



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
POSGRADO EN CIENCIAS MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
FACULTAD DE MEDICINA

**ASIGNACIÓN DE DOSIS DE TACROLIMUS SEGÚN EL GENOTIPO
CYP3A5 EN NIÑOS EN PROGRAMA DE TRASPLANTE RENAL
Y LA EVOLUCIÓN DEL INJERTO A 12 MESES**

REG No. HIM/2013/030

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTORA EN CIENCIAS
(NEFROLOGIA PEDIÁTRICA, TRASPLANTE)

PRESENTA:

ANA CATALINA ALVAREZ ELÍAS

TUTORES PRINCIPALES:

DOCTORA EN CIENCIAS, MARA MEDEIROS DOMINGO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

DOCTORA EN CIENCIAS CON ESPECIALIDAD EN FARMACOLOGÍA
MARÍA INÉS DEL PILAR GARCÍA ROCA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

COMITÉ TUTOR:

DOCTOR EN CIENCIAS, JUAN GARDUÑO ESPINOSA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
DOCTOR EN CIENCIAS, LUIS EDUARDO MORALES BUEN ROSTRO
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR SUBIRÁN

Ciudad Universitaria, Cd. Mx., Junio, 2022



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

DEDICATORIA Y AGRADECIMIENTOS

Le dedico esta tesis de doctorado, a todos mis ***pacientes pediátricos con enfermedad renal***. Porque ellos han sido el motor de mi carrera, pero en especial, a aquellos que viven en zonas marginales, a aquellos que no tienen acceso a la salud, a aquellos que luchan día a día, no solo con una falla orgánica crónica y terminal, sino que luchan por continuar su vida. ***Ya sus familias***, y quienes se hacen cargo de ellos, porque no hay reto más difícil que saber a alguien tan joven pasar por una empresa tan grande. Ellos tienen toda mi admiración, mi respeto y la dedicación de mi vida profesional, ellos son mi ejemplo y mis héroes. Porque esta tesis de farmacogenética, y que busca la medicina de precisión, no sirva solo para informar a los más privilegiados. Porque mi trabajo clínico, académico y de investigación, fue, es y siempre será, en búsqueda de la equidad en la salud. Porque también los pacientes y sus familias con pocos recursos, con grandes retos socioeconómicos y psico-sociales, tienen derecho a tener acceso a los privilegios de la ciencia y la tecnología. Y les agradezco infinita y humildemente, su gran altruismo al colaborar en nuestros estudios, sabiendo que el beneficio no es inmediato para su salud. Porque al colaborar con nuestros estudios de investigación clínica nos enseñan con el ejemplo, su interminable compasión y empatía por otros pacientes pediátricos y sus familias con condiciones similares.

Gracias a mis ***padres, Lizette y Hugo***, por enseñarme a nunca darme por vencida y el verdadero significado de la resiliencia y la honestidad, la integridad, la ética y la moral de cada uno de mis actos. Por enseñarme a dar antes de pensar en recibir, por su infinito amor y todos los sacrificios personales y familiares que han hecho para que hoy, yo pueda llamarme Doctora en Ciencias y realizarme como persona.

Gracias...

A mis ***hermanos Donald, Manuela y Esteban***, por enseñarme el significado de compartir, y de la incondicionalidad. Pero en especial a mi hermana, por enseñarme que el amor puede superar los más grandes obstáculos, incluyendo, a uno mismo.

Al ***Dr. Rosado***, por enseñarme que el mundo siempre será cambiante y debemos ser incansables en tratar de descifrarlo por el bienestar de los demás. Por enseñarme el significado del amor y porque su legado y curiosidad por la complejidad quedo impreso y pasará a otros. QEPD

Al ***Dr. Guido Filler***, por ser mi mentor, mi apoyo y mi guía, profesional y personal. Por su incondicionalidad y caridad en ayudarme a crecer como académico clínico y científico.

A la ***Dra. María Ferris*** por siempre creer en mí, y brindarme oportunidades inimaginables, por explotar mi potencial aun, cuando yo creía que no existía, por ser mi mentora, mi promotora y darme el honor de llamarme su amiga.

Al ***Dr. Juan Garduño***, por abrirme las puertas de la ciencia y la tecnología en la UNAM, y el Hospital Infantil de México, Federico Gómez, por su gentileza e incansable labor por avanzar la investigación clínica en pediatría en Mexico y por hacerme participe de su sueño y plan.

A la ***Dra. Mara*** por sus brillantes ideas científicas, como este proyecto, por abrirme las puertas de su laboratorio, como quien abre las puertas de una casa, y no soltarme a pesar del tiempo y la distancia.

A ***Pili***, por ser la trabajadora incansable, la soñadora inquebrantable y una gran maestra. Por estar siempre para mí, en lo académico lo profesional y lo personal. Por enseñarme de biología molecular, mis primeros análisis estadísticos, la recolección de datos, y por ser, el pilar que mantuvo en pie este proyecto, sin ella, esta tesis no hubiese sido posible.

Y merci, a ***Thierry***, por tomarme de la mano y no soltarme en los momentos más críticos de mi vida, en un mundo extraño, aún sin conocerme. Gracias por verdaderamente estar.

ÍNDICE

1. ABREVIACIONES.....	5
2. RESUMEN.....	7
3. INTRODUCCIÓN.....	9
4. MARCO TEÓRICO.....	11
4.1. ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA EN PEDIATRÍA.....	11
4.2. RECHAZO DEL INJERTO RENAL Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR.....	13
4.3. TACROLIMUS.....	17
4.3.1. QUÍMICA.....	17
4.3.2. MECANISMOS MOLECULARES DE ACCIÓN.....	18
4.3.3. DOSIS.....	19
4.3.4. FARMACOCINÉTICA.....	19
4.4. PERFIL FARMACOGENÉTICO DE TACROLIMUS.....	21
4.4.1. SUBFAMILIA CYP3A.....	21
4.4.2. FRECUENCIA ALÉLICA DE LOS POLIMORFISMOS DE CYP3A5 EN LA POBLACIÓN Y SUS IMPLICACIONES EN EL METABOLISMO DE TACROLIMUS.....	22
5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
6. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN.....	25
7. JUSTIFICACIÓN.....	25
8. OBJETIVOS.....	25
9. HIPÓTESIS.....	26
10. METODOLOGÍA.....	26
10.1. DISEÑO DEL ESTUDIO, POBLACIÓN Y CENTROS.....	26
10.2. INTERVENCIÓN.....	27
10.3. VARIABLES DEPENDIENTES.....	29
10.4. OTRAS VARIABLES.....	31
10.4.1. VARIABLES CONFUSORAS.....	32
10.5. TÉCNICAS Y MÉTODOS DE MEDICIÓN DE VARIABLES.....	33
10.6. CÁLCULO DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA.....	34
10.7. ASIGNACIÓN DE LA INTERVENCIÓN, CEGAMIENTO E IMPLEMENTACIÓN.....	34
10.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	35
10.9. CONSIDERACIONES ÉTICAS Y REGISTRO DEL PROTOCOLO DE INVESTIGACIÓN.....	36

10.10. RECURSOS HUMANOS Y MATERIALES.....	37
10.11. CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD	37
10.12. FINANCIAMIENTO DEL ESTUDIO	37
11. RESULTADOS	38
11.1. DIAGRAMA DE FLUJO DE LOS PARTICIPANTES EN EL ESTUDIO	38
11.2. CARACTERÍSTICAS DEMOGRÁFICAS DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO Y VARIABLES FARMACOLÓGICAS.....	38
11.2.1. ANÁLISIS DE LAS VARIABLES FARMACOLÓGICAS	40
1.1. ESTIMADORES DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES.....	42
1.1.1. ANÁLISIS BIVARIADO DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES	42
1.1.1. ANÁLISIS MULTIVARIADO DE LAS VARIABLES DEPENDIENTES E INDEPENDIENTES.....	43
1.2. ANÁLISIS DE SUBGRUPOS Y DE SENSIBILIDAD.	48
<u>2. DISCUSIÓN</u>	<u>54</u>
<u>3. CONCLUSIONES.....</u>	<u>58</u>
<u>4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</u>	<u>60</u>
<u>5. ANEXOS.....</u>	<u>67</u>
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO	67
CARTA DE ASENTIMIENTO.....	70

1. ABREVIACIONES

A	Base nitrogenada adenina
ABC	Área bajo la curva de la concentración plasmática contra tiempo
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMF	Ácido micofenólico
AMP	Adenosin mono fosfato
ATP	Adenosin-trifosfato
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
bp	Par(es) de base(s)
C	Base nitrogenada citosina
CYP	Citocromo P450
°C	Grado Celsius o centígrado
C ₀	Concentración en valle del fármaco
C _{min}	Concentración mínima del fármaco
C _{max}	Concentración máxima de fármaco
CTP	Citosin-trifosfato
dNTPs	Desoxinucleótidos trifosfatados
D	Dosis
d	Día
DAG	Diacilglicerol
EDTA-K2	Etilén-diamino-tetracético-dipotásico
ERCT	Enfermedad Renal Crónica Terminal
EVE	Everolimus
DVR	Donador vivo relacionado
DF	Donador fallecido o donador cadavérico
FKBP	Proteína de unión a tacrolimus
g	Gramo
GM-CSF	Factor estimulador de colonias granulocito macrófago
G	Base nitrogenada guanina
GTP	Guanosin trifosfato
h	Hora
HIMFG	Hospital Infantil de México, Federico Gómez
HLA	Antígeno linfocitario humano del complejo mayor de histocompatibilidad
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IRC	Insuficiencia renal crónica
IFN _γ	Interferón gama
IL-2	Interleucina 2
IC	Inhibidor de calcineurina
IMPDH	Inosin-monofosfato deshidrogenasa
IP3	Inositol trifosfato
χ^2	Ji cuadrada
kg	Kilogramo
KDa	Kilodaltones
L	Litro
m ²	Metros cuadrados
min	Minutos
mg	Miligramos
mL	Mililitros
μL	Microlitros

<i>mM</i>	Milimolar
<i>μM</i>	Micromolar
<i>MMF</i>	Micofenolato de mofetilo
<i>MRP-2</i>	Proteína de resistencia a múltiples fármacos 2
<i>MPA</i>	Ácido micofenólico
<i>NAPRTCS</i>	North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies
<i>NFAT</i>	Factor nuclear activador de linfocitos T
<i>NFκB</i>	Factor Nuclear κB
<i>ng</i>	Nanogramos
<i>n</i>	Tamaño de muestra
<i>NADPH</i>	Nicotin adenin dinucleótido reducido
<i>PA-1</i>	Activador de proteína 1
<i>PCR</i>	Reacción en cadena de la polimerasa
<i>pM</i>	Picomolar
<i>pmh</i>	Por millón de habitantes
<i>pmol</i>	Picomoles
<i>PKC</i>	Proteíncinasa C
<i>Pred</i>	Prednisona
<i>Prdl</i>	Prednisolona
<i>sc</i>	Superficie corporal
<i>seg</i>	Segundos
<i>Sir</i>	Sirolimus
<i>SNP</i>	Polimorfismo en una sola base
<i>T</i>	Base nitrogenada timina
<i>Tac</i>	Tacrolimus
<i>TFG</i>	Tasa de filtración glomerular
<i>TFGc</i>	Tasa de filtrado glomerular calculada
<i>TCR</i>	Receptor de células T
<i>TNFα</i>	Factor de necrosis tumoral alfa
<i>Tmax</i>	Tiempo máximo
<i>t_{1/2}</i>	Tiempo de vida media, tiempo medio de eliminación
<i>TTP</i>	Timidin trifosfato
<i>TR</i>	Trasplante renal
<i>Vd</i>	Volumen de distribución
<i>UGT</i>	Glucoronil transferasa
<i>u.m.a.</i>	Unidad de masa atómica
<i>UV</i>	Ultravioleta

2. RESUMEN

INTRODUCCIÓN: El trasplante renal, es el tratamiento de elección en la enfermedad renal crónica terminal tanto en niños como en adultos. Tacrolimus, es el fármaco inmunosupresor de mantenimiento más utilizado a nivel mundial para evitar el rechazo del injerto. Tacrolimus tiene un estrecho índice terapéutico y variabilidad intra e interindividual que hace necesario el monitoreo farmacológico constante para su dosificación. El metabolismo de tacrolimus está relacionado con las enzimas del citocromo P450 llamadas CYP3A5. Hay evidencia de que la variabilidad en los genes que codifican para estas enzimas del citocromo P450 llamadas CYP3A5, impacta en el metabolismo del fármaco. Los genotipos de CYP3A5 más comúnmente descritos son AA 1*1 (*1*1), AG 1*3 (*1*3) ambos denominados expresadores de proteína y GG 3*3 (*3*3) denominado no expresador de la proteína. Las variantes alélicas expresadoras metabolizan más rápidamente tacrolimus, mientras que las no expresadoras lo metabolizan de forma lenta. Los niveles valle objetivo, traducen indirectamente efectividad y toxicidad por el fármaco, la predicción del rango de dosificación entre ambas condiciones se hace complicada pero necesaria. Actualmente se proporciona una dosis inicial estándar de tacrolimus después del trasplante renal, que se ajusta según los niveles en sangre en la mayoría de los centros de trasplante pediátrico a nivel mundial.

Los objetivos del presente estudio fueron determinar si la administración de la dosis inicial de tacrolimus según el genotipo CYP3A5, permitía alcanzar niveles valle objetivo del fármaco, más efectivamente (en la primera semana después del trasplante) y subsecuentemente disminuir el número de episodios de rechazo y de toxicidad asociadas a en el primer año de seguimiento.

MATERIAL Y MÉTODOS: Se realizó un ensayo clínico no aleatorizado, cegando a los sujetos de estudio, de una cohorte de pacientes pediátricos, en protocolo de trasplante renal. Los polimorfismos para el genotipo de CYP3A5 se determinaron por secuenciación directa antes del trasplante. Se incluyeron todos los pacientes que recibieron tacrolimus en la primera semana después del trasplante. Se excluyeron aquellos que no contaban con muestra suficiente o su resultado fue no concluyente para la genotipificación. La dosis inicial de tacrolimus se administró en dos grupos. A) Grupo de asignación de dosis de acuerdo con el genotipo de CYP3A5: AA 1*1, al menos 0.20 mg/kg/día, AG 1*3: al menos 0.15 mg/kg/día, GG 3*3, al menos 0.10 mg/kg/día; B) Grupo de dosis convencional: dosis máxima de 0.10 mg/kg/día, sin importar genotipo; con ajuste de dosis para alcanzar niveles valle del fármaco de acuerdo con el objetivo por tiempo de trasplante.

RESULTADOS: Un total de 81 pacientes se reclutaron y se siguieron por doce meses, de los cuales 41 recibieron la maniobra de dosis convencional, la media de edad fue de 13.3 años, 52% fueron del género femenino. El diagnóstico más frecuente de ERC fue CAKUT 28%, seguido por enfermedades glomerulares 23%, y causas desconocidas 43%. Recibieron trasplante de donador cadavérico 56% y 75% tuvieron riesgo intermedio para CMV. Los pacientes con genotipo AA 1*1 fueron un 7%, AG 1*3, 38% (expresadores de la proteína) y GG 3*3 54% (no expresadores de la proteína). Interesantemente el porcentaje de no expresadores fue mayor en el grupo de dosis convencional 29.6% que en el grupo de asignación de dosis 16.1%, $p=0.04$. La media de dosis inicial de Tac y niveles valle alcanzados en las seis semanas de seguimiento inicial en el grupo de dosis convencional fue de 0.125 ± 0.118 mg/kg/día y 9.7 ± 9.2 ng/L, mientras que en el grupo de asignación fue de 0.201 ± 0.187 mg/kg/día y 8.9 ± 8.4 ng/L $p=0.0001$ y $p=0.029$ respectivamente, alcanzando niveles más altos con menor dosis el grupo de dosis convencional.

No existieron diferencias en el tiempo en estar dentro de los niveles valle objetivo de tacrolimus (8-10 ng/L) en las primeras seis semanas después del trasplante entre ambos grupos, 75% de los sujetos en el grupo de dosis convencional se tardaron 2 semanas mientras que el grupo de

asignación 3 semanas, $\log\text{-rank}=0.16$. El modelo de regresión de Cox mostró que existe un incremento de 42% en la probabilidad mayor de mantener niveles valle dentro del objetivo (8-10 ng/L) durante las primeras seis semanas después del trasplante dependió únicamente de los niveles de albúmina séricos promedios de 3.5 g/dL ($HR\ 0.58\ IC\ 95\% 0.35-0.98\ SE\ 0.264$), sin embargo tener el genotipo expresador mostró un aumento en la probabilidad de alcanzar el mínimo de niveles objetivo ($\geq 8\ ng/L$) en un 33% ($HR\ 0.67, IC\ 95\% 0.45-0.98, SE\ 0.196$).

No hubo diferencias en el riesgo de presentar episodios de rechazo (OR 0.86, IC 95% 0.26-2.84, SE 0.606) o nefrotoxicidad (OR 5.85, IC 95% 0.60-56.8, SE 1.161), en el seguimiento a 12 meses entre ambos grupos tampoco, tomando en cuenta la capacidad para alcanzar niveles durante la primera semana, porcentaje de PRA I, II y presencia de anticuerpos DSA antes del trasplante.

Las regresiones lineales de las dosis de tacrolimus y niveles no mostraron diferencias significativas entre el grupo de dosis convencional, $r^2=0.0003, p=0.78$, y el grupo de asignación, $r^2=0.0008, p=0.67$. Sin embargo, las deltas de niveles en ambos grupos mostraron una relación lineal, dosis convencional, $r^2=0.14, p<0.0001$ y asignación de dosis, $r^2=0.08, p<0.0001$.

En el análisis de subgrupos, hubo diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos dentro de los respectivos grupos de intervención y control para los niveles de tacrolimus alcanzados (C: $p<0.0001$; A: $p=0.005$), el promedio de dosis acumulada (C: $p<0.0001$; A: $p<0.0001$) y el promedio de niveles de tacrolimus acumulados (C: $p<0.0001$; A: $p<0.0001$), sin embargo únicamente el delta de dosis para el grupo de asignación entre genotipos presentó diferencias significativas ($p=0.017$) sin que esto afectara el delta de niveles de ambos grupos (C: $p=0.93$, A: $p=0.46$). De las regresiones lineales por subgrupos de genotipo el único que presentó consistentemente una relación lineal entre nivel vs dosis y delta de nivel vs delta de dosis de tacrolimus fue el genotipo AG 1*3 ($r^2=0.031, p=0.02$ y $r^2=0.168, p<0.0001$ respectivamente).

CONCLUSIONES: No mostraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo en alcanzar niveles valle de tacrolimus dentro del rango objetivo, en las primeras seis semanas de seguimiento ($\log\text{-rank}=0.16$), ni en los eventos de rechazo (OR 0.86, IC 95% 0.26-2.84, SE 0.606) y nefrotoxicidad (OR 5.85, IC 95% 0.60-56.8, SE 1.161) comprobados por biopsia a los doce meses de seguimiento, entre el grupo de dosis convencional y el grupo de asignación de dosis. Sin embargo, el grupo de dosis convencional mostró una frecuencia más alta de nefrotoxicidad por inhibidores de la calcineurina (6 Vs 1%). Los análisis por subgrupo demostraron que a pesar de las diferencias significativas en el delta de dosis en el grupo de asignación de dosis ($p=0.017$) no impactó en la delta de niveles para el mismo grupo ($p=0.46$), *comportándose muy similar que el grupo de dosis convencional* ($p=0.93$). Al categorizar por genotipo, existió una regresión lineal estadísticamente significativa en las deltas de dosis y delta de niveles principalmente para el genotipo A*G 1*3* ($r^2=0.168, p<0.0001$). Con lo anterior concluimos que la asignación de dosis inicial de tacrolimus guiada por el genotipo de CYP3A5 no muestra ventaja en el tiempo en alcanzar niveles valle en las primeras seis semanas después del trasplante renal, ni a asociación en la disminución de complicaciones como rechazo y nefrotoxicidad en el seguimiento a doce meses. La presencia del genotipo tiene un impacto alto en la metabolización de la tacrolimus y la capacidad de alcanzar niveles valle objetivo a pesar de la maniobra de intervención y es probable que la falta de diferencias entre los grupos sea debida a que el grupo control tuvo más expresadores de la proteína y al menor poder estadístico alcanzado con el limitado número de sujetos. El comportamiento de las deltas de dosis y niveles de tacrolimus en los análisis adicionales de subgrupos sugiere que la decisión del clínico y factor de cambio de dosis debería ser estudiadas en futuras investigaciones para determinar si la identificación del genotipo puede informar a una terapéutica y monitoreo farmacológico individualizado.

3. INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es la pérdida de la función renal de forma progresiva e irreversible con implicaciones a la salud.¹ La incidencia y prevalencia en pediatría, no son tan altas como en población adulta donde se reporta una incidencia cerca de 1700 casos por millón de habitantes (pmh), mientras que registros pediátricos internacionales reportan un rango que va de 12 a 14 casos pmh en Estados Unidos de América (EUA), Nueva Zelanda y Austria, mientras que la prevalencia en Italia es de 258 casos pmh, este incremento puede verse influenciado por la inclusión de pacientes entre 20 a 24 años, Hungría reporta 82 casos pmh, desafortunadamente no se cuenta con reportes oficiales de países latinoamericanos y el caribe.^{2,3}

La ERC en pediatría, muestra diferencias relevantes en comparación con la ERC en adultos, que requieren de atención enfocada a las necesidades pediátricas asociadas al desarrollo biológico, físico, psicológico y social. El crecimiento y desarrollo inherentes a la etapa pediátrica, adolescencia y de adultez joven, hacen que la disfunción renal tenga un impacto significativo en el pronóstico a corto y largo plazo en estos pacientes. Los estragos en la salud de las alteraciones del equilibrio ácido base, hidro-electrolíticas, del metabolismo mineral óseo, anemia, acumulación de toxinas urémicas, alteración en el eje de las hormonas del crecimiento, desregulación en la producción de hormonas sexuales, y complicaciones asociadas como desnutrición calórico-proteica, hipertensión, dislipidemias, y enfermedad cardiovascular, persisten en la edad adulta. Sin mencionar las implicaciones psicosociales y económicas asociadas a la etapa de transición del enfermo crónico pediátrico al adulto.^{4,5} La ERC representa un riesgo incrementado en la morbilidad y mortalidad. La mortalidad en pacientes con ERC entre 16 y 49 años fue 36 veces más alta comparado con pacientes sanos y la enfermedad cardiovascular asociada (ECV) fue la causa de muerte más frecuente con un 46% en población adulta.² En población pediátrica, incluyendo adolescentes y adultos jóvenes hasta la edad de 30 años, se ha reportado que un 40% de las muertes en pacientes que reciben cualquier modalidad de diálisis, estuvieron relacionadas a ECV.⁶ Es clave el proveer la terapia de reemplazo de la función renal más efectiva para disminuir el riesgo de todas estas complicaciones.

El tratamiento para la ERC en su estadio final es la sustitución de la función renal. Las opciones terapéuticas en pacientes pediátricos incluyen diálisis en todas sus modalidades y el trasplante renal (TR). La diálisis ha demostrado ser un tratamiento de sustitución efectivo de forma transitoria, ya que aumenta el riesgo cardiovascular y disminuye la esperanza de vida⁶, además de que también requiere mayor gasto económico del paciente y sistema de salud. El TR restituye la función renal de forma óptima y hay evidencia contundente de que la razón costo-efectividad de la diálisis comparada con el trasplante renal desde la perspectiva de los pacientes fue 5 veces mayor, y desde la perspectiva de los proveedores de salud 8.4 veces mayor.⁷ De tal suerte que el TR es el tratamiento de elección para la sustitución de la función renal, tanto en niños como en adultos.

El TR en pediatría representa retos diferentes al TR en adultos. Estos retos son quirúrgicos, nutricionales, de respuesta inmunitaria, vacunación, frecuencia de infecciones, así como de diferentes agentes infecciosos, control de crecimiento y desarrollo, farmacológicos, de manejo terapéutico por parte de los padres, psicológicos, sociales, académicos, de transición al automanejo (incluyendo adherencia terapéutica) y acoplamiento a servicios de salud de adultos.^{8,9} Otro punto importante es la respuesta a fármacos. Se han documentado las diferencias ontológicas en expresión de enzimas hepáticas e intestinales, cambios en el agua corporal total que afecta volumen de distribución, variaciones en la absorción intestinal entre otras, que agregan retos al manejo del trasplante en esta población.^{8,10} Existe evidencia de que debido a todos estas características específicas que constituyen un reto multifactorial, la sobrevida media

del injerto en pacientes pediátricos varía de 15 a 18 años dependiendo de la fuente literaria, mientras que en el adulto es de 25 a 30 años, donde algunos adultos mayores fallecen con el injerto renal funcional.^{2,8,11-13} La importancia del adecuado manejo y control de las terapias inmunosupresoras de mantenimiento después del trasplante radica en que su efectividad se relaciona estrechamente con los eventos de rechazo del injerto, siendo esta la principal complicación en el trasplante de órgano sólido.^{14,15}

En el caso de los pacientes pediátricos, debido al inicio de la ERC en etapas tempranas de la vida, y considerando la sobrevida media del injerto renal en esta población, necesitarán un segundo trasplante renal al inicio o antes de su vida adulta. La preservación del primer injerto en condiciones óptimas por el mayor tiempo posible no únicamente beneficia al paciente por las funciones renales restituidas, y la disminución del riesgo de complicaciones asociadas, sino por la respuesta inmunitaria que conlleva la recepción de un aloinjerto. El complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), el cual, entre sus funciones en la respuesta inmune, interviene en la fisiología del trasplante. Después de la exposición a primer injerto, queda más sensibilizado a presentar una respuesta en contra de los antígenos de posibles donores, disminuyendo las probabilidades de compatibilidad y un subsecuente trasplante exitoso.^{8,16-19} Por lo que optimizar el monitoreo y manejo de las terapias inmunosupresoras desde sus diferentes aspectos es clave para una mejor sobrevida del injerto.²⁰

La inmunosupresión de mantenimiento después del trasplante es necesaria mientras el aloinjerto esté funcionando, es decir a largo plazo, en algunos casos, prevalece después de la falla del injerto, para evitar respuesta inmune acelerada. Esta inmunosupresión de mantenimiento en el receptor de trasplante renal está constituida por tres diferentes clases de fármacos inmunosupresores: 1) los inhibidores de las calcineurinas (CNI), ciclosporina A (CsA) y tacrolimus (Tac); 2) anti proliferativos, azatioprina (AZA), micofenolato de mofetilo (MMF) y ácido micofenólico (MPA); y 3) esteroides, prednisona (Pred) o prednisolona (Prdl).²¹⁻²³

Tacrolimus, es uno de los fármacos inmunosupresores de mantenimiento, más utilizado a nivel mundial, y se usa en combinación con inmunosupresores de otra clase. Esto prevalece en los otros tipos de órgano sólido como hígado, corazón, pulmón, páncreas, intestino y multiorgánicos. Tacrolimus tiene un efecto inmunosupresor más efectivo que CsA, con diferentes efectos secundarios (sin efectos estéticos como hirsutismo e hiperplasia gingival a comparación de CsA), de hecho, en órganos como el hígado, llega a ser con el tiempo la única terapéutica empleada a largo plazo.²⁴⁻²⁷ Tacrolimus tiene un estrecho índice terapéutico, así como variabilidad intra e interindividual, haciendo complicado el balance entre efectividad para evitar el rechazo al injerto y toxicidad. La nefrotoxicidad es el efecto adverso más común reportado, lo que hace necesario el monitoreo farmacológico constante para su dosificación y evitar complicaciones serias. Dicho monitoreo farmacológico se realiza mediante la medición de niveles valle del fármaco en sangre. La determinación de los niveles valle objetivo de tacrolimus varían alrededor del mundo dependiendo del centro, órgano trasplantado y más reciente evidencia disponible.^{20,28-30}

La individualización de la terapéutica se hace complicada pero necesaria. Se ha demostrado que el metabolismo de tacrolimus está relacionado con las enzimas del citocromo P450 llamadas CYP3A5, y en la última década que la variabilidad en los genes que codifican para estas enzimas impacta en el metabolismo del fármaco. Los genotipos de CYP3A5 más comúnmente descritos que intervienen en dicho metabolismo son AA 1*1 (*1*1), AG 1*3 (*1*3) ambos denominados expresadores de proteína y GG 3*3 (*3*3) denominado no expresador de la proteína.^{31,32}

Debido a que la práctica a nivel mundial es la dosificación estándar de pacientes después del trasplante con ajuste de acuerdo con vigilancia farmacológica, el presente estudio buscó proveer evidencia del beneficio de dosificar tacrolimus de acuerdo con el genotipo de CYP3A5 en una cohorte de pacientes pediátricos receptores de trasplante renal en la ciudad de México.

