos contra el receptor de IL-2 (CD25), esteroides, y mayores dosis de inmunosupresores de mantenimiento.
2. Etapa de mantenimiento en la que se administran dosis más bajas de inmunosupresores con respecto a la etapa de inducción. En esta fase se trata de encontrar la dosis mínima del inmunosupresor, necesaria para evitar el rechazo (eficacia) y minimizar los eventos adversos (toxicidad). Los fármacos empleados en esta etapa son: esteroides, antiproliferativos (azatioprina y micofenolato de mofetilo), inhibidores mTor (sirolimus, everolimus), inhibidores de calcineurina (ciclosporina y tacrolimus).
3. Etapa de tratamiento del rechazo se caracteriza por la utilización de inmunosupresión intensa durante un periodo corto de tiempo con el objetivo de inhibir la activación del sistema inmune, una vez que hubo reconocimiento del injerto.

Ninguno de los fármacos anteriormente mencionados por si solo es efectivo para inhibir completamente la activación de los linfocitos T. Desde 1996 hasta la fecha se han empleado esquemas de tratamiento que involucran más de un inmunosupresor en el tratamiento de los pacientes con trasplante, los cuales han sido empleados en niños y adultos con buenos resultados en la prevención de rechazo. ⁽¹⁴⁻¹⁶⁾

Los inhibidores de calcineurina, ciclosporina y tacrolimus, han mostrado ser básicos en el tratamiento tanto de inducción como en el de mantenimiento del trasplante debido a que se ha comprobado gran eficacia como inhibidores de la respuesta inmune. Después de su introducción se logró mejorar la supervivencia del injerto tanto de donador vivo como de donador cadavérico hasta 80% a 5 años. ⁽¹⁷⁾

La individualización de la dosis es complicada por el estrecho índice terapéutico y la variabilidad inter e intraindividual que presenta, lo que hace necesario el monitoreo farmacológico constante, para su dosificación. Además, existen factores propios del individuo como el sexo, la herencia genética, el desarrollo orgánico del paciente, la presencia y naturaleza de la

enfermedad existente, el estado nutricional y la adherencia al tratamiento, que complican aún más la dosificación. ^(5, 17-20)

Tacrolimus (Tac)

Pertenece al grupo de los macrólidos con actividad antimicrobiana restringida. Este fármaco es producido por el hongo *Streptomyces tsukubaensis*, el cual fue descubierto en 1984 en Japón ⁽⁸⁾ y aprobado por la FDA en 1994.

Dosis

La dosis inicial es de 0.1 a 0.15mg/Kg/día, administrados en dos dosis al día; con esta dosificación se alcanzan concentraciones estables entre el tercer y cuarto día. El tipo de trasplante, el uso de otros inmunosupresores y el tiempo post-trasplante son factores que determinan los niveles en valle (concentración mínima eficaz) de Tac que se pretenden alcanzar. ⁽²¹⁾

Farmacocinética

Absorción

La absorción de Tac a nivel gastrointestinal ha sido asociada con la presencia de glicoproteína-P, de CYP3A5 y la composición de los alimentos. Se ha demostrado que alimentos con alto contenido de grasas (848 kcal y 46% de lípidos) provocan una disminución en 37% en el ABC (área bajo la curva, cantidad total de fármaco que alcanza la circulación sistémica) y hasta un 77% en la Cmax (concentración plasmática máxima), la presencia de alimentos ricos en carbohidratos (668 kcal, 85% de carbohidratos) disminuyen en un 28% el ABC y en un 65% la Cmax. Tac al ser absorbido alcanza el pico máximo en 0.5 a 2 horas, su vida media es de 8 a 19 horas. ^(8,22)

Distribución

Tac se distribuye en la mayoría de los tejidos incluyendo pulmón, corazón, riñón, páncreas, cerebro, músculo e hígado.

Pasa a través de la placenta. En la circulación fetal se ha detectado hasta un 35% de la concentración plasmática de la madre. En leche materna alcanza concentraciones similares a la concentración del plasma materno. ^(23, 24)

En sangre, Tac se une entre el 72% y 77% a la albúmina, a la glicoproteína α 1-ácida y a eritrocitos. La distribución de Tac en sangre depende del hematocrito, la concentración de proteínas en el plasma y la concentración del fármaco. ⁽²³⁾

El volumen de distribución (Vd) de Tac administrado por vía intravenosa en adultos es de 1 a 1.5L/Kg, mientras que en niños es de 2.6 a 2.7 L/Kg, lo que indica que en los pequeños el Vd es de hasta 1.8 veces más alto que en adultos. ⁽⁸⁾ En pacientes pediátricos, después de una administración oral, se alcanza un Vd de 9L/Kg. ^(8, 25, 26)

Existe una correlación entre la concentración en sangre y el ABC por lo que la concentración plasmática puede mejorarse a través del muestreo terapéutico. En pacientes con trasplante renal después de una dosis promedio de Tac de 0.16 mg/Kg/d, el ABC fue de 104ng*h/L mientras que en trasplante hepático el ABC fue de 252ng*h/L seguido de una dosis promedio de 0.3 mg/Kg/d.

Existe correlación entre el ABC y la Cmin (concentración plasmática mínima) posterior a la primera dosis oral de Tac con un valor $r = 0.9$ y en estado estacionario de $r = 0.83$, lo que sugiere que la Cmin de Tac es un buen indicador de la exposición sistémica. ^(8, 23, 27)

La biodisponibilidad depende de la expresión de las isoenzimas *CYP3A4*, *CYP3A5* y la glicoproteína P (P-gp), la función y actividad de estas proteínas varía marcadamente entre individuos y esto ha sido relacionado con la presencia de los polimorfismos presentes en los genes que codifican a *CYP3A4*, *CYP3A5* y a la P-gp.

Metabolismo

Tac es metabolizado por las isoenzimas *CYP3A4* y *CYP3A5*, las cuales se encuentran en su mayoría en el hígado y tracto gastrointestinal ⁽²⁸⁾, se han descrito al menos 15 metabolitos. Dentro de las modificaciones estructurales que Tac experimenta ante el metabolismo de *CYP3A* está la O-desmetilación de los carbonos 13, 15 y 31, y la hidroxilación.

El metabolito 31-O-desmetilado ha mostrado *in vitro*, un efecto inmunosupresor similar a Tac, pero se desconoce su eficacia terapéutica y/o toxicidad. ⁽²⁹⁾

Eliminación

En el hombre, más del 90% de la dosis de Tac es eliminada por vía biliar y menos del 1% por la orina. La vida media $T_{1/2\beta}$ de Tac en niños fue estimada en 12.4 horas, similar al adulto cuyo promedio fue de 12.1 horas ^(8, 30). El aclaramiento promedio después de una administración intravenosa de Tac fue de 0.040 L/hr en voluntarios sanos, mientras que en pacientes adultos con trasplante renal fue de 0.083 L/hr. En el trasplante de hígado, el aclaramiento de Tac en

adultos fue de 0.053 L/hr/Kg y en niños de 0.14 L/hr/Kg en trasplante hepático, con respecto al trasplante de médula ósea el aclaramiento fue de 0.108 L/hr/Kg en niños mientras que en los pacientes adultos fue de 0.071 L/hr/Kg. ⁽⁸⁾

Farmacodinamia

Mecanismo de Acción

El Tac es un potente inmunosupresor y selectivo agente antilinfocitos T, tiene un mecanismo similar a la ciclosporina mediante la inhibición de la calcineurina e impide la producción de IL-2 ⁽⁸⁾. El mecanismo inmunosupresor se inicia cuando Tac entra a la célula por difusión, ya en el citoplasma se acopla a la proteína FKBP (proteína transportadora), este complejo se une a su vez con la calcineurina, inhibiendo la acción de desfosforilación que tiene la calcineurina sobre NFAT ⁽¹³⁾, impidiendo su traslocación al núcleo celular, por lo cual la transcripción de IL-2, interferón- γ (IFN- γ), factor de necrosis tumoral- α (TNF α) y factor estimulador de colonias granulocito-macrófago (GM-CSF) se ve suprimida logrando un efecto inmunosupresor ⁽³¹⁾.

