



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

**CORRELACIÓN DE LA FARMACOCINÉTICA CON
LA FARMACODINAMIA DE TACROLIMUS EN EL
TRATAMIENTO DE PACIENTES PEDIÁTRICOS CON
TRASPLANTE RENAL**

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALIDAD EN:

NEFROLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

Dr. Enrique Omar Guadarrama Díaz

ASESORA DE TESIS:

Dra. Mara Medeiros Domingo



México, D.F

FEBRERO 2013



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.

DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO

ASESORA DE TESIS
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA PEDIATRICA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

M.C. MARÍA INÉS DEL PILAR GARCÍA ROCA

CO - ASESORA DE TESIS
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA PEDIATRICA
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

Índice

| | |
|--|----|
| Resumen..... | 4 |
| Marco Teórico..... | 6 |
| Antecedentes..... | 23 |
| Planteamiento del problema..... | 25 |
| Hipótesis..... | 26 |
| Justificación..... | 27 |
| Objetivos..... | 28 |
| Metodología..... | 29 |
| • Diseño del estudio..... | 29 |
| • Población blanco..... | 29 |
| • Criterios de selección de los pacientes..... | 29 |
| • Recolección de datos..... | 30 |
| • Definición operativa de variables..... | 33 |
| • Instrumentos de recolección de datos..... | 33 |
| • Análisis estadístico..... | 33 |
| • Consideraciones éticas..... | 34 |
| • Recursos materiales..... | 34 |
| Resultados..... | 35 |
| Discusión..... | 43 |
| Conclusiones..... | 44 |
| Bibliografía..... | 45 |
| Anexos..... | 47 |

RESUMEN

MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

Los inhibidores de calcineurina, como el tacrolimus, se utilizan como eje central de la inmunosupresión en el trasplante renal; el monitoreo terapéutico, se realiza midiendo las concentraciones valle. Se propone a la monitorización farmacodinámica como una nueva estrategia para proveer información acerca del efecto biológico específico. Se ha demostrado una correlación entre el nivel de CsA en sangre y la supresión de IL-2, TNF alpha y GM-CSF hasta en un 85%. En población adulta se demostró que la expresión residual de los genes regulados por el factor nuclear de transcripción de linfocitos T (NFAT), podría ser un método para monitorizar a pacientes con trasplante renal.

OBJETIVOS

Determinar la correlación entre la concentración mediante área bajo la curva del tacrolimus en un periodo de 12 horas y la expresión génica de TNF- α , regulado por NFAT en pacientes pediátricos con trasplante renal.

METODOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal y experimental analítico en niños en el Hospital Infantil de México Federico Gómez, operados de trasplante renal, con tres meses mínimos de evolución, dosis sin cambio de tacrolimus con la misma proporción administrada cada 12 horas y función estable del injerto. Determinación de la farmacocinética de 6 puntos en un intervalo de 12 horas. Cuantificación de expresión del gen TNF- α y el gen de control interno 18s, se llevó a cabo mediante PCR en tiempo real. Determinación de genotipo para CYP3A5, mediante extracción directa de DNA y secuenciación.

RESULTADOS

Seis pacientes con función del injerto estable, mediana de edad fue de 14.5 años. Se tomaron 6 puntos a lo largo de 12 horas de determinación, estableciendo

posteriormente los parámetros farmacocinéticos mas significativos. En 3 casos se observo no expresión del citocromo (homocigotos GG - *3*3) y en 2 casos la expresión del mismo (heterocigoto AG – *1*3). Existe una correlación negativa entre la concentración de tacrolimus de manera global por punto de farmacocinética con respecto a la media correspondiente al mismo punto de LN TNF α . En la curva de farmacocinética y expresión génica contra el tiempo, en cada punto de la farmacocinética correspondiente, se observa que existe una tendencia a la disminución de los niveles de TNF α ante los niveles más altos de tacrolimus, con amplia desviación estándar en cada punto.