4. MARCO TEÓRICO

4.1. Enfermedad renal crónica en pediatría

De acuerdo con las guías KDIGO por sus siglas en inglés (Kidney Disease Improving Global Outcomes), mismas que son las más utilizadas a nivel mundial en materia de nefrología. La enfermedad renal crónica (ERC) se define como las anomalías estructurales o funcionales del riñón presentes por un tiempo mayor a 3 meses, con implicaciones a la salud. Dichas anomalías son irreversibles y tendrán un curso progresivo y crónico hacia la disfunción renal. La ERC es clasificada según su causa, la categoría de la tasa de filtrado glomerular (TFG) y la categoría de albuminuria.¹ Los estadios de la ERC están clasificados de acuerdo con la causa desencadenante (basado en la presencia o ausencia de enfermedad sistémica), la categoría de la TFG y la categoría de albuminuria. (Tabla 1)

Tabla 1. Categorías de la TFG y albuminuria para la clasificación de los estadios de ERC según las guías KDIGO 2012.¹

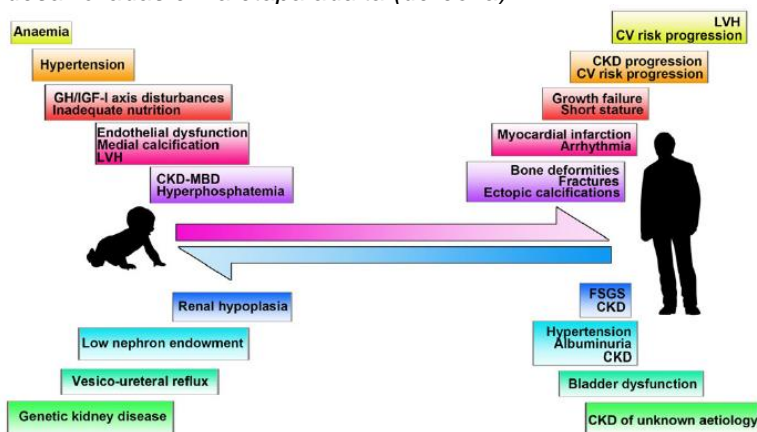
Categorías de TFG en la ERC				
Categoría de la TFG	TFG (mL/min/1.73 m ²)		Términos	
G1	≥90		Normal o alto	
G2	60-89		Levemente disminuida	
G3a	45-59		Leve a moderadamente disminuida	
G3b	30-44		Moderado a severamente disminuido	
G4	15-29		Severamente disminuido	
G5	<15		Falla renal	
Categorías de albuminuria de ERC				
Categoría	REA (mg/24 horas)	ACR (equivalente aproximado)		Términos
		(mg/mmol)	(mg/g)	
A1	<30	<3	<30	Normal a levemente aumentado
A2	30-300	3-30	30-300	Moderadamente aumentado
A3	>300	>30	>300	Severamente aumentado

Tomado y traducido al español de Wheeler et al., *Kidney International*, 2013
 TFG: Tasa de filtrado glomerular; ERC: Enfermedad renal crónica; KDIGO: *Kidney Disease Improving Global Outcomes*;
 REA: Rango de excreción de albúmina;

La ERC de inicio en la edad pediátrica es una enfermedad devastadora y con implicaciones serias a la salud, que tendrán un impacto importante a largo plazo y durante el desarrollo del paciente en la vida adulta (figura 1). Las diferentes causas de la ERC de inicio en la edad pediátrica en comparación con las del adulto por sí solas, imprimen retos específicos. Las anomalías congénitas del riñón y tracto urinario o por descripción en inglés, *congenital anomalies of kidney and urinary tract* (CAKUT) con una frecuencia entre 30-49%, las glomerulopatías primarias como síndrome nefrótico resistente a esteroides 10% de casos, glomerulonefritis crónicas y vasculitis como lupus y enfermedad de Alport 8% de casos, y ciliopatías 5% de casos representan múltiples intervenciones quirúrgicas, exposición a inmunosupresores y sus toxicidades asociadas, ingresos hospitalarios y complicaciones relacionadas a estos.³⁻⁵ Entre las alteraciones asociadas están en retraso en el crecimiento longitudinal, donde se reporta que al menos un 35% de niños con acceso a hormona del crecimiento, tuvieron estatura menor a -1.88 desviaciones estándar para la talla blanco familiar. Las alteraciones del metabolismo mineral

óseo como anomalías en el calcio, fósforo, parathormona y metabolismo de la vitamina D, afectan directamente a la formación del hueso, y crecimiento longitudinal, en casos graves presentan deformaciones óseas (osteodistrofia renal) y fracturas. A esto se suma el impacto a nivel cardiovascular de factores asociados a la alteración del eje como el factor de crecimiento de fibroblastos (FGF-23).^{4,5,33-35} En el caso de la anemia secundaria a la disminución de la producción de eritropoyetina, esta no solo afecta a todos los tejidos aumentando el estrés oxidativo por la falta de entrega de O₂, además desencadena diferentes procesos inflamatorios crónicos, que impactan a nivel cerebral en el desarrollo cognitivo y desempeño académico.^{4,5,36} La hipertensión arterial en la ERC puede estar presente desde estadios tempranos de la enfermedad a diferencia de otras condiciones crónicas, por el papel de la fisiología renal en el control hidroelectrolítico y respuesta renovascular, principalmente del sistema renina angiotensina aldosterona. Alrededor de 54% de pacientes pediátricos presentan hipertensión en etapas tempranas de la enfermedad y 48% de ellos son refractarios a tratamiento, esto aumenta el riesgo cardiovascular en 35%.^{4,5,37} Las complicaciones cardiovasculares son la primera causa de defunción en pacientes pediátricos con ERC, mostrando un riesgo hasta 1000 veces en mayor que sus controles sanos cuando fueron pareados por edad. Como se describe en la tabla uno, la etapa final de la ERC es clasificada como grado cinco y corresponde a la necesidad de sustitución de la función renal mediante terapias de reemplazo.^{4-6,13,38,39}

Figura 1. Complicaciones clínicas de la enfermedad renal crónica. La imagen muestra las complicaciones asociadas durante la etapa pediátrica (izquierda), y sus consecuencias y relación con las complicaciones desarrolladas en la etapa adulta (derecha).⁴



Tomado de Becherucci et al, CKJ, 2016

GH: hormona de crecimiento, IGF: factor de crecimiento como insulina, LVH: hipertrofia ventricular izquierda, CKD: enfermedad renal crónica, CV: cardiovascular, FSGS: glomeruloesclerosis focal y segmentaria

Además del retraso en el crecimiento, la enfermedad mineral ósea, la anemia, la hipertensión arterial y la ECV el desequilibrio hidro-electrolítico, proteinuria y oliguria, afecta el desarrollo neuropsicológico y de los diferentes órganos, por lo que el reemplazo de la función renal es de suma importancia.^{10,40,41} El trasplante renal (TR), se prefiere sobre las terapias de reemplazo renal (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.⁴²⁻⁴⁴ Por otro lado, la supervivencia del injerto depende de múltiples factores entre los que destacan la calidad del tejido renal, compatibilidad, condiciones pre-existentes, la edad del receptor y del donador, diferencias raciales, transfusiones de sangre previas y tiempo de isquemia fría, entre otros.^{41,44}

4.2. Rechazo del injerto renal y tratamiento inmunosupresor

El rechazo del injerto es la principal complicación inmunitaria después del trasplante. Se define como una serie de acontecimientos en los que el injerto se reconoce como ajeno. Este proceso supone la participación de las respuestas inmunitarias local y sistémica implicando a los linfocitos T CD4+, linfocitos T CD8+, células B, células NK, macrófagos y citocinas: el establecimiento de una lesión inflamatoria local; la inducción de la expresión del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) y finalmente el deterioro de la función renal y la necrosis del tejido trasplantado.⁴⁵ De acuerdo con su aparición cronológica después del trasplante renal se clasifican en:

- *Rechazo hiperagudo*

Tiene lugar desde minutos a horas después de pinzar los vasos del órgano trasplantado. Este acontecimiento es producido por anticuerpos citotóxicos preformados anti-antígenos leucocitarios humanos (HLA siglas en inglés) clase I (isotipo IgG) o anti-ABO (isotipo IgM) en el receptor. Estos anticuerpos se unen a las superficies endoteliales de las arteriolas del injerto, activan el complemento y producen una lesión grave, que incluye trombosis y obliteración de la vasculatura del injerto.⁴⁵

- *Rechazo agudo acelerado*

Sucede a los pocos días del trasplante (entre 24 horas y 4 días). Ocurre cuando el receptor ha sido sensibilizado mediante interacciones previas con el antígeno del injerto, generalmente mediante trasplantes previos o transfusiones y se piensa que representa una respuesta inmunitaria de memoria a la sensibilización previa. Este tipo de rechazo puede representar una combinación de lesión celular y mediada por anticuerpos.⁴⁵

- *Rechazo agudo*

Tiene lugar de días a semanas después de la cirugía, es una alteración inflamatoria sistémica que en su manifestación completa puede asociarse con múltiples síntomas constitucionales incluyendo fiebre, escalofríos, mialgias y artralgias. Muchos de estos síntomas son manifestaciones de la liberación de citocinas (p ej. TNF, IL-1); la expresión de la IL-2 e IFN-gamma se ha demostrado que aumenta antes del desarrollo del infiltrado intersticial típico. El 90% de los rechazos agudos están principalmente mediados por una respuesta inmune celular. Aproximadamente el 10% de los episodios de rechazo están mediados por una respuesta humoral.⁴⁵

- *Rechazo crónico (nefropatía crónica del injerto)*

Conduce a la pérdida tardía del injerto, se caracteriza por esclerosis glomerular, atrofia tubular, rotura de la membrana basal glomerular y fibrosis intersticial. Aparece lentamente en meses a años y produce pérdida progresiva de la función renal. El proceso de cicatrización después de episodios repetidos de rechazo agudo, la lesión crónica del injerto por respuesta de hipersensibilidad retardada, la isquemia crónica, la formación de anticuerpos, la toxicidad de los inhibidores de calcineurina y los fármacos que favorecen la producción de TGF-beta se propusieron como estímulos de la fibrosis generalizada.⁴⁵

El mecanismo inmunitario relacionado con el rechazo del injerto se inicia por el reconocimiento del injerto a través del HLA y CMH del receptor el cual activa a los linfocitos T mediante la interacción del antígeno (HLA del donador) y el TCR del linfocito del receptor. El TCR por su nombre en inglés "*T cell receptor*", es un receptor celular asociado a una vía de señalización intracelular caracterizado por pertenecer a la familia de los receptores con actividad enzimática intrínseca y por poseer como ligandos a péptidos pequeños asociados con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) en la membrana plasmática de macrófagos y otras células presentadoras de antígenos. 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 κ B (NF κ B), el inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1) y el factor nuclear activador de células T (NFAT), estos factores pasan al núcleo celular y se acoplan a regiones promotoras en el DNA y promueven la producción de IL-2, IL-4 y factores citotóxicos.^{44,46}

Con el objetivo de ordenar esta serie de acontecimientos alrededor del rechazo al injerto renal, y de esta forma mejorar el diagnóstico, se creó la clasificación de Banff. La clasificación Banff de la patología del injerto renal, se originó en la primera reunión realizada en Canadá en 1991, como parte de las actividades de la Sociedad Internacional de la Comisión de Rechazo Renal Agudo, manteniendo su éxito en los esfuerzos de numerosos expertos para redefinirla y expandirla con reuniones cada 2 años. En la última reunión realizada en 2019 en la ciudad de Pittsburgh, Pensilvania, en los EUA, se realizaron las siguientes actualizaciones en la clasificación del rechazo agudo y crónico, celular y mediado por anticuerpos (Tabla 2).⁴⁷

Tabla 2. Actualizaciones de la clasificación Banff 2019 para rechazo del injerto renal mediado por anticuerpos, cambios límite (borderline changes en inglés), rechazo mediado por células y nefropatía por poliomavirus.⁴⁷

Categoría 1
Biopsia normal o sin cambios específicos
Categoría 2
Cambios mediados por anticuerpos
Rechazo mediado por anticuerpos (ABMR siglas en inglés) activo; los tres criterios deben cumplirse para el diagnóstico.
1-Evidencia histológica de daño tisular agudo, incluyendo uno o mas de los siguientes:
-Inflamación microvascular (g>0 y/o ptc >0), en ausencia de glomerulonefritis recurrente o de Novo, aunque, en la presencia de rechazo mediado por células T (TCMR siglas en inglés), infiltrado límite, o infección, ptc ≥ 1 solo no es suficiente y g debe ser ≥ 1
-Arteritis de la íntima o transmural (v >0) ^b
-Microangiopatía trombótica aguda, en la ausencia de otra causa
-Daño tubular agudo, en la ausencia de alguna otra causa aparente
2-Evidencia de interacción de anticuerpos actual/reciente con endotelio vascular, incluyendo 1 o mas de los siguientes:
-Tinción lineal de C4d en capilares peritubulares o medulares de la vasa recta (C4d2 o C4d3 por IF en cortes congelados, o C4d >0 por IHQ en secciones de parafina)
-Inflamación microvascular al menos moderada ((g + ptc) ≥ 2) en ausencia de glomerulonefritis recurrente o de Novo, aunque en la presencia de TCMR agudo, infiltrado limitrofe o infección, ptc ≥ 2 solo no es suficiente y g debe ser ≥ 1
-Aumento de la expresión de genes transcriptores y clasificadores en el tejido de la biopsia fuertemente asociado con ABMR, si es validado a fondo
3-Evidencia serológica de anticuerpos circulantes específicos del donador (DSA [siglas en inglés] a HLA o a otros antígenos).
-La tinción de C4d o expresión validada de los transcriptores o clasificadores genéticos como se indicó anteriormente en el criterio 2, pueden sustituir la prueba de DSA; sin embargo, las pruebas exhaustivas para DSA incluyendo pruebas para anticuerpos no-HLA si la prueba de anticuerpos para HLA es negativa, está fuertemente recomendada, en presencia de los criterios 1 y 2.
ABMR crónico activo; deben cumplirse los tres criterios
1-Evidencia morfológica de daño crónico tisular, incluyendo uno o mas de los siguientes:
Glomerulopatía del trasplante (cg >0) si no hay evidencia de MAT crónica o glomerulonefritis de ---Novo crónica o recurrente; incluye únicamente cambios evidentes en la microscopía electrónica (ME) (cg1a).
-Multicapas severas en la membrana basal de los capilares peritubulares. (ptcm1; requiere ME)
Fibrosis de la íntima arterial, excluyendo otras causas; los leucocitos dentro de la íntima favorecen el ABMR crónico si no hay antecedentes de TCMR, pero no son necesarios.
2-Indéntico al criterio 2 para el AMBR activo, mencionado anteriormente.
3-Indéntico al criterio 3 para el AMBR, mencionado anteriormente, incluyendo la fuerte recomendación de pruebas para DSA cuando se cumplan cualquiera de los criterios 1 y 2.
Las biopsias que cumplan el criterio 1 pero no el criterio 2 con evidencia actual o previa de DSA (después del trasplante) deben ser graduados como se muestra en el ABMR crónico, sin embargo, unos DSA remotos (antiguos), no deben ser considerados diagnóstico de ABMR crónico activo o activo.
AMBR crónico (inactivo)
1-cg > 0 y/o ptcm1 severo (ptcm1)
2-Ausencia del criterio 2 de actual o reciente interacción de anticuerpos con el endotelio.
3-Diagnóstico previamente documentado de ABMR activo o crónico activo y/o evidencia previa de DSA.

<p>Tinción de C4d sin evidencia de rechazo; todas las siguientes características deben estar presentes para el diagnóstico.</p> <p>1. <i>Tinción lineal de C4d en los capilares peritubulares (C4d2 o C4d3 por IF en segmentos congelados, o C4d > 0 por IHQ en segmentos de parafina)</i></p> <p>2. <i>Que no se cumpla el criterio 1 de ABMR activo o crónico activo.</i></p> <p>3. <i>Sin evidencia molecular de ABMR como en el criterio 2 de ABMR activo o crónico activo.</i></p> <p>4. <i>Sin TCMR agudo o crónico activo, o cambios límite.</i></p>
<p>Categoría 3: Límite (sospechoso) de TCMR agudo</p> <p>Focos de tubulitis (t1, t2, o t3) con leve inflamación intersticial (i1), o tubulitis (t1) leve con moderada a severa inflamación intersticial (i2 o i3)</p> <p>Ausencia de arteritis de la íntima o transmural (v = 0)</p>
<p>Categoría 4: TCMR</p> <p>TCMR agudo</p> <p>Grado IA: Inflamación intersticial que involucra >25% del parénquima cortical no esclerótico (i2 o i3), con tubulitis moderada (t2) que involucra 1 o mas túbulos, sin incluir los túbulos que están severamente atróficos.</p> <p>Grado IB: Inflamación intersticial que involucra >25% del parénquima cortical no esclerótico (i2 o i3) con tubulitis severa (t3) involucrando 1 o mas túbulos, sin incluir túbulos que estén severamente atróficos.</p> <p>Grado IIA: Leve a moderada arteritis de la íntima (v1), con o sin inflamación intersticial y/o tubulitis.</p> <p>Grado III: Arteritis transmural y/o necrosis fibrinoide arterial que involucra la capa media del músculo liso acompañado de arteritis con células mononucleares en la íntima (v3), con o sin inflamación intersticial o tubulitis.</p> <p>TCMR crónico activo</p> <p>Grado IA: Inflamación intersticial que involucra >25% del parénquima cortical esclerótico (fibrosis intersticial y atrofia tubular [i-IFTA2 o i-IFTA3, por sus siglas en inglés]) Y >25% del total del parénquima cortical (ti2 o ti3) con tubulitis moderada (t2 o t-IFTA2) que involucra 1 o mas túbulos, sin incluir túbulos severamente atróficos; otras causas conocidas de i-IFTA deben ser descartadas.</p> <p>Grado IB: Inflamación intersticial que involucra >25% del parénquima cortical esclerótico (i-IFTA2 o i-IFTA3) Y > 25% del total del parénquima cortical (ti2 o ti3) con tubulitis severa (t3 o t-IFTA3) que involucra 1 o más túbulos, sin incluir túbulos severamente atróficos; otras causas conocidas de i-IFTA se deben descartar.</p> <p>Grado II: Arteriopatía crónica del injerto (fibrosis de la íntima arterial con células mononucleares inflamatorias en fibrosis y formación de neo íntima). Esto puede ser también la manifestación de un ABMR crónico o crónico activo o mixto ANMR/TCMR</p>
<p>Categoría 5: Nefropatía por poliomavirus (PVN siglas en inglés)</p> <p>PVN clase 1 pvl 1 y ci 0-1</p> <p>PVN clase 2 pvl 1 y ci 2-3 o pvl 2 y ci 0-3 o pvl 3 y ci 0-1</p> <p>PVN clase 3 pvl 3 y ci 2-3</p> <p><i>Tomado y traducido al español de Loupy et al, Am J Transplant, 2020</i> <i>ABMR: rechazo mediado por anticuerpos (siglas en inglés), TCMR: rechazo mediado por células T, IF: inmunofluorescencia, IHQ: inmunohistoquímica, DSA: anticuerpos donador específico (siglas en inglés), HLA: antígenos leucocitarios humanos (siglas en inglés), MAT: Microangiopatía trombótica, ME: microscopía electrónica, IFTA: fibrosis intersticial y atrofia tubular (siglas en inglés), PVN: nefropatía por poliomavirus (siglas en inglés).</i> <i>i: inflamación, t: tubulitis, v: endarteritis, g: glomerulitis, ptc: capilaritis peritubular, ci: fibrosis intersticial de la corteza, ct: atrofia tubular de la corteza, cv: fibrosis arterial de la íntima, cg: glomerulopatía crónica, ptcml: multicapas de la membrana basal de los capilares peritubulares, ti: inflamación total de la corteza, i-IFTA, inflamación en la corteza cicatrizada, t-IFTA: tubulitis de los túbulos dentro de la corteza cicatrizada, pvl: carga viral intrarenal de poliomavirus.</i></p>

El conocimiento de los mecanismos inmunológicos del rechazo ha permitido la generación de terapias dirigidas a prevenir o revertir la actividad inmunitaria contra el injerto por parte del receptor. Existen diversas estrategias terapéuticas encaminadas a la prevención del rechazo y tratar en lo posible de individualizar la terapia, las que han sido agrupadas en las siguientes tres etapas:

- *Etapa de inducción*

En la cual se establece la pauta profiláctica para prevenir y retrasar el rechazo agudo, en la que se administran elevadas dosis de inmunosupresor. Entre los fármacos empleados se encuentran anticuerpos anti-linfocitos poli o monoclonales, anticuerpos contra el receptor de IL-2 (CD25), esteroides, y mayores dosis de inmunosupresores de mantenimiento.⁴⁵

- *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 (eficiencia) y minimizar los eventos adversos (toxicidad). Los fármacos empleados en esta etapa son: a) Inhibidores de calcineurina (CNI) como la ciclosporina (CsA) y el tacrolimus (Tac).⁴⁵ b) Anti-proliferativos como azatioprina (AZA), micofenolato de mofetilo (MMF) y ácido micofenólico (MPA siglas en inglés), c) Esteroides como prednisona (Pred) y prednisolona (Prdl), d) Inhibidores de la vía blanco de los mamíferos de la rapamicina (mTOR siglas en inglés) como sirolimus (Sir) y everolimus (EVE).

- *Etapa de tratamiento del rechazo*

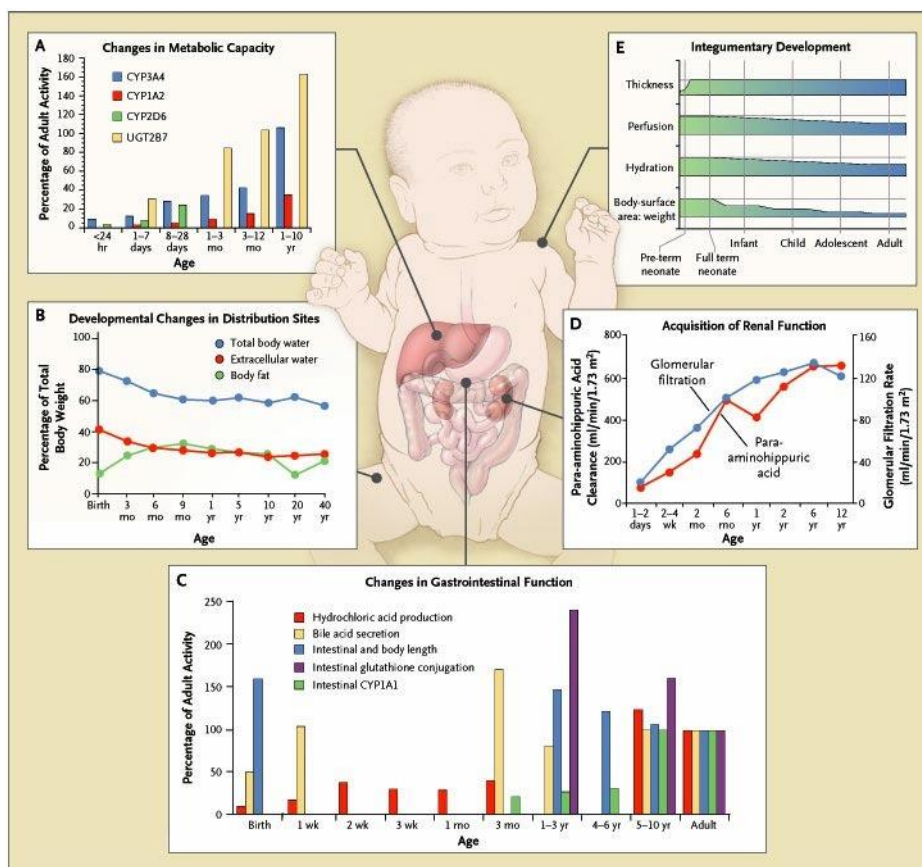
Se caracteriza por la utilización de inmunosupresión intensa durante un periodo corto de tiempo con el objetivo de inhibir la activación del sistema inmunitario una vez que hubo reconocimiento del injerto.⁴⁵

Ninguno de los fármacos anteriormente mencionados por sí solos 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, niños y adultos con buenos resultados en la prevención de rechazo.^{43,46,48} Los inmunosupresores requieren de monitoreo del fármaco por su estrecho índice terapéutico y significativa variabilidad inter e intra-individual, en las concentraciones sanguíneas. Esta variabilidad puede estar dada por factores como interacciones fármaco-nutrientes, interacciones fármaco-enfermedad, insuficiencia renal, inflamación e infección, género, edad, polimorfismo y masa hepática.²⁰

Los inhibidores de calcineurina, ciclosporina y tacrolimus, han mostrado su utilidad en el tratamiento de inducción y mantenimiento del trasplante, debido a que se ha comprobado gran eficacia como inhibidores de la respuesta inmunitaria, y mejoran la sobrevida del injerto, de donador vivo y cadavérico, 80% a 5 años,⁴⁹ pero la individualización de la dosis es complicada por el estrecho índice terapéutico mencionado que presentan. En particular los pacientes pediátricos presentan cambios fisiológicos propios del desarrollo que afectan la disposición de fármacos. Estos cambios están relacionados con la capacidad metabólica, presentando actividad de enzimas que intervienen en el metabolismo de los fármacos que se desarrolla o incrementa a lo largo de la vida. El desarrollo del sistema tegumentario que modifica la superficie corporal. Las modificaciones del agua corporal total, el agua extracelular y la grasa corporal que alteran los compartimentos de distribución. La adquisición progresiva de la capacidad renal de excretar metabolitos de desecho de fármacos. Finalmente, los cambios en la función gastrointestinal que afectan a la absorción (figura 2).¹⁰

Además, de estos factores propios del desarrollo orgánico del individuo como el desarrollo orgánico del paciente, la presencia y naturaleza de la causa de la ERC, el género, el estado nutricional, la adherencia al tratamiento y la herencia genética complican aún más la dosificación^{10,49,50} lo que hace necesario el monitoreo farmacológico constante, para mantener los niveles sanguíneos adecuados.

Figura 2. Cambios en el desarrollo fisiológico y factores que participan en la disposición de fármacos en niños y adolescentes.¹⁰



Tomado de Kearns et al, NEJM, 2003

4.3. Tacrolimus

Tacrolimus, también conocido como FK506 es un fármaco inmunosupresor con un potente efecto selectivo anti-linfocitos T mediante la inhibición de las calcineurinas. Pertenece al grupo de los macrólidos con actividad antimicrobiana restringida. Este fármaco es producido por el hongo *Streptomyces tsukubaensis*, fue descubierto en 1984 en Japón⁴¹ y aprobado por la FDA en 1994, su mecanismo de acción es similar al de la ciclosporina A, el otro fármacos inhibidor de las calcineurinas que antecedió a tacrolimus. Tacrolimus ha demostrado in vitro, ser de 32 a 100 veces más potente que CsA. Tacrolimus también ha demostrado un importante efecto hepatotrófico lo que puede explicar el éxito de su uso en el trasplante hepático.⁵¹

4.3.1. Química

Tacrolimus o FK506, es una nueva lactona macrolida de 23 miembros. Es un compuesto neutral, hidrofóbico que se cristaliza como prismas carentes de color. Su fórmula molecular es C₄₄H₆₉NO₁₂, su masa molecular relativa es 803 u.m.a. Su punto de fusión es de 127-129 C y se mantiene estable por muchos meses a temperatura ambiente como polvo en su forma cristalina, pero es menos estable cuando está en solución.⁵¹

4.3.2. Mecanismos moleculares de acción.

Tacrolimus ejerce su acción en múltiples procesos fisiológicos de la célula, sin embargo, su principal mecanismo es mediante la alteración de la expresión genética en las células objetivo, particularmente en la interleucina-2 (IL-2), linfocitos T-ayudadores CD4+ inhibiendo sus funciones. Tacrolimus actúa en los eventos de transducción de señal para la activación de las células T.⁵²

Tacrolimus se une a la proteína celular específica de la clase inmunofilina denominada FK506-proteínas de anclaje (FK506Ps por sus siglas en inglés), de estas proteínas al menos cuatro han sido descritas: FKBP12, 13, 25 y 59. Estas proteínas de anclaje tienen peptidil-prolisomerasa, o actividad rotamasa, que aceleran el proceso de plegamiento. La inhibición de la actividad de esta rotamasa no es la responsable del efecto inmunosupresor del fármaco. Más bien, los complejos intracelulares formados de entre Tac y FKBP interactúan con sustratos adicionales. Esto deriva en la modulación de la función de sus objetivos moleculares que resulta en la actividad inmunosupresora.⁵²

El objetivo principal de Tac/FKBP12 es el complejo de las calcineurinas (CNI), también conocido como fosfatasa 2B. La actividad enzimática de las CNI está regulada por el calcio (Ca⁺) y la calmodulina, lo que sugiere que tiene un papel en los procesos de señalización que dependen de Ca⁺. De hecho, las calcineurinas son fundamentales en los procesos que limitan la actividad enzimática en la transducción de señal de las células T.⁵²

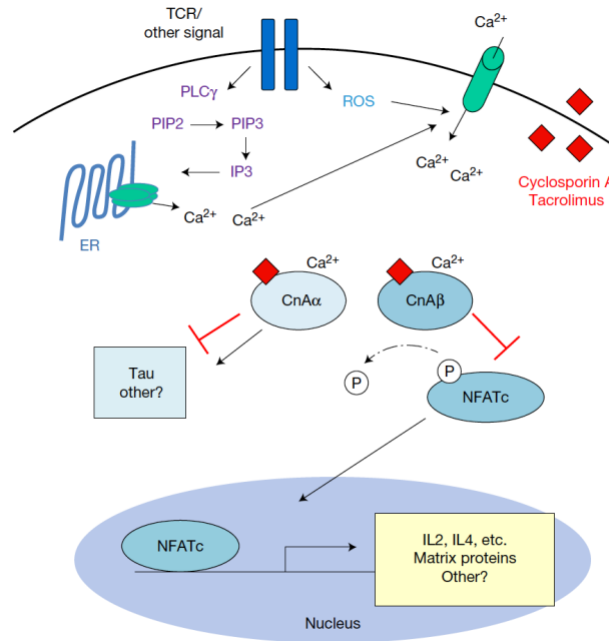
La CNI es una fosfatasa serina-treonina heterodimérica compuesta por dos subunidades: la subunidad catalítica 59-kDa, CNI A, que contiene su dominio de anclaje de la calmodulina y una región auto-inhibitoria, y la subunidad 19-kDa intrínseca reguladora del anclaje del calcio, CNI B. Los complejos fármaco-inmunofilina interactúan con la subunidad B y la región en el dominio catalítico de la subunidad A de la calcineurina, bloqueando la actividad enzimática de la fosfatasa.⁵²

Un sustrato de la calcineurina es la transcripción del factor nuclear de las células T activadas, que es un componente citoplasmático (NF-ATc). Este factor de transcripción, una vez acoplado a su contraparte nuclear (NF-ATn), se asocia con el promotor/potenciador de IL-2 así como otros factores de transcripción Oct-1, NF- κ B, y AP-1.