Tac ha mostrado una potencia 100 veces mayor que la ciclosporina, pero la inmunosupresión necesaria para prolongar la vida de los injertos conlleva una mayor predisposición a infecciones víricas y tumores asociados a los virus.

Efectos Adversos y Toxicidad

El Tac presenta un estrecho índice terapéutico, así como una gran variabilidad interindividual, por lo que errores en la dosificación de Tac pueden llevar al paciente trasplantado a rechazo o a la presentación de toxicidad, para evitar esto, actualmente se hace un monitoreo constante de los niveles sanguíneos.

Los eventos adversos de Tac incluyen: nefrotoxicidad, alteraciones en el metabolismo de la glucosa, hipertensión arterial, molestias gastrointestinales, hiperkalemia, infecciones por agentes oportunistas, enfermedad linfoproliferativa, hirsutismo, hipertrofia gingival, disfunción neurológica e hiperlipidemias. ^(8, 23, 30)

Interacciones Farmacológicas

La eritromicina, la claritromicina, el clotrimazol, el fluconazol, el ketoconazol, el nifedipino, el cloranfenicol, los corticoesteroides, la bromocriptina, el omeprazol, el tamoxifeno, la cimetidina, el verapamil y el jugo de toronja, promueven el metabolismo de Tac de tal modo que existe una reducción de las concentraciones sanguíneas. Los anticonvulsivantes como el fenobarbital, la fenitoína, la carbamazepina o la primidona son inductores del CYP. La coadministración de Tac con fármacos anti-inflamatorios no esteroideos incrementan la nefrotoxicidad, al igual que la co-

administración con los aminoglucósidos, el trimetoprima/sulfametoxazol, la anfotericina B, el aciclovir y con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina ⁽⁸⁾. La depuración de micofenolato esta disminuida cuando se emplea tacrolimus o sirolimus, por eso se recomienda monitoreo en estos pacientes.

Métodos de Detección del Tacrolimus

La concentración plasmática de Tac ha sido evaluada mediante inmunoensayos, métodos automatizados como el IMx y el Architect (Laboratorios Abott) los cuales llegan a detectar hasta 2ng/mL, la quimioluminiscencia la cual tiene la desventaja de tener un costo elevado y estos sólo detectan µg/mL. Otro método es el que emplea el HPLC acoplado a diferentes detectores como el UV o el de masas. ⁽³²⁾ El Tac es estable en muestras sanguíneas almacenadas a -70°C hasta por un año y por 2 semanas a temperaturas entre 4 y 22°C. La detección de Tac en los fluidos corporales está limitada por su absorción y por la presencia de otros fármacos.

Tabla 1. Niveles objetivo en valle del tacrolimus en pacientes con trasplante renal ⁽³⁰⁾.

Trasplante renal (mantenimiento en meses)	Niveles objetivo en valle (ng/mL)
0 a 2	10 – 25
1 a 3	7 – 20
4 a 12	5 – 15
> 12	5 -10
Tratamiento de rescate (trasplante renal)	
1 – 2 semanas	20 – 25
1 mes	15 – 20
2 meses	10 – 15
Crónicos	5 – 10

Subfamilia CYP3A

El metabolismo de tacrolimus depende de la expresión hepática e intestinal de las enzimas metabolizadoras de fase I de la familia *CYP3A* quien es la responsable de la biotransformación del 50% de los medicamentos que se utilizan en el área clínica, esta familia presenta cuatro isoenzimas *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* y *CYP3A47*, estas proteínas son el producto de los genes que llevan su mismo nombre, los cuales se encuentran localizados en el cromosoma 7. (33)

El *CYP3A4* es el de mayor proporción en los microsomas hepáticos, este citocromo al igual que el *CYP3A5* metaboliza al tacrolimus. La variante genotípica *CYP3A4*1B* se ha estudiado ampliamente, tiene una mayor actividad enzimática y su posible efecto ha sido discutido, pero no ha sido comprobado en todos los grupos estudiados, probablemente por su baja frecuencia. (34, 35)

El *CYP3A5* es codificado por el gen del mismo nombre, está localizado en el cromosoma 7p21 y produce un transcrito de 1720 pb producto de 13 exones, los cuales codifican para una proteína de 502 aminoácidos. Se conocen algunas variantes en las regiones intrónicas, las cuales afectan el empalme del ARN mensajero alterando la función de la proteína, entre ellas se encuentran las variantes alélicas *CYP3A5*3* y *CYP3A5*6*.

El *CYP3A5*3* es uno de los polimorfismos más estudiados en relación al metabolismo de los inhibidores de calcineurina. Este polimorfismo se debe al cambio de una adenina (A) por una guanina (G) en la posición 6986 del gen (A6986G o también identificado como rs776746), dicha variación produce un codón de paro prematuro en el exón 3, lo que promueve la producción de una proteína no funcional. La variante polimórfica *CYP3A5*3*3* (homocigotos) expresa una proteína no funcional y precisan dosis más bajas para alcanzar el rango óptimo de Tac en sangre. Los individuos con genotipo *CYP3A5*1* expresan la proteína funcional o normal (29, 36, 37).

ANTECEDENTES

Mac Phee en el 2008 reportó que el 84% de caucásicos, el 49% de asiáticos y el 15% de negros presentaban el genotipo *CYP3A5*3*3* ⁽³⁸⁾, este mismo autor en un estudio realizado en el 2004 relacionó la concentración del Tac en las primeras dos semanas post-trasplante con el genotipo del gen *CYP3A5* y encontró que los individuos con la variante alélica *CYP3A5*3*3* tuvieron bajos niveles del Tac comparados con aquellos con genotipo *CYP3A5*1*1* ó *CYP3A5*1*3* ⁽³⁹⁾. Por otro lado, Xie en el mismo año estimó que entre el 10 y 20% de caucásicos, del 40 al 50% de asiáticos, del 60 al 70% de hispanos y más del 80% de afro-americanos fueron expresores altos para la proteína *CYP3A5*. ⁽⁴⁰⁾ Los individuos homocigotos para *CYP3A5*3* con trasplante de órgano sólido, alcanzaron concentraciones hasta dos veces más de Tac que los individuos con genotipo *CYP3A5*1* ^(29, 41-44).