CONCLUSIONES

En la correlación existente entre la concentración mediante área bajo la curva del tacrolimus en un periodo farmacocinético de 12 horas, se observa que a pesar de no ser estadísticamente significativa, se tiene una r que representa que esta es negativa, apoyando el hecho de considerar la expresión génica de este gen como marcador farmacodinámico dado a que su concentración puede sugerir inmunosupresión excesiva o insuficiente. Es necesario realizar este estudio en poblaciones mexicanas con mayor número de pacientes pediátricos para determinar el potencial de la cuantificación de la expresión génica como parámetro de vigilancia farmacodinámico del tacrolimus.

MARCO TEORICO

El trasplante renal, es la terapia universalmente aceptada como de elección para los pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica terminal (ERCT). Aproximadamente dos terceras partes de pacientes pediátricos con ERCT reciben en última instancia un trasplante renal. El éxito en el trasplante renal en niños y adolescentes, no solamente resuelve la sintomatología urémica, sino también permite una mejoría significativa del retardo del crecimiento esquelético, maduración sexual, desempeño cognitivo y psicosocial. La calidad de vida en el paciente pediátrico con un injerto renal funcional siempre es superior a cualquier método dialítico existente[1].

El éxito actual en el trasplante renal pediátrico, se atribuye a mejorías tecnológicas durante el trasplante, terapia inmunosupresora y seguimiento clínico apropiado para cada paciente. El trasplante presenta mejor supervivencia que la diálisis en cualquier grupo de edad de pacientes pediátricos. Se describe hasta un 95% de supervivencia del injerto a 5 años del trasplante, mientras que en pacientes sometidos a procedimientos dialíticos presentan una supervivencia de 80%. Sin embargo el éxito del trasplante renal en niños se mantiene como un reto continuo, debido a que este grupo de pacientes se mantiene en constante crecimiento, desarrollo y cambio. Cada etapa del desarrollo produce una serie de cambios y retos médicos, biológicos y psicosociales que deben ser superados de manera adecuada para un pronóstico favorable del injerto.

ETIOLOGIA DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA TERMINAL

Las enfermedades congénitas, hereditarias y quísticas abarcan cerca del 50% de los pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica terminal, mientras que sólo el 20% de ellos corresponde a enfermedades glomerulares primarias.

Los diagnósticos primarios más comunes son la displasia, hipoplasia y aplasia renal y la uropatía obstructiva, cada una presente en cerca de 16% de pacientes.

La glomeruloesclerosis focal y segmentaria es la tercera causa más común (12%) y continúa siendo la enfermedad renal adquirida más prevalente. TABLA 1.

TABLA 1. INCIDENCIA DE ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA TERMINAL EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL DE ACUERDO A LA ENFERMEDAD PRIMARIA 2007[1]

| Enfermedad Renal Primaria | Incidencia (%) |
|--|-----------------------|
| Enfermedades hereditarias, quísticas y congénitas | 47.4 |
| Hipoplasia, displasia renal | 16 |
| Uropatía congénita obstructiva | 15.6 |
| Enfermedad poliquística | 3 |
| Nefronoptosis | 2.8 |
| Síndrome de Prune Belly | 2.6 |
| Síndrome nefrótico congénito | 2.6 |
| Síndrome de Alport y otras enfermedades familiares | 2.2 |
| Cistinosis | 2.1 |
| Oxalosis | 0.5 |
| Glomerulonefritis | 21.3 |
| Glomerulonefritis focal y segmentaria | 11.7 |
| Crónica | 3.4 |
| Membranoproliferativa tipo I | 1.8 |
| Con proliferación extracapilar idiopática | 1.8 |
| Nefropatía IgA | 1.3 |
| Membranoproliferativa tipo II | 0.9 |
| Nefropatía membranosa | 0.4 |
| Nefritis intersticial y pielonefritis | 7.1 |
| Pielonefritis crónica y nefropatía por reflujo | 5.3 |
| Nefritis intersticial | 1.8 |
| Glomerulonefritis secundaria, vasculitis | 6.2 |
| Síndrome hemolítico urémico | 2.7 |
| Lupus eritematoso sistémico | 1.5 |
| Púrpura de Henoch-Schönlein | 1.2 |
| Granulomatosis de Wegener | 0.5 |
| Otras enfermedades sistémicas inmunológicas | 0.3 |
| Hipertensión | 1.3 |
| Condiciones variadas | 1.3 |
| Neoplasias | 1.0 |
| Nefropatía de células falciformes | 0.2 |
| Diabetes mellitus | 0.1 |
| Etiología no establecida | 6.0 |