La región del ácido desoxirribonucleico (ADN) que regula el gen transcriptor de IL-2 se extiende aproximadamente ~300 pares de bases hacia arriba de la vía de transcripción al sitio de inicio. Los factores de transcripción se unen a los elementos de respuesta de esta región. El NF-AT está presente únicamente en los linfocitos activados, sin embargo, los demás factores pueden estar presentes en una gran variedad de células.⁵²

En respuesta a la activación celular dependiente de Ca⁺, las calcineurinas desfosforilan el NF-ATc, que, a consecuencia, se trasloca al núcleo celular. En el núcleo, se combina con el NF-ATn, esta síntesis está inducida por el estímulo que activa la proteína cinasa (PKA por sus siglas en inglés). Este complejo se une al ADN para promover la transcripción del gen de IL-2. Con la inhibición de la acción de la fosfatasa de la CNI, Tac evita la translocación del NF-ATc al núcleo celular (figura 3).⁵³ La producción de NF-ATn, no se ve alterada. El fármaco también inhibe la activación transcripcional generada por los multímetros, en los sitios de anclaje de las proteínas de unión de Oct-1, ejecutando de esta forma su función inmunosupresora.⁵²

Figura 3. Modelo de la acción de las calcineurina $A\alpha$ ($CnA\alpha$) y $A\beta$ ($CnA\beta$).⁵³



TCR: receptor de las células T (siglas en inglés), PLCγ: fosfolipasa C gamma, IP3: inositol trifosfato, NFAT: factor nuclear de las células T activadas (siglas en inglés), CNIs: inhibidores de la calcineurina (siglas en inglés).
Tomado de: *Expert reviews in molecular biology*, Williams et. al., 2012

4.3.3. Dosis.

La dosis inicial es de 0.1 a 0.15 mg/Kg/día, administrada dos veces 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 de tacrolimus que se pretenden alcanzar.⁵⁴ En pacientes con trasplante renal después de una dosis promedio de tacrolimus de 0.16 mg/kg/d, el ABC fue de 104 ng*h/L mientras que en trasplante hepático el ABC fue de 252 ng*h/L seguido de una dosis promedio de 0.3 mg/kg/d. Existe correlación entre el ABC y la Cmin posterior a la primera dosis oral de tacrolimus 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^{41,55,56} La dosis terapéutica descrita es de 0.2 a 0.3 mg/kg/d dividida en dos dosis, para paciente de trasplante renal.⁵⁷

4.3.4. Farmacocinética

4.3.4.1. **Absorción**

Tacrolimus es fármaco disponible en formulaciones para administración intravenosa y vía oral. La biodisponibilidad por vía oral tiene un rango entre 5-67% (media de 27%), siendo similar al de la CsA, algunas fuentes literarias más recientes describen hasta un 90%, sin embargo, el rango es muy amplio y variado entre individuos.⁵⁸ Las concentraciones máximas en plasma aparecen generalmente entre 0.5-4 horas después de la administración oral. Mientras que, algunos pacientes pueden presentar un perfil de absorción oral plano. En general Tac es absorbido pobremente, de forma errática e incompleta. Pueden observarse segundos picos de concentración en la curva del tiempo que son el resultado del fenómeno de precipitación-

redisolución y de la recirculación enterohepática de la droga. La absorción de Tac está menos relacionada a la presencia de bilis en comparación con CsA.⁵¹ El efecto en la absorción del paso del intestino delgado e hígado y el bombeo activo desde el intestino delgado pueden explicar parte de la pobre absorción y poca biodisponibilidad de tacrolimus. Los efectos sinérgicos de las enzimas del grupo CYP3A y la P-glicoproteína (P-gp o ABCB1) participan importantemente en la absorción de tacrolimus en el intestino delgado. La acción de P-gp también inhibe la entrada de Tac en otros órganos. Después de la absorción los niveles de Tac disminuyen rápidamente debido a la distribución del fármaco fuera del compartimento sanguíneo.^{51,58}

4.3.4.2. Distribución

La distribución de Tac en sangre depende del hematocrito, la concentración de proteínas en el plasma y la concentración del fármaco.⁵⁸ En sangre tacrolimus se une entre el 72 y 77% a la albúmina, a la alfa-1-glicoproteína ácida y a eritrocitos.⁵⁹ El volumen de distribución (Vd) de Tac administrado por vía intravenosa en adultos es de 1 a 1.5 L/kg, mientras que en niños es de 2.6 a 2.7 L/kg, lo que indica que en los niños, el Vd es de hasta 1.8 veces más alto que en adultos.⁴⁴ En pacientes pediátricos, después de una administración oral, se alcanza un Vd de 9 L/kg⁶⁰⁻⁶² 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 se ha relacionado con la presencia de los polimorfismos en los genes que codifican a CYP3A4, CYP3A5 y a la P-gp.⁶³

4.3.4.3. Metabolismo

El primer paso del metabolismo de Tac es importante, y ocurre en el hígado y los microsomas del intestino delgado (descrito como pre-metabolismo), la biotransformación está a cargo de las enzimas que pertenecen al citocromo P-450 del grupo 3 A (CYP3A), específicamente CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43. Se ha descrito también que estas enzimas se expresan en el riñón participando en el metabolismo local, la isoforma más expresada a nivel renal es CYP3A5. El hígado es el sitio principal de su metabolismo, comparada con CYP3A5, la capacidad catalítica de CYP3A4 es relativamente baja. CYP3A7 tiene poca influencia en el metabolismo de esta droga, mientras la influencia de CYP3A43 no se ha determinado.^{51,58}

4.3.4.4. Excreción

El aclaramiento total corporal es relativamente bajo, entre 0.06-1 L/(h*kg), mientras la vida media puede variar de 4 a 41 horas (12 horas en promedio). Después del metabolismo hepático más del 95% del fármaco es eliminado vía biliar como metabolitos conjugados. Entre el 2-5% es excretado por la orina en su forma original de FK506, se han caracterizado al menos nueve metabolitos por espectrometría de masas. Tacrolimus principalmente sufre mono y di-O-demetilación, hidroxilación y una combinación de mono-demetilación e hidroxilación.^{51,58}

4.3.4.5. Efectos Adversos y Toxicidad

Debido al estrecho índice terapéutico y variabilidad interindividual de Tac, los errores en la dosificación pueden llevar al paciente trasplantado a un mayor riesgo de rechazo o toxicidad asociados al medicamento. Para evitar esto, actualmente se hace un monitoreo constante de los niveles sanguíneos del fármaco. Los eventos adversos de Tac incluyen: nefrotoxicidad,

alteraciones en el metabolismo de la glucosa, hipertensión, molestias gastrointestinales, infecciones por oportunistas, enfermedad linfoproliferativa, cáncer de piel y otros tipos de cánceres, disfunción neurológica, e hiperlipidemia.^{41,55,60,64}

4.3.4.6. Nefrotoxicidad por inhibidores de la Calcineurina

La nefrotoxicidad es un efecto secundario importante de los inhibidores de la calcineurina y es el principal inconveniente de estos fármacos. Hay una disminución funcional del flujo sanguíneo y el filtrado glomerular ya que producen vasoconstricción de la microvasculatura renal dosis dependiente reversible que afecta principalmente a la arteriola aferente.⁴⁵ Los síndromes descritos de nefrotoxicidad de los inhibidores de la calcineurina se describen a continuación:⁶⁵

- Exageración de la disfunción precoz del injerto después del trasplante.
- Disminución aguda reversible del filtrado glomerular.
- Enfermedad microvascular aguda.
- Disminución crónica progresiva del filtrado glomerular.
- Hipertensión y alteraciones electrolíticas como: retención de sodio y edema, hiperkalemia, hipomagnesemia, acidosis hiperclorémica, hiperuricemia.⁴⁵

Se sospecha clínicamente, así como ante la presencia de elevación de creatinina, asociada a niveles supra-terapéuticos del fármaco. El diagnóstico se corrobora mediante biopsia renal que distingue tres lesiones características:

1. Tubulopatía aguda, con marcada vacuolización tubular, donde las lesiones son reversibles con la disminución de la dosis.
2. Arteriopatía, donde los miocitos son reemplazados por depósitos hialinos. La reversibilidad de las lesiones aún está en debate.
3. Microangiopatía trombótica (MAT), acompañada de falla renal aguda, anemia hemolítica y trombocitopenia.⁶⁵

4.4. Perfil farmacogenético de tacrolimus

4.4.1. Subfamilia CYP3A

El metabolismo de Tac depende de la expresión hepática e intestinal de las enzimas metabolizadoras de la fase I de la subfamilia de CYP3A, responsable de la biotransformación de 50% de los medicamentos que se utilizan en el área clínica. Esta subfamilia presenta cuatro isoenzimas CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43. Estas proteínas son el producto de los genes que llevan su mismo nombre, los cuales se encuentran localizados en el cromosoma 7.⁶⁶ 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, su posible efecto ha sido discutido, pero no ha sido comprobado en todos los grupos estudiados, probablemente por su baja frecuencia.^{67,68}

El CYP3A5 es codificado por el gen del mismo nombre, localizado en el cromosoma 7p21, 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* (figura 4)⁶⁹. El *CYP3A5*3* es uno de los polimorfismos más estudiados con 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. Los individuos con

genotipo para *CYP3A5*1*1* expresan la proteína funcional o normal.⁵⁶ La variante polimórfica *CYP3A5*3*3* expresa una proteína corta no funcional.^{70,71} (Figura 5)

4.4.2. Frecuencia alélica de los polimorfismos de *CYP3A5* en la población y sus implicaciones en el metabolismo de tacrolimus

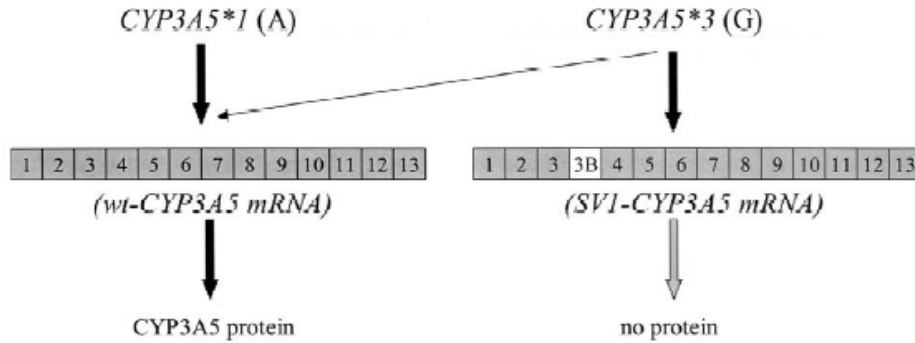
En un estudio realizado en el 2008 por McPhee y colaboradores, 84% de caucásicos, 49% de asiáticos y 15 % de negros presentaban el genotipo *CYP3A5*3*3*.⁷² Este mismo grupo en un estudio realizado en el 2004 relacionó la concentración del tacrolimus en las primeras dos semanas después del trasplante con el genotipo del gen *CYP3A5* y encontró que los individuos con la variante alélica *CYP3A5*3*3*, o no expresadores de la proteína, tuvieron niveles en valle bajos de tacrolimus comparados con aquellos con genotipo *CYP3A5*1*1* o *CYP3A5*1*3*, o expresadores de la proteína.⁷³ En ese mismo año, otro grupo de investigadores contrastaron sus resultados con los de McPhee, estimando que de 10 a 20% de caucásicos, de 40 a 50% de asiáticos, de 60 a 70 % de hispanos y más de 80% de afro-americanos eran expresadores altos para la proteína *CYP3A5*.⁷⁴ Los individuos homocigotos para *CYP3A5*3* con trasplante de órgano sólido, alcanzaron concentraciones hasta dos veces más altas de Tac que los individuos con genotipo *CYP3A5*1*.^{56,75-78} 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.^{56,79,80}

Se ha reportado altas dosis ajustadas de Tac (C_{0h} /dosis, C_{2h} /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 por el Laboratorio de Nefrología Pediátrica y Metabolismo Mineral Óseo, del Hospital Infantil de Mexico Federico Gómez (HIMFG), en pacientes mexicanos con trasplante renal que incluyó pacientes pediátricos y adultos, se determinó la frecuencia de los genotipos presentes en el gen *CYP3A5*, 52.2% (152 pacientes) mostraron el genotipo no expresador o que no expresa la proteína, *CYP3A5*3*3*, 6.2% (18 pacientes) y 41.6% (121 pacientes) mostraron los genotipos *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* respectivamente, considerados del tipo expresador, o que si expresa la proteína. En este mismo estudio publicamos 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 similares⁸¹

Por otro lado, se estudió la relación entre las variantes polimórficas del gen *CYP3A5* y la farmacocinética de tacrolimus en 51 pacientes pediátricos, en este estudio se observó que los niños con genotipo *CYP3A5*3*3* requirieron menor dosis de tacrolimus (0.06 mg/kg/d) con respecto a los genotipos *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* (0.15 y 0.13 mg/kg/d). El grupo con genotipo *CYP3A5*3*3* alcanzó mayor C_{max}/D (253.3 ng*mL/mg*kg*d), $ABC_{0-12 h}$ (1918.6 h*ng*mL/mg*kg*d) y menor CL (0.133 L/h), mientras que, los grupos con genotipo *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* mostraron una mayor dosis (0.15 y 0.13 mg/kg/d) una menor C_{max}/D (80.7 y 149.7 ng*mL/mg*kg/d), menor ABC_{0-12h} (537,3 y 848,7 h*ng*mL/mg*kg*d) y un mayor aclaramiento (0.527 y 0.374 L/h) respectivamente. Los grupos con genotipo *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* presentaron 57.1% de rechazos agudos, mientras que el grupo *CYP3A5*3*3* mostró 27.6% de rechazos.⁸¹

En un estudio realizado a 241 pacientes con tacrolimus durante el primer año después del trasplante renal se realizó genotipificación para: *CYP3A5*3*, *CYP3A4*22*, *CYP3A4*1B*, y *ABCB1*; obteniéndose como resultado que los pacientes que expresaban *CYP3A5* ameritaban significativamente dosis mayores de tacrolimus. Se concluye que el impacto del alelo *CYP3A4*22* en la farmacocinética de tacrolimus como segundo factor genético significativo sumado al alelo *CYP3A5*1* influye en las concentraciones sanguíneas para el ajuste de dosis de pacientes con trasplante renal.⁸²

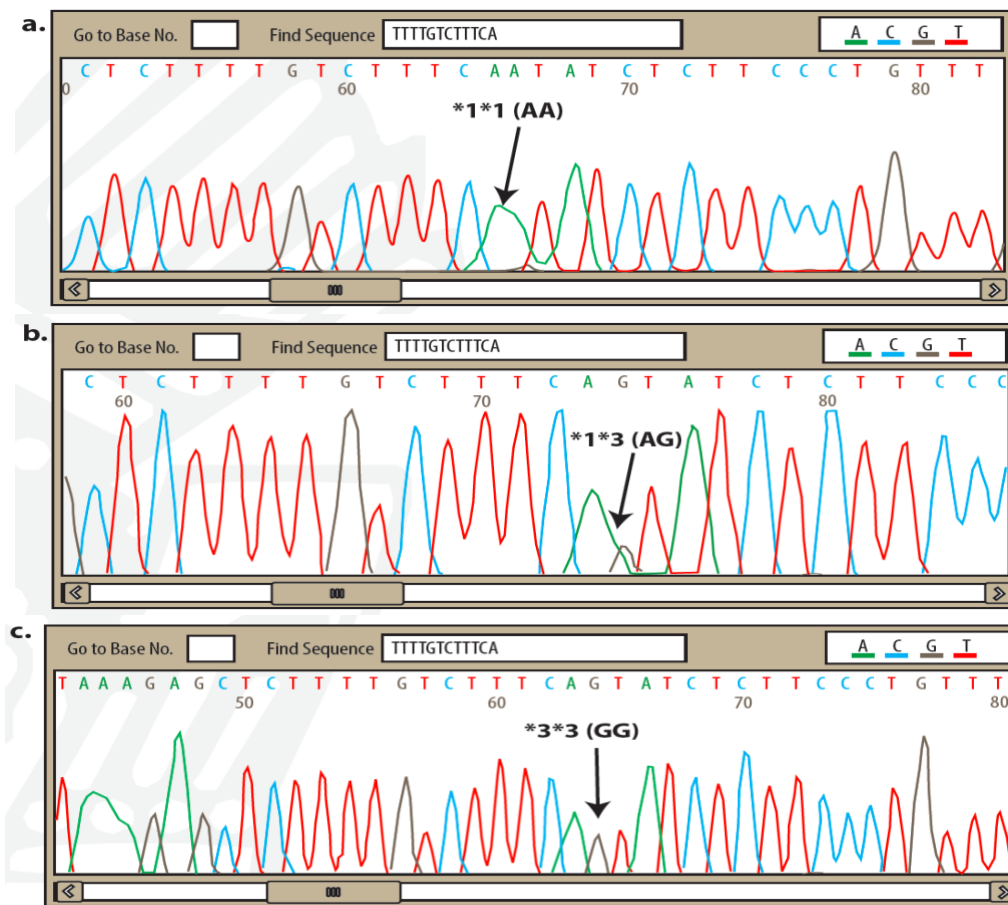
Figura 4. Alteraciones en el empalme de RNAm que controla la expresión de CYP3A5



Tomado de Lambda JK et al, 2002, Advanced Drug Delivery mRNA: RNA mensajero, A: adenina, G: guanina

Figura 5. Electroferograma de los tres polimorfismos intrónicos del gen CYP3A5, tomados de tres pacientes pediátricos receptores de trasplante renal.

a) Genotipo CYP3A5 *1*1(AA), b) genotipo CYP3A5 *1*3, c) genotipo CYP3A5 *3*3.



Modificado de: García-Roca P, et al. "Correlación del genotipo MDR1 (ABCB1) y CYP3A5 con el perfil farmacocinético del tacrolimus en niños con trasplante renal". Tesis de doctorado en ciencias, mayo 2013.

En 2008 se estudiaron 136 pacientes y se correlacionó el polimorfismo *CYP3A5* con la dosis diaria requerida de tacrolimus. Se realizó seguimiento a la semana 6 meses y 12 meses después del trasplante. Los polimorfismos *CYP3A5**1/*1 requirieron una dosis mayor de tacrolimus, que el genotipo *CYP3A5**3/*3 que requirió dosis menores. Los resultados prevalecieron constantes a lo largo del seguimiento a 6 y 12 meses.⁷⁵

Un estudio realizado a 99 pacientes, 49 con tratamiento de tacrolimus y 50 con ciclosporina, para determinar la influencia de las variantes alélicas de los polimorfismos *CYP3A5* y *CYP3A4* en las concentraciones de ambos fármacos. Se observó que las variantes intrónicas 6 C>T para *CYP3A4* y el alelo *CYP3A5**3, ameritaron de 1.6 a 2.0 veces más la dosis convencional de ambos fármacos, especialmente de tacrolimus. Concluyeron que dichos polimorfismos están asociados a alteraciones en el metabolismo de ciclosporina y micofenolato, por lo que sugieren la realización de genotipificación de los pacientes pretrasplante para ajustar dosis de acuerdo a genotipo y disminuir riesgo de nefrotoxicidad.⁸³

Otros estudios han demostrado tanto en trasplante renal como hepático una asociación significativa entre niveles bajos de tacrolimus y rechazo, y las altas concentraciones con presencia de nefrotoxicidad. El monitoreo de niveles valle o pre-dosis de sangre entera sigue siendo el método de elección. Con el fin de obtener un balance óptimo de eficacia terapéutica y la ocurrencia de efectos adversos, los médicos deben individualizar la terapia farmacológica de los pacientes. Debido a que todos los pacientes tienen variabilidad en ambas, farmacocinética y farmacodinamia, obtener la meta siempre es complicado. El objetivo de una ventana terapéutica, especialmente en regímenes combinados debe ser definida para evitar infra-exposición con un incremento en el riesgo de rechazo o sobre exposición con riesgo de toxicidad. Debido a que el riesgo de rechazo disminuye a través del tiempo, la ventana terapéutica para una droga inmunosupresora debe variar también con el tiempo. Además, como se ha demostrado, los inhibidores de la calcineurina inducen nefrotoxicidad, por lo que el riesgo acumulativo para toxicidad se incrementa con el tiempo.²⁰

La terapia con monitoreo farmacológico está basada en la teoría de que un incremento proporcional de la dosis va a resultar en un incremento proporcional de la exposición al fármaco. Aunque los datos en población de mantenimiento muestran cierta linealidad en algunos casos, como es en el período de post-trasplante temprano, la absorción de las drogas puede cambiar obviamente y puede NO SER LINEAL.²⁰ Los primeros ensayos clínicos que evaluaron tacrolimus sin monitorear niveles en sangre, ocasionaron toxicidad neurológica y nefrológica. La farmacocinética de tacrolimus es altamente variable. Sin embargo, otros estudios de pacientes trasplantados de riñón e hígado mostraron una significativa asociación con la concentración de niveles bajos de tacrolimus con rechazo y alta concentración con nefrotoxicidad.²⁰

5. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente se proporciona una dosis estándar de tacrolimus a todos los pacientes con trasplante renal que se ajusta según los niveles valle en sangre, con los niveles objetivo-especificados en el servicio de nefrología pediátrica. Estos niveles valle objetivo de tacrolimus, van de acuerdo con el tiempo transcurrido después del trasplante renal, y han sido establecidos basados en la evidencia clínica reportada. Se espera que una vez que se ha alcanzado el estado estacionario, el paciente mantendrá los niveles valle objetivo de tacrolimus constantes, disminuyendo las intervenciones que requieran ajuste de dosis. Algunos pacientes pueden tardar en alcanzar los niveles valle objetivo más de una semana y otros pueden llegar a tener niveles tóxicos con la misma dosis, cualquiera de las dos situaciones repercute en la supervivencia del injerto. La dosis de tacrolimus requerida para alcanzar niveles terapéuticos depende del tipo de

polimorfismo en las enzimas CYP3A5 de los pacientes. No se sabe si el proporcionar una dosis de acuerdo con genotipo desde el inicio permitirá disminuir los episodios de rechazo y toxicidad por este medicamento.

6. PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿El adjudicar la dosis de tacrolimus por genotipo de *CYP3A5* permite que los pacientes alcancen de una forma más rápida (en la primera semana) niveles terapéuticos, que aquellos a quienes se les proporciona dosis convencional?

Esta asignación de dosis de acuerdo con el genotipo *CYP3A5* y la obtención de niveles terapéuticos de forma más efectiva ¿permite la disminución de episodios de rechazo y nefrotoxicidad?

7. JUSTIFICACIÓN

La sobrevida del injerto renal depende en gran porcentaje de la efectividad de la inmunosupresión administrada, lo que evita episodios de rechazo. La supervivencia del injerto también se ve alterada por la nefrotoxicidad de los fármacos inmunosupresores.

El estrecho índice terapéutico de los fármacos inmunosupresores como el tacrolimus amerita una estrecha vigilancia por la variabilidad inter e intra-individual y las consecuencias en la supervivencia del injerto que de ellas se derivan, por lo que es importante establecer nuevas estrategias de dosificación y monitorización para optimizar el seguimiento terapéutico.

El alto costo en salud mental y física, así como económico de las terapias de rechazo, obliga a realizar estudios como el presente, para mejorar las condiciones del paciente trasplantado renal. Los pacientes pediátricos a lo largo de su vida necesitarán más de un injerto renal por lo que es importante optimizar las condiciones para una mejor supervivencia del injerto.

8. OBJETIVOS

- Primario: Identificar si la genotipificación de *CYP3A5* y la consecuente administración de dosis propuesta de tacrolimus de acuerdo con este genotipo pre-trasplante, permite alcanzar niveles terapéuticos, en la primera semana del postquirúrgico y mantener constantes los niveles posteriormente.
- Secundario: Determinar si existe una relación positiva entre la determinación de genotipo *CYP3A5* pre-trasplante y la dosificación propuesta de acuerdo con ella, con la sobrevida del injerto, lo cual se medirá a través de la disminución del número de episodios de rechazo agudo, rechazo crónico y nefrotoxicidad en el primer año.

9. HIPÓTESIS

- Primaria: Los pacientes en quienes se proporciona dosis de tacrolimus de acuerdo con el genotipo *CYP3A5* antes del trasplante renal, alcanzarán niveles terapéuticos de tacrolimus más rápido (dentro de la primera semana después del trasplante) que aquellos a quienes se les proporciona dosis convencional.
- Secundaria: Los pacientes que reciben dosis de tacrolimus de acuerdo con el genotipo *CYP3A5* presentarán disminución de 17% de episodios de rechazo y nefrotoxicidad en comparación con el grupo control a los 12 meses de seguimiento.

10. METODOLOGÍA

10.1. *Diseño del estudio, población y centros.*

Realizamos un ensayo clínico, aleatorizado simple, cegando a los sujetos de estudio, de un solo centro, de pacientes pediátricos con ERC etapa 4-5 de acuerdo con las guías KDIGO, en lista de espera para trasplante renal, de donador vivo o cadavérico. Se tomó en cuenta a la población de pacientes pediátricos que recibirían como parte de la inmunosupresión de mantenimiento después del trasplante renal, el fármaco inhibidor de las calcineurinas, tacrolimus. Se diseñó una intervención de asignación de la dosis inicial de tacrolimus de acuerdo con el genotipo de *CYP3A5*, identificado antes del trasplante renal. Los pacientes fueron asignados a dos grupos diferentes de estrategia de tratamiento, usando el mismo fármaco, pero con diferente dosificación, entre a) grupo de intervención o asignación y el b) grupo control o de dosis convencional. Los pacientes fueron seguidos por un año para identificar las variables de resultado de interés a corto plazo (1-6 semanas) el tiempo en alcanzar niveles y largo plazo (12 meses) episodios de rechazo del injerto y nefrotoxicidad y función renal. El estudio se realizó en el instituto de salud pediátrico de tercer nivel de atención, Hospital Infantil de México, Federico Gómez (HIMFG). El reclutamiento de los pacientes ocurrió desde enero de 2013 a diciembre de 2017, con el último seguimiento a 12 meses en diciembre de 2018 (figura 6).

Se tomaron en cuenta los siguientes aspectos para reclutar a los sujetos de estudio:

Criterios de Inclusión:

- Pacientes pediátricos, menores de 18 años.
- Ambos géneros
- Que recibieron inmunosupresión con formulación de tacrolimus una vez realizado el trasplante.
- Contar con la firma del padre o tutor del consentimiento informado y asentimiento del paciente (en mayores de 6 años)

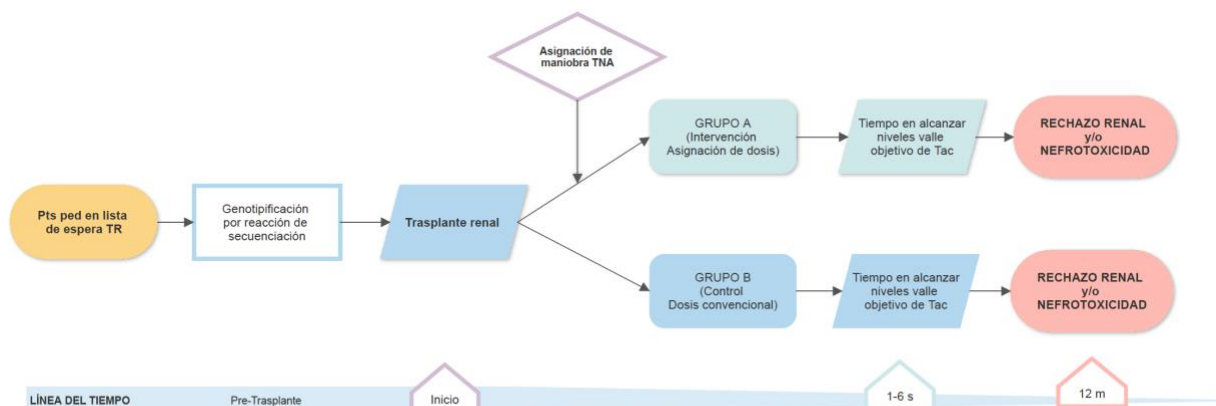
Criterios de Exclusión:

- Pacientes con los que no se contó con muestra suficiente para la genotipificación o a quien no se le pudiera realizar el estudio genético previo al trasplante.

Criterios de Eliminación

- Deseo voluntario de abandonar el estudio.
- Pacientes que fueron iniciados con otro inhibidor de la calcineurina (ciclosporina) la primera semana después del trasplante renal.

Figura 6. Diseño de estudio de la asignación de dosis de tacrolimus de acuerdo con genotipo de CYP3A5 en pacientes pediátricos en lista de espera de trasplante renal y su seguimiento a 12 meses.