Por otro lado, existen evidencias de portadores del genotipo *CYP3A5*3*3* que requieren menores dosis de Tac sugiriendo que el genotipo puede promover información para individualizar la dosis de Tac ^(29,45, 46). Se han reportado altas dosis ajustadas de Tac (C_0 h/dosis, C_2 h/dosis o ABC/dosis) en individuos que expresaban por lo menos un alelo *CYP3A5*1* con respecto a los individuos que presentaban el alelo *CYP3A5*3*.

En un estudio realizado en 2012 por el grupo de investigación de nefrología encabezado por García-Roca P y Medeiros M, del Hospital Infantil de México Federico Gómez, en pacientes con trasplante renal que incluyó pacientes mexicanos tanto pediátricos como adultos, se determinó la frecuencia de los genotipos presentes en el gen *CYP3A5*, encontrando que el 52.2% (152 pacientes) mostraron el genotipo no expresador *CYP3A5*3*3*, el 41.6% (121 pacientes) el genotipo *CYP3A5*1*3* y el 6.2% (18 pacientes) el genotipo *CYP3A5*1*1*, estos dos últimos se consideraron del tipo expresador. En este mismo estudio se reportó que los pacientes con genotipo *CYP3A5*3*3* tuvieron menores requerimientos en la dosis de tacrolimus al ser comparados con los genotipos *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3*, para alcanzar niveles en valle similares.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La dosis de tacrolimus requerida para alcanzar niveles terapéuticos depende del tipo de polimorfismo en la enzima *CYP3A5* de los pacientes. Actualmente se proporciona una dosis estándar a todos los pacientes con trasplante renal que se ajusta según los niveles en sangre, una vez que se ha alcanzado el estado estacionario. Sin embargo, algunos pacientes pueden tardar en alcanzar los niveles objetivo en más de una semana y otros pueden llegar a tener niveles tóxicos con la misma dosis. No se sabe si el proporcionar una dosis desde el inicio acorde al genotipo permita evitar rechazo y toxicidad por este medicamento.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Influye el genotipo de *CYP3A5* para metabolizar tacrolimus en el tiempo en alcanzar niveles terapéuticos post-trasplante y en el desarrollo de complicaciones en el primer trimestre?

JUSTIFICACIÓN

El conocer si el genotipo de las enzimas *CYP3A5* influye en el tiempo en alcanzar los niveles objetivo, y a su vez relacionarse con los episodios de rechazo/toxicidad y de esta manera idear regímenes terapéuticos individualizados.

OBJETIVOS

Conocer si la dosis de Tacrolimus según genotipo de *CYP3A5* permite alcanzar niveles terapéuticos de inmunosupresor en la primer semana del trasplante y disminuir el número de episodios de rechazo agudo en el primer trimestre post-trasplante.

HIPÓTESIS

Los pacientes en quienes se administra dosis más altas de Tacrolimus en genotipo Expresador alcanzan niveles terapéuticos más rápido que aquellos con genotipo No expresador y tienen menos episodios de rechazo-toxicidad.

METODOLOGÍA

Estudio prospectivo, descriptivo, transversal, en pacientes pediátricos en protocolo de estudio para trasplante renal, en quienes se consideró dar en el post-trasplante un régimen inmunosupresor con Tacrolimus.

Tamaño de la muestra: 18 pacientes que recibieron trasplante renal.

Criterios de Inclusión

1. Pacientes pediátricos, con edad entre 3 y 18 años
2. Ambos géneros
3. Que recibieron inmunosupresión con formulaciones de tacrolimus una vez realizado el trasplante.
4. Contar con la firma del padre o tutor del consentimiento informado y asentimiento del paciente (en mayores de 6 años)

Criterios de Exclusión

1. Pacientes con muestra insuficiente durante el estudio
2. No contar con los datos completos del paciente durante el seguimiento

Criterios de Eliminación

1. Deseo voluntario de abandonar el estudio
2. Pacientes en quienes se documentó falta de adherencia al tratamiento

Se seleccionaron a los pacientes en lista de espera de trasplante renal y se les genotipificó la enzima *CYP3A5* pre-trasplante:

1. Genotipo *CYP3A5* 1*1* (Metabolizador rápido).
2. Genotipo *CYP3A5* 1*3 (Heterocigoto).
3. Genotipo *CYP3A5* 3*3* (Metabolizador lento).

Se determinaron niveles sanguíneos de Tacrolimus (en el laboratorio de farmacología del HIMFG) en forma semanal los primeros tres meses, ajustando la dosis para alcanzar niveles

terapéuticos (Tacrolimus 5 a 10ng/mL). Se registró el tiempo necesario para alcanzar niveles terapéuticos de Tacrolimus.

Se tomó del expediente los datos demográficos, datos antropométricos, datos clínicos y resultados de laboratorio de la primera semana, 1 mes, 2 meses y 3 meses post-trasplante (realizado por el médico residente de pediatría presentador de esta tesis).

Se estimó la velocidad de filtración glomerular con la fórmula de Schwartz (eVFG) ⁽¹⁾.

$eVFG (mL \cdot min / 1.73) = k L / Scr$ en donde:

L: Talla en cm, Scr: creatinina sérica, k: valor constante de 0.55 para niños y niñas adolescentes, y de 0.7 para varones adolescentes.

Del expediente clínico también se registró el número de efectos adversos y episodios de disfunción de injerto, rechazo agudo y nefrotoxicidad con diagnóstico por biopsia renal (descripción histopatológica) así como el tratamiento asignado en el primer trimestre post-trasplante.

METODOLOGÍA PARA LA GENOTIPIFICACIÓN

Recolección de muestras sanguíneas

En tubos Vacutainer® con EDTA como anticoagulante, se tomaron 5mL de sangre periférica a cada paciente, la muestra se mantuvo a 4°C hasta el momento de la purificación de ADN, el cual se extrajo mediante el kit QIAamp® ADN minikit. La concentración y pureza del ADN obtenido se analizó por espectrofotometría y electroforesis en gel de agarosa, para verificar la integridad del ADN.

Primers

Se utilizaron los cebadores ya diseñados en el laboratorio de Nefrología del Hospital Infantil de México Federico Gómez para los genes CYP3A5. Los cuales fueron diseñados a partir de la base de datos de genes y genomas de ENSEMBL, del European Bioinformatics Institute Wellcome Trust sanger Institute y el software PRIMER3© del Whitehead Institute for Biomedical Research. La amplificación de cada uno de los fragmentos se hizo por PCR y los productos obtenidos se analizaron por espectrofotometría y electroforesis en gel de agarosa, para verificar la correcta correspondencia de la amplificación mediante marcadores de peso molecular.

Purificación de los productos de PCR

Los productos resultantes de la amplificación por PCR, fueron purificados para eliminar el exceso de oligonucleótidos y desoxinucleótidos (dATP, dCTP, dGTP y dTTP), residuales de la reacción, mediante un tratamiento enzimático con ExoSAP-IT™ (USB®)

Reacción de Secuenciación

Los productos de PCR purificados de cada exón de los genes CYP3A5, fueron secuenciados en un analizador genético de capilar ABI Prism® 310 (Applied Biosystems™), se usó el kit Big Dye® Terminator v3.1 para llevar a cabo la reacción de secuenciación. Se analizaron las secuencias mediante un análisis de alineamiento con el software DNAMAN™ (Lynnon BioSoft®).

PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó estadística descriptiva, expresando los datos como promedio \pm desviación estándar para variables con distribución normal y medianas para variables con libre distribución. Los resultados se analizaron por la prueba estadística U Mann-Whitney. Se consideró una p menor a 0.05 como estadísticamente significativa.

DESCRIPCIÓN DE VARIABLES

Variable independiente: **Genotipo de CYP3A5** (polimorfismos). Variable cualitativa, nominal

VARIABLES DEPENDIENTES:

- **Dosis inmunosupresor:** cantidad asignada de miligramos por kilogramo de peso al día de Tacrolimus (mg/kg/día). Variable cuantitativa, continua.

- **Tasa de filtración glomerular:** es el flujo neto de ultrafiltrado que pasa a través de la membrana glomerular en la unidad de tiempo (mL/min/1.73m²). Variable cuantitativa, continua.

- **Niveles de Tacrolimus:** determinación analítica de concentraciones séricas de Tacrolimus (ng/mL). Variable cuantitativa, continua

- **Rechazo agudo:** aparece dentro de los primeros meses post-trasplante, es un proceso de lesión vascular y parenquimatosa en el que intervienen linfocitos T y anticuerpos como respuesta del organismo frente a lo que reconoce como extraño. Variable cualitativa nominal (si o no) y cuantitativa discontinua (número de episodios).

- **Nefrotoxicidad:** alteración funcional y estructural del riñón causada por la acción de fármacos. Variable cualitativa nominal (si o no) y cuantitativa discontinua (número de episodios).

- **Disfunción de injerto** (número de episodios): es una entidad clínico-patológica, de origen multifactorial, caracterizada por un progresivo descenso del filtrado glomerular. A nivel histológico se expresa por fibrosis intersticial y atrofia tubular, pero pueden verse otros tipos de lesiones, ninguna específica. Variable cualitativa nominal (si o no) y cuantitativa discontinua (número de episodios).

- **Toxicidad intestinal:** alteración funcional y estructural del intestino causada por la acción de fármacos. Variable cualitativa nominal (si o no) y cuantitativa discontinua (número de episodios).

RESULTADOS

Se incluyeron 18 pacientes, de los cuales 7 (38.8%) expresaron CYP3A5 y 11 (61.1%) no expresaron la enzima. Las características demográficas se describen en la Tabla 1.

La frecuencia de genotipos y alelos se muestran en la Tabla 2.

La dosis de tacrolimus fué similar a la semana de trasplante, significativamente menor en los no metabolizadores a la semana, y continuó siendo menor si alcanzar significancia estadística a los 2 y 3 meses post-trasplante (Tabla 3).

Los niveles de tacrolimus fueron menores a la semana, 1 2 y 3 meses en los pacientes que expresan la enzima, aunque la tendencia es marcada no encontramos diferencia estadísticamente significativa (Tabla 4).

Tres pacientes fueron metabolizadores rápidos (CYP3A5*1*1), cuatro fueron metabolizadores intermedios (genotipo CYP3A5*1*3) y once no expresaron la enzima (genotipo CYP3A5*3*3). La velocidad de filtración glomerular fue similar a la semana post-trasplante, sin embargo los pacientes que expresan la enzima tuvieron un deterioro significativo de la VFG a los tres meses (Tabla 5).

No se encontró diferencia estadísticamente significativa en la prevalencia de eventos adversos por genotipo a la semana, 1, 2 y 3 meses (Tabla 6), sin embargo, los pacientes que expresan la enzima tuvieron una tendencia a dislipidemia hipertensión arterial (1 semana, 2 y 3 meses) y e hipertensión arterial (1ª semana, 1 y dos meses), sin embargo vale la pena mencionar que el número de pacientes es pequeño.

TABLA 1. Datos demográficos en 18 pacientes pediátricos con trasplante renal (TR)

	Total n = 18	Expresan CYP3A5*1 n = 7	No Expresan CYP3A5*3 n = 11
Edad en años (media± DS)	14.5 ± 2.8	13.7 ± 3.9	15 ± 2.0
Género (n,%)			
Femenino	7 (39%)	3 (43%)	4 (36%)
Masculino	11 (61%)	4 (57%)	7 (64%)
Fuente de injerto (n,%)			
Donador vivo	11 (61%)	4 (57%)	7 (64%)
Donador cadavérico	7 (39%)	3 (43%)	4 (36%)
Causa de ERCT (n, %)			
Desconocida	6 (33%)	1 (14%)	5 (45%)
Uropatía	3 (17%)	2 (28.5%)	1 (9%)
Glomerulopatía	5 (28%)	2 (28.5%)	3 (27%)
Otras	4 (22%)	2 (28.5%)	2 (18%)
Tipo de terapia de reemplazo renal previo al TR (n, %)			
Hemodiálisis	4 (22%)	2 (28.5%)	2 (18%)
Diálisis peritoneal	10 (55%)	3 (43%)	7 (64%)
Pre-diálisis	4 (22%)	2 (28.5%)	2 (18%)
Riesgo para CMV (n, %)			
Bajo	1 (5%)	0 (0%)	1 (9%)
Intermedio	12 (67%)	5 (71%)	7 (64%)
Alto	5 (28%)	2 (29%)	3 (27%)

CMV: Citomegalovirus
DS: Desviación Estándar

TABLA 2. Frecuencia de Genotipo y alelos de *CYP3A5*

	N= 18
Genotipo	
<i>CYP3A5*1*1</i> <i>CYP3A5*1*3</i> <i>CYP3A5*3*3</i>	3(17%) 4 (22%) 11 (61%)
Alelos	
1 (%)	27.8
3 (%)	72.2

n: número total de pacientes

TABLA 3. Dosis de tacrolimus (mg/kg/día) según genotipo y el tiempo post-trasplante

	Expresan	No expresan	Valor de p
1 semana (media ± DS)	0.10 ± 0.01	0.09 ± 0.02	0.179
1 mes (media ± DS)	0.20 ± 0.05	0.09 ± 0.05	0.04
2 meses (media ± DS)	0.22 ± 0.10	0.10 ± 0.06	0.069
3 meses (media ± DS)	0.20 ± 0.11	0.08 ± 0.05	0.069

n: número total de pacientes

DS: Desviación Estándar

TABLA 4. Evolución de los niveles de tacrolimus (ng/mL) según genotipo

	Expresan	No expresan	Valor de p
1 semana (media \pm DS)	5.0 \pm 5.0	9.3 \pm 5.5	0.078
1 mes (media \pm DS)	4.3 \pm 3.1	8.9 \pm 2.7	0.055
2 meses (media \pm DS)	8.2 \pm 4.2	8.9 \pm 2.7	0.246
3 meses (media \pm DS)	6.1 \pm 3.3	7.4 \pm 2.3	0.285

n: número total de pacientes
 DS: Desviación Estándar

TABLA 5. Evolución de la velocidad de filtración glomerular en el primer trimestre según genotipo.