NAPRTCS 2007

ACCESO AL TRASPLANTE RENAL

Entre 1987 y 2007, más de 9500 niños recibieron 10400 trasplantes en Estados Unidos. En el momento del trasplante, cerca de 2/3 de los receptores pediátricos para un injerto renal, son mayores de 12 años de edad, 17% se encuentran entre 6 y 12 años de edad, 17% se encuentran entre los 2 y 5 años y menos del 1% de ellos son menores de un año de edad. Cerca del 60% son hombres, 61% son de raza blanca, 17% son afroamericanos y 16% hispánicos.

El trasplante pediátrico constituye 4 a 7% de todos los trasplantes renales en Estados Unidos, siendo aproximadamente 800 cada año. De manera histórica, siempre el número de trasplantes de donador vivo relacionado ha sobrepasado el número de donadores cadavéricos en pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica terminal, sin embargo del año 2000 al año 2005 los trasplantes de donador cadavérico incrementaron significativamente de 278 a 468.

Los niños siguen representando sólo un pequeño porcentaje de las listas nacionales de donador cadavérico. Durante la década pasada, ha sido constante el número oscilando entre 500 y 650, comparada con la lista de adultos que representa el doble de enlistados. Por otra parte el tiempo medio de espera para el grupo de pacientes pediátricos ha sido menor de 300 días, que resulta favorable con respecto al observado en adultos que en los últimos 10 años no ha sido menor de 920 días en ningún grupo de edad. Esta diferencia refleja el hecho de favorecer a los pacientes pediátricos del trasplante renal por sus necesidades únicas de crecimiento y desarrollo[1].

TIEMPO IDEAL PARA EL TRASPLANTE RENAL

El trasplante debe ser considerado cuando se encuentra indicada alguna forma de reemplazo de la función renal. En niños es posible que la diálisis sea requerida antes del trasplante para optimizar el estado nutricional y condiciones metabólicas, para optimizar el tamaño de un paciente o mantenerlo en condiciones estables en

tanto se cuenta con un donador adecuado. En muchos centros se prefiere que el receptor pese al menos de 8 a 10 Kg, para minimizar el riesgo de trombosis vascular y poder hacer espacio físico ideal para un riñón adulto. En niños con ERCT, el peso blanco de 10Kg puede que no sea posible alcanzar hasta los 12 o 24 meses de edad, aunque se encuentran experiencias descritas de trasplantes en niños menores de 10Kg o incluso menores de 6 meses de edad.

El trasplante prediálisis, representa aproximadamente el 25% de todos los trasplantes renales en pediatría, los cuales son llevados a cabo con la finalidad de evitar el tratamiento dialítico, sin embargo requieren de una valoración psicológica amplia, dado a la mayor probabilidad de no adherencia a la terapia inmunosupresora en comparación a aquellos pacientes con experiencia de diálisis[1].

SOBREVIDA DEL INJERTO RENAL

Tanto la supervivencia de los pacientes como del trasplante renal han mejorado de manera significativa. Los porcentajes de supervivencia actual ascienden al año y a los 5 años a 98% y 94% respectivamente, para todos los trasplantes, siendo ligeramente mejor en pacientes de donador vivo a donador cadavérico. Aquellos pacientes con donador vivo relacionado al año y 5 años el éxito aproximado de 98 y 96% respectivamente, a diferencia de aquellos con injerto de donador cadavérico de 97 y 93% respectivamente. Dentro de las principales causas asociadas a disminución en la supervivencia del injerto se encuentran la nefropatía crónica del injerto, como principal causa de disfunción del mismo, en 40% de los casos, el rechazo agudo hasta en el (9%) de los casos, trombosis vascular (8%), recurrencia de la enfermedad original (8%) y la falta de adherencia terapéutica (6%)[1].