Pts: pacientes, ped: Pediatría, TR: Trasplante renal, TNA: Tabla de números aleatorios.
Tac: Tacrolimus, s: semanas, m: meses

10.2. Intervención

Todos los pacientes en lista de trasplante renal, vivo o cadavérico fueron genotipificados para las variantes alélicas descritas previamente en la literatura y estudiadas por la Unidad de Diagnóstico e Investigación en Nefrología Pediátrica, Metabolismo Mineral Óseo, del HIMFG: CYP3A5 AA *1*1, AG *1*3, GG *3*3. Los estudios realizados previamente por este laboratorio, demostraron que las variantes alélicas que expresan la proteína, es decir la variante silvestre AA *1*1 y heterocigoto AG *1*3 metabolizan de forma más rápida el medicamento que la variante mutante GG *3*3 que no expresa la proteína, requiriendo dosis más altas de tacrolimus las variantes alélicas expresadoras de la proteína para alcanzar niveles que las no expresadoras de la proteína.⁸¹ (Tabla 3)

Tabla 3. Dosis de tacrolimus (mg/kg/día) administrada para alcanzar concentraciones niveles valle objetivo de el fármaco (5-10 ng/mL) por genotipo y grupo de edad⁸¹

	CYP3A5 1*1	CYP3A5 1*3	CYP3A5 3*3	p
< 18 años mediana (RIQ 25-75%)	0.17 (0.17, 0.22)	0.14 (0.10, 0.19)	0.07 (0.05, 0.12)	< 0.0001
18 años o > mediana (RIQ 25-75%)	0.16 (0.13, 0.23)	0.12 (0.08, 0.15)	0.07 (0.05, 0.10)	< 0.0001
p	NS (>0.05)	NS (>0.05)	NS (>0.05)	NS (>0.05)

Las comparaciones hechas entre genotipos fueron mediante análisis de varianza con la prueba de Kruskal-Wallis. Las comparaciones hechas entre grupos de edad fueron mediante prueba de Mann-Whitney U. NS= No estadísticamente significativo. Tomado y traducido al español de: García-Roca et al, Arch Med Res, 2012

De tal suerte que la presencia de una de las variantes alélicas específicas de CYP3A5, repercute en la metabolización del fármaco requiriendo dosis más altas para alcanzar niveles valle objetivo. Tomando en cuenta estos hallazgos en pacientes pediátricos de origen mexicano, decidimos clasificar empíricamente las variantes alélicas de la siguiente forma: AA *1*1, considerados metabolizadores rápidos del fármaco, AG *1*3, considerados metabolizadores intermedios y GG *3*3 considerados metabolizadores lentos. Con base en los datos obtenidos por García-Roca et al, al respecto de la dosis requerida para alcanzar niveles en población pediátrica obtenida de la misma institución, la intervención fue diseñada de la siguiente manera:

Grupo A: Intervención, asignación de dosis Tac de acuerdo con genotipo de CYP3A5.

Pacientes en lista de espera de trasplante renal, a quienes se realizó genotipo de CYP3A5 antes del trasplante y se proporcionó dosis de tacrolimus de acuerdo la variante alélica obtenida al momento del trasplante de la siguiente forma:

Genotipo CYP3A5*1*1 (AA 1*1) silvestre metabolizador rápido	Genotipo CYP3A5*1*3 (AG 1*3) heterocigoto metabolizador intermedio	Genotipo CYP3A5*3*3 (GG 3*3) mutante metabolizador lento
Dosis inicial 0.20 mg/kg/día dividido en dos dosis	Dosis inicial 0.15 mg/kg/día dividido en dos dosis	Dosis inicial 0.10 mg/kg/día dividido en dos dosis

Grupo B: Control, dosis convencional de tacrolimus.

Pacientes en lista de espera de trasplante renal, quienes recibieron la dosis de tacrolimus convencional conforme al protocolo del servicio de nefrología pediátrica al momento del trasplante. La dosis administrada fue de ≥ 0.10 mg/kg/día dividido en dos dosis. A este grupo control también se le realizó genotipificado para CYP3A5, antes del trasplante renal, con la finalidad de realizar los análisis comparativos.

Todos los pacientes, tanto los del grupo de intervención como los del grupo control recibieron ajuste de la dosis de tacrolimus para alcanzar los niveles valle objetivo para el tiempo correspondiente después del trasplante renal.

Los niveles valle objetivo para tacrolimus, se encuentran establecidos en el protocolo de trasplante renal del servicio de nefrología pediátrica de la siguiente manera:

PERÍODO (meses)	NIVELES OBJETIVO (ng/mL)
0 – 3	8 – 10
4 – 6	7 – 9
7 – 12	5 – 7

El seguimiento de los pacientes se realizó conforme a lo programado por el servicio de nefrología pediátrica en el área de trasplantes, siguiente el protocolo de atención clínica establecido. Los sujetos de estudio no fueron citados para ningún seguimiento del presente proyecto de investigación, fuera de sus citas habituales. En la práctica clínica del servicio de trasplante renal, los pacientes son citados de la siguiente forma de acuerdo con el tiempo transcurrido después de la cirugía:

PERÍODO (meses)	Intervalo de Registro (días)
0 – 3	7~
4 – 6	15~
7 – 12	30~

10.3. Variables dependientes

De acuerdo con los objetivos y las hipótesis del presente estudio se determinaron las siguientes variables de resultado.

- *Niveles séricos de tacrolimus.*

La toma de muestra de los niveles valle de tacrolimus es una práctica de rutina y parte del monitoreo farmacológico de los pacientes receptores de trasplante renal. Dichos niveles valle son tomados en sangre previo a la siguiente dosis del medicamento, generalmente por la mañana, ya que la prescripción del medicamento es tomarlo con 12 horas de intervalo. La técnica utilizada para la medición de los niveles es descrita en la sección correspondiente de esta tesis. El monitoreo farmacológico de tacrolimus en pacientes receptores de trasplante renal permite estimar indirectamente la respuesta inmune al aloinjerto. Por esta razón, se cuenta con parámetros de niveles valle de tacrolimus, considerados óptimos, que son el objetivo de la terapéutica de este fármaco. Los parámetros determinados por el servicio de nefrología pediátrica del Hospital Infantil de México Federico Gómez se encuentran especificados en la descripción de la intervención de este documento. Estos parámetros, fueron tomados como el objetivo para determinar la efectividad de la maniobra de intervención. La variable de niveles valle de tacrolimus se evaluó como dicotómica, dentro de parámetros o fuera de parámetros, y como continua, esto es niveles en determinado punto de seguimiento, y niveles a lo largo del seguimiento registrado para el primer objetivo del presente estudio (seis semanas).

- *Tiempo necesario para alcanzar niveles valle objetivo.*

Se registro el tiempo necesario para alcanzar los niveles valle de tacrolimus esperados para el primer periodo después del trasplante renal, hasta la semana seis.

El tiempo fue registrado como una variable continua, tiempo en semanas, y como una variable dicotómica, alcanzar o no alcanzar los niveles valle objetivo de tacrolimus en la primera semana después de la cirugía de trasplante.

- *Episodios de rechazo*

Se registraron los episodios de rechazo con base en resultados de las biopsias renales efectuadas durante los doce meses después del trasplante renal. Los pacientes permanecen en vigilancia de la función del injerto mediante la consulta externa de nefrología. La creatinina sérica es el marcador indirecto utilizado para identificar posibles insultos al injerto renal, siendo los más frecuentes episodios de rechazo. Los pacientes que presentaron creatinina sérica elevada por arriba de 0.3 mg/dL sobre la creatinina establecida como basal para el funcionamiento del injerto, fueron sometidos, como parte de la rutina de atención de la clínica de trasplante renal a escrutinio clínico y para clínico para identificar la causa de la elevación de creatinina, marcador indirecto utilizado para estimar la función renal. Dichos sujetos, con sospecha alta de rechazo u otras complicaciones fueron sometidos a biopsia renal, por el servicio de trasplantes. Los resultados de la biopsia renal fueron interpretados y reportados por patólogos pediatra con especialidad en enfermedades renales. La clasificación del rechazo en caso de ser reportado fue hecha acorde a la última clasificación reportada por el grupo de patología Banff en el 2019 ⁴⁷, descrita en la introducción de éste documento. La variable de episodios de rechazo fue registrada como: dicotómica en presencia o no de episodio de rechazo en periodo de estudio. También fue registrada como variable continua, en número de episodios de rechazo en el periodo de estudio y como variable categórica en: a) rechazo celular activo, b) rechazo celular crónico, c) rechazo mediado por anticuerpos activo, d) rechazo mediado por anticuerpos crónico, y e) rechazo mixto.

- *Nefrotoxicidad por uso de inhibidores de la calcineurina*

Se registraron los episodios de nefrotoxicidad por el uso de inhibidores de la calcineurina con base en los resultados de las biopsias renales realizadas durante los doce meses después del trasplante renal. Durante la vigilancia después del trasplante, como se describió en la variable dependiente de rechazo del injerto. Los pacientes con elevación de creatinina sérica por arriba de la creatinina basal establecida son sometidos a escrutinio diagnóstico. Aquellos que presentaron asociados, niveles de tacrolimus por encima de los niveles valle objetivo, tuvieron alta sospecha de toxicidad renal por inhibidores de la calcineurina. Estos pacientes también fueron sometidos a proceso de biopsia renal como parte del protocolo clínico del servicio de trasplantes. Los resultados de la biopsia renal fueron interpretados y reportados por patólogos peditra con especialidad en enfermedades renales. El diagnóstico histopatológico de nefrotoxicidad por CNI se estableció de acuerdo con los hallazgos patológicos de la biopsia compatibles con esta condición bajo el criterio del patólogo experto en nefrología, dichos criterios están detallados en la sección de introducción de este documento.

La variable se registró como dicotómica, en presencia o no de nefrotoxicidad determinada por biopsia renal, y como continua, número de eventos de nefrotoxicidad en el tiempo de seguimiento.

El estándar de oro para el diagnóstico de los episodios de rechazo, así como los eventos de nefrotoxicidad, es la biopsia renal, razón por la cual se eligió este método diagnóstico como el preferible para registrar como variable dependiente a largo plazo (12 meses).

- *Tasa de filtrado glomerular estimada.*

La estimación de la tasa de filtrado glomerular es la forma indirecta de estimar la función renal de los pacientes. Estas estimaciones se realizan mediante la aplicación de ecuaciones desarrolladas para grupos específicos de la población y validadas posteriormente. El propósito de las ecuaciones es el uso de un biomarcador de fácil acceso y menos invasivo que la realización de mediciones mediante estudios de medicina nuclear. El marcador endógeno indirecto más utilizado a nivel mundial es la creatinina sérica, y con base en los niveles de creatinina, constantes y variables en las ecuaciones de las características demográficas que puedan afectar al cálculo de la misma, se han desarrollado diferentes ecuaciones alrededor del mundo. La ecuación más utilizada y con la que se cuenta con la mayor evidencia científica de ser generalizable, es la fórmula de *Schwartz Bedside*. Esta fórmula incluye una constante de corrección, edad, el nivel de creatinina sérico y la talla del sujeto.⁸⁴⁻⁸⁶

$$TFGe = 0.413 \times \left(\frac{talla}{Crs} \right)$$

Talla es expresada en centímetros

$$TFGe = 41.3 \times \left(\frac{talla}{Crs} \right)$$

Talla es expresada en metros

TFGe: Tasa de filtrado glomerular estimada (mL/min/1.73 m² SC), Crs: creatinina sérica (mg/dL)

La fórmula está validada para su uso en pacientes pediátricos de 1-18 años, indistintamente del género o grupo etario, fue actualizada en el 2009, debe utilizarse cuando la creatinina es medida mediante métodos de creatinina trazable por espectroscopía de masas por dilución de isótopos (IDMS por sus siglas en inglés), mismo que es utilizado en el HIMFG. La TFGe fue evaluada en la semana 4 y el mes 12 después del trasplante del injerto, y es la prueba que se utiliza para estimar función renal, es este caso, la función del injerto trasplantado. Se evaluó de forma continua en mL/min/m² SC, y de forma dicotómica, mayor o menor de 60 mL/min/m² SC, ya que es el corte para tomar en cuenta en enfermedad renal acorde con las guías KDIGO antes mencionadas.¹³

10.4. Otras variables

Otras variables que se registraron durante el seguimiento que fueron obtenidas del expediente clínico fueron los datos demográficos, edad, género, peso, talla, porcentaje de panel reactivo de anticuerpos (PRA) antes del trasplante clase I y clase II, presencia de anticuerpos donador específico previo al trasplante, tipo de donador de trasplante, riesgo de citomegalovirus (CMV), niveles de creatinina sérica, niveles de hematocrito y niveles de albúmina sérica. Así mismo, se calcularon dos las dosis iniciales y subsecuentes ponderales por día, la delta (Δ) de dosis ponderal semanal, delta (Δ) de niveles de tacrolimus hasta la semana seis después del trasplante, y delta (Δ) la tasa de filtrado glomerular estimada entre la semana 4 y mes 12 después del trasplante. La tabla 4, describe detalladamente cada una de las variables y su escala de medición.

Tabla 4. Descripción de las variables incluidas en el estudio

NIVEL METODOLÓGICO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	TIPO DE DATO	ESCALA DE MEDICIÓN
<i>INDEPENDIENTE</i>	Genotipo CYP3A5	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> ▪ AA 1*1 (rápido) ▪ AG 1*3 (intermedio) ▪ GG 3*3 (lento)
<i>INDEPENDIENTE/ INTERVENCIÓN</i>	Asignación de dosis de Tac por genotipo de CYP3A5	Nominal	Si / No
<i>DEPENDIENTE</i>	Niveles séricos de Tac	Continua	ng/L
<i>DEPENDIENTE</i>	Tiempo en alcanzar niveles objetivo de Tac	Discreta	Semanas
<i>DEPENDIENTE</i>	Rechazo del injerto	Ordinal	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Celular activo ▪ Celular crónico ▪ Mediado por Ac activo ▪ Mediado por Ac crónico ▪ Mixto
		Nominal	Si / No
<i>DEPENDIENTE</i>	Número de rechazos del injerto en 12 meses	Discreta	1, 2, 3 ...etc.
<i>DEPENDIENTE</i>	Nefrotoxicidad por CNI	Nominal	Si / No
<i>DEPENDIENTE</i>	Número de eventos de nefrotoxicidad por CNI en 12 meses	Discreta	1, 2, 3 ...etc.
<i>DEPENDIENTE</i>	Tasa de Filtrado Glomerular a las 4 semanas y 12 meses	Continua	mL/min/1.73 m ² SC
		Ordinal	>60 o <60 mL/min/1.73 m ² SC
<i>INTERACCION</i>	Edad	Discreta	Años
		Ordinal	Grupos de edad (años) <ul style="list-style-type: none"> ▪ 0-5 años ▪ 6-12 años ▪ 13-18 años
<i>INTERACCIÓN</i>	Sexo	Nominal	Femenino Masculino
<i>INTERACCIÓN</i>	Peso	Continua	kg
<i>INTERACCIÓN</i>	Talla	Discreta	cm
<i>INTERACCIÓN</i>	PRA clase I	Discreta	Porcentaje
<i>INTERACCIÓN</i>	PRA clase II	Discreta	Porcentaje
<i>INTERACCIÓN</i>	DSA	Nominal	Si / No
<i>INTERACCIÓN</i>	Tipo de donar de órgano	Nominal	Vivo Cadavérico
<i>INTERACCIÓN</i>	Riesgo de CMV	Ordinal	Intermedio Alto

INTERACCIÓN	Creatinina sérica	Continua	mg/dL
INTERACCIÓN	Hematocrito	Continua	Porcentaje
INTERACCIÓN	Albúmina	Continua	g/dL
INTERACCIÓN	Dosis de Tacrolimus	Continua	mg/k/día
INTERACCIÓN	Δ de dosis de Tac	Continua	mg/k/día
INTERACCIÓN	Δ de niveles de Tac	Continua	ng/L
INTERACCIÓN	Δ de TFG estimada	Continua	mL/min/1.73 m ² SC
INTERACCIÓN	Dosis acumulada de Tac	Continua	mg/k/día
INTERACCIÓN	Niveles acumulados de Tac	Continua	ng/L
INTERACCIÓN	Tiempo para proporcionar la primera dosis de Tac	Continua	días

Tac: tacrolimus, Ac: anticuerpos, PRA: panel reactivo de anticuerpos, DSA: anticuerpos donadores específico, CMV: citomegalovirus, L: litro, mL: mililitros, dL: decilitros, min: minuto, m²: metro cuadrado, SC: superficie corporal, ng: nano gramos, mg, miligramo, kg: kilogramo, k: kilo, cm: centímetros, TFG: tasa de filtrado glomerular, Δ : delta

10.4.1. Variables confusoras

Existen dos variables confusoras que, que pueden intervenir en la relación causal de las variables independientes y dependientes, sin embargo, no fue posible medir dichas variables por cuestiones de factibilidad.

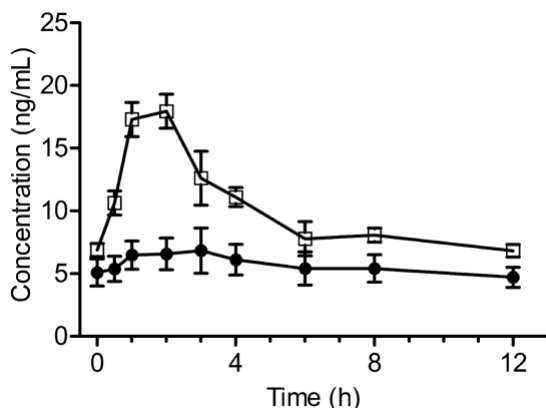
La primera variable considerada confusora es la *marca del medicamento*, tacrolimus, utilizada por los pacientes. En el HIMFG, no se cuenta con la prestación de proporcionar el medicamento de inmunosupresión a los usuarios del servicio de salud. Por lo tanto, los pacientes son los encargados de obtener su medicamento pagando por él.

Se han identificado al menos seis diferentes marcas de tacrolimus distribuidas en México. La marca de patente, *Prograf*[®] (Janssen Inc.), y los medicamentos genéricos de tacrolimus, *Limustin*[®] (Landsteiner Scientific), *Akrocell*[®] (Grupo Medifarma S.A., de C.V.) *Tenacrine*[®] (Vitae Laboratorios S.A., de C.V.) y *Octralín*[®] (Laboratorio RAAM de Sahuayo).

Desafortunadamente en nuestro país, las regulaciones para la bio-equivalencia de los medicamentos genéricos con el de patente es laxa. Debido a esto la farmacocinética de estos genéricos, no siempre es la óptima para alcanzar niveles objetivo del fármaco, con la efectividad que lo hace el medicamento de patente. Esto fue demostrado en población pediátrica en la Unidad de Diagnóstico de Nefrología Pediátrica y Metabolismo Mineral Óseo del HIMFG por Jacobo-Cabral y cols., (figura 7) y posteriormente por el grupo de Guadalajara Resendiz-Galván y cols., en población adulta. Ambos grupos coincidieron en que los pacientes que tomaron *Limustin*[®] no fueron capaces de alcanzar niveles objetivo recibiendo las mismas y más altas dosis de tacrolimus que los que recibieron *Prograf*[®], teniendo concentraciones máximas más bajas entre algunos de los parámetros farmacocinéticos. Más aun, este efecto prevaleció, a pesar de corregir el análisis por el genotipo de *CYP3A5*.^{87,88}

A pesar de conocer esta variable confusora, por cuestiones de factibilidad, no se pudo obtener la información de la fluctuación de marcas en toda la cohorte de pacientes, por el total del seguimiento a 12 meses por lo que esta variable no se incluyó en el análisis. Sin embargo, los pacientes recibieron por parte del HIMFG, las primeras 4-6 semanas de tratamiento con *Prograf*[®], que incluyen el internamiento y alta domiciliaria, por lo que se asume los pacientes tuvieron un comportamiento farmacocinético uniforme en este periodo inmediato después del trasplante.

Figura 7. Comparación de la media y desviación estándar de las concentraciones de tacrolimus en sangre total entre pacientes que recibieron Prograf® (cuadro blanco) o Limustin® (círculo negro)⁸⁷



Tomado y traducido al español de Jacobo-Cabral y cols., *Ped Transp*, 2014

La segunda variable confusora es *el apego terapéutico*. El apego terapéutico puede ser evaluado de dos formas, *la adherencia* y *la persistencia terapéuticas*. Según la Organización mundial de la salud (OMS), se define adherencia terapéutica al grado en el que la conducta de un paciente, en relación con la toma de medicamento, el seguimiento de una dieta o las modificaciones de hábitos de vida corresponden con las recomendaciones acordadas con el profesional sanitario. En el caso de los pacientes con padecimientos crónicos, se calcula como el número total de días que se toma la medicación de acuerdo con las pautas del prescriptor durante el período de seguimiento. Por otro lado, la persistencia terapéutica se define como el número de días de utilización continua de la medicación durante un periodo específico, en el caso del trasplante renal, si el paciente excede tres días de no utilización continua del medicamento, se define como no persistente.⁸⁹

A pesar de que en la actualidad se han desarrollado más herramientas (cuestionarios) específicos para pacientes pediátricos y la evaluación del apego terapéutico, al momento de la realización del presente estudio, no contábamos con este conocimiento. Un investigador cegado al expediente clínico en cuanto a la prescripción médica del fármaco realizó interrogatorio a los padres y pacientes preguntando acerca de la marca y posología de tacrolimus durante las visitas ambulatorias y algunos internamientos. Tomando como criterio de adecuado apego a cumplir con el criterio de persistencia. Desafortunadamente por falta de recursos humanos, no fue posible realizar esta estrategia en el total de la cohorte, y los pacientes en quienes se completaron algunas visitas representan menos de la mitad de la muestra, por lo que no han sido incluidos como parte del análisis.

10.5. Técnicas y métodos de medición de variables

10.5.1. Metodología para la tipificación

- *Recolección de muestras sanguíneas*

En tubos Vacutainer con EDTA como anticoagulante, se tomaron 5 mL 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 nuestro laboratorio 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 tratados con ExoSAP-IT[™] (USB) para eliminar el exceso de dATP, dCTP, dGTP y dTTP residual.

- *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 usaron 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).

10.6. Cálculo del Tamaño de la muestra

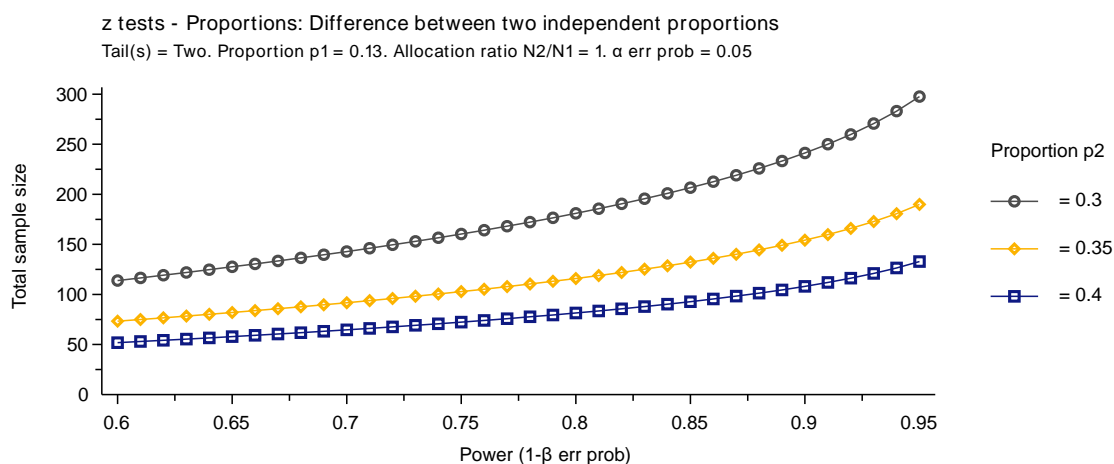
Para el cálculo del tamaño de muestra, se utilizó el resultado más relevante de impacto clínico y de supervivencia del injerto en el objetivo secundario, es decir la incidencia de rechazo del injerto renal en los primeros 12 meses después del trasplante. El reporte de los Ensayos Renales Pediátricos de Norte América y Estudios Colaborativos (NAPRTCS por sus siglas en inglés) mostró una incidencia de rechazo al injerto renal durante el primer año después del trasplante del 13% en los años de 2007 a 2010.⁹⁰ Entre los objetivos de este grupo de estudio, es el recolectar la información epidemiológica que recibe de aproximadamente 100 centros hospitalarios y 20,000 pacientes pediátricos con diferentes estadios de ERC de Estados Unidos de América, Canadá, México y Costa Rica y es usado como referente mundial. Gran parte de su financiamiento proviene del grupo Nacional de Instituciones de Salud (NIH por sus siglas en inglés) y sus reportes son actualizados de forma retrospectiva aproximadamente cada cinco años. En nuestra Institución, el reporte interno más reciente obtenido al momento del diseño de este estudio fue de una incidencia de rechazo en el primer año después del trasplante de 30%. Considerando que al proporcionar una inmunosupresión individualizada obtendremos resultados similares al NAPRTCS, es decir, una disminución de 17%.

Realizamos un cálculo de tamaño de muestra, para diferencia de proporciones, asumiendo un tamaño del efecto de 0.17, empleando un poder de 80% y un valor alfa de 0.05 a dos colas. Con esto obtuvimos un tamaño de muestra de 91 individuos por cada grupo (figura 8).

10.7. Asignación de la intervención, cegamiento e implementación

Se les tomó una muestra de sangre a los pacientes que consintieron su participación en el estudio y se realizó la genotipificación de esta para determinar el polimorfismo del *CYP3A5* en los pacientes candidatos a trasplante renal. Se le notificaba a uno de los investigadores por parte del área clínica del servicio de Nefrología, de el o los pacientes que recibirían trasplante renal en las próximas 48 horas en caso de donador fallecido y en la próxima semana en caso de donador vivo. La asignación de la maniobra se realizó mediante el uso de tabla de números aleatorios por parte del investigador. Una vez asignada el grupo de intervención o control, se le comunicaba al proveedor de salud responsable el día del trasplante para que iniciara la dosis prescrita de acuerdo con el grupo.

Figura 8. Cálculo del tamaño de muestra para una diferencia de proporciones de dos muestras independientes. Colas=2, $\alpha=0.05$, $\beta=0.20$, $\delta=0.17$. Grafica que muestra tres diferentes posibles tamaños de efecto.



Cálculo realizado utilizando el software G*Power

Únicamente el paciente y familiar estaban cegados a la maniobra. Los incrementos en las dosis subsecuentes dependieron de la práctica clínica regular de los proveedores de salud. Existe una preocupación clínica constante a la nefrotoxicidad de tacrolimus, además de una disponibilidad de dosificación del fármaco únicamente en tabletas de 1 mg, teniendo que dosificar mediante el servicio de farmacia dentro de la institución, para tener dosis de 0.5 mg, que no siempre estaban disponibles, por lo que las dosis iniciales proporcionadas en múltiples ocasiones no pudieron cumplir a cabalidad lo estipulado en el protocolo.

Durante la aplicación de la maniobra se registró el tiempo en que tardaron en administrar la primera dosis en días después de la cirugía, la dosis inicial administrada, los parámetros bioquímicos incluyendo creatinina, albúmina séricas y hematocrito.

Los pacientes se siguieron durante su internamiento después de la cirugía cada semana registrando las variables especificadas, hasta su alta hospitalaria y después a través de las consultas ambulatorias.

Después de las primeras seis semanas del evento quirúrgico, los pacientes que no pudieron seguirse activamente durante el seguimiento ambulatorio, se recabaron los datos del expediente clínico. Esto por factibilidad, ya que se carecía de recursos humanos para la optimización del seguimiento. Se registraron del expediente clínico los datos pertinentes, en hojas de registro prediseñadas a mano, un investigador del estudio y la información fue registrada nuevamente encriptada en hojas de Excel, sin la identificación del paciente, con un número de identificación individual para el estudio *Excel® Microsoft®*.

10.8. Análisis estadístico

Se realizó estadística descriptiva, de las variables cuantitativas expresando los datos de acuerdo con su distribución, aquellos datos con distribución normal se resumieron como media y desviación estándar mientras los datos de distribución no normal fueron expresados en mediana y rango intercuartílico 25-75%, las variables categóricas fueron presentadas en número de

sujetos y frecuencias. Las diferencias entre grupos de las variables demográficas y de interacción fueron analizados mediante prueba de t de student, las variables categóricas fueron analizadas con prueba de ji cuadrada (χ^2) y prueba exacta de Fisher, cuando las celdas de la tabla de dos por dos contenían cinco o menos observaciones.

Para los análisis comparativos, y estimadores de las variables dependientes, se realizó análisis de tiempo al evento para calcular el tiempo en alcanzar niveles valle objetivo de tacrolimus en las primeras seis semanas después del trasplante mediante curvas de Kaplan-Meier. La probabilidad en el tiempo de alcanzar niveles valle de tacrolimus objetivo durante la primera semana se analizó mediante modelo de regresión de Cox, dicotomizando la variable de niveles óptimos en la primera semana. Para el análisis del primer objetivo se incluyeron variables relevantes en la farmacocinética de tacrolimus como edad, genero, hematocrito y albúmina en sangre.

Se realizaron regresiones lineales para determinar la asociación entre mediciones farmacológicas de dosis, niveles valle, delta de dosis y niveles entre las seis semanas de seguimiento, así como el promedio las dosis y niveles acumulados de tacrolimus.

Para las variables dependientes de los objetivos secundarios, se realizó análisis comparativo utilizando χ^2 y prueba exacta de Fisher, para determinar la asociación entre la intervención y las variables de resultado. Realizamos después análisis multivariado para determinar el riesgo de rechazo y nefrotoxicidad a los doce meses de seguimiento usando un modelo de regresión bivariada. Para este modelo se incluyeron variables de impacto en ambos resultados como edad, género, tipo de donador, porcentaje de PARA I y PARA II, presencia de DSA antes del trasplante, dosis y niveles acumulados de tacrolimus durante las primeras seis semanas de seguimiento y la capacidad de alcanzar niveles valle objetivo durante la primera semana después del trasplante.