	Expresan	No expresan	Valor de p
1 semana (media \pm DS)	85.9 \pm 32.5	88.2 \pm 27.8	0.659
1 mes (media \pm DS)	77 \pm 26.5	90.4 \pm 20.4	0.151
2 meses (media \pm DS)	77 \pm 31.6	91 \pm 19.5	0.425
3 meses (media \pm DS)	72.7 \pm 13.5	86.7 \pm 13.0	0.020

n: número total de pacientes
 DS: Desviación Estándar

TABLA 6. Número de eventos adversos en el primer trimestre según genotipo

n =18 (100%)	Expresan	No expresan	Valor de p
1 semana			
Anemia (n,%)	6 (33%)	8 (44%)	0.530
Infecciones oportunistas (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Rechazo (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Disfunción de injerto (n,%)	1 (5%)	1 (5%)	0.740
Nefrotoxicidad (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Hiper glucemia (n,%)	1 (5%)	4 (22%)	0.322
Hipertensión arterial (n,%)	2 (11%)	5 (28%)	0.486
Dislipidemia (n,%)	1 (5%)	6 (33%)	0.097
Alteraciones gastrointestinales (n,%)	3 (17%)	5 (28%)	0.916
Disfunción neurológica (n,%)	1 (5%)	0 (0%)	0.210
Otros (n,%)	0 (0%)	2 (11%)	0.245
1 mes			
Anemia (n,%)	4 (22%)	5 (28%)	0.638
Infecciones oportunistas (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Rechazo (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Disfunción de injerto (n,%)	2 (11%)	1 (5%)	0.293
Nefrotoxicidad (n,%)	1 (5%)	0 (0%)	0.210
Hiper glucemia (n,%)	1 (5%)	1 (5%)	0.740
Hipertensión arterial (n,%)	0 (0%)	2 (11%)	0.245
Dislipidemia (n,%)	5 (28%)	5 (28%)	0.293
Alteraciones gastrointestinales (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Disfunción neurológica (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Otros (n,%)	1 (5%)	1 (5%)	0.740
2 meses			
Anemia (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.615
Infecciones oportunistas (n,%)	2 (11%)	1 (5%)	0.834
Rechazo (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Disfunción de injerto (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Nefrotoxicidad (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Hiper glucemia (n,%)	0 (0%)	2 (11%)	0.245
Hipertensión arterial (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Dislipidemia (n,%)	3 (17%)	5 (28%)	0.916
Alteraciones gastrointestinales (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Disfunción neurológica (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Otros (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
3 meses			
Anemia (n,%)	1 (5%)	2 (11%)	0.834
Infecciones oportunistas (n,%)	1 (5%)	2 (11%)	0.834
Rechazo (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Disfunción de injerto (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Nefrotoxicidad (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Hiper glucemia (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Hipertensión arterial (n,%)	1 (5%)	0 (0%)	0.210
Dislipidemia (n,%)	3 (17%)	7 (38%)	0.401
Alteraciones gastrointestinales (n,%)	0 (0%)	1 (5%)	0.425
Disfunción neurológica (n,%)	0 (0%)	0 (0%)	1.000
Otros (n,%)	0 (0%)	2 (11%)	0.245

DISCUSION

Está muy bien estudiado que la dosis de tacrolimus requerida para alcanzar niveles terapéuticos depende del tipo de polimorfismo en la enzima *CYP3A5* de los pacientes, existiendo 2 principales categorías: Expresador y No expresador. Actualmente se proporciona una dosis estándar a todos los pacientes con trasplante renal que se ajusta según los niveles en sangre, una vez que se ha alcanzado el estado estacionario. Sin embargo, algunos pacientes pueden tardar en alcanzar los niveles objetivo en más de una semana y otros pueden llegar a tener niveles tóxicos con la misma dosis. No se sabe si el proporcionar una dosis desde el inicio acorde al genotipo permita evitar rechazo y toxicidad por este medicamento, además existen pocos estudios realizados en pacientes post-trasplantados de riñón en México y mucho menos en niños, siendo importante destacar este grupo en específico por el antecedente de estudios previos en donde se ha expuesto que si existen diferencias en el metabolismo de la enzima *CYP3A5* en población caucásica, asiática y africana, con respecto a población mestiza, por lo que en el presente estudio realizado en población pediátrica mexicana nos permitió exponer un panorama general de las diferencias mas significativas entre genotipo expresador y no expresador, con respecto a la evolución del injerto durante el primer trimestre.

La mayoría de pacientes trasplantados fue en una edad entre 12 y 16 años, con predominio en sexo masculino, destacando que predominó el genotipo *CYP3A5**3*3 (no expresador) y observando que la donación de donador vivo fue más frecuente que el donante fallecido, lo que nos expone la realidad en México de la aún carente cultura de donación.

La causa de la enfermedad renal en nuestra población en su mayoría era desconocida, y en segundo lugar por glomerulopatías, lo cual expone la importancia de una biopsia renal para diagnóstico de la enfermedad renal, la mayoría de los pacientes tuvieron en diálisis peritoneal previo a trasplante, siendo la terapia sustitutiva de elección.

Otro factor de importancia a considerar es el riesgo de infección por Citomegalovirus (CMV), que en la mayoría de nuestra población se encontró con riesgo intermedio, lo que puede explicar la baja frecuencia de padecimientos por CMV post-trasplante.

En el análisis de la dosis de Tacrolimus utilizada según genotipo, se observó que se requirió una dosis más alta en el genotipo Expresador con respecto al No expresador, con una diferencia significativa durante el primer mes postrasplante a pesar de que el ajuste de la dosis fue realizado en base a niveles plasmáticos y no al genotipo, siendo en ocasiones necesario realizar cinética de Tacrolimus y administración de la dosis hasta 3 veces por día

Por otra parte los niveles de Tacrolimus se alcanzaron de forma más rápida en los No expresadores, que en los Expresadores.

Se detectó que independientemente del genotipo hay una disminución paulatina en la velocidad de filtración glomerular comparando la primer semana con el tercer mes post-trasplante, siendo mayor la disminución en los Expresadores con respecto a los No expresadores, teniendo una p significativa en el tercer mes, sin embargo al parecer no se debió a un mayor número de rechazos confirmados por biopsia renal.

Los eventos adversos estudiados en este grupo, no tuvieron significancia estadística probablemente por el tamaño de muestra y por la diversidad de factores involucrados para dichos resultados, aun así por frecuencias, pudimos observar que los No expresadores tuvieron más eventos adversos por Tacrolimus que los Expresadores, predominantemente la dislipidemia, en ocasiones siendo necesario el uso de hipolipemiantes.

Afortunadamente el rechazo y la disfunción del injerto fueron poco frecuentes y no tuvieron diferencias significativas entre Los Expresadores con respecto a los No expresadores. Sin embargo la limitante del número de muestra no permite hacer conclusiones adecuadas.

Aún falta mucho por investigar en este rubro, siendo un tema muy amplio y en donde influyen múltiples factores, lo que hace más complejo su estudio, la próxima propuesta sería utilizar una dosis específica de Tacrolimus dependiendo del genotipo aplicándose desde el inicio del trasplante, para evaluar con metodología experimental o comparativa de 2 grupos (problema y control) si el asignar una dosis de acuerdo al genotipo permite disminuir efectos adversos o rechazo con la evolución del injerto a meses, prolongando el tiempo de estudio por al menos 1 año.

CONCLUSIONES

Los pacientes que expresan el genotipo *CYP3A5**1*1 y *CYP3A5**1*3 requieren mayor dosis del tacrolimus a diferencia de los pacientes que presentan el genotipo *CYP3A5**3*3.

Los pacientes que expresan la enzima tienen una menor VFG a los tres meses post-trasplante renal que aquellos que no la expresan.