FACTORES PRONÓSTICOS QUE INFLUYEN EN LA SUPERVIVENCIA DEL INJERTO RENAL

Muchos son los factores determinantes en la evolución del injerto renal reportados en pacientes pediátricos, que ocasionan impacto importante en la función renal a largo plazo, que resulta en detrimento del crecimiento esquelético relacionado. Dentro de los más importantes destacan el tipo de injerto renal, en relación con mejor pronóstico observado dado a menor tiempo de isquemia fría, afinidad en antígenos leucocitarios humanos y menor tasa de rechazos agudos; la edad del receptor, siendo mejor en mayores de 11 años, por las complicaciones quirúrgicas asociadas en menores de 2 años de edad, así como la mayor tasa de falta de adherencia terapéutica y recaída de la enfermedad de base en pacientes adolescentes; edad del donador, siendo la mejor edad de supervivencia a 5 años establecida del donador entre los 11 y 17 años de edad y la de peor pronóstico en mayores de 50 años; grupo étnico, de peor pronóstico en raza afro – americana; pruebas cruzadas de afinidad donador – receptor; presensibilización anti – HLA, previo al trasplante con transfusiones sanguíneas principalmente; factores inmunológicos, como es el mayor número de células T y B en niños con mayor proporción de CD4+ y respuesta blastogénica incrementada, que en conjunto podría justificar la mayor tasa de rechazos agudos reportados en niños; factores técnicos quirúrgicos y retraso de la función en el injerto, en relación al abordaje quirúrgico, anastomosis vasculares; inmunosupresión administrada, que involucra tanto la terapia de inducción con anticuerpos policlonales o monoclonales, como la terapia inmunosupresora de mantenimiento con los diferentes esquemas seguidos en niños[1].

PANORAMA DE INMUNOSUPRESIÓN UTILIZADO EN EL TRASPLANTE RENAL EN PEDIATRIA

Desde 1950, que se llevó a cabo el primer trasplante renal exitoso, los fármacos inmunosupresores han sufrido diversos cambios, desde la radiación corporal completa, hasta la introducción de la azatioprina en los 1960's y su combinación con prednisona, la cual proporcionaba éxito del trasplante en cerca del 50% a un año, con una tasa de mortalidad aproximada de 10 al 20%, todo en combinación con terapia de inducción con inmunoglobulina antitimocito. Para los 1980's se introdujo la ciclosporina (CsA), que produjo una mejoría estadísticamente significativa en la tasa de supervivencia del injerto renal incluso a más de 80% al año de seguimiento. El régimen estándar de inmunosupresión consistía en ciclosporina adicionado con prednisona, con frecuencia combinado con azatioprina, formando en ese momento lo que se conoce como terapia triple de inmunosupresión. Sin embargo, pronto se reconoció la capacidad de la ciclosporina de producir nefrotoxicidad aguda y crónica.

Posteriormente fue desarrollado el tacrolimus, como terapia inmunosupresora en el trasplante hepático y eventualmente en el renal, como una alternativa a la ciclosporina por su capacidad para producir una supervivencia semejante del injerto; de manera concomitante el metil micofenolato (MMF) se identificó como un agente más efectivo que la azatioprina por la cualidad de reducir la incidencia de rechazos agudos usado en combinación con algún inhibidor de calcineurina y corticoesteroides.

Los medicamentos usados en el trasplante renal pediátrico son los mismos que se emplean en la población adulta; sin embargo, no todos los fármacos tienen formulaciones pediátricas, por lo que en los niños se deben dosificar las dosis administradas a los adultos. El objetivo central de los fármacos inmunosupresores en el trasplante de órganos es evitar el rechazo del injerto, ya que con esto se obtiene una mejor sobrevida, que se logra al superar un abarrera biológica inmunológica.

Los agentes inmunosupresores pueden ser agentes inductores del trasplante renal, de mantenimiento y para el tratamiento del rechazo al injerto.