Los análisis de subgrupos y análisis de sensibilidad se realizaron mediante la comparación de los tres diferentes genotipos dentro de los grupos de intervención y control. Las diferencias entre las variables cuantitativas se analizaron utilizando t de student, cuando la comparación se realizó entre dos grupos, y ANOVA de dos vías cuando se comparó entre tres grupos o más controlando por un grupo adicional. La comparación de las variables categóricas independientes y dependientes de acuerdo con el genotipo se analizaron mediante prueba de χ^2 o prueba exacta de Fisher según ameritaran.

Se considero una $p < 0.05$, como estadísticamente significativa.

La base de datos se manejó en archivos encriptados, sin identificación de los pacientes mediante programa de *Excel® Microsoft®*, exportada en archivo .csv y analizada con el software en línea, *SAS® On Demand for Academics University Edition, 2021*.

10.9. Consideraciones éticas y registro del protocolo de investigación.

El presente proyecto fue sometido y aprobado por los comités científico y ético local del área de investigación del Hospital Infantil de Mexico Federico Gómez, asignándole el número de registro: HIM/2013/030. El protocolo se apega a las recomendaciones internacionales para investigación en seres humanos (declaración de Helsinki 2013)⁹¹, las normas del Consejo para las Organizaciones Internacionales de Ciencias Médicas en materia de investigación en seres humanos⁹² y al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.⁹³

El estudio fue clasificado de *riesgo medio* por los, procedimientos, implicaciones de las maniobras y por incluir población vulnerable.

10.10. Recursos humanos y materiales

El proyecto se realizó en las instalaciones del Hospital Infantil de México Federico Gómez, Instituto de Salud de tercer nivel de atención pediátrica, con unidad de investigaciones biomédicas. La jefa y trabajadores de la Unidad de Diagnóstico Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo fueron los responsables directos del diseño análisis y coordinación del desarrollo del presente estudio.

El reclutamiento y seguimiento de pacientes se realizó en el área clínica del servicio de Nefrología Pediátrica, tanto en el área intrahospitalaria como el área ambulatoria en colaboración con los médicos y residentes del servicio de Nefrología y uno de los médicos del programa de trasplante del área quirúrgica. Los encargados directos de reclutamiento y seguimiento fueron los investigadores asociados a este protocolo.

Las muestras sanguíneas tomadas para seguimiento de rutina se realizaron en el laboratorio central de la institución y recabada la información del expediente clínico con ayuda del personal de Archivo, cuidando la confidencialidad del paciente.

La toma de muestras y análisis de estas para genotipificación fue hecha por una doctora en farmacología experta en la técnica, y se realizaron en la Unidad de Diagnóstico e Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo, que cuenta con la infraestructura para la total realización del presente proyecto.

10.11. Consideraciones de bioseguridad

Para la manipulación tanto del material biológico como de los reactivos que se emplearon durante el desarrollo del proyecto fue necesario utilizar de manera permanente elementos de protección personal: bata, guantes y en algunos casos protectores como cubrebocas o lentes, mantenidos en buenas condiciones de higiene.

Los desechos generados a partir de las muestras biológicas fueron contenidos dentro de un recipiente rojo, específicamente para líquidos. Las puntas para micropipetas, tubos, gasas, algodón entre otros instrumentos que estuvieron en contacto con material biológico, se depositaron en un contenedor especialmente para desechos sólidos.

En el caso de los desechos punzocortantes se colocaron en un solo recipiente rojo destinado para ese fin. Cada contenedor se etiquetó debidamente.

En cuanto al otro tipo de desechos no biológicos empleados para el trabajo de laboratorio se depositaron en un recipiente destinado a este tipo de productos.

10.12. Financiamiento del estudio

El financiamiento de este estudio fue a través de los recursos para investigación clínica proporcionados por la dirección de investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez, obtenidas mediante concurso. Dichos recursos económicos provienen de los Fondos Federales gestionados y obtenidos por el HIMFG en su calidad de Instituto de Salud, con enfoque académico y de investigación para avance de la ciencia y tecnología en materia de salud.

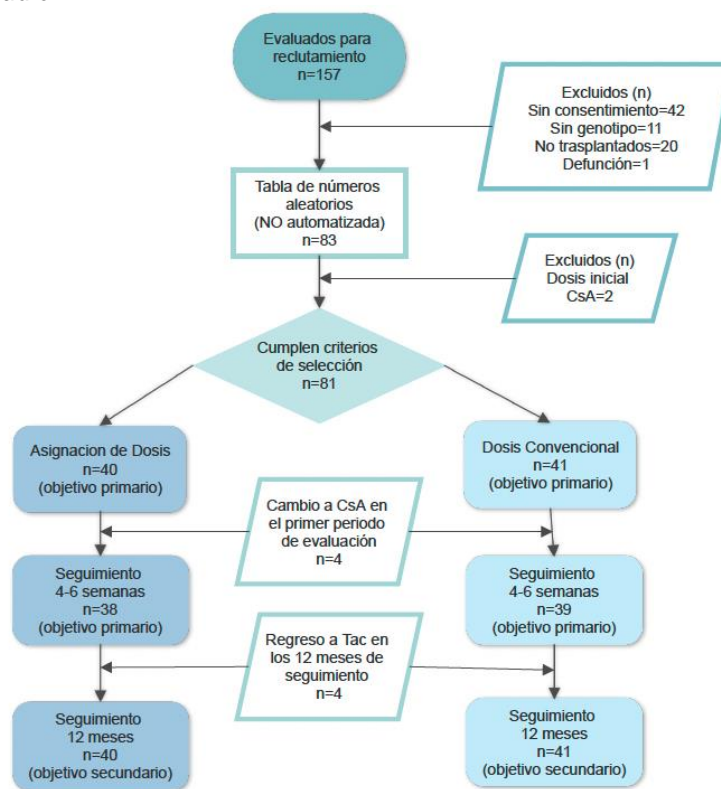
Los recursos fueron administrados a través de la Unidad de Diagnóstico Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo.

11.RESULTADOS

11.1. Diagrama de flujo de los participantes en el estudio

De enero del 2013 a diciembre del 2018 se invitó a participar a 157 sujetos para el estudio. Desafortunadamente, un gran número no consintieron ($n=42$) y en un número considerable no logró realizarse el genotipo por falta de recursos económicos. Los pacientes que recibieron ciclosporina como dosis inicial fueron excluidos del estudio, mientras que los pacientes que recibieron tacrolimus al menos en la primera semana después del trasplante, y fueron transicionados a recibir ciclosporina para luego regresar a tacrolimus, fueron incluidos en algunos de los análisis de acuerdo con objetivos. Todos los pacientes incluidos al inicio del estudio concluyeron 12 meses de seguimiento, siendo posible el análisis del impacto clínico en la frecuencia de rechazo o toxicidad renal, así como la tasa de filtrado glomerular final. (figura 9)

Figura 9. Diagrama de flujo de los participantes evaluados para reclutamiento y aplicación de criterios de inclusión en el estudio.



CsA: ciclosporina A, Tac: tacrolimus, n: número de participantes

11.2. Características demográficas de la población de estudio y variables farmacológicas

La tabla cinco muestra las características demográficas y parámetros de laboratorio asociados entre los dos grupos de estudio a) asignación de dosis y b) dosis convencional. En general la media de edad fue de 13.3, 51.8 pertenecieron al género femenino y hubo un porcentaje considerable de receptores de trasplante cadavérico (56%). El diagnóstico de enfermedad renal más frecuente fue desconocido con un 43.2%, seguido por las anomalías congénitas renales y

del tracto urinario, 28.4%. En general el panel calculado reactivo a anticuerpos antes del trasplante fue bajo para ambas clases, la clase I con mediana de 2% y la clase II con mediana de 1%; de igual forma los anticuerpos donador específico fueron detectados solo en el 18% de la muestra antes del trasplante; sin embargo, no se contó con el dato inmunológico completo de cPRA y DSA en todos los sujetos de estudio (n=56). En la cohorte prevaleció el riesgo intermedio a CMV con un 75.3% y el promedio de niveles de hematocrito y albúmina en las primeras seis semanas de seguimiento después del trasplante se encontraban en parámetros normales (33.2 ± 6.7 y 3.5 ± 0.6 respectivamente) Al evaluar si la aleatorización fue balanceada entre grupos, únicamente el genotipo mostró diferencias estadísticamente significativas al usar prueba exacta de Fisher ($p=0.04$), teniendo el grupo de asignación una frecuencia significativamente más alta de las variantes expresadoras de la proteína (AA 1*1 y AG 1*3) en comparación con el grupo de dosis convencional (29.6 Vs 16.1 % respectivamente). Las demás variables permanecieron no significativas lo que demuestra un adecuado balance de los grupos de estudio.

Tabla 5. Características demográficas de pacientes pediátricos receptores de trasplante renal en el HIMFG entre 2013-2018 incluidos en el estudio de acuerdo con el grupo de intervención y control

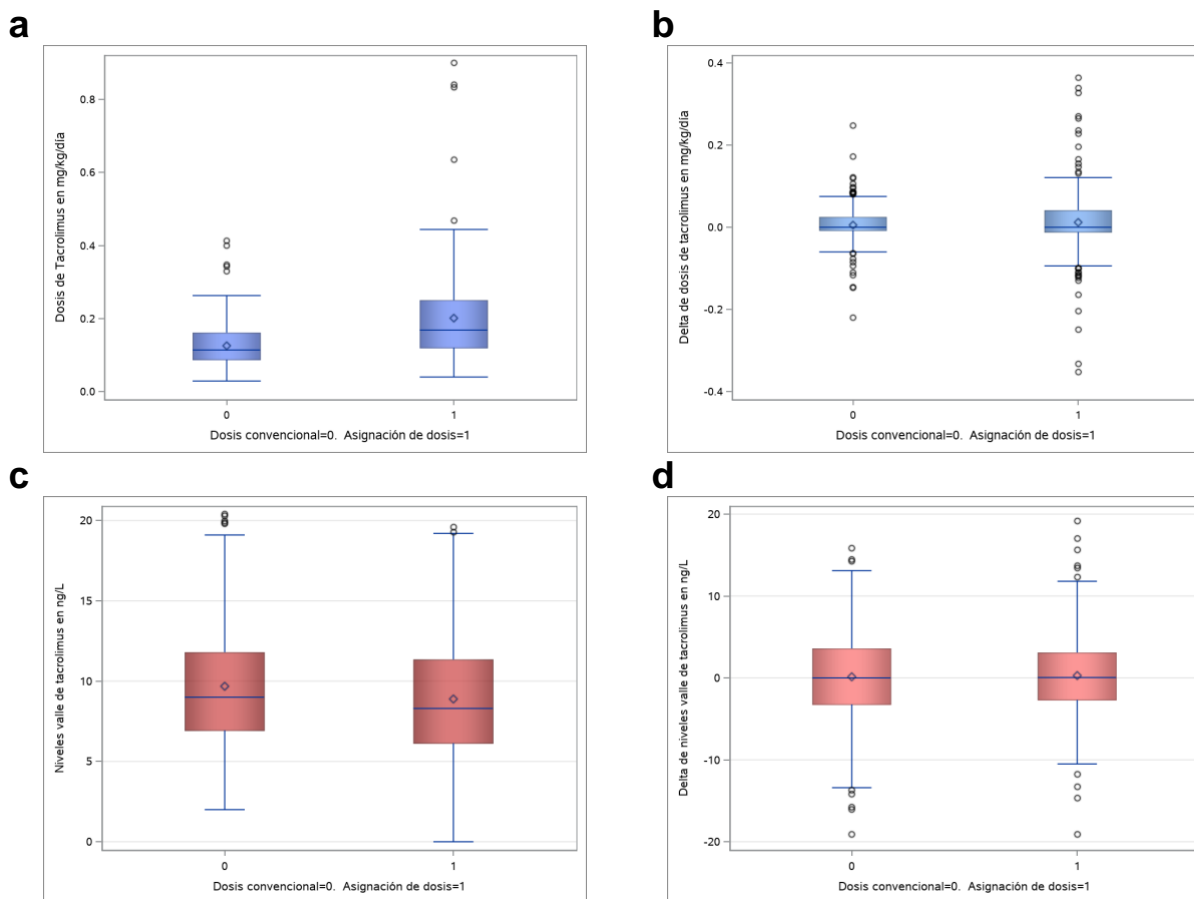
	Todos n=81	Dosis convencional n=41	Asignación de dosis n=40
Edad [años] (media, DE)	13.3 (± 3.8)	13.9 (± 3.3)	12.7 (± 4.2)
Género (n, %)			
• Femenino	42 (51.8)	19 (48.7)	20 (51.3)
Diagnóstico de ERCT (n, %)			
• CAKUT	23 (28.4)	9 (11.1)	14 (17.3)
• Glomerular	19 (23.5)	12 (14.8)	7 (8.6)
• Otras	4 (4.9)	1 (1.2)	3 (3.7)
• Desconocido	35 (43.2)	19 (23.5)	16 (19.8)
Genotipo (n, %)			
• AA 1*1	6 (7.4)	2 (2.5)	4 (4.9)
• AG 1*3	31 (38.3)	11 (13.6)	20 (24.7)
• GG 3*3	44 (54.3)	28 (34.6)	16 (19.7)
Fuente del Injerto (n, %)			
• Cadavérico	45 (56.3)	24 (30)	21 (26.2)
% cPRA pre-trasplante [n=56] (mediana, RIQ)			
• PRA I	2 (0-5)	2 (0-7)	2 (0-4)
• PARA II	1 (0-4)	1 (0-3)	2 (0-4)
DSA pre-trasplante [n=56] (n, %)	18 (32.1)	10 (17.9)	8 (14.3)
Riesgo de CMV (n, %)			
• Intermedio	61 (75.3)	28 (34.6)	33 (40.7)
Hematocrito [%] (media, DE) 6 primeras semanas	33.2 (± 6.7)	34.0 (± 6.0)	32.5 (± 7.3)
Albúmina sérica [mg/dL] (media, DE) 6 primeras semanas	3.5 (± 0.6)	3.5 (± 0.6)	3.5 (± 0.7)

11.2.1. Análisis de las variables farmacológicas

El promedio de dosis de tacrolimus durante el seguimiento de seis semanas fue diferente entre los grupos de asignación (0.201 ± 0.187 mg/kg/día) y dosis convencional (0.125 ± 0.118 mg/kg/día) $p < 0.0001$ (figura 10 panel (a)). De igual forma el promedio de niveles valle de tacrolimus durante el seguimiento de seis semanas fue diferente entre los grupos de asignación (8.9 ± 8.4 ng/L) y dosis convencional (9.7 ± 9.2 ng/L) $p = 0.029$ (figura 10 panel (c)).

En cuanto a las diferencias en dosis y niveles entre cada periodo de seguimiento (semana). El promedio de todas las deltas (diferencia (Δ) entre periodos de los cambios de dosis en mg/kg/d en dosificación de tacrolimus) durante las seis semanas de seguimiento fue, diferente pero no estadísticamente significativo entre los grupos de asignación (0.012 ± 0.084 mg/kg/d y dosis convencional (0.005 ± 0.045 mg/kg/d $p = 0.27$) (Figura 10, panel (b)). Mientras que el promedio de todas las deltas en ng/L en los niveles valle de tacrolimus alcanzados durante las seis semanas entre los grupos de asignación, fue similar (0.29 ± 5.7 ng/L) y dosis convencional (0.14 ± 6.2 ng/L) $p = 0.79$ (figura 7, panel (d)).

Figura 10. Comparación del promedio de dosis (a), Δ de dosis (b), niveles valle alcanzados (c), y Δ de niveles valle alcanzados (d) de tacrolimus durante las seis semanas de seguimiento después del trasplante entre el grupo de asignación de dosis y el grupo de dosis convencional.



Diferencias entre grupos analizadas mediante prueba de t de student, *para una p estadísticamente significativa < 0.05

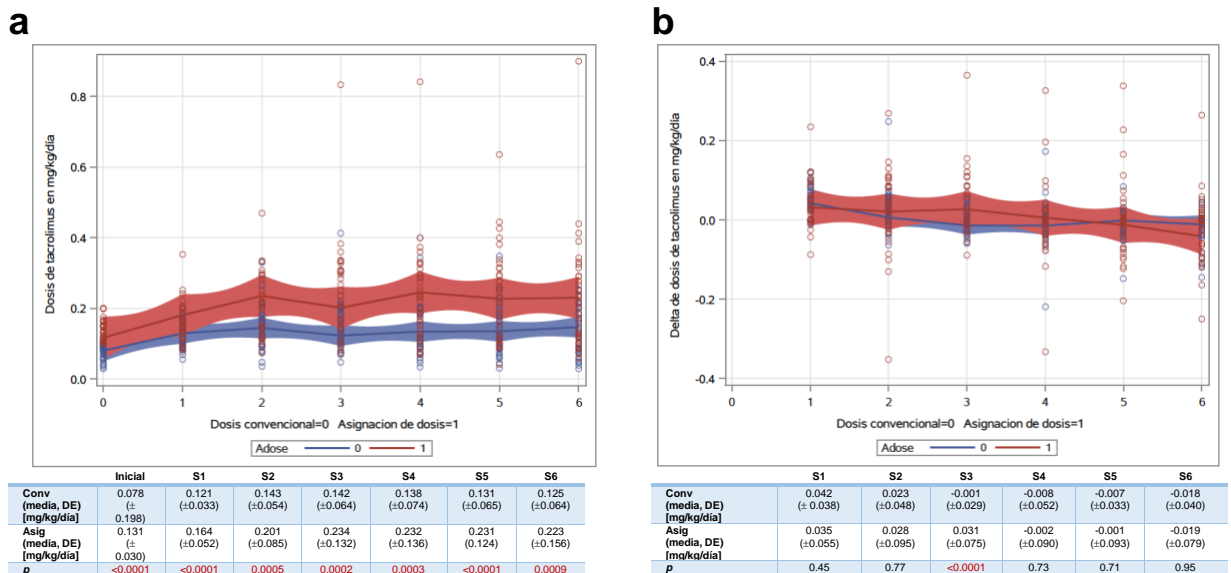
El análisis comparativo por semana de seguimiento de la dosis (a) y delta de dosis (b), se muestran en la figura once. Al analizar las semanas individualmente, la dosis administrada al grupo de asignación fue mayor que al grupo que recibió la dosis convencional, mostrando valores de p entre <0.0001 a 0.0009 . Sin embargo, la Δ de las dosis por semana, no mostró diferencias significativas más que en la semana de cambio entre la segunda y tercera semana ($p=<0.0001$), siendo casi la misma Δ de dosis entre ambos grupos hacia la semana 6 después del trasplante ($p=0.95$).

Por otro lado, el análisis comparativo por semana de seguimiento de los niveles valle (a) y Δ de niveles valle (b) alcanzados de tacrolimus (figura 12), no muestra diferencias constantes entre los grupos de asignación de dosis y la dosis convencional del fármaco. Únicamente las semanas dos de seguimiento (S2) para los niveles valle de tacrolimus y semanas dos (S2) y tres (S3) para el delta de niveles, mostraron diferencias estadísticamente significativas ($p=0.004$, $p=0.01$ y $p=0.02$, respectivamente).

Para explorar el comportamiento de los datos farmacológicos en los dos grupos de estudio, realizamos regresiones lineales (figura 13). La regresión muestra la relación entre la dosis de tacrolimus recibida y los niveles valle alcanzados durante las seis semanas de seguimiento después del trasplante. Se puede observar claramente que las relaciones entre dosis y nivel no son lineales. Las regresiones fueron categorizadas de acuerdo con el grupo de dosis convencional (a), obteniendo una $r^2=0.0003$, $p=0.78$, y grupo de asignación de dosis (b), con una $r^2=0.0008$, $p=0.67$.

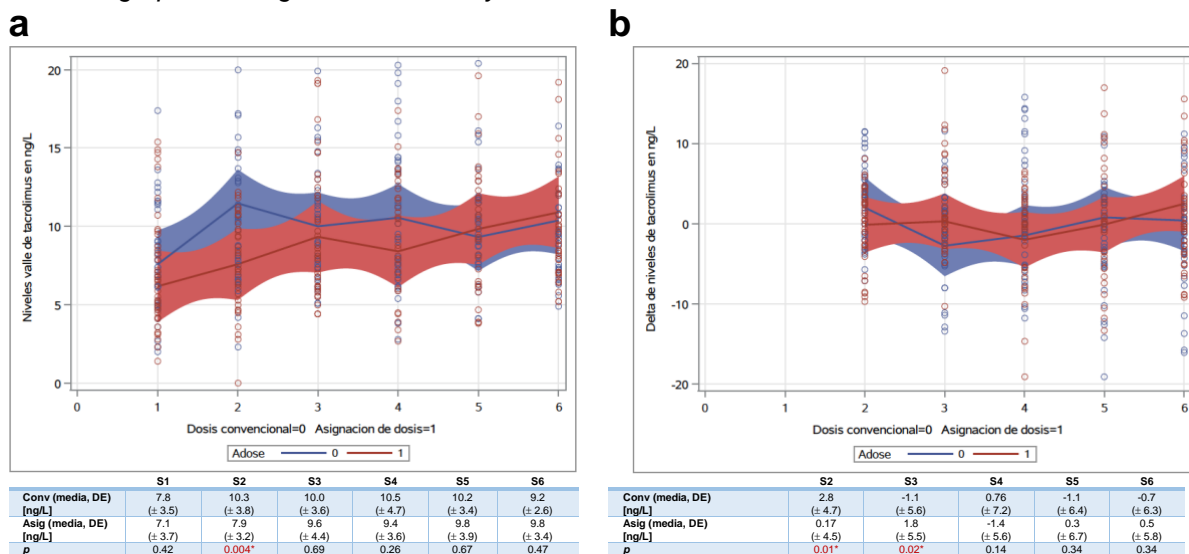
De la misma forma se realizaron regresiones lineales para las Δ de dosis y niveles valle de tacrolimus entre el grupo de dosis convencional (c), $r^2=0.14$, $p=<0.0001$, y el grupo de asignación de dosis (d), $r^2=0.08$, $p=<0.0001$. En este caso mostrando interesantemente un comportamiento lineal (figura 13).

Figura 11. Comparación semanal de las dosis y Δ de dosis de tacrolimus entre los grupos de asignación de dosis y dosis convencional.



Análisis realizados mediante prueba de t de student, *para una p estadísticamente significativa de <0.05
 Conv: grupo de dosis convencional, Asig: grupo de dosis de asignación, S: semana

Figura 12. Comparación semanal de los niveles valle y Δ de niveles valle de tacrolimus alcanzados entre los grupos de asignación de dosis y dosis convencional.



Análisis realizados mediante prueba de t de student, *para una p estadísticamente significativa de <0.05
Conv: grupo de dosis convencional, Asig: grupo de dosis de asignación, S: semana

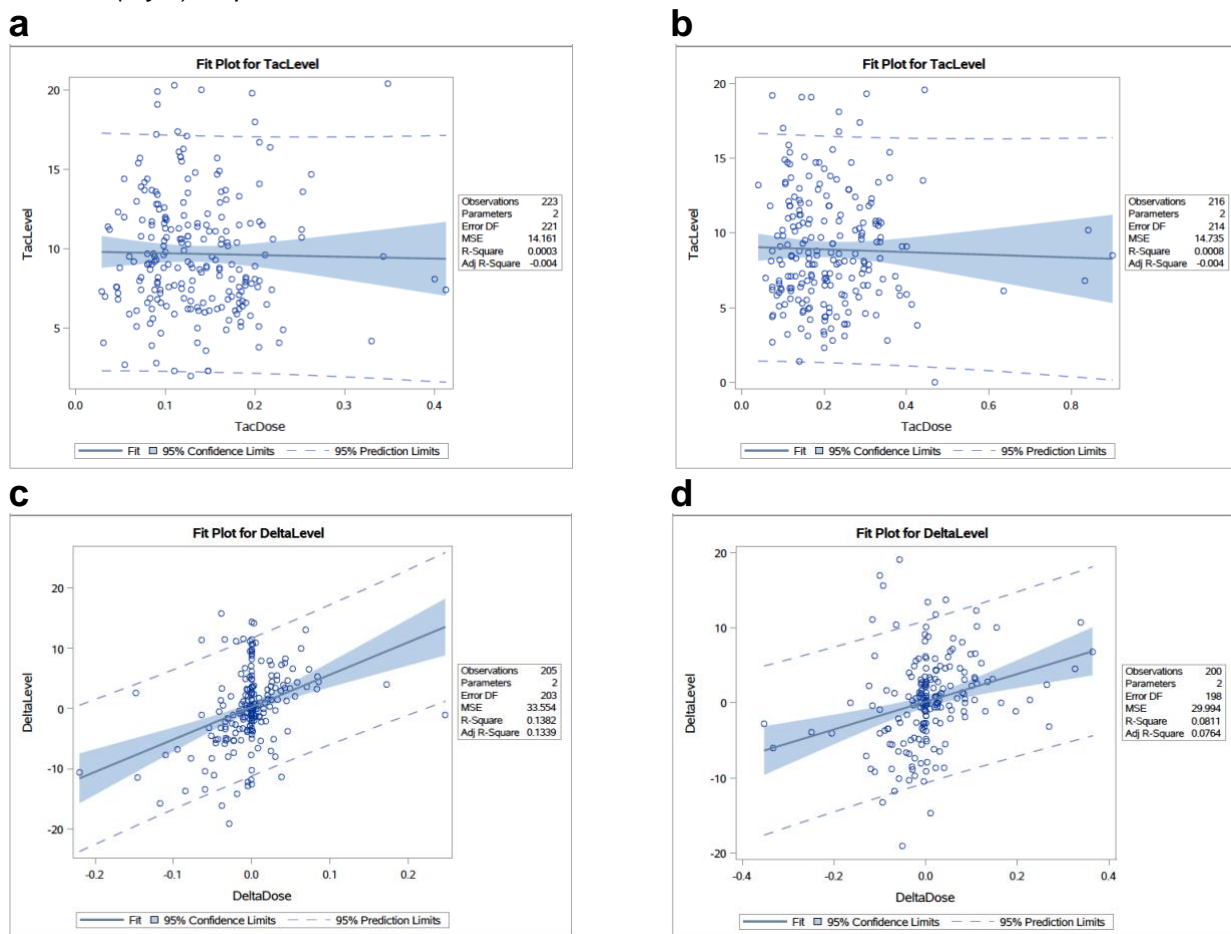
1.1. Estimadores de las variables dependientes

1.1.1. Análisis bivariado de las variables dependientes e independientes

El análisis de supervivencia para evaluar el tiempo requerido en semanas, para tener niveles valle de tacrolimus dentro de parámetros objetivo (8-10 ng/L) entre el grupo de dosis convencional y asignación de dosis no mostró diferencias estadísticamente significativas. En el grupo de dosis convencional 75% de los sujetos habían tenido niveles dentro de los parámetros objetivo para la semana tres, mientras que el grupo de dosis de asignación hasta la semana cuatro $log-rank=0.16$ (figura 14). Al analizar el tiempo que tarda en alcanzar en nivel mínimo objetivo (>8.0 ng/L) entre ambos grupos, el análisis de supervivencia muestra, diferencias estadísticamente significativas a favor del grupo de dosis convencional. El 75% de los sujetos en el grupo de dosis convencional alcanzaron el mínimo de niveles valle objetivo en la semana dos, mientras que, en el grupo de asignación, lo alcanzaron en la semana tres, $log-rank=0.02$ (figura 15). Se compararon las variables dependientes a corto y largo plazo entre los dos grupos de intervención y control (tabla 6). Ninguna de las variables de resultado mostró ser estadísticamente significativa entre grupos. Llama la atención que, durante las seis semanas de seguimiento, los sujetos en el grupo de dosis de asignación tuvieron mayor frecuencia de niveles valle por debajo de los objetivos (29 vs 23%), mientras que el grupo de dosis convencional tuvo más sujetos con mayor frecuencia en niveles valle objetivo de tacrolimus (21 vs 13%) $p=0.44$. Los eventos de nefrotoxicidad mostraron diferencias evidentes, teniendo más episodios en el grupo de dosis convencional comparado con el grupo de asignación de dosis (n=5 vs 1 respectivamente), sin alcanzar significancia estadística, $p=0.20$. El promedio de TFGc de la semana cuatro y los 12 meses de seguimiento fue similar entre los grupos de asignación (63.1 ± 27.4 mL/min/1.73 m² SC) y dosis convencional (60.3 ± 22.3 mL/min/1.73 m² SC) $p=0.32$. (figura 16 panel (a)). En cuanto al promedio de todas las deltas (diferencia (Δ) entre períodos de los cambios) en mL/min/1.73 m² SC de TFGc de la semana cuatro y los 12 meses de seguimiento

entre los grupos de asignación, fue diferente, sin ser estadísticamente significativo (-3.8 ± 25.4 mL/min/1.73 m² SC) y dosis convencional (1.2 ± 17.9 mL/min/1.73 m² SC) $p=0.79$ (figura 16 panel (b)).

Figura 13. Relación de las dosis con los niveles valle de tacrolimus alcanzados, y asociación de las Δ de dosis con la Δ de niveles de tacrolimus en el grupo de dosis convencional (a y c) y el grupo de asignación de dosis (b y d) respectivamente.