La genotipificación del gen *CYP3A5* podría ser utilizada para determinar la dosificación del tacrolimus en pacientes con trasplante renal

Se requieren más estudios para determinar si la dosificación del tacrolimus a través del conocimiento del polimorfismo genético pre-trasplante, mejoraría la supervivencia del injerto al disminuir la incidencia de los rechazos y/o la nefrotoxicidad.

CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Fecha	Actividad a realizar
Abril a mayo 2013	Revisión de protocolo por la comisión de Ética e Investigación
Junio a julio 2013	Solicitud y obtención de insumos
Julio a agosto 2013	Realización de base de datos
Agosto 2013 a mayo 2014	Reclutamiento y captura de datos generales de pacientes Entrega de consentimientos bajo información para su autorización
Agosto 2013 a mayo 2014	Toma de muestras sanguíneas para genotipificación del ADN
Mayo 2013 a mayo 2014	Determinación de niveles sanguíneos de Tacrolimus en forma semanal los primeros 3 meses, ajustando la dosis para alcanzar niveles terapéuticos
Mayo 2013 a mayo 2014	Registro del tiempo en que se alcanzó niveles terapéuticos de tacrolimus
Agosto 2013 a mayo 2014	Obtención de datos de los expedientes: datos demográficos, datos antropométricos, datos clínicos y resultados de laboratorio de la primera semana, 1 mes, 2 meses y 3 meses post-trasplante.
Agosto 2013 a mayo 2014	Cálculo de VFG semanalmente durante primeros 3 meses
Mayo 2014	Registro del número de efectos adversos y episodios de disfunción de injerto, rechazo agudo y nefrotoxicidad con diagnóstico por biopsia renal (descripción histopatológica) así como el tratamiento asignado en el primer trimestre post-trasplante.
Mayo 2014	Corte final a los 3 meses post-trasplante Análisis de resultados
Mayo a junio 2014	Escritura de documento
Junio 2014	Entrega de Tesis

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schwartz GJ, Furth SL. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 1839-48.
2. K/DOQI N. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; (suppl 1):S1-S266.
3. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Eng J Med* 2004;351:1296-305
4. Remuzzi G, Benigni A, Remuzzi A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. *J Clin Invest* 2006;2:288-96.
5. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. Developmental pharmacology-drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med* 2003;349:1157-67.
6. Medeiros-Domingo M, al e. Renal transplantation in children. *Rev Invest Clin* 2005;2
7. Medeiros-Domingo M, Romero-Navarro B, Valverde-Rosas S, Delgadillo R, Varela-Fascinetto G, Munoz-Arizpe R. Renal transplantation in children. *Rev Invest Clin* 2005;57:230-6
8. Wallemacq PE, Verbeeck RK. Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients. *Clin Pharmacokinetic* 2001;40:283-95
9. RN F. Renal transplantation for children the only realistic choice. *Kidney INT* 1985;28:5-15
10. Najarian JS, Almond PS, Gilliam KJ, Mauer M ea. Renal transplantation first five years of life. *Kidney Int* 1993;44:40-44.
11. Tejani A, K.S. Long-term follow-up of grow in children post-transplantation. *Kidney Int* 1993;44:56-58
12. RN F. Renal transplantation for children the only realistic choice. *Kidney INT* 1985;28:5-15
13. Danovitch G. *Transplante Renal: Marbán libros*, 2002
14. Abbas A, LAH. *Inmunología Celular y Molecular*, 2004.
15. Tejani A, K. S. Long-term follow-up of grow in children post-transplantation. *Kidney Int* 1993;44:56-58.
16. Friis-Hansen B. Body water compartments in children: changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics* 1961;28:169-81
17. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004;351:2715-29

18. Prausa SE, Fukuda T, Maseck D, et al. UGT genotype may contribute to adverse events following medication with mycophenolate mofetil in pediatric kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2009;85:495-500.
19. Alexopoulos E, Papagianni A, Tsamelashvili M, Leontsini M, Memmos D. Induction and long-term treatment with cyclosporine in membranous nephropathy with the nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:3127-32
20. Balisteri WF, Heubi JE, Suchy FJ. Bile acid metabolism: relationship of bile acid malabsorption and diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:105-21
21. Alberu J, Urrea EM. Immunosuppression for kidney transplant recipients: current strategies. *Rev Invest Clin* 2005;57:213-24
22. Reyes-Pérez H, Medeiros-Domingo M. Uso de tacrolimus en pediatría. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2006;63:276-85.
23. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinetic* 1995;29:404-30
24. Scott LJ, McKeage K, Keam SJ, Plosker GL. Tacrolimus: a further update of its use in the management of organ transplantation. *Drugs* 2003;63:1247-97.
25. Machida M, Takahara S, Ishibashi M, Hayashi M, Sekihara T, Yamanaka H. Effect of temperature and hematocrit on plasma concentration of FK 506. *Transplant Proc* 1991;23:2753-4
26. Piekoszewski W, Jusko WJ. Plasma protein binding of tacrolimus in humans. *J Pharm Sci* 1993;82:340-1
27. Hesselink D, van Gelder T, van Schaik R. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: one step closer toward individualized immunosuppression? *Pharmacogenomics* 2005;6:323-37.
28. Zahir H, McLachlan AJ, Nelson A, McCaughan G, Gleeson M, Akhlaghi F. Population pharmacokinetic estimation of tacrolimus apparent clearance in adult liver transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2005;27:422-30
29. Hesselink D, van Gelder T, van Schaik R. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: one step closer toward individualized immunosuppression? *Pharmacogenomics* 2005;6:323-37.
30. Reyes H, M.M. Tacrolimus en Pediatría. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2006;63:276-85
31. Hollenberg SM, Klein LW, Parrillo JE, et al. Coronary endothelial dysfunction after heart transplantation predicts allograft vasculopathy and cardiac death. *Circulation* 2001;104:3091-6.
32. Christians U, Braun F, Schidt M KN, et al. Specific and Sensitive measurement of FK506 and its metabolites in blood and urine of liver-graft recipients. *Clin Chemist* 1992;38.
33. Eichelbaum M, Burk O. CYP3A genetics in drug metabolism. *Nat Med* 2001;7:285-7.