En los diversos regímenes inmunosupresores, como fármacos más utilizados se encuentran los inhibidores de calcineurina en combinación con corticoides y un antiproliferativo. Los corticoides se continúan usando en más del 95% de los casos, aunque existen diversos protocolos donde se evalúan regímenes con retiro rápido de estos o sin ellos. El micofenolato ha sustituido prácticamente en el 100% de los casos a la azatioprina, y se estima que la terapia de inducción se usa en más del 50% de los receptores pediátricos de trasplante.

Los esquemas convencionales de inmunosupresión consisten en un inhibidor de calcineurina, un agente adyuvante generalmente como azatioprina, micofenolato y sirolimus que se combinan con estos inhibidores, para aumentar la potencia inmunosupresora; corticoesteroides y la adición de un anticuerpo para inducción. Con estos protocolos, la mayoría de los programas disponibles llevan a una supervivencia del 90 al 95%, con una tasa de rechazo agudo de 10 a 20%. En caso de pacientes pediátricos el esquema de inmunosupresión es similar, aunque se han hecho esfuerzos por el retiro de esteroides por su asociación con retardo en el crecimiento y toxicidad en niños[1].

INHIBIDORES DE CALCINEURINA

Este grupo de medicamentos, que involucra actualmente a sólo dos fármacos, CsA y tacrolimus, enfatiza la similitud del mecanismo de acción de ambos. Se utilizan como eje central de la inmunosupresión en el trasplante de órganos sólidos en los últimos 20 años. Su bioquímica es diferente, pero su mecanismo de acción, su eficacia clínica y sus efectos secundarios son similares. TABLA 2. La CsA es un polipéptido pequeño, cíclico, de origen fúngico (*Tolypocladium inflatum gams*), constituido por 11 aminoácidos, neutro e insoluble al agua, pero soluble en disolventes orgánicos y en lípidos. Los aminoácidos en las posiciones 11, 1, 2 y 3 forman el sitio activo inmunosupresor y la estructura cíclica del fármaco es

necesaria para obtener este efecto. La CsA se une a unas proteínas plasmáticas llamadas inmunofilinas, especialmente con la ciclofilina, siendo este complejo ciclosporina – ciclofilina quien inhibe la acción de la calcineurina[2, 3].

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS COMPARATIVAS DE CICLOSPORINA Y TACROLIMUS[1]

| Característica | CsA | Tacrolimus |
|---|--------------------------|-------------------|
| Dosis de mantenimiento diaria | 3 – 5 mg/Kg | 0.15 – 0.3 mg/Kg |
| Administración | VO e IV | VO e IV |
| Absorción dependiente de bilis | Sandimmune si, Neoral no | No |
| Cápsulas orales disponibles | 100mg; 25mg | 5mg; 1mg |
| Interacciones medicamentosas | Similares | Similares |
| Capacidad para prevenir rechazo | + | ++? |
| Uso con MMF | + | + |
| Uso con sirolimus | Contraindicado | Contraindicado |
| Nefrotoxicidad | + | + |
| Ahorrador de corticoesteroide | + | ++? |
| Hipertensión y retención hidrosalina | ++ | + |
| Toxicidad de isoletes pancreáticos | + | ++ |
| Neurotoxicidad | + | ++ |
| Hirsutismo | + | - |
| Pérdida de cabello | - | + |
| Hipertrofia gingival | + | - |
| Efectos gastrointestinales | - | + |
| Motilidad gástrica | - | + |
| Hipercaliemia | + | + |
| Hipomagnesemia | + | + |
| Hipercolesterolemia | + | - |
| Hiperuricemia, gota | ++ | + |

TACROLIMUS

El tacrolimus es un compuesto macrólido aislado del hongo *Streptomyces tsukubaensis*, altamente lipofílico y con peso molecular de 804. Es insoluble al agua pero altamente soluble en solventes orgánicos, con una intensa actividad inmunosupresora[2, 3].