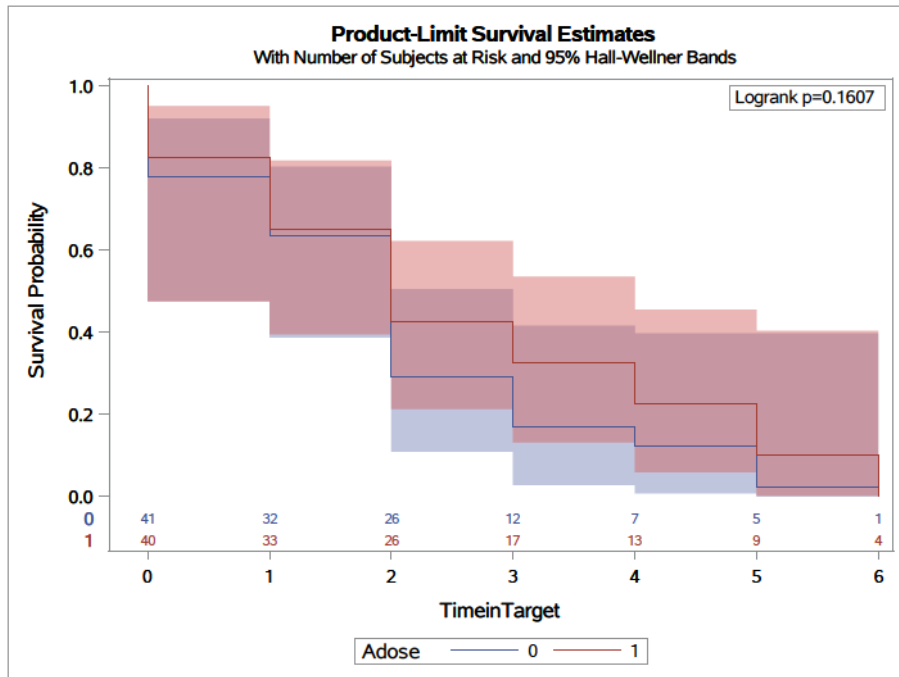


Regresión lineal simple, *para una p estadísticamente significativa de <0.05
Tac: tacrolimus

1.1.1. Análisis multivariado de las variables dependientes e independientes

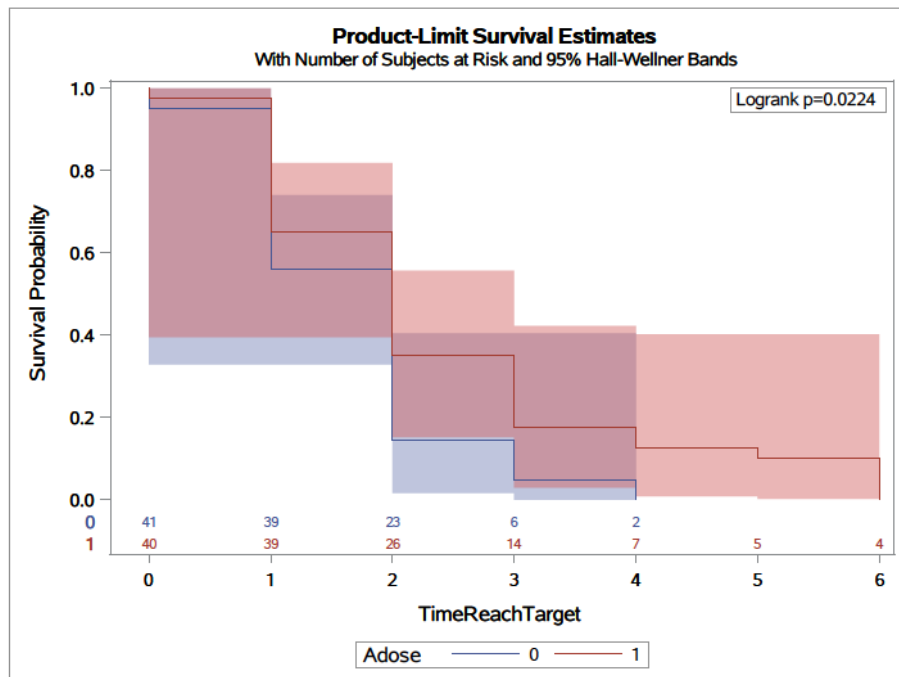
La tabla número siete, muestra cuatro diferentes modelos de regresión de Cox. La variable dependiente evaluada fue la probabilidad de tener niveles valle dentro de los parámetros objetivo 8-10 ng/L en las primeras seis semanas después del trasplante. En el modelo inicial se incluyeron las variables predictoras que se pensó tendrían el mayor impacto en la variable de resultado. El modelo final fue corroborado mediante el proceso de elección de variables “*stepwise*” o paso a paso, donde la única variable que se mantuvo estadísticamente significativa teniendo como

Figura 14. Tiempo para obtener niveles valle de tacrolimus dentro de los parámetros objetivo (8-10 ng/L) en las seis semanas después del trasplante entre el grupo de dosis convencional=0 y el grupo de asignación de dosis=1



Análisis de tiempo al evento usando curvas de Kaplan-Meier, *para un log-rank estadísticamente significativo de <0.05

Figura 15. Tiempo para alcanzar el nivel valle de tacrolimus mínimo objetivo (>8 ng/L) en las seis semanas después del trasplante entre el grupo de dosis convencional=0 y el grupo de asignación de dosis=1



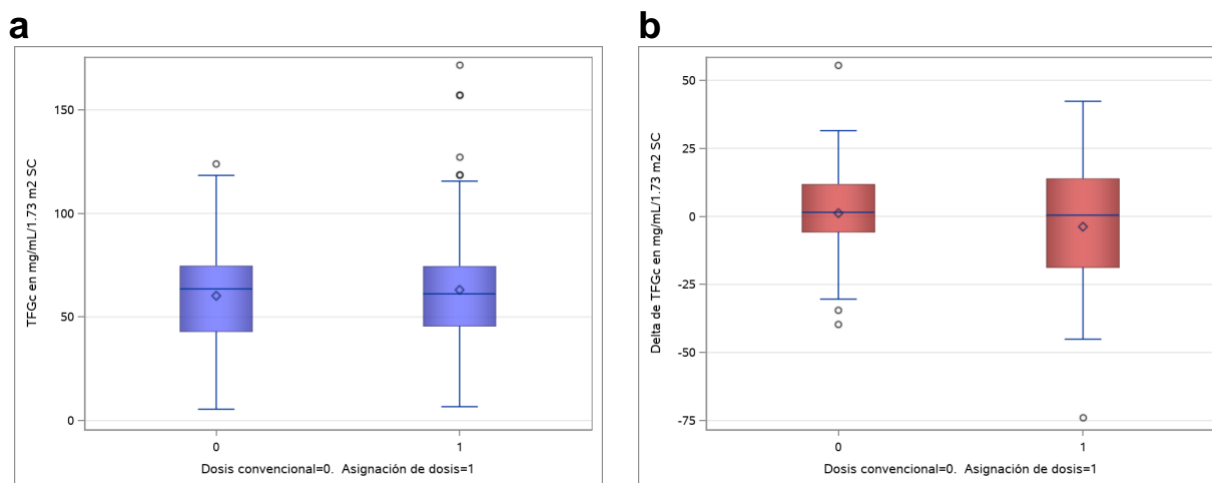
Análisis de tiempo al evento usando curvas de Kaplan-Meier, *para un log-rank estadísticamente significativo de <0.05

Tabla 6. Comparación de las variables de resultado a corto y largo plazo entre el grupo de dosis convencional y asignación de dosis

	Dosis convencional n=41	Asignación de dosis n=40	p
Niveles valle de Tac dentro de parámetros objetivo en la S1(n, %)			0.84
• Si	6 (7.7)	7 (9.0)	
• No	32 (41.0)	33 (42.3)	
Niveles valle de Tac que alcanzaron objetivo mínimo en la S1(n, %)			0.39
• Si	16 (20.5)	13 (16.7)	
• No	22 (28.2)	27 (34.6)	
Niveles valle de Tac dentro de parámetros objetivo S1-S6 (n, %)			0.44
• Bajo	19 (23.5)	24 (29.6)	
• Normal	17 (21.0)	11 (13.6)	
• Alto	5 (6.2)	5 (6.2)	
Rechazo (n, %)			0.81
• Si	8 (9.9)	7 (8.6)	
• No	33 (40.7)	33 (40.7)	
Nefrotoxicidad por CNI (n, %)			0.20
• Si	5 (6.2)	1 (1.2)	
• No	36 (44.4)	39 (48.1)	

Análisis mediante prueba de χ^2 y prueba exacta de Fisher, para una p estadísticamente significativa <0.05
 Tac: tacrolimus, S1: semana uno, S1-S6: semana uno a la seis, CNI: inhibidores de la calcineurina

Figura 16. Comparación del promedio de TFGc (a) y Δ de TFGc (b), de la semana 4 y los 12 meses de seguimiento después del trasplante entre el grupo de asignación de dosis y el grupo de dosis convencional.



Diferencias entre grupos analizadas mediante prueba de t de student, para una p estadísticamente significativa <0.05
 TFGc: tasa de filtrado glomerular calculada, mg: miligramos, mL: mililitros, m²: metro cuadrado, SC: superficie corporal

variable independiente la presencia o no de la maniobra de intervención fueron los niveles de albúmina sérica mostrando que existe un incremento de 42% en la probabilidad mayor de mantener niveles valle dentro del objetivo (8-10 ng/L) durante las primeras seis semanas después del trasplante dependió únicamente de los niveles de albúmina séricos promedios de 3.5 g/dL (HR 0.58 IC 95% 0.35-0.98 SE 0.264).

La tabla número ocho, muestra la evaluación de los riesgos proporcionales asociados con alcanzar el nivel mínimo de niveles valle de tacrolimus ≥ 8 ng/L, de igual forma se utilizaron las variables predictoras que tuvieron un nivel de significancia por arriba de $p=0.30$ en el modelo. El modelo final interesantemente que pertenecer al grupo de expresadores aumenta en la probabilidad de alcanzar el mínimo de niveles objetivo en un 33% (HR 0.67, IC 95% 0.45-0.98, SE 0.196), prevaleció en este modelo la influencia de los niveles séricos de albúmina (HR 0.56, IC 95% 0.37-0.75, SE 0.193).

Tabla 7. Modelos de regresión de Cox que muestran la probabilidad de tener niveles valle de tacrolimus dentro de parámetros objetivo (8-10 ng/L) en las primeras 6 semanas después del trasplante

Modelo 1. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, edad niveles de hematocrito y albúmina				Modelo 2. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, género femenino, niveles de alb y días en iniciar tac			
Variable	HR	IC 95%	SE	Variable	HR	IC 95%	SE
Dosis Conv	1.02	0.59-1.76	0.276	Dosis Conv	1.08	0.63-1.87	0.278
Genotipo 1*1, 1*3	0.76	0.44-1.30	0.276	Genotipo 1*1, 1*3	0.83	0.48-1.43	0.278
Edad (años)	0.97	0.92-1.03	0.003	Género (fem)	1.17	0.70-1.99	0.265
Hto (mg/dL)	1.03	0.98-1.08	0.027	Alb (g/dL)	0.58	0.35-0.98	0.265
Alb (g/dL)	0.53	0.30-0.94	0.291	Tiempo a DI (días)	0.81	0.61-1.06	0.142
Modelo 3. Evalúa: pertenecer al grupo control, género femenino, niveles de albúmina, días en iniciar tac y dosis				Modelo 4. Evalúa: pertenecer al grupo control, niveles de albúmina y días en iniciar tac			
Variable	HR	IC 95%	SE	Variable	HR	IC 95%	SE
Dosis Conv	1.10	0.64-1.93	0.282	Dosis Conv	1.13	0.68-1.88	0.258
Género (fem)	1.20	0.71-2.04	0.267	Alb (g/dL)	0.58	0.35-0.98	0.264
Alb (g/dL)	0.58	0.35-0.99	0.27	Tiempo a DI (días)	0.79	0.59-1.03	0.140
Tiempo a DI (días)	0.81	0.60-1.05	0.142				
Dosis de tac (mg/kg/día)	0.60	0.04-5.88	1.29				

HR: cociente de riesgo, IC: intervalos de confianza, SE: error estándar, Conv: convencional, Hto: hematocrito, Alb: albúmina, fem: femenino, DI: dosis inicial, mg: miligramos, g: gramos, dL: decilitro, L: litro

Tabla 8. Modelos de regresión de Cox que muestran la probabilidad de alcanzar el mínimo de niveles valle de tacrolimus objetivo (≥ 8 ng/L) en las primeras 6 semanas después del trasplante

Modelo 1. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, edad niveles de hematocrito y albúmina				Modelo 2. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, género femenino, niveles de alb y días en iniciar tac			
Variable	HR	IC 95%	SE	Variable	HR	IC 95%	SE
Dosis Conv	0.96	0.65-1.44	0.202	Dosis Conv	0.97	0.65-1.45	0.203
Genotipo 1*1, 1*3	0.67	0.44-0.99	0.205	Genotipo 1*1, 1*3	0.68	0.46-1.02	0.205
Edad (años)	0.99	0.95-1.04	0.023	Género (fem)	0.93	0.63-1.35	0.193
Hto (mg/dL)	1.03	0.99-1.07	0.019	Alb (g/dL)	0.55	0.38-0.80	0.190
Alb (g/dL)	0.46	0.33-0.73	0.208	Tiempo a DI (días)	0.85	0.70-1.03	0.100
Modelo 3. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, niveles de albúmina, días en iniciar tac y dosis				Modelo 4. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador y niveles de albúmina			
Variable	HR	IC 95%	SE	Variable	HR	IC 95%	SE
Dosis Conv	0.97	0.65-1.47	0.210	Dosis Conv	0.99	0.68-1.46	0.196
Genotipo 1*1, 1*3	0.69	0.44-1.08	0.230	Genotipo 1*1, 1*3	0.67	0.45-0.98	0.196
Alb (g/dL)	0.55	0.38-0.80	0.190	Alb (g/dL)	0.56	0.37-0.75	0.193
Tiempo a DI (días)	0.86	0.70-1.04	0.098				
Dosis de tac (mg/kg/día)	0.92	0.10-6.00	1.042				

HR: cociente de riesgo, IC: intervalos de confianza, SE: error estándar, Conv: convencional, Hto: hematocrito, Alb: albúmina, fem: femenino, DI: dosis inicial, mg: miligramos, g: gramos, dL: decilitro, L: litro

La tabla número nueve, muestra cuatro diferentes modelos de regresión logística bivariada para calcular las probabilidades asociadas a los episodios de rechazo. Se incluyeron variables predictoras disponibles de historia de respuesta inmune. El último modelo muestra que no existió una asociación entre la presencia de intervención y los episodios de rechazo (OR 0.86, IC 95% 0.26-2.84, SE 0.606).

Se realizaron dos modelos más de regresión logística binaria para evaluar la asociación de la maniobra de intervención en los eventos de toxicidad, sin mostrar relevancia estadística, descritos en la **tabla diez** (OR 5.85, IC 95% 0.60-56.8, SE 1.161).

Tabla 9. Modelos de regresión logística, que muestran la probabilidad de eventos de rechazo en los 12 meses después del trasplante

Modelo 1. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, género femenino, edad, y niveles acumulados (Σ) valle				Modelo 2. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, DSA antes del Tx, edad, y niveles acumulados (Σ) valle			
Variable	OR	IC 95%	SE	Variable	OR	IC 95%	SE
Dosis Conv	0.97	0.29-3.25	0.003	Dosis Conv	1.0	0.24-4.15	0.729
Genotipo 1*1, 1*3	0.47	0.13-1.62	0.635	Genotipo 1*1, 1*3	0.48	0.12-1.96	0.716
Género (fem)	1.78	0.52-6.05	0.624	DSA antes del Tx	1.26	0.29-5.46	0.978
Edad (años)	1.14	0.94-1.38	0.097	Edad (años)	1.13	0.93-1.37	0.100
Niv Tac acum (ng/L)	0.98	0.93-1.02	0.022	Niv Tac acum (ng/L)	0.98	0.94-1.03	0.024
Modelo 3. Evalúa: genotipo expresador, edad, PRA I, PRA II y niveles acumulados (Σ) valle				Modelo 4. Evalúa: pertenecer al grupo control, edad y PRA II			
Variable	OR	IC 95%	SE	Variable	OR	IC 95%	SE
Genotipo 1*1, 1*3	0.40	0.09-1.76	0.754	Dosis Conv	0.86	0.26-2.84	0.606
Edad (años)	1.10	0.91-1.33	0.098	Genotipo 1*1, 1*3	0.50	0.15-1.728	0.0.63
PRAc I (%)	1.05	0.95-1.16	0.052				
PRAc II (%)	0.93	0.80-1.09	0.080	Edad (años)	1.11	0.93-1.33	0.091
Niv Tac acum (ng/L)	0.99	0.94-1.03	0.024				

OR: razón de momios, IC: intervalos de confianza, SE: error estándar, Conv: convencional, Niv: niveles, Tac: tacrolimus, acum: acumulado, DSA: anticuerpos donador específico, PRAc: Panel reactivo de anticuerpos calculado, ng: nanogramos, L: litro, Tx: trasplante.

Tabla 10. Modelos de regresión logística, que muestran la probabilidad de eventos de nefrotoxicidad en los 12 meses después del trasplante

Modelo 1. Evalúa: pertenecer al grupo control, genotipo expresador, género femenino, edad, y niveles acumulados (Σ) valle				Modelo 2. Evalúa: edad, tiempo a niveles valle mínimos, y tiempo en rango de niveles valle de Tac			
Variable	OR	IC 95%	SE	Variable	OR	IC 95%	SE
Dosis Conv	5.85	0.60-56.8	1.161	Dosis Conv	6.51	0.65-64.8	1.172
Genotipo 1*1, 1*3	1.81	0.31-10.5	0.897	Edad (años)	1.12	0.82-1.51	0.153
Edad (años)	0.97	0.82-1.49	0.153	t en nivel Tac (8-10 ng/L)	1.40	0.85-2.30	0.252

OR: razón de momios, IC: intervalos de confianza, SE: error estándar, Conv: convencional, Niv: niveles, Tac: tacrolimus, acum: acumulado, t: tiempo, ng: nanogramos, L: litro

1.2. Análisis de subgrupos y de sensibilidad.

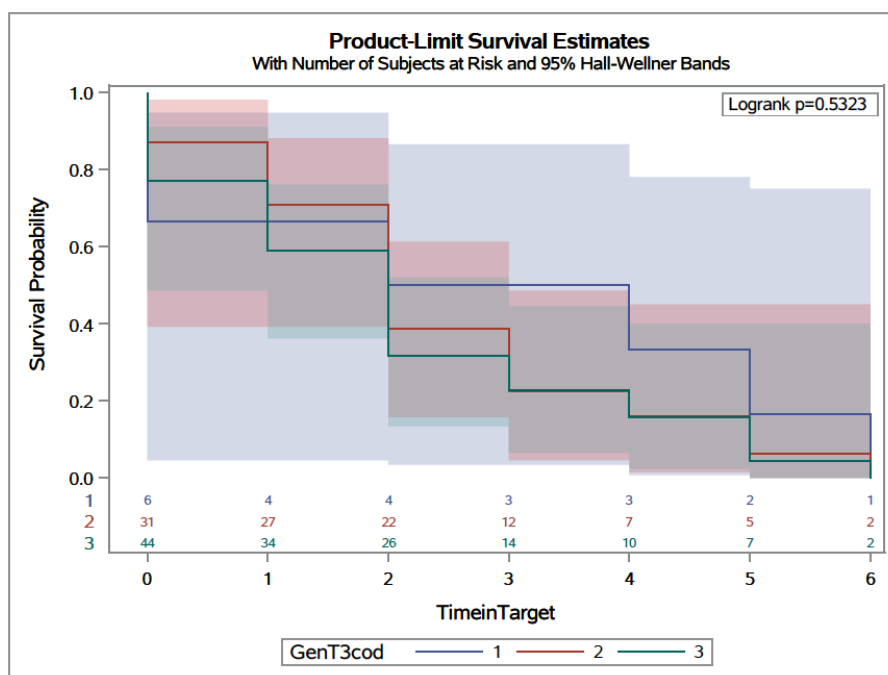
Se realizaron análisis categorizando por genotipo para identificar diferencias internas entre los grupos de dosis convencional y asignación de dosis. En una forma similar, se realizaron análisis de sensibilidad, evaluando únicamente por genotipo, para determinar si la influencia de la variable por si sola, impacta en los resultados.

En las figuras 17 y 18 se muestran dos curvas de supervivencia de Kaplan-Meier, como parte del análisis de sensibilidad del primer objetivo del estudio. En ellas se compara el tiempo en alcanzar niveles valle de tacrolimus dentro de parámetros objetivo de 8-10 ng/L entre los tres diferentes genotipos en la totalidad de la muestra, sin controlar por maniobra de intervención (figura 17). No se observaron diferencias significativas entre los grupos ($\log\text{-rank}=0.53$).

De igual forma las curvas de supervivencia para el tiempo en alcanzar el mínimo de niveles valle objetivo (≥ 8 ng/L) si fue significativo entre los diferentes genotipos, alcanzando el nivel mínimo de forma más rápida el grupo de no expresadores, en comparación con los expresadores ($\log\text{-rank}=0.010$) (figura 18).

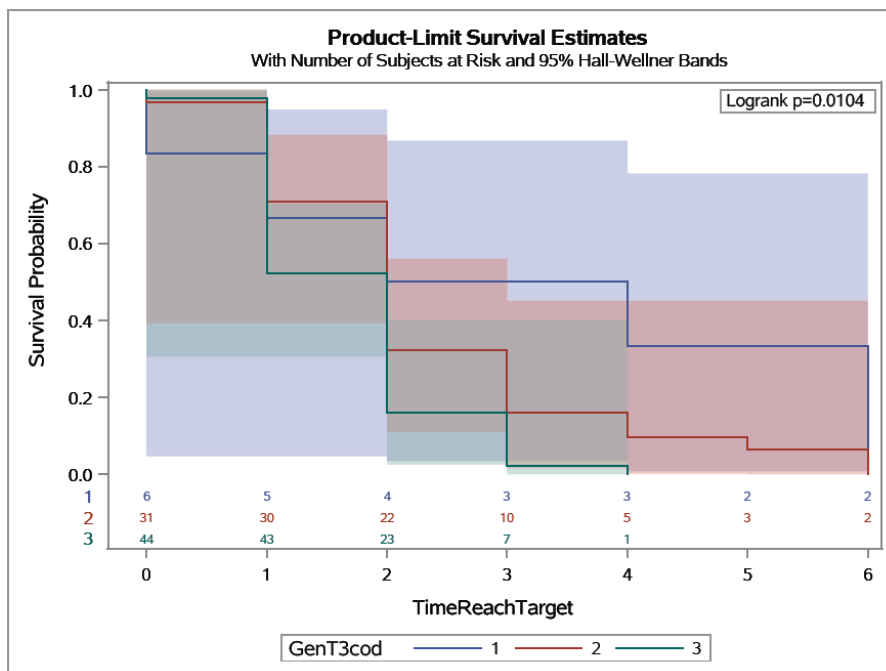
Esto demuestra que los resultados del análisis de tiempo al evento entre los grupos de dosis convencional y dosis de asignación puede estar influenciado por el mayor número de pacientes expresadores en el grupo de intervención.

Figura 17. Tiempo para obtener niveles valle de tacrolimus dentro de los parámetros objetivo (8-10 ng/L) en las seis semanas después del trasplante entre los diferentes genotipos



Análisis de tiempo al evento, para una p estadísticamente significativa de <0.05
 Genotipo: AA 1*1=1 y AG 1*3=2 expresadores de la proteína, GG 3*3=3 no expresadores de la proteína

Figura 18 Tiempo para obtener los niveles valle objetivo mínimos (≥ 8 ng/L) de tacrolimus en las seis semanas después del trasplante entre los diferentes genotipos.



Análisis de tiempo al evento, para una p estadísticamente significativa de <0.05
 Genotipo: AA 1*1=1 y AG 1*3=2 expresadores de la proteína, GG 3*3=3 no expresadores de la proteína

Las figuras 19, 20 y 21, muestran las comparaciones de los niveles, dosis, delta de niveles, delta de dosis y promedio de dosis y niveles acumulados de los tres diferentes genotipos dentro de los grupos de intervención y control a lo largo de las seis semanas de seguimiento después del trasplante.

La figura diecinueve, muestra en el panel (a), la comparación de las dosis en mg/kg/día, de tacrolimus entre los genotipos.

En el grupo de dosis convencional, la media de dosis para los genotipos fue: AA 1*1 dosis 0.165 ± 0.047 , AG 1*3 dosis 0.139 ± 0.045 y GG 3*3 dosis 0.116 ± 0.063 mg/kg/día, $p < 0.0001$; mientras que en el grupo de asignación fueron: AA 1*1 fue de 0.330 ± 0.220 , AG 1*3 dosis 0.227 ± 0.084 y GG 3*3 dosis 0.132 ± 0.046 mg/kg/día, $p < 0.0001$.

En el panel (b) grupo de dosis convencional, la media de dosis para los genotipos fue: AA 1*1 $\Delta 0.017 \pm 0.035$, AG 1*3 $\Delta 0.012 \pm 0.041$ y GG 3*3 $\Delta 0.002 \pm 0.047$ mg/kg/día, $p = 0.085$; mientras que en el grupo de asignación fueron: AA 1*1 $\Delta 0.045 \pm 0.115$, AG 1*3 $\Delta 0.018 \pm 0.092$ y GG 3*3 $\Delta -0.003 \pm 0.058$ mg/kg/día, $p = 0.017$.

La figura veinte, muestra en el panel (a), la comparación de los niveles valle de tacrolimus en ng/L, entre los genotipos.

En el grupo de dosis convencional, la media de niveles para los genotipos fue: AA 1*1 niveles 6.2 ± 2.4 , AG 1*3 niveles 8.5 ± 3.5 y GG 3*3 niveles 10.5 ± 3.7 ng/L, $p < 0.0001$; mientras que en

el grupo de asignación fue: AA 1*1 fue de 7.0 ± 3.3 , AG 1*3 dosis 8.7 ± 4.0 y GG 3*3 dosis 9.7 ± 3.5 mg/kg/día, $p=0.005$.

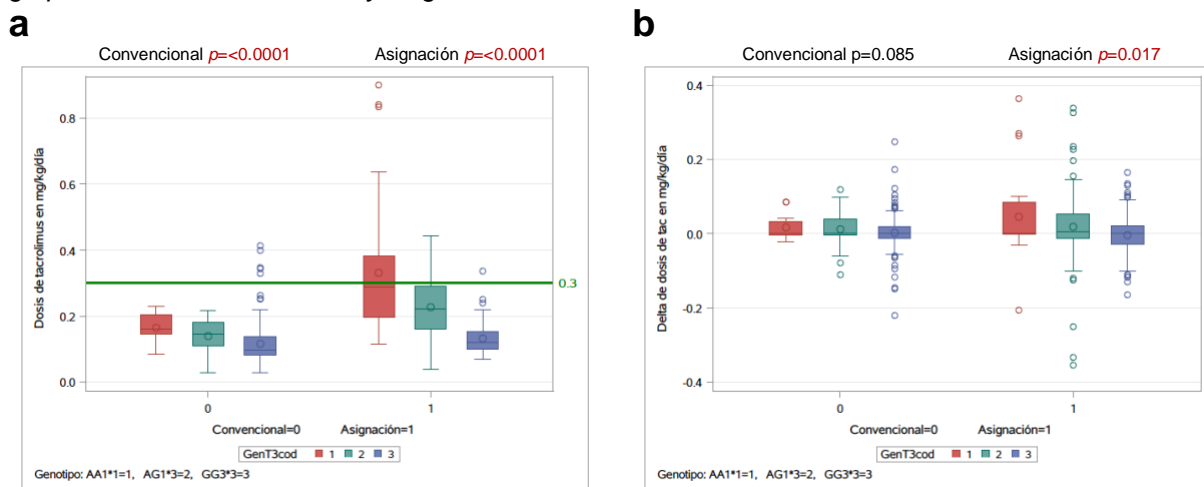
En el panel (b), la comparación de las deltas de los niveles valle de tacrolimus en ng/L, entre los genotipos. En el grupo de dosis convencional, la media de delta de niveles para los genotipos fue: AA 1*1 $\Delta 0.50 \pm 2.54$, AG 1*3 $\Delta 0.44 \pm 5.02$ y GG 3*3 $\Delta -0.01 \pm 6.82$ ng/L, $p=0.93$; mientras que en el grupo de asignación fue: AA 1*1 $\Delta 0.69 \pm 3.77$, AG 1*3 $\Delta 0.67 \pm 5.34$ y GG 3*3 dosis -0.29 ± 6.49 ng/L, $p=0.46$.

La figura veintiuno, muestra en el panel (a), la comparación de las dosis acumuladas (promedio) en mg/kg/día de tacrolimus entre los genotipos.

En el grupo de dosis convencional, el promedio de dosis para los genotipos fue: AA 1*1 dosis acumulada 0.165 ± 0.047 , AG 1*3 dosis acumulada 0.139 ± 0.045 y GG 3*3 dosis acumulada 0.116 ± 0.063 mg/kg/día, $p<0.0001$; mientras que en el grupo de asignación fue: AA 1*1 dosis acumulada 0.330 ± 0.220 , AG 1*3 dosis acumulada 0.227 ± 0.084 y GG 3*3 dosis acumulada 0.132 ± 0.046 mg/kg/día, $p<0.0001$.

En el panel (b), la comparación de los niveles valle acumulados (promedio) de tacrolimus en ng/L entre los genotipos. En el grupo de dosis convencional, promedio de niveles acumulados para los genotipos fue: AA 1*1 niveles acumulados 6.2 ± 1.9 , AG 1*3 niveles acumulados 8.5 ± 1.4 y GG 3*3 niveles acumulados 10.5 ± 1.7 ng/L, $p<0.0001$; mientras que en el grupo de asignación fue: AA 1*1 fue de 7.2 ± 1.1 , AG 1*3 niveles acumulados 8.7 ± 2.0 y GG 3*3 dosis 9.6 ± 1.5 mg/kg/día, $p<0.0001$.