34. Reyes-Hernandez OD, Arteaga-Illan G, Elizondo G. Detection of CYP3A4*1B and CYP3A4*2 polymorphisms by RFLP. Distribution frequencies in a Mexican population. *Clin Genet* 2004;66:166-8
35. Reyes-Hernandez OD, Lares-Asseff I, Sosa-Macias M, Vega L, Albores A, Elizondo G. A comparative study of CYP3A4 polymorphisms in Mexican Amerindian and Mestizo populations. *Pharmacology* 2008;81:97-103
36. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001;27:383-91.
37. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet*;49:141-75.
38. MacPhee IA, Holt DW. A pharmacogenetic strategy for immunosuppression based on the CYP3A5 genotype. *Transplantation* 2008;85:163-5
39. MacPhee IA, Fredericks S, Tai T, et al. The influence of pharmacogenetics on the time of achieve target tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:914-9.
40. Xie HG, Wood AJ, Kim RB, Stein CM, Wilkinson GR. Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics* 2004;5:243-72.
41. Thervet E, Anglicheau D, King B, et al. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation* 2003;76:1233-5.
42. Zheng H, Zeevi A, Schuetz E, et al. Tacrolimus dosing in adult lung transplant patients is related to cytochrome P450 3A5 gene polymorphism. *J Clin Pharmacol* 2004;44:135-40.
43. Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2004;78:1182-7.
44. Macphee IA, Fredericks S, Mohamed M, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: the CYP3A5*1 allele predicts low-dose-normalized tacrolimus blood concentrations in whites and South Asians. *Transplantation* 2005;79:499-502.
45. Anglicheau D, Verstuyft C, Laurent-Puig P, et al. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1889-96

46. KreuzR, Zurcher H, Kain S, Martus P, Offermann G, Beige J. The effect of variable CYP3A5 expression on cyclosporine dosing, blood pressure and long-term graft survival in renal transplant patients. *Pharmacogenetics* 2004;14:665-71
47. Garcia-Roca P, Medeiros M, Reyes H, et al. CYP3A5 polymorphism in Mexican renal transplant recipients and its association with tacrolimus dosing. *Arch Med Res* 2012;43:283-7
48. Garcia-Roca MIdP. Correlación del genotipo MDR1 (ABCB1) y CYP3A5 con el perfil farmacocinético del Tacrolimus en niños con trasplante renal. Mexico OF: CINVESTAV PIN/Hospital Infantil de México Federico Gómez, 2013:1-102.
49. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant* 2006;6:1111-31.
50. Shehata M, Bhandari S, Venkat-Raman G, et al. Effect of conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium on maximum tolerated dose and gastrointestinal symptoms following kidney transplantation. *Transpl Int* 2009;22:821-30
51. Reyes H, Hernandez AM, Valverde S, et al. Efficacy and safety of conversion of mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in Mexican renal transplant children. *Pediatr Transplant* 2010;14:746-52.
52. Srinivas TR, Schold JD, Meier-Kriesche HU. Mycophenolate mofetil: long-term outcomes in solid organ transplantation. *Expert Rev Clin Immunol* 2006;2:495-518
53. Staats CE, Dufful SB, Kiberd B, Fraser AD, Tett Se. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid during the first week after renal transplantation. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:507-16
54. Staats CE, Tett Se. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007;46:13-58.
55. Esquivel A, Gonzalez-Ramirez R, Alberu J, Gracida C, Medeiros M, Castaneda-Hernandez G. Comparison of dissolution properties of 2 enteric-coated formulations containing mycophenolate sodium: Myfortic vs Femulan. *Transplant Proc* 2010;42:353-6.
56. Shaw LM, Korecka M, van Breeman R, Nowak I, Brayman KL, Analysis, pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *Clin Biochem* 1998;31:323-8.
57. Levesque E, Benoit-Biancamano MO, Delage R, Couture F, Guillemette C. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil and its glucuronide metabolites in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 2008;9:869-79.
58. Van Schaik RH, van Agteren M, de Fijter JW, et al. UGT1A9 -275T>A/-2152C>T polymorphisms correlate with low MPA exposure and acute rejection in MMF/tacrolimus-treated kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 2009;86:319-27

59. Kofler S, Deutsch MA, Bigdeli AK, et al. Proton pump inhibitor co-medication reduces mycophenolate acid drug exposure in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2009;28:605-11.
60. Van Gelder T, Klupp J, Barten MJ, Christians U, Morris RE. Comparison of the effects of tacrolimus and cyclosporine on the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Ther Drug Monit* 2001;23:119-28
61. Vietri M, Pietrabissa A, Mosca F, Pacifici GM. Mycophenolic acid glucuronidation and its inhibition by non-steroidal anti-inflammatory drugs in human liver and kidney. *Eur J Clin Pharmacol* 2000;56:659-64
62. Vietri M, Pietrabissa A, Mosca F, Pacifici GM. Inhibition of mycophenolic acid glucuronidation by niflumic acid in human liver microsomes. *Eur J Clin Pharmacol* 2002;58:93-7.
63. Villa M, González R, García-Roca P, et al. Pre-Transplant Mycophenolate Mofetil Pharmacokinetics in Mexican Children. *Proc Wes Pharmacol Soc* 2011;54:65-67.
64. Taketomo C, Hodding J, Kraus D. *Manual de Prescripción Pediátrica y Neonatal*, 18ª edición, Ed. Lexi-Comp Inc, Intersistemas, México D.F. 2012, pp. 976-978.

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Se trata de una muestra pequeña, el tiempo de seguimiento es corto y no se cuenta con biopsia renal de protocolo para determinar si la diferencia en la disminución en la VFG

En los pacientes con estudio farmacocinético, éste no se realizó en el mismo momento postrasplante en todos los pacientes. No se determinó el impacto que tuvieron en este estudio, el apego al tratamiento, las diferencias entre formulaciones de tacrolimus ni las posibles interacciones farmacológicas del tratamiento concomitante.

ANEXOS

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: NIVELES TERAPÉUTICOS DE TACROLIMUS SEGÚN GENOTIPO EN NIÑOS EN TRASPLANTE RENAL CON LA EVOLUCIÓN DEL INJERTO A TRES MESES.

Introducción

Deseamos invitarlo a participar en este estudio de investigación que se llevará a cabo en el Hospital Infantil de México Federico Gómez.

Su participación es voluntaria. Usted puede decidir no participar o puede retirarse del estudio en cualquier momento. En cualquier caso no perderá ninguna forma de atención médica en el Hospital.

La investigación puede proporcionar información que ayude, en el futuro inmediato a otros niños con la misma enfermedad que la de su hijo(a).

Antes de decidir participar, lea con cuidado el presente documento y tómese el tiempo que requiera para realizar cualquier pregunta o discutir este estudio con cualquier persona que participe en la investigación, con su familia o con cualquier otro profesional de la salud.

Finalidad del estudio

El tacrolimus es un medicamento que su hijo(a) recibirá para prevenir el rechazo del riñón trasplantado. El uso de este medicamento requiere que se vigilen los niveles en sangre ya que niveles bajos pueden favorecer el rechazo y niveles altos de toxicidad.

Se sabe que los niveles de los medicamentos pueden variar en cada persona dependiendo de las enzimas que se encargan de sacarlo de la sangre y la cantidad de la enzima esta determinada por las variantes genéticas que cada individuo presenta.

El propósito del estudio es estudiar los genes que regulan dichas enzimas las cuales participan en la absorción y el metabolismo de tacrolimus. Además pueden ser las responsables de los efectos adversos de este medicamento.

Procedimiento del estudio.

Si usted acepta que su hijo participe en este estudio solamente se le puncionará una vena del brazo, para obtener el ADN de su hijo con el cual se hará el estudio genético de las enzimas

encargadas de metabolizar y eliminar el tacrolimus. Se tomará un volumen total de 3 mL de sangre. Los resultados se proporcionarán al médico tratante.

Riesgo y molestias

Su niño puede presentar dolor en el sitio de la punción venosa; este dolor cede en los siguientes minutos después de la punción.

Beneficios

El conocer el genotipo de las enzimas que manejan el tacrolimus permitirá ajustar mejor la dosis del medicamento y así disminuir el riesgo de rechazo del riñón trasplantado o el riesgo de toxicidad.

Procedimientos alternativos y costos

La obtención de la muestra y todo el estudio no tendrá costo para usted.

Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad

Los médicos que atienden a su hijo estarán en todo momento dispuestos a responder a todas sus preguntas e inquietudes respecto a los resultados del estudio que se realizará a su hijo.

Se le asegura que toda la información que nos proporcione y la que resulte de las pruebas realizadas en su muestra de sangre serán mantenidas con absoluta confidencialidad y solo serán usadas para los fines de esta investigación.

Durante el estudio usted recibirá información de los resultados que se vayan obteniendo del mismo, con el fin de actualizar ante usted la información científica al respecto para que usted pueda tomar las decisiones siguientes con mayor fundamento.

Normas acerca de las lesiones relacionadas con la investigación

Cualquier efecto colateral que se derive de la toma de la muestra de sangre será atendido prontamente con los recursos del Hospital.

Problemas o preguntas

Si surgiera alguna duda o inquietud sobre los procedimientos del estudio o la participación de su hijo(a) por favor póngase en contacto con la Dra Mara Medeiros Domingo o la Dra María Inés del Pilar García Roca en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo, en el 4º piso del edificio de Hemato-oncología del Hospital Infantil de México Federico Gómez, o comuníquese al teléfono 5228-9917 extensión 2366.

Documento de consentimiento

Usted puede decidir no participar en el estudio. En cualquier caso, no perderá ninguna prestación a la que tenga derecho. Le sugerimos que conserve copia de este documento para consultarlo posteriormente.

He leído o se nos han leído y explicado a nuestra satisfacción la presente carta de consentimiento, se me ha dado la oportunidad de expresar todas mis dudas e inquietudes relacionadas con el presente estudio de investigación, y estoy de acuerdo con los propósitos y procedimientos del mismo. las y de hacer preguntas. Por este medio otorgo mi consentimiento para que mi hijo(a) participe en el estudio.

Nombre y firma del niño(a) _____ Edad _____

Fecha _____ No. de Registro _____

Nombre y firma de madre, padre o tutor o responsable

Testigo 1

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

Testigo 2

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

Nombre de los investigadores con quienes puede referirse el familiar en caso de duda: Dra Mara Medeiros Domingo y/o Dra María Inés del Pilar García Roca. Departamento de Nefrología en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Tel 5228-9917 ext 2366.

Firma de el o los investigadores responsables _____

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA

CARTA DE ASENTIMIENTO

Título del estudio: ASIGNACIÓN DE DOSIS DE TACROLIMUS Y MICOFENOLATO SEGÚN GENOTIPO EN NIÑOS EN TRASPLANTE RENAL CON LA EVOLUCIÓN DEL INJERTO A MESES.

INTRODUCCIÓN

Te pedimos que participes en este estudio de investigación que se llevará a cabo en el Hospital Infantil de México. No tienes que participar en el estudio si no quieres.

Se quiere conocer como maneja tu cuerpo las medicinas para tu riñon trasplantado.

Si decides entrar al estudio se tomará una muestra de sangre antes de tu trasplante.

El doctor te revisará para ver que todo esté bien, medirá que tan rápido late tu corazón y qué tan rápido estás respirando, también medirá tu presión arterial, revisará tu peso, la estatura y la temperatura. Después tomará una la muestra de sangre. Trataremos de hacer las cosas de forma que no duela tanto, pero aveces el piquete duele un poco y puede dejar un moretón.

Cuando el doctor te haga una pregunta es importante que contestes la verdad.

Puedes hacerle todas las preguntas que quieras. Tu participación en el estudio puede ayudar a otros niños.

Tus papas tienen que dar el permiso para que estés en el estudio y no tendrán que pagar nada por esto.

Si no quieres estar en el estudio, puedes irte y nadie se enojará contigo por esto.

_____ Si quiero entrar al estudio.

_____ No, no quiero entrar al estudio.

Nombre del niño _____.

Edad en años _____ Registro _____ Fecha _____

Declaración de los padres o Guardián:

Mi hijo parece entender el estudio en la medida de su capacidad y ha aceptado participar.

Nombre del padre o guardián _____

Firma _____ Fecha _____

Relación con el paciente _____

Dirección y telefono _____

Testigo 1

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

Testigo 2

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

BASE DE DATOS

No. AD	NOMBRE	REGISTRO	FECHA NACIMIENTO	ENTIDAD FEDERATIVA	DOMICILIO	TELEFONO	GÉNERO	DATOS ANTROPOMETRICOS PRE TRASPLANTE				GRUPO SANGUINEO Y RH	GENOTIPO CYP3A5	DIAGNÓSTICO (Etiología de la enfermedad renal)	RIESGO CMV	TIPO DE TRASPLANTE RENAL
								EDAD (años)	PESO (Kg)	TALLA (cm)	SUPERFICIE CORPORAL (m2)					

DONADOR				HISTOCOMPATIBILIDAD				FECHA DE TRASPLANTE RENAL	ISQUEMIA	INMUNOSUPRESOR DOSIS INICIAL POSTRASPLANTE							
GÉNERO	EDAD (años)	PARENTESCO	Grupo sanguíneo	Patología previa	HLA	P R A	Prueba cruzada			Citometría de Flujo	Micofenolato		Tacrolimus		Prednisona		Metilprednisolona
									Horas	Fecha	Dosis (mg/m2sc/día)	Fecha	Dosis (mg/kg/día)	Fecha	Dosis (mg/kg/día)	Fecha	Dosis (mg/kg/do)

No. AD	NOMBRE	FECHA EVALUACION	CLINICA													
			PESO (Kg)	TALLA (cm)	SUPERFICIE CORPORAL (m2)	Tensión arterial	TFG (ml/min/1.73m2)	Sintomas (Hirsutismo, Hipertrofia gingival, disnea, faringitis, acné, dolor, fiebre, lesion en piel, derrame pleural)	Infección oportuna	Disfunción neurológica	Rechazo Agudo	Nefrotoxicidad	Disfunción de injerto	Toxicidad intestinal (diarrea, vómito, estreñimiento, nausea, dispepsia, ulcera gástrica, STD)		

LABORATORIOS																												
BIOMETRIA HEMATICA														PRUEBAS DE FUNCION RENAL			QUIMICA SANGUINEA				ELECTROLITOS SERICOS					PERFIL DE LIPIDOS		
Hb	Hto	HCM	VCM	Leu	Neu	Ban	Juvenil	Mie	Linf	Mon	Eos	Bas	Pla	BUN	Creat	CO2	AU	Gluc	FA	DHL	Na	K	Cl	Ca	P	Mg	Col	Tgs

LABORATORIOS																					
PRUEBAS DE FUNCION HEPATICA									EXAMEN GENERAL DE ORINA												Niveles de inmunosupresor
BT	BD	BI	PT	Alb	Glob	ALT	AST	pH	DU	Alb	Glucosa	Hb	Eritroc / mm3	Leu /mm3	Nitritos	Bact	Cilindros	Cristales	Cels epiteliales	Tacrolimus (FK) ng/mL	

LABORATORIOS			GABINETE			MEDICAMENTOS (DOSIS)		
Biopsia renal			OTROS	FECHA	ESTUDIO	REPORTE	INMUNOSUPRESOR	
Fecha	No.Bx	Diagnóstico					Tacrolimus (mg/kg/día)	MARCA COMERCIAL