Presentaciones farmacéuticas

Formulación intravenosa: Contiene tacrolimus 5mg/mL alcohol y un surfactante. Debe diluirse en dextrosa o solución salina y se recomienda administrar en infusión continua para reducir su nefrotoxicidad, de limitado uso clínico, debido a adecuada biodisponibilidad administrado por vía oral.

Formulación oral: Cápsulas de 1 y 5 mg de tacrolimus en hidroxipropilmetilcelulosa[3].

Mecanismo de acción

Se lleva a cabo, mediante la unión a una proteína intracelular llamada proteína de unión a FK o tacrolimus (FKBP-12 del inglés FK binding protein 12) distinta de la proteína de unión para la CsA (ciclofilina), con el mismo mecanismo de acción. Una vez formado el complejo de FKBP – Tacrolimus, junto con calcio, se produce inhibición selectiva de la calcineurina, enzima que normalmente actúa como una fosfatasa de ciertas proteínas nucleares reguladoras, una de las cuales es el factor nuclear de linfocitos T activados (NFAT), que en condiciones normales, al ser desfosforilado, pasa a través de la membrana nuclear. De esta manera, se inhibe la expresión de diversos genes involucrados en la activación de las células T, incluyendo aquellos para la interleucina 2 (IL-2), su receptor, interferón gamma (IFN- γ), factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) y los protooncogenes H-*ras* y c-*myc* FIGURA 1. Al mismo tiempo se lleva a cabo la promoción del factor transformante de crecimiento β (TGF- β), que también inhibe a la IL-2, con la consiguiente

disminución en la proliferación de linfocitos T citotóxicos y limitación en la producción de citocinas, aunque también provocando el desarrollo de fibrosis intersticial, que es la principal causa de nefrotoxicidad relacionada a los inhibidores de la calcineurina. TGF- β , también ha sido implicado como un factor importante en la proliferación de células tumorales, lo cual pudiera ser relevante en el desarrollo de ciertas neoplasias pos-trasplante. A pesar de que la CsA y el tacrolimus tienen el mismo mecanismo de acción, se ha identificado en estudios in vivo 10 a 100 veces más actividad del tacrolimus que la ciclosporina como inhibidor de la respuesta inmune, sin embargo la inmunosupresión brindada por este grupo de fármacos mantiene un grado de respuesta inmune que es suficiente para mantener las defensas naturales del organismo, lo cual podría ser reflejo de que a dosis terapéuticas, la actividad de la calcineurina sólo se reduce en aproximadamente 50%, permitiendo aún desencadenar señales intracelulares efectivas para generar una respuesta inmune. El grado de inhibición de la actividad de la calcineurina y la producción de IL-2 podría reflejar el balance entre una inmunosupresión excesiva o deficiente[2, 3].