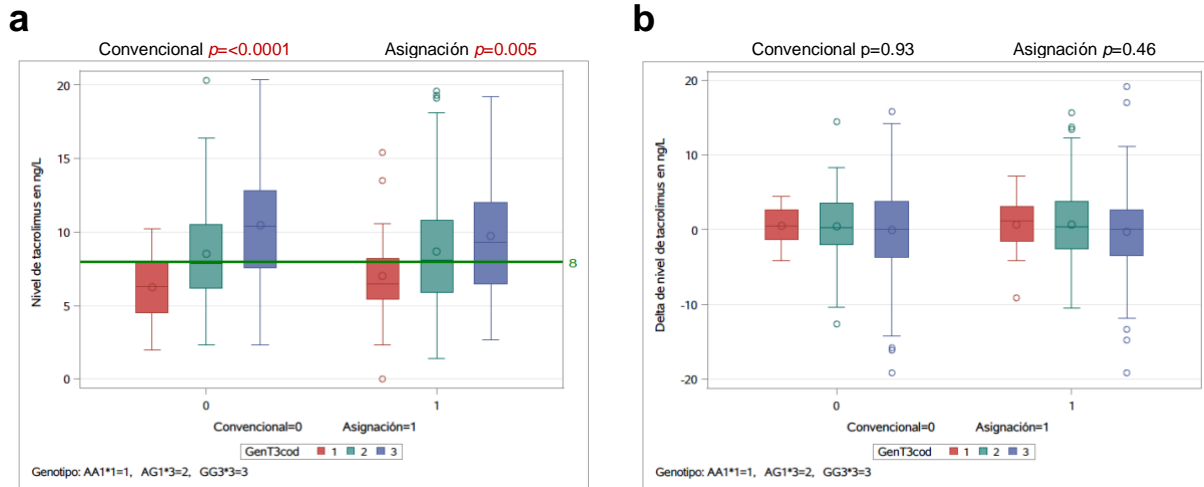
Figura 19. Diferencias entre las dosis (a) y delta de dosis (b) de tacrolimus en mg/kg/día en el total de seguimiento de seis semanas después del trasplante entre los diferentes genotipos dentro de los grupos de dosis convencional y asignación de dosis.



Análisis mediante prueba de ANOVA de dos vías, para una p estadísticamente significativa de <0.05

Mg: miligramo, kg: kilogramo, tac: tacrolimus, AA 1*1 y AG 1*3: expresadores de la proteína, GG 3*3: no expresadores de la proteína

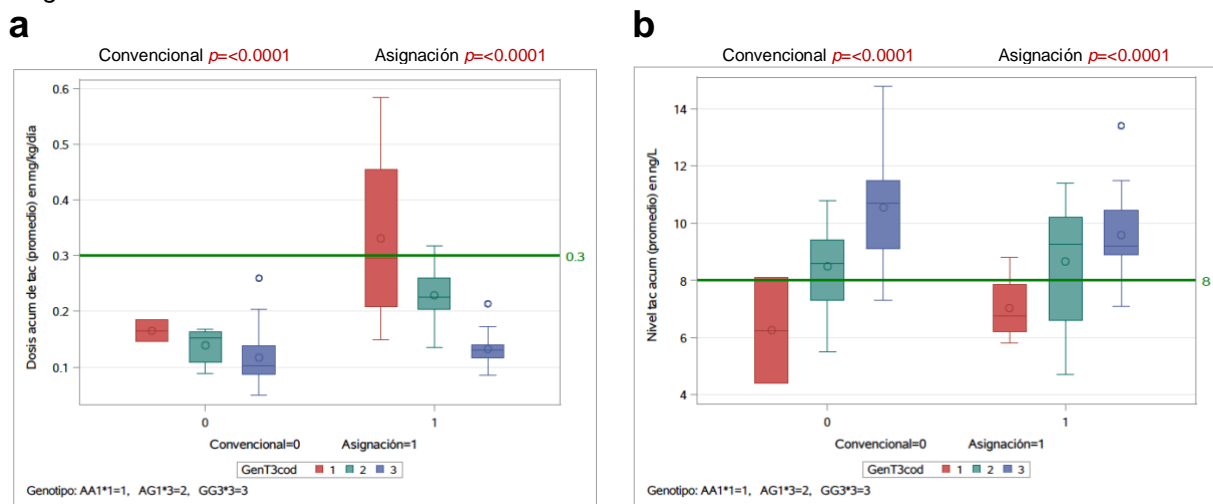
Figura 20. Diferencias entre los niveles (a) y delta de niveles (b) de tacrolimus en ng/L en el total de seguimiento de seis semanas después del trasplante entre los diferentes genotipos dentro de los grupos de dosis convencional y asignación de dosis.



Análisis mediante prueba de ANOVA de dos vías, para una p estadísticamente significativa de <0.05

Tac: tacrolimus, ng: nanogramos, L: litro, AA 1*1 y AG 1*3: expresadores de la proteína, GG 3*3: no expresadores de la proteína

Figura 21. Diferencias entre las dosis acumuladas (promedio) de tacrolimus en mg/kg/día (a) y los niveles acumulados (promedio) de tacrolimus en ng/L (b) el total de seguimiento de seis semanas después del trasplante entre los diferentes genotipos dentro de los grupos de dosis convencional y asignación de dosis.

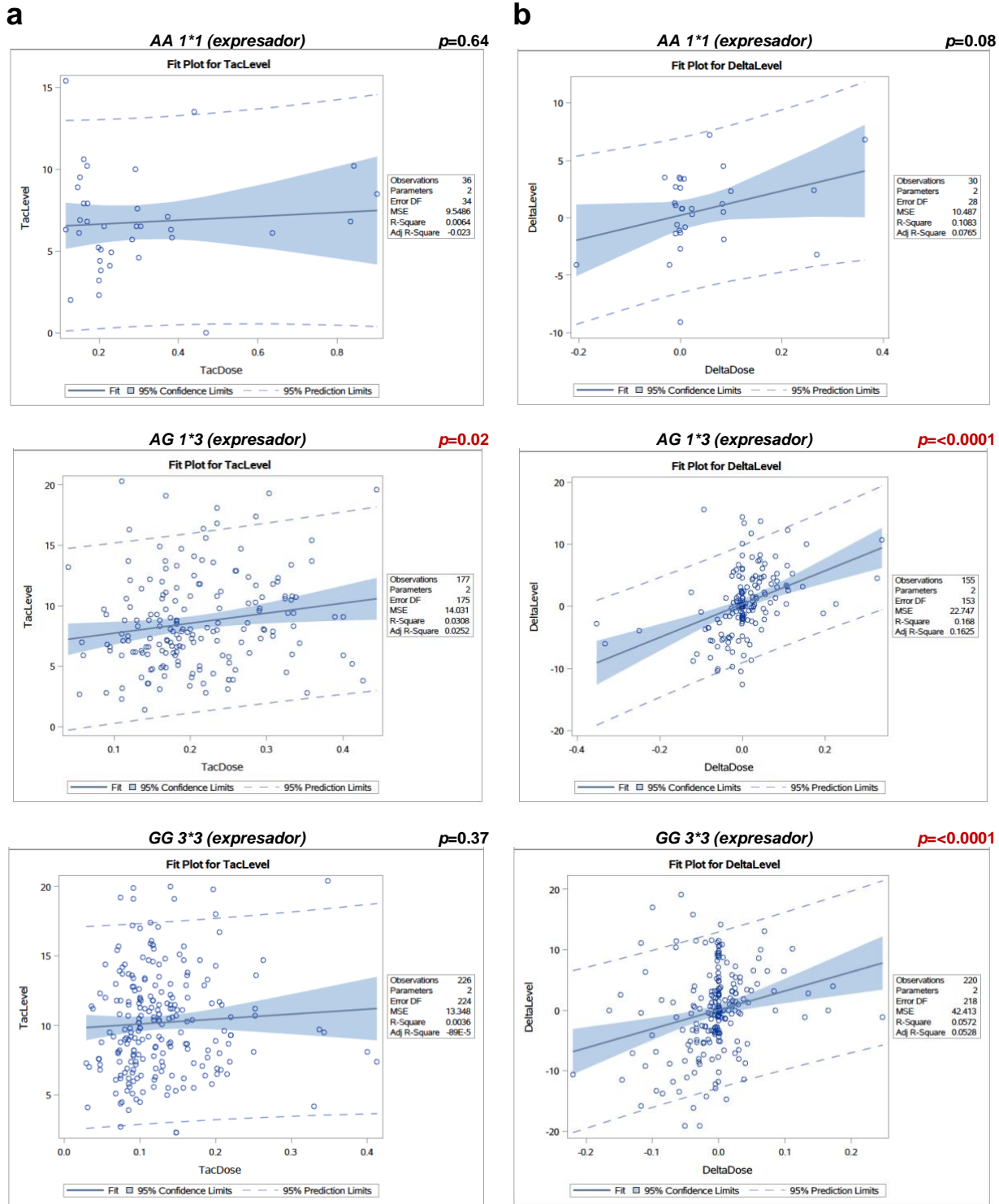


Análisis mediante prueba de ANOVA de dos vías, para una p estadísticamente significativa de <0.05

Acum: acumulada, Tac: tacrolimus, ng: nanogramos, mg: miligramo, kg: kilogramo L: litro, AA 1*1 y AG 1*3: expresadores de la proteína, GG 3*3: no expresadores de la proteína

La figura veintidós muestra las regresiones lineales de los diferentes genotipos. En el panel (a) se muestra la regresión entre las dosis y los niveles de tac durante las seis semanas. Se observa que no existió una relación lineal en los genotipos AA 1*1 y GG 3*3, sin embargo, es clara la relación lineal en el genotipo AG 1*3 ($r^2=0.03$, $p=0.02$). En el panel (b) se muestra la regresión entre las deltas de dosis y delta de niveles de tac durante las seis semanas. Se observa una clara relación lineal en los genotipos AG 1*3 y GG 3*3 3 ($r^2=0.17$, $p=<0.0001$ y $r^2=0.06$, $p=<0.0001$), siendo esta más fuerte en el grupo AG 1*3.

Figura 22. Relación de dosis vs niveles valle de tac por genotipos (a) y delta de dosis y delta de niveles valle de tac (b) de los tres diferentes genotipos, en las seis semanas de seguimiento.



Regresión lineal simple, para una p estadísticamente significativa de <0.05
 Tac: tacrolimus

Finalmente, **la tabla once** muestra el análisis de sensibilidad de los estimadores de resultado, categorizados por genotipo, utilizando un análisis de chi cuadrada y prueba exacta de Fisher. Se evaluó. Se evaluaron las variables de resultados principales a corto (seis semanas) y largo plazo (doce meses).

Se observaron diferencias entre los eventos de toxicidad, donde en el grupo de convencional existieron más eventos de toxicidad siendo característico el genotipo de los no expresadores. De igual forma, se puede apreciar que el grupo de convencional la frecuencia de sujetos que mantuvieron niveles valle de tacrolimus dentro del objetivo pertenecían al grupo de no expresadores. Ninguna de estas diferencias fue estadísticamente significativa.

Tabla 11. Comparación de las variables de resultado entre los grupos de dosis convencional y asignación de dosis clasificados por genotipo. Resultados a corto plazo: niveles valle dentro del objetivo y niveles valle al mínimo del objetivo en la primera semana; niveles valle dentro del objetivo durante las seis semanas. Resultados largo plazo: presencia de eventos de rechazo y nefrotoxicidad en los doce meses de seguimiento.

	AA 1*1 n=6	AG 1*3 n=31	AA 3*3 n=44	p
Niveles valle de Tac dentro de parámetros objetivo en la S1(n, %)	C: 0	2 (5.3)	4 (10.5)	1.00
• Si	A: 0	3 (7.5)	4 (10.0)	0.59
Niveles valle de Tac que alcanzaron objetivo mínimo en la S1(n, %)	C: 0	4 (10.5)	12 (31.6)	0.55
• Si	A: 1	4 (10.0)	8 (20.0)	0.13
Niveles valle dentro de parámetros objetivo S1-S6 (n, %)	C: 0	5 (12.2)	12 (29.2)	0.73
• Si	A: 0	6 (15.0)	5 (12.5)	0.68
Rechazo (n, %)	C: 0	2 (4.8)	6 (14.6)	1.00
• Si	A: 1	2 (5.0)	4 (10.0)	0.38
Nefrotoxicidad por CNI (n, %)	C: 1 (2.4)	1 (2.4)	3 (7.3)	0.32
• Si	A: 0	1 (2.5)	0	1.00

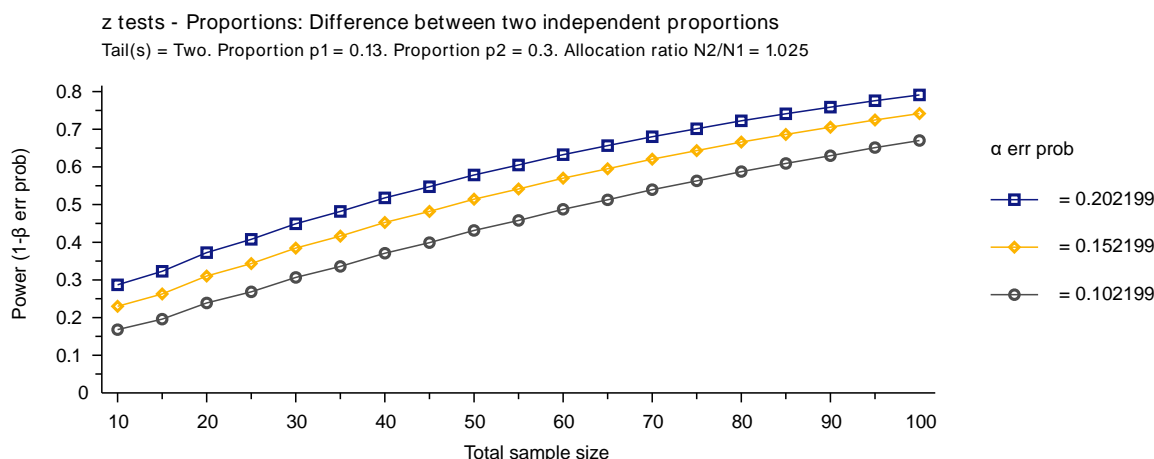
*Análisis mediante prueba exacta de Fisher, para una *p estadísticamente significativa <0.05*

C: dosis convencional, A: asignación de dosis, Tac: tacrolimus, S1: semana uno, S1-S6: semana uno a la seis, CNI: inhibidores de la calcineurina

1.2.1. Cálculo del poder estadístico alcanzado de la muestra

Realizamos el cálculo del poder estadístico alcanzado con el tamaño de muestra obtenido, usando una prueba para diferencia de proporciones utilizando los parámetros del cálculo de tamaño de muestra para el diseño del estudio. Se realizó la estimación a dos colas asumiendo un tamaño del efecto de 0.17, con una relación α/β de 4, y un tamaño muestral de 40 sujetos del grupo A y 41 sujetos del grupo B, para un total de 81 sujetos. Asumiendo un poder alcanzado 60%, corresponde a un error α de 0.10, con el presente estudio (figura 23).

Figura 23. Cálculo del poder alcanzado, mediante diferencia de proporciones. Colas=2, $n=81$, $\delta=0.17$. Grafica que muestra tres diferentes tamaños de error α . Software G*Power



Cálculo realizado utilizando el software G*Power

2. DISCUSIÓN

El presente estudio investigó los beneficios de la administración de una dosis inicial de tacrolimus guiada por el genotipo de *CYP3A5* en una cohorte de pacientes pediátricos en la ciudad de México que recibieron trasplante renal. En nuestro conocimiento son escasos los estudios de intervención en población pediátrica que proponen estrategias farmacogenéticas, por lo cual consideramos relevante realizar esta investigación. En población adulta, las estrategias de dosificación individualizada han sido más exploradas.

En el objetivo primario del estudio, no se mostraron diferencias estadísticamente significativas en el tiempo en alcanzar niveles valle de tacrolimus dentro del rango objetivo, en las primeras seis semanas de seguimiento ($\log\text{-rank}=0.16$) entre el grupo de dosis convencional y el grupo de asignación de dosis. Existió un 42% más de probabilidades de que los pacientes con niveles promedio de albúmina (3.5 mg/L) ($HR\ 0.58$, $IC\ 95\%\ 0.35-0.98$, $SE\ 0.264$), y 33% aquellos con genotipo expresador ($HR\ 0.67$, $IC\ 95\%\ 0.45-0.98$, $SE\ 0.196$) alcanzaran niveles valle de tacrolimus dentro del rango de objetivo (8-10 ng/L), sin que la maniobra de intervención tuviera una influencia.

En el objetivo secundario, no existieron diferencias estadísticamente significativas en los eventos de rechazo ($OR\ 0.86$, $IC\ 95\%\ 0.26-2.84$, $SE\ 0.606$) y nefrotoxicidad ($OR\ 5.85$, $IC\ 95\%\ 0.60-56.8$, $SE\ 1.161$) comprobados por biopsia a los doce meses de seguimiento, entre ambos grupos. Sin embargo, el grupo de dosis convencional mostró una frecuencia más alta de nefrotoxicidad por inhibidores de la calcineurina (6 Vs 1%).

Los análisis por subgrupo demostraron que a pesar de las diferencias significativas en el delta de dosis en el grupo de asignación de dosis ($p=0.017$) no impactó en la delta de niveles para el mismo grupo ($p=0.46$), comportándose muy similar que el grupo de dosis convencional ($p=0.93$). Al categorizar por genotipo, existió una regresión lineal estadísticamente significativa en las

deltas de dosis y delta de niveles principalmente para el genotipo $A^*G\ 1^*3^*$ ($r^2=0.168$, $p<0.0001$).

En el ensayo clínico aleatorizado controlado, realizado a 240 pacientes adultos trasplantados de riñón realizado por Shuker y colaboradores, investigaron si asignando la dosis inicial por genotipo de *CYP3A5*, los pacientes presentarían las concentraciones de tacrolimus en sangre objetivo entre 10-15 ng/L. Ambos, grupos intervención y control fueron evaluados a los tres días de la administración de la dosis y no se encontraron diferencias entre grupos. La proporción de pacientes que alcanzaron niveles de tacrolimus dentro de objetivo fue de 37% para el grupo control y 36% para el de intervención, $p=0.79$, teniendo la misma incidencia de rechazo agudo $p=0.82$ entre ambos grupos.⁹⁴ Esto concuerda con nuestros resultados, ya que no encontramos diferencias sustanciales en la efectividad en alcanzar niveles entre ambos grupos siendo nuestro seguimiento más prolongado después del trasplante hasta seis semanas, de hecho, 75% de los sujetos en el grupo de dosis convencional se tardaron 2 semanas mientras que el grupo de asignación 3 semanas, $\log\text{-rank}=0.16$. De la misma forma tampoco se evidenciaron diferencias en el riesgo de presentar episodios de rechazo ($OR\ 0.86$, $IC\ 95\%\ 0.26\text{-}2.84$, $SE\ 0.606$) en el seguimiento a 12 meses entre ambos grupos incluso ajustando por las variables de la historia de respuesta inmunitaria como porcentaje de PRA I, II y presencia de anticuerpos DSA antes del trasplante.

Sin embargo, en un estudio realizado en población pediátrica por Min y colaboradores, quienes diseñaron un ensayo clínico aleatorizado en pacientes receptores de órgano sólido incluyendo riñón, corazón e hígado, los autores administraron una dosis ajustada de acuerdo con el genotipo de *CYP3A5* en un rango de 2:1 teniendo un grupo de intervención de 35 pacientes comparado con un grupo de dosis convencional de 18 pacientes. Los pacientes fueron estratificados por genotipo y órgano. En este estudio tuvieron un porcentaje de no expresadores de 85% en el brazo de intervención y de 75% en el brazo de control. En cuanto al tiempo en alcanzar niveles los participantes en el grupo de intervención alcanzaron niveles terapéuticos más rápido con una media de 3.4 días mientras que los del grupo control de 6.6 días, $p=0.049$. Los autores reportaron que un mayor porcentaje de pacientes que obtuvieron niveles de tacrolimus objetivo dentro de los primeros 18 días después del trasplante, pertenecieron al grupo de intervención 69% comparado con un 44% del grupo control, $p=0.089$.⁹⁵ Esto contrasta con nuestros resultados, ya que los pacientes que fueron analizados en nuestra cohorte, no alcanzaron niveles terapéuticos de forma tan rápida, ni tampoco existieron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. De hecho, el modelo de regresión de Cox mostró un incremento de 42% en la probabilidad de mantener niveles valle dentro del objetivo (8-10 ng/L) durante las primeras seis semanas después del trasplante dependió únicamente de los niveles de albúmina séricos promedios de 3.5 g/dL ($HR\ 0.58$ $IC\ 95\%\ 0.35\text{-}0.98$ $SE\ 0.264$). Sin embargo, tener el genotipo expresador mostró un aumento en la probabilidad de alcanzar el mínimo de niveles objetivo (≥ 8 ng/L) en un 33% ($HR\ 0.67$, $IC\ 95\%\ 0.45\text{-}0.98$, $SE\ 0.196$), lo que no explica la existencia de un beneficio contundente en la intervención en nuestra población.

En cuanto a los niveles de tacrolimus alcanzados, en un estudio retro-prospectivo realizado por Largeau y su grupo, en una cohorte de 100 pacientes receptores de trasplante renal, los autores analizaron a los pacientes que tuvieron genotipo de *CYP3A5* no expresador y fueron tratados con una dosis inicial de tacrolimus de 0.15 mg/kg/día, y a los expresadores con una dosis inicial de 0.30 mg/kg/día, con dichos resultados establecieron la estrategia prospectiva aplicada a 107 sujetos también receptores de trasplante renal. Los no expresadores que presentaron sobre exposición fue de 63% y las concentraciones tóxicas definidas como niveles valle de tacrolimus >20 ng/L fue de 20.8%, mientras que entre los expresadores, ninguno de los dos homocigotos *1, presentaron sobre exposición en comparación con los heterocigotos que presentaron 25%.

Basados en sus resultados, las dosis asignadas de inicio fueron 0.10 para los *CYP3A5**3/*3, 0.20 para los *CYP3A5**1/*3 y 0.30 para los *CYP3A5**1/*1. Los autores comentan que la sobre exposición de tacrolimus disminuyó en el grupo de la variante mutante de 63% a 40%, $p=0.0038$. Así mismo, ninguno de los otros genotipos mostró dosis de sobre exposición o tóxicas. En este diseño de estudio la maniobra fue comparada con una cohorte histórica de pacientes.⁹⁶ Nuestros datos no mostraron una diferencia estadísticamente significativa en tener niveles valle de tacrolimus por arriba de los establecidos al asignar una dosis específica por genotipo. Sin embargo, sí mostró diferencias en los porcentajes entre ambos grupos. (21 vs 13%) $p=0.44$. Fue también evidente que el grupo de asignación tuvo menos eventos de nefrotoxicidad corroborada por biopsia que el grupo de dosis convencional, tampoco mostrando significancia estadística ($n=5$ vs 1 respectivamente, $p=0.20$) o nefrotoxicidad (OR 5.85, IC 95% 0.60-56.8, SE 1.161), en el seguimiento a 12 meses y los eventos estuvieron relacionados con el grupo de no expresadores de la proteína.

En cuanto a la relación entre incremento de dosis y aumento en niveles valle de tacrolimus, en un estudio retrospectivo realizado por Wang y cols., a una cohorte pequeña de 46 adultos receptores de trasplante renal, se investigaron, no solo las variantes de *CYP3A5*, sino también las variantes de *CYP3A4* y *ABCB1*. Los 5 genotipos candidatos que se utilizaron para el análisis fueron el *CYP3A5**3, *CYP3A4**1G, *ABCB1236T*, *ABCB1C3435T* y *ABCB1G2677T/A*. Los autores reportaron las regresiones lineales realizadas en las dosis normalizadas a los niveles valle, de los días. 7, 14, 21, y 28 después del trasplante, demostrando que las variantes alélicas de *CYP3A5* *1/*1 y *1/*3 tuvieron menores dosis normalizadas a niveles valle requiriendo ajustes mayores (1.40 a 1.75 más veces) de dosis que la variante *3/*3 al día 28 [0.07 (0.06-0.09) mg/kg/día, vs 0.05 (0.02-0.06) mg/kg/día. Los otros polimorfismos analizados no tuvieron influencia en las dosis normalizadas a niveles valle de tacrolimus.⁹⁷ Esto coincide con los hallazgos encontrados en nuestro estudio en el análisis realizado por subgrupos donde se apreciaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos dentro de los respectivos grupos de intervención y control para los niveles de tacrolimus alcanzados (Asignación: AA 1*1 niveles 6.2 ± 2.4 , AG 1*3 niveles 8.5 ± 3.5 y GG 3*3 niveles 10.5 ± 3.7 ng/L, $p<0.0001$; Convencional: AA 1*1 fue de 7.0 ± 3.3 , AG 1*3 dosis 8.7 ± 4.0 y GG 3*3 dosis 9.7 ± 3.5 mg/kg/día, $p=0.005$). Sin embargo, únicamente la delta de dosis para el grupo de asignación entre genotipos presentó diferencias estadísticamente significativas ($p=0.017$) sin que esto afectara la delta de niveles de ambos grupos (C: $p=0.93$, A: $p=0.46$). De las regresiones lineales por subgrupos de genotipo el único que presentó consistentemente una relación lineal entre nivel vs dosis y delta de nivel vs delta de dosis de tacrolimus fue el genotipo AG 1*3 ($r^2=0.031$, $p=0.02$ y $r^2=0.168$, $p<0.0001$ respectivamente). Comparativamente nuestro análisis se extendió dos semanas más que el estudio de Wang y su grupo.

Por otro lado, el estudio prospectivo, observacional, realizado por Prasad y colaboradores, a receptores de trasplante renal en la India, incluyendo un número más grande de pacientes (248) realizaron genotipos para las variantes alélicas de *CYP3A5* *3 y *1, y para los exones de *MDR1* 12 (1236T), 21 (G62677 A/T) y 26 (C3435T), el objetivo de los autores fue analizar el efecto combinado de las variantes de *CYP3A5* y *MDR1*. Los autores reportaron que las dosis normalizadas de niveles valle de tacrolimus fueron significativamente más bajas ($p=0.022$, $p=0.043$), y la dosis de tacrolimus necesarias para alcanzar niveles objetivo significativamente más altas ($p=0.003$) para el genotipo de *CYP3A5**1*1 que para las variantes *CYP3A5**1*3 y *CYP3A5**3*3. Únicamente la variante mutante de *MDR1* G62677 A/T mostró una asociación con los niveles de tacrolimus correlacionando con la expresión de P-gp ($p=0.001$).⁹⁸ Esto contrasta con nuestros resultados ya que efectivamente, en el análisis de subgrupos, hubo diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos para los niveles de tacrolimus alcanzados (C: $p<0.0001$; A: $p=0.005$), el promedio de dosis acumulada (C: $p<0.0001$; A: $p<0.0001$) y el promedio de

niveles de tacrolimus acumulados ($C: p < 0.0001$; $A: p < 0.0001$). Sin embargo, únicamente el delta de dosis para el grupo de asignación entre genotipos presentó diferencias significativas ($p = 0.017$) sin que esto afectara el delta de niveles de ambos grupos ($C: p = 0.93$, $A: p = 0.46$). Como se mencionó anteriormente, en el análisis de subgrupos, las regresiones lineales por genotipo la variante alélica AG 1*3, mostró diferencias significativas en las dosis, delta de dosis, niveles valle y delta de niveles valle de tacrolimus.

Nuestros resultados coinciden ampliamente con lo reportado en la literatura, tal parece que la intervención temprana de la dosis de tacrolimus se ve limitada por el seguimiento que depende de futuros ajustes dinámicos en el tiempo.

Las fortalezas de nuestro estudio son, que se trata de un estudio de intervención en población pediátrica, los cuales son muy complejos de diseñar y llevar a cabo por las implicaciones éticas y limitado número de pacientes. Nuestro grupo incluyó un mayor número de sujetos que en otros estudios de intervención pediátricos, siendo nuestra población relativamente homogénea pues solo incluyó un órgano trasplantado y el seguimiento a largo plazo permitió evaluar el impacto de la maniobra de intervención en variables de resultado de relevancia clínica como la presencia de eventos de rechazo y nefrotoxicidad. Otra ventaja es que los diagnósticos de impacto clínico se realizaron mediante el estándar de oro, que es la biopsia renal. Por otro lado, para subsanar la presencia de la variable confusora de diversas marcas que pudiesen intervenir en la interpretación de los resultados farmacológicos, la evaluación de estos fue únicamente de las primeras seis semanas, en las que se garantizó que toda la población recibiera la misma marca del medicamento. Así mismo los genotipos analizados (AA 1*1, AG 1*3 y GG 3*3) pertenecientes a *CYP3A5* son los más comúnmente estudiados y los que han mostrado mayor evidencia de impacto en la metabolización del fármaco. Los polimorfismos de *CYP3A4* y *ABCB1*, no han mostrado impacto o este ha sido mínimo. Finalmente, la técnica de genotipificación mediante secuenciación directa es una técnica validada y todas las personas involucradas en las mediciones, tienen especialización en el área.