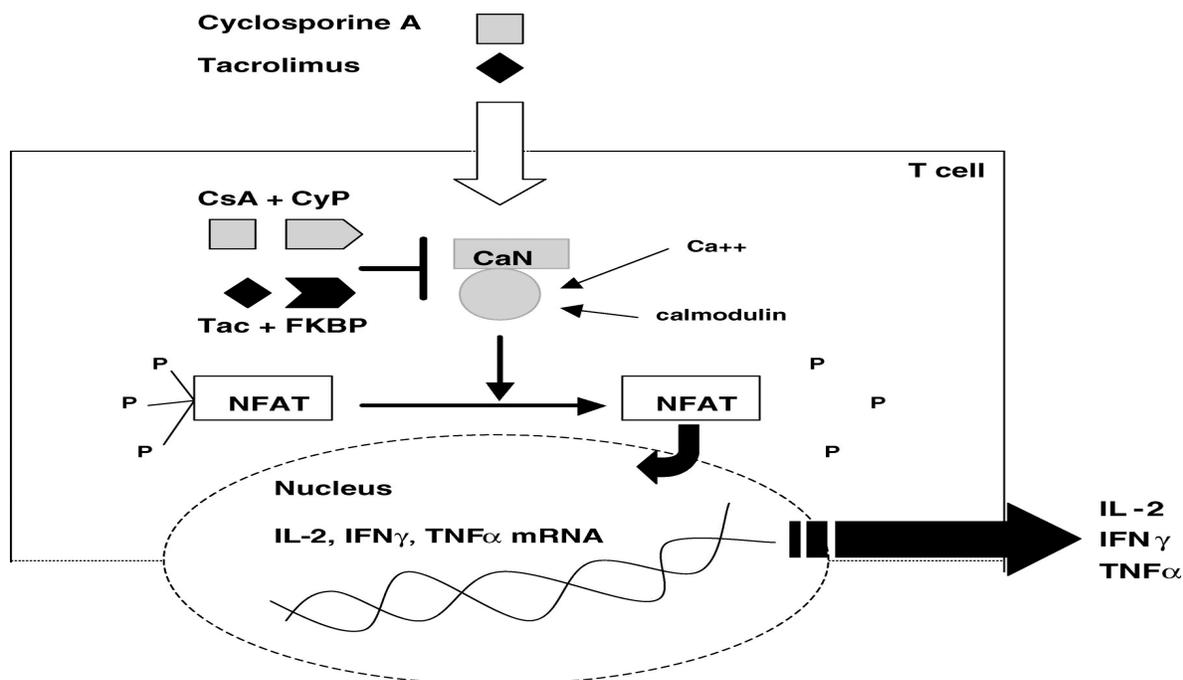


FIGURA 1. Mecanismo de acción inhibidores de calcineurina, mediante la inhibición de la activación de células T mediada por inmunofilinas[4]

Farmacocinética y metabolismo

La administración del fármaco con los alimentos puede disminuir su absorción y biodisponibilidad, la cual varía del 4-89% (en promedio 25%), por lo que es recomendable la ingesta antes de la toma de los mismos, además de que influye la baja solubilidad del mismo y la motilidad intestinal[5]. Se absorbe rápidamente, alcanzando el pico máximo en 0.5 a 1 hora, siendo incluso hasta las dos horas en pacientes con trasplante hepático. La vida media es de 8 a 19 horas[3]. Se distribuye en la mayoría de los tejidos, atravesando la placenta, con concentraciones en plasma del cordón umbilical de un tercio de las encontradas en el plasma materno; en leche materna con niveles similares al plasma. La distribución del tacrolimus depende parcialmente de la unión reversible a proteínas del plasma (albúmina, α 1-glicoproteína) y al hematocrito, por lo que su incremento leve durante los primeros meses posteriores al trasplante pueden contribuir a alteraciones en la fracción libre de tacrolimus en plasma y por lo tanto a la distribución y su eliminación[3]. Es importante destacar que a diferencia de la CsA, el tacrolimus no presenta afinidad para su unión a lipoproteínas, de esta manera no eleva niveles de colesterol[5]. El tacrolimus, es metabolizado por sistemas enzimáticos microsomales del citocromo P – 450 IIIA (CYP3A4) hallados tanto en el tracto gastrointestinal como en el hígado, mediante hidroxilación y desmetilación, con los principales metabolitos reportados el 13-O-desmetil y 15-O-desmetil tacrolimus. Este, también es sustrato de la glicoproteína P (P-gp), producto del gen de resistencia a fármacos (MDR-1). LA P-gp es una bomba de salida dependiente de adenosintrifosfato (ATP) que contribuye a la protección del cuerpo de toxinas ambientales, limitando su absorción a partir del lumen gastrointestinal o incrementando su excreción biliar y urinaria. Se ha reportado en diversos estudios biodisponibilidad reducida en pacientes con actividad normalmente alta de P-gp intestinal. Por lo anterior se ha propuesto y diversos estudios sugieren que gran parte de la variabilidad asociada con tacrolimus es debida a diferencias genéticas en la expresión de CYP 3A4 y P-gp, incluyendo diferencias étnicas, ya que existe evidencia de menor biodisponibilidad en afroamericanos y latinos que en los caucásicos[2, 3].

La principal vía de eliminación es la biliar (más de 90% de la dosis de tacrolimus se elimina en bilis) y menos de 1% de la dosis es excretada sin alteración en la orina[6].