Dentro de las limitaciones evidentes, a pesar de que la distribución de las variables demográficas y otras asociadas a trasplante fueron equilibradas entre ambos grupos de intervención y control, la frecuencia de los genotipos en cada uno de ellos fue diferente con un mayor porcentaje de no expresadores en el grupo control que en el grupo de asignación (29.6% Vs 16.1%, $p = 0.04$). Con la sustancial evidencia biológica y clínica disponible de la influencia de los genotipos en la metabolización del fármaco, es muy probable que esto, haya impactado en los resultados. La utilización de una estrategia de aleatorización más adecuada hubiese permitido balancear los grupos por la variable independiente. Entre estas técnicas se pueden mencionar la aleatorización en bloques, que permite distribuir de una forma más uniforme a los pacientes entre ambos grupos, sin embargo, esto no necesariamente garantiza el balance de características específicas. Otra estrategia de aleatorización es la estratificada, que permite elegir las variables predictoras de importancia garantizando una predicción más acertada de los estimadores de resultado. Sin embargo, la aleatorización estratificada requiere de un número más grande de sujetos de estudio, lo cual es limitado en el área pediátrica y en este estudio específico. Por lo anterior la técnica ideal de aleatorización para nuestro estudio la técnica de minimización, que permite aleatorizar a los pacientes de una forma adaptativa, permitiendo mínimas diferencias entre grupos. Por otro lado, la falta de disponibilidad de dosificaciones fraccionadas, así como el no cegamiento del proveedor de salud (medico-enfermera) a la maniobra, con la subsecuente influencia de la preocupación clínica a la nefrotoxicidad, no permitieron el alcanzar las dosis iniciales planeadas.

Nuestros resultados no respaldan la utilización de una dosis inicial de tacrolimus guiada de acuerdo con el genotipo de *CYP3A5* en pacientes pediátricos receptores de trasplante renal. Sin embargo, no es posible determinar, si la dosis inicial asignada de acuerdo con el genotipo

realmente impacta en el tiempo en alcanzar niveles ya que los grupos no estuvieron balanceados en la variable independiente, y no se alcanzó el poder estadístico esperado con el número de sujetos de estudio. A pesar de esto, nuestros datos muestran que probable que la asignación única de la dosis inicial de acuerdo con el genotipo de *CYP3A5* no sea suficiente para optimizar la habilidad de alcanzar y mantenerse en niveles terapéuticos de tacrolimus.

Por otro lado, los análisis adicionales realizados por subgrupos, en específico las regresiones lineales comparando entre maniobra de intervención y el grupo control, permiten observar que, a pesar de los incrementos en dosis, no existe una respuesta lineal en los incrementos en niveles, evaluados a través de las deltas. Lo que traduce que la práctica del trabajador de salud en los incrementos de las dosis de tacrolimus en el tiempo tienen una gran influencia en el comportamiento de los niveles, y que ésta práctica, e incrementos dinámicos, pueden ser informadas y posiblemente guiada de acuerdo con el genotipo de *CYP3A5*. Tal parece que los pacientes con genotipo *CYP3A5*1*1* fueron incapaces de alcanzar niveles óptimos o al menos presentaron un mayor porcentaje de niveles bajos, mientras que fueron los del genotipo *CYP3A5*3*3* los que más se mantuvieron en niveles objetivo, pero también en niveles altos e incluso tóxicos, mostrando en este caso, la maniobra de intervención un beneficio limitado. El genotipo que parece ser más predecible y con incrementos proporcionales o más lineales fue el genotipo *CYP3A5*1*3*.

Nuestros resultados, a pesar de las limitaciones de diseño e implementación del estudio coinciden ampliamente con la literatura mundial, descartando un beneficio claro con la asignación de una dosis inicial de tacrolimus guiada por genotipo de *CYP3A5*. Sin embargo, los resultados obtenidos en los análisis adicionales abren la opción para más estudios de investigación relacionados con la dosificación dinámica y longitudinal de tacrolimus, informado a través del genotipo de *CYP3A5*.

3. CONCLUSIONES

En el presente ensayo clínico, de aleatorización simple, con cegamiento únicamente a los sujetos de estudio, realizado a pacientes pediátricos receptores de trasplante renal en un centro de atención terciaria en México. Se investigó el beneficio de la asignación de dosis inicial de tacrolimus de acuerdo con los genotipos más comúnmente descritos de *CYP3A5* (*1*1*, *1*3* y *3*3*). El objetivo principal fue mejorar el tiempo en alcanzar niveles valle después del trasplante mediante la aplicación de la maniobra, y los objetivos secundarios fue la evaluación de la frecuencia de los eventos de rechazo y toxicidad asociados a la maniobra en el seguimiento a doce meses. Coincidente con la literatura mundial, nuestro estudio no demostró diferencias en el tiempo en alcanzar niveles valle objetivo de tacrolimus después del trasplante entre el grupo de dosis convencional y asignación de dosis de acuerdo con el genotipo. Así mismo no se identificaron relación con la temporalidad de alcanzar niveles valle objetivo y las complicaciones a doce de meses de rechazo y toxicidad. Consideramos que las limitaciones de nuestro estudio como el desbalance entre los grupos de la variable independiente (genotipos), por inadecuada técnica de aleatorización, el menor poder estadístico alcanzado y las variaciones en la dosificación inicial sesgadas por el cegamiento simple, pudieron influenciar el tamaño de los estimadores de resultado. Sin embargo, ante la evidencia proveniente de otros estudios de investigación clínica, es imposible sugerir la maniobra como beneficiosa para optimizar el tiempo en alcanzar niveles valle objetivo. Tampoco fue posible evidenciar una asociación entre la maniobra y las complicaciones a doce meses como rechazo y nefrotoxicidad. A pesar de que algunos de los estudios discutidos muestran relativa evidencia positiva en la administración inicial de tacrolimus guiada por genotipo de *CYP3A5*, su beneficio parece muy limitado.

Por otro lado, en los análisis estadísticos de parámetros farmacológicos realizados por subgrupo de genotipo entre grupo de intervención y grupo control, fue evidente que la presencia de determinados genotipos de *CYP3A5* influyen el metabolismo de tacrolimus, a pesar de la maniobra de intervención. Lo que mantiene la interrogante de investigación en cuanto al beneficio posible de su uso para informar la práctica clínica en el uso de inmunosupresión y monitoreo farmacológico. Fue evidente en los análisis de los parámetros farmacológicos, que como se ha reportado antes, las dosis y niveles tacrolimus no tienen una relación lineal. Sin embargo, al analizar los datos por subgrupo de genotipo, el único que mostró consistentemente una relación lineal tanto en las deltas de dosis como deltas de niveles fue el genotipo de *AG 1*3*. El comportamiento de las deltas de dosis y niveles de tacrolimus en el análisis de subgrupos (o factor de cambio relacionado con las prescripciones médicas) sugiere que la decisión del clínico, o proveedor de salud de forma dinámica y longitudinal pudiera ser guiada por la capacidad de los pacientes de alcanzar niveles en el tiempo de acuerdo con la capacidad metabólica del fármaco por presencia de genotipo *CYP3A5* y no únicamente la dosis inicial. Estos resultados invitan a futuras investigaciones de dosificaciones consecutivas guiadas de acuerdo con el genotipo y no únicamente la dosis inicial de una forma más individualizada.

Con lo anterior concluimos que:

- La administración de una dosis inicial de tacrolimus de acuerdo con el genotipo de *CYP3A5* después del trasplante renal en población pediátrica en México, no parece agregar beneficios en el tiempo para alcanzar niveles valle del fármaco ni en la disminución de las complicaciones asociadas a doce meses de seguimiento.
- La presencia de los genotipos de *CYP3A5*, *1*1*, *1*3*, *3*3*, tiene un impacto alto en la metabolización de tacrolimus y la capacidad de alcanzar niveles valle objetivo. El presente estudio, confirma influencia de los polimorfismos en el metabolismo de tacrolimus y que esta prevalece a pesar de maniobras dosificación inicial
- Nuestros análisis de parámetros farmacológicos adicionales, como dosis, niveles, deltas y mediciones acumuladas, brindan información acerca de la práctica dinámica del proveedor de salud.
- Las maniobras únicas de dosis iniciales de tacrolimus informadas por el genotipo de *CYP3A5* no son suficientes para modificar los parámetros farmacológicos en el tiempo y optimizar las metas de inmunosupresión después del trasplante renal en pacientes pediátricos.
- Es necesario el desarrollo de estudios longitudinales con mediciones repetidas de los parámetros farmacológicos de tacrolimus y la influencia de los polimorfismos de *CYP3A5* que proporcionen evidencia de la práctica clínica habitual en los centros de trasplantes para a desarrollar estudios intervención enfocados al rango de incrementos estructurado e individualizado de acuerdo con genotipo para evitar complicaciones.

4. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Garabed Eknoyan, Norbert Lameire, Kai-Uwe Eckardt, Bertram L Kasiske DCW. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int - Suppl.* 2013;3(1):1-163. doi:10.1038/kisup.2012.77
2. Drey N, Roderick P, Mullee M, Rogerson M. A population-based study of the incidence and outcomes of diagnosed chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis.* 2003;42(4):677-684. doi:10.1053/S0272-6386(03)00916-8
3. Warady BA, Chadha V. Chronic kidney disease in children: the global perspective. *Pediatr Nephrol.* 2007;22(12):1999-2009. doi:10.1007/s00467-006-0410-1
4. Becherucci F, Roperto RM, Materassi M, Romagnani P. Chronic kidney disease in children. *Clin Kidney J.* 2016;9(4):583-591. doi:10.1093/ckj/sfw047
5. Diaz-Gonzalez de Ferris ME, Díaz-González de Martínez ML, Díaz-González de Velázquez AM, et al. An Interdisciplinary Approach to Optimize the Care of Transitioning Adolescents and Young Adults with CKD. *Blood Purif.* Published online 2021. doi:10.1159/000513520
6. Ku E, McCulloch CE, Ahearn P, Grimes BA, Mitsnefes MM. Trends in Cardiovascular Mortality among a Cohort of Children and Young Adults Starting Dialysis in 1995 to 2015. *JAMA Netw Open.* 2020;3(9):1-11. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.16197
7. YaghoubiFard S, Goudarzi R, Etminan A, Baneshi MR, Barouni M, Sirizi MJ. Cost-effectiveness analysis of dialysis and kidney transplant in patients with renal impairment using disability adjusted life years in Iran. *Med J Islam Repub Iran.* 2016;30(1).
8. Dharnidharka VR, Fiorina P, Harmon WE. Kidney Transplantation in Children. *N Engl J Med.* 2014;371(6):549-558. doi:10.1056/NEJMra1314376
9. Filler G. Challenges in pediatric transplantation: the impact of chronic kidney disease and cardiovascular risk factors on long-term outcomes and recommended management strategies. *Pediatr Transplant.* 15(1):25-31. doi:https://dx.doi.org/10.1111/j.1399-3046.2010.01439.x
10. 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(12):1157-1167. doi:10.1056/nejmra035092
11. Woodward RS, Flore MC, Machnicki G, Brennan DC. The long-term outcomes and costs of diabetes mellitus among renal transplant recipients: tacrolimus versus cyclosporine. *Value Heal.* 14(4):443-449. doi:https://dx.doi.org/10.1016/j.jval.2010.10.030
12. Collaborative Studies NAPRTCS 2014 Annual Transplant Report. *Transplantation.* Published online 2014:1-102.
13. N OJ of the I. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int.* 2013;3(1):Supplement. doi:10.1038/kisup.2012.76

14. Kootte AM, Lensen LM, van Bockel JH, van Es LA, Paul LC. High- and low-dose regimens of cyclosporin in renal transplantation: immunosuppressive efficacy and side-effects. *Nephrol Dial Transplant*. 3(5):666-670. <https://www.cochranelibrary.com/central/doi/10.1002/central/CN-00057895/full>
15. de Mare-Bredemeijer EL, Metselaar HJ. Optimization of the use of Calcineurin inhibitors in liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 26(1):85-95. doi:<https://dx.doi.org/10.1016/j.bpg.2012.01.017>
16. Mindlova M, Boucek P, Saudek F, et al. Kidney retransplantation following graft loss to polyoma virus-associated nephropathy: an effective treatment option in simultaneous pancreas and kidney transplant recipients. *Transpl Int*. 21(4):353-356. doi:<https://dx.doi.org/10.1111/j.1432-2277.2007.00620.x>
17. Wu S, Xu H, Chen B, et al. Sensitized recipients exhibit accelerated but not hyperacute rejection of vascularized composite tissue allografts. *Transplantation*. 92(6):627-633. doi:<https://dx.doi.org/10.1097/TP.0b013e31822b9264>
18. Lefaucheur C, Nochy D, Andrade J, et al. Comparison of combination plasmapheresis/IVIg/Anti-CD20 versus high-dose ivig in the treatment of antibody-mediated rejection. *Am J Transplant*. 2009;9(5):1099-1107. doi:10.1111/j.1600-6143.2009.02591.x
19. Nemati E, Taheri S, Pourfarziani V, Einollahi B. Human leukocyte antigen (HLA) B-27 and older age are associated with augmented cyclosporine blood bioavailability in renal allograft recipients: an attempt toward individualization of immunosuppression. *Ann Transplant*. 13(2):32-36. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med6&AN=18566557>
20. Mohammadpour N, Elyasi S, Vahdati N, Mohammadpour AH, Shamsara J. A review on therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs. *Iran J Basic Med Sci*. 2011;14(6):485-498. doi:10.22038/ijbms.2011.5047
21. Bakr MA, Sally S, Foda MA, Sobh MA, el-Sherif AK, Ghoneim MA. Different trends in immunosuppression: 10 years' experience with cyclosporine after living related donor renal transplantation. *Transplant Proc*. 26(6):3163-3166. <https://www.cochranelibrary.com/central/doi/10.1002/central/CN-00108138/full>
22. Kandaswamy R, Dunn T, Humar A, Sutherland DE. Can we maintain immunosuppression avoiding nephrotoxic agents in pancreas transplantation? *Transplant Proc*. 40(2):516-517. doi:<https://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2008.01.046>
23. Hricik DE, Formica RN, Nickerson P, et al. Adverse Outcomes of Tacrolimus Withdrawal in Immune-Quiescent Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol*. 26(12):3114-3122. doi:<https://dx.doi.org/10.1681/ASN.2014121234>
24. Lazzaro C, McKechnie T, McKenna M. Tacrolimus versus cyclosporin in renal transplantation in Italy: cost-minimisation and cost-effectiveness analyses. *J Nephrol*. 15(5):580-588. <https://www.cochranelibrary.com/central/doi/10.1002/central/CN-00411799/full>
25. Li CJ, Li L. Tacrolimus in preventing transplant rejection in Chinese patients--optimizing use. *Drug Des Dev Ther*. 9:473-485. doi:<https://dx.doi.org/10.2147/DDDT.S41349>
26. Henry ML. Cyclosporine and tacrolimus (FK506): a comparison of efficacy and

- safety profiles. *Clin Transplant*. 13(3):209-220.
<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=10383101>
27. Shabib S, Al-Mehaideb A, Al-Banamie M, Nazer H. A twenty year follow-up of 72 children post liver transplant. *Hepatol Int*. 4 (1):25.
 doi:<http://dx.doi.org/10.1007/s12072-010-9167-5>
 28. Finn WF. FK506 nephrotoxicity. *Ren Fail*. 21(3-4):319-329.
<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=10416209>
 29. Chapman JR. Chronic Calcineurin Inhibitor Nephrotoxicity—Lest We Forget. *Am J Transplant*. 2011;11(4):693-697. doi:10.1111/j.1600-6143.2011.03504.x
 30. Orme ME, Jurewicz WA, Kumar N, McKechnie TL. The cost effectiveness of tacrolimus versus microemulsified cyclosporin: a 10-year model of renal transplantation outcomes. *Pharmacoeconomics*. 21(17):1263-1276.
<http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med4&AN=14986738>
 31. Larriba J, Imperiali N, Groppa R, Giordani C, Algranatti S, Redal MA. Pharmacogenetics of immunosuppressant polymorphism of CYP3A5 in renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 42(1):257-259.
 doi:<https://dx.doi.org/10.1016/j.transproceed.2009.11.028>
 32. Almoguera B, Shaked A, Keating BJ. Transplantation genetics: Current status and prospects. *Am J Transplant*. 2014;14(4):764-778. doi:10.1111/ajt.12653
 33. Janjua HS, Mahan JD. Growth in Chronic Kidney Disease. *Adv Chronic Kidney Dis*. 2011;18(5):324-331. doi:<http://dx.doi.org/10.1053/j.ackd.2011.02.005>
 34. Bacchetta J, Harambat J, Cochat P, Salusky IB, Wesseling-perry K. The consequences of chronic kidney disease on bone metabolism and growth in children. *Nephrol Dial Transpl*. 2012;27:3063-3071. doi:10.1093/ndt/gfs299
 35. Skowronska-Jozwiak E, Lorenc RS. Metabolic bone disease in children: Etiology and treatment options. *Treat Endocrinol*. 5(5):297-318.
 doi:<http://dx.doi.org/10.2165/00024677-200605050-00004>
 36. Koshy SM, Geary DF. Anemia in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol*. 2008;23(2):209-219. doi:10.1007/s00467-006-0381-2
 37. Kobori H, Nangaku M, Navar LG, Nishiyama A. The intrarenal renin-angiotensin system: From physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease. *Pharmacol Rev*. 59(3):251-287. doi:<http://dx.doi.org/10.1124/pr.59.3.3>
 38. Mitsnefes MM. Cardiovascular Disease in Children with Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Neph*. 2012;23:578-585. doi:10.1681/ASN.2011111115
 39. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351(13):1296-1305. doi:10.1056/nejmoa041031
 40. Medeiros-Domingo M, Romero-Navarro B, Valverde-Rosas S, Delgadillo R, Varela-Fascinetto G, Muñoz-Arizpe R. Trasplante renal en pediatría. *Rev Investig Clin*. 2005;57(2):230-236.
 41. Wallemacq PE, Verbeeck RK. Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients. *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(4):283-295. doi:10.2165/00003088-200140040-00004

42. Najarian JS, Almond PS, Gillingham KJ, et al. Renal transplantation in the first five years of life. *Kidney Int.* 1993;43:S40-S44.
43. Tejani A, Sullivan K. Long-term follow-up of growth in children post-transplantation. *Kidney Int.* 1993;43:S56-S58.
44. Fine RN. Renal transplantation for children--the only realistic choice. *Kidney Int.* 1985;17:S15-S17.
45. Danovitch GM. *Handbook of Kidney Transplantation*. Fifth Edit. Wolters Kluwer, Lippincott Williams & Wilkins; 2010.
46. Abul Abbas, Andrew Litchman SP. *Inmunología Celular y Molecular*. 8th Editio. Elsevier Castellano; 2015.
47. Loupy A, Haas M, Roufosse C, et al. The Banff 2019 Kidney Meeting Report (I): Updates on and clarification of criteria for T cell- and antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2020;20(9):2318-2331. doi:10.1111/ajt.15898
48. FRIIS-HANSEN B. Body water compartments in children: changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics.* 1961;28 (2)(0031-4005 (Print)):169-181. doi:10.1542/peds.28.2.169
49. Goldfarb DA. Immunosuppressive Drugs for Kidney Transplantation. *J Urol.* 2005;173(6):2105-2105. doi:10.1097/01.ju.0000161309.14422.01
50. Balistreri WF, Heubi JE, Suchy FJ. Bile acid metabolism: relationship of bile acid malabsorption and diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 1983;2(1):105-121.
51. Wallemacq PE, Reding R. FK506 (tacrolimus), a novel immunosuppressant in organ transplantation: Clinical, biomedical, and analytical aspects. *Clin Chem.* 1993;39(11 I):2219-2228. doi:10.1093/clinchem/39.11.2219
52. Thomson AW, Bonham A ZA. Mode of action of Tacrolimus (FK506): molecular and cellular mechanisms. *Ther Drug Monit.* 1995;17(6):584-589. doi:10.1097/00007691-199512000
53. Williams CR, Gooch JL. Calcineurin inhibitors and immunosuppression - a tale of two isoforms. *Expert Rev Mol Med.* 2012;14(July):1-10. doi:10.1017/erm.2012.8
54. Alberu J, Urrea EM. [Immunosuppression for kidney transplant recipients: current strategies]. *Rev Investig Clin.* 57(2):213-224. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med5&AN=16524061>
55. Kelly PA, Burckart GJ, Venkataramanan R. Tacrolimus: a new immunosuppressive agent. *Am J Heal Pharm.* 52(14):1521-1535. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med3&AN=7552894>
56. Hesselink DA, van Gelder T, van Schaik RHN. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: One step closer toward individualized immunosuppression? *Pharmacogenomics.* 2005;6(4):323-337. doi:10.1517/14622416.6.4.323
57. Reyes-Pérez H, Medeiros-Domingo M. Uso de tacrolimus en pediatría. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2006;63(4):276-285.
58. Yu M, Liu M, Zhang W, Ming Y. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Pharmacogenetics of Tacrolimus in Kidney Transplantation. *Curr Drug Metab.* 19(6):513-522. doi:<https://dx.doi.org/10.2174/1389200219666180129151948>
59. Schutte-Nutgen K, Tholking G, Suwelack B, Reuter S. Tacrolimus - Pharmacokinetic Considerations for Clinicians. *Curr Drug Metab.* 19(4):342-350.

- doi:<https://dx.doi.org/10.2174/1389200219666180101104159>
60. Brunet M, Van Gelder T, Åsberg A, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit.* 2019;41(3):261-307. doi:10.1097/FTD.0000000000000640
 61. Machida M, Takahara S, Ishibashi M, Hayashi M, Sekihara T, Yamanaka H. Effect of temperature and hematocrit on plasma concentration of FK 506. *Transplant proceedings.* 1991;23(6):2753-2754.
 62. Piekoszewski W, Jusko WJ. Plasma protein binding of tacrolimus in humans. *J Pharm Sci.* 1993;82(3):340-341. doi:10.1002/jps.2600820325
 63. 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(4):422-430. doi:10.1097/01.ftd.0000170029.36573.a0
 64. Tzakis AG, Fung JJ, Todo S, Reyes J, Green M, Starzl TE. Use of FK 506 in pediatric patients. *Transplant Proc.* 23(1 Pt 2):924-927. <http://ovidsp.ovid.com/ovidweb.cgi?T=JS&CSC=Y&NEWS=N&PAGE=fulltext&D=med3&AN=1703353>
 65. Fogo A, Bruijn J, Cohen A, Colvin R AC. *Fundamentals on Renal Pathology.* Second Edi. (Springer, ed.); 2014.
 66. Eichelbaum M, Burk O. CYP3A genetics in drug metabolism. *Nat Med.* 2001;7(3):285-287. doi:10.1038/85417
 67. Reyes-Hernández OD, Arteaga-Illán G, Elizondo G. Detection of CYP3A4* 1B and CYP3A4* 2 polymorphisms by RFLP. Distribution frequencies in a Mexican population. *Clin Genet.* 2004;66(2):166-168. doi:10.1111/j.1399-0004.2004.00286.x
 68. Reyes-Hernández 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(2):97-103. doi:10.1159/000109983
 69. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Adv Drug Deliv Rev.* 2002;54(10):1271-1294. doi:10.1016/S0169-409X(02)00066-2
 70. 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(4):383-391. doi:10.1038/86882
 71. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(4):207-221. doi:10.2165/11317550-000000000-00000
 72. MacPhee IAM, Holt DW. A pharmacogenetic strategy for immunosuppression based on the CYP3A5 genotype. *Transplantation.* 2008;85(2):163-165. doi:10.1097/TP.0b013e3181609054
 73. MacPhee IAM, Fredericks S, Tai T, et al. The influence of pharmacogenetics on the time to achieve target tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2004;4(6):914-919. doi:10.1111/j.1600-6143.2004.00435.x
 74. Xie HG, Wood AJJ, Kim RB, Stein CM, Wilkinson GR. Genetic variability in

- CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics*. 2004;5(3):243-272. doi:10.1517/phgs.5.3.243.29833
75. McLaren A. Impact of Cytochrome P450 (CYP) 3A5 Genetic Polymorphism on Tacrolimus Doses and Concentration/Dose Ratio in Renal Transplant Recipients. *Transplantation*. 2003;76(11):1541-1542. doi:10.1097/01.TP.0000091125.73504.E3
 76. Zheng HX, Zeevi A, Schuetz E, et al. Tacrolimus Dosing in Adult Lung Transplant Patients Is Related to Cytochrome P4503A5 Gene Polymorphism. *J Clin Pharmacol*. 2004;44(2):135-140. doi:10.1177/0091270003262108
 77. 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(8):1182-1187. doi:10.1097/01.TP.0000137789.58694.B4
 78. MacPhee IAM, 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(4):499-502. doi:10.1097/01.TP.0000151766.73249.12
 79. 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(7):1889-1896. doi:10.1097/01.ASN.0000073901.94759.36
 80. Kreutz R, Zürcher 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(10):665-671. doi:10.1097/00008571-200410000-00004
 81. García-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(4):283-287. doi:10.1016/j.arcmed.2012.05.005
 82. Kurzawski M, Dąbrowska J, Dziewanowski K, Domański L, Peruzińska M, Drożdżik M. CYP3A5 and CYP3A4, but not ABCB1 polymorphisms affect tacrolimus dose-adjusted trough concentrations in kidney transplant recipients. *Pharmacogenomics*. 2014;15(2):179-188. doi:10.2217/pgs.13.199
 83. Meyer M De, Wallemacq P, Lison D, Haufroid V. Effect of new functional CYP3A4 polymorphism on calcineurin inhibitors dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenomics J*. 2011;12(10):1383-1396. doi:10.2217/PGS.11.9
 84. Schwartz GJ, Work DF. Measurement and estimation of GFR in children and adolescents. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(11):1832-1843. doi:10.2215/CJN.01640309
 85. Abraham AG, Schwartz GJ, Furth S, Warady BA, Muñoz A. New equations to estimate GFR in children with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(11):1724-1730. doi:10.2215/CJN.01860309
 86. Staples A, Leblond R, Watkins S, Wong C, Brandt J. Validation of the revised Schwartz estimating equation in a predominantly non-CKD population. *Pediatr Nephrol*. 2010;25(11):2321-2326. doi:10.1007/s00467-010-1598-7
 87. Jacobo-Cabral CO, García-Roca P, Reyes H, et al. Limustin®, a non-innovator

- tacrolimus formulation, yields reduced drug exposure in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2014;18(7):706-713. doi:10.1111/ptr.12335
88. Reséndiz-Galván JE, Medellín-Garibay SE, Milán-Segovia R del C, Niño-Moreno P del C, Isordia-Segovia J, Romano-Moreno S. Dosing recommendations based on population pharmacokinetics of tacrolimus in Mexican adult patients with kidney transplant. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2019;124(3):303-311. doi:10.1111/bcpt.13138
 89. Dilla T, Valladares A, Lizán L, Sacristán JA. Treatment adherence and persistence: Causes, consequences and improvement strategies. *Aten Primaria*. 2009;41(6):342-348. doi:10.1016/j.aprim.2008.09.031
 90. Smith JM, Martz K, Blydt-Hansen TD. Pediatric kidney transplant practice patterns and outcome benchmarks, 1987-2010: A report of the North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies. *Pediatr Transplant*. 2013;17(2):149-157. doi:10.1111/ptr.12034
 91. Gray BH, Cooke RA, Tannenbaum AS. Research involving human subjects. *Science (80-)*. 1978;201(4361):1094. doi:10.1126/science.356268
 92. Multiple. Clinical Research in resource-limited settings. Council for International Organizations of MEdical Sciences. Published 2021. <https://cioms.ch/publications/product/clinical-research-in-low-resource-settings/>
 93. Secretaria de Salud. Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigaciones para la Salud. *Ley Gen Salud*. Published online 1987. <http://www.cofepris.gob.mx/MJ/Paginas/Reglamentos.aspx>
 94. Shuker N, Bouamar R, van Schaik RH, et al. A Randomized Controlled Trial Comparing the Efficacy of Cyp3a5 Genotype-Based With Body-Weight-Based Tacrolimus Dosing After Living Donor Kidney Transplantation. *Am J Transplant*. 16(7):2085-2096. doi:10.1111/ajt.13691
 95. Min S, Papaz T, Lafreniere-Roula M, et al. A randomized clinical trial of age and genotype-guided tacrolimus dosing after pediatric solid organ transplantation. 2018;(May):1-9. doi:10.1111/ptr.13285
 96. Largeau B, Guellec CB Le, Longuet H, et al. Comparison of Tacrolimus Starting Doses Based on CYP3A5 Phenotype or Genotype in Kidney Transplant Recipients. *Prog Transplant*. Published online 2019. doi:10.1177/1526924819873905
 97. Wang X, Yang Y, Liu Z, et al. Switching Immunosuppression from Cyclosporine to Tacrolimus in Kidney Transplant Recipients Based on CYP3A5 Genotyping. *Ther Drug Monit*. 2019;41(1):97-101. doi:10.1097/FTD.0000000000000579
 98. Prasad N, Jaiswal A, Behera MR, et al. Melding Pharmacogenomic Effect of MDR1 and CYP3A5 Gene Polymorphism on Tacrolimus Dosing in Renal Transplant Recipients in Northern India. *Kidney Int Reports*. 2020;5(1):28-38. doi:10.1016/j.ekir.2019.09.013

5. ANEXOS

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: ASIGNACIÓN DE DOSIS DE TACROLIMUS SEGÚN GENOTIPO EN NIÑOS EN TRASPLANTE RENAL CON LA EVOLUCIÓN DEL INJERTO A 12 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 estos medicamentos requiere que se vigilen los niveles en sangre ya que niveles bajos pueden favorecer el rechazo y niveles altos favorecer la toxicidad en el riñón por este medicamento.

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 está 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 del tacrolimus. Además, pueden ser las responsables de los efectos adversos de estos medicamentos.

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 y el micofenolato permitirá ajustar mejor la dosis de los medicamentos 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 en C María Inés del Pilar García Roca o la Dra Ana Catalina Alvarez Elías en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo, en el 4º piso del edificio de Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez, o comuníquese al teléfono 5228-9917 extensión 4410.

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 de este.

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 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 riñón 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 a veces 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 papás 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 teléfono _____

Testigo 1

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

Testigo 2

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____