La terapia se inicia con dosis orales de 0.10 a 0.15 mg/Kg/día, distribuidos en dos dosis, alcanzando concentraciones estables en 3 – 4 días. Los niveles valle objetivo de tacrolimus varían de acuerdo al tipo de trasplante, tiempo postrasplante y si se emplean otros inmunosupresores. En pacientes con trasplante renal , en ocasiones, también se emplean como terapia de rescate para el rechazo agudo resistente a esteroides[2]. TABLA 3.

TABLA 3. LÍMITES TERAPÉUTICOS DE TACROLIMUS EN EL TRASPLANTE RENAL EN PEDIATRÍA[7]

| Trasplante renal tratamiento de mantenimiento | Niveles objetivo (ng/mL) |
|--|---------------------------------|
| Primeras dos semanas | 10 – 25 |
| 1 – 3 meses | 7 – 20 |
| 4 – 12 meses | 5 – 15 |
| > 12 meses | 5 – 10 |
| Trasplante renal tratamiento de rescate | |
| 1 – 2 semanas | 20 – 25 |
| 1 mes | 15 – 20 |
| 2 meses | 10 – 15 |
| Crónicos | 5 – 10 |

El monitoreo terapéutico del tacrolimus se lleva a cabo midiendo las concentraciones mínimas, también conocidas como niveles en valle, sin embargo, esto ha sido cuestionado dado a que se presentan algunos casos de toxicidad y rechazo aún cuando las concentraciones mínimas estaban dentro del límite considerado como aceptable. Diversos estudios han demostrado una adecuada correlación entre la concentración en sangre y el área bajo la curva (ABC) de concentración plasmática contra tiempo, y que dicha correlación puede mejorar mediante el uso de diferentes tiempos de muestreo[2].

En pacientes con trasplante renal después de una dosis promedio de tacrolimus de 0.16mg/kg/día, el ABC fue de 104mg*h/L. Se ha encontrado correlación entre

ABC y la concentración mínima de tacrolimus en sangre total (C_{min}) después de la primera dosis oral (r=0.90) y el estado estacionario (r=0.83), lo que sugiere que la C_{min} de tacrolimus es un buen indicador de la exposición sistémica.

Para la monitorización los métodos de laboratorio principalmente utilizados para la determinación en suero de tacrolimus son: inmunoensayo enzimático de micropartículas (Abbott), mediante un instrumento automatizado, que permite detectar incluso niveles tan bajos como 2 ng/dL; y el ensayo de inmunoabsorción (EIA)[2, 3].

Dado a múltiples diferencias de la población pediátrica con respecto a la composición corporal, proteínas plasmáticas y actividad metabólica, el comportamiento farmacocinético del tacrolimus es diferente con respecto a la población adulta. Las rutas oxidativas catalizadas por el sistema enzimático del citocromo P 450, se encuentran inmaduras en los primeros seis meses de vida y necesitan de 6 a 12 meses para alcanzar una actividad metabólica importante, pudiendo ser más alta que el promedio de actividad en los adultos[8]. Se ha reportado que en niños se requieren dosis hasta 5 veces más altas para alcanzar concentraciones similares a las de los adultos. Las diferencias en las dosis administradas en pacientes pediátricos y adultos para alcanzar concentraciones mínimas comparables en sangre, se explica por las diferencias en depuración y distribución, con depuración del tacrolimus más rápida y mayor volumen de distribución[3]. TABLA 4.

TABLA 4. DIFERENCIAS FARMACOCINETICAS DE TACROLIMUS ENTRE NIÑOS Y ADULTOS (PROMEDIO Y LIMITE APROXIMADO)[6, 9]

| | Niños | Adultos |
|--|--------------------|--------------------|
| Tiempo en alcanzar concentración máxima t _{max} (h) | 2.1 (0.8 – 3.4) | 1.5 (0.7 – 2.3) |
| Biodisponibilidad F (%) | 25 (3 – 77) | 22 (14- 38) |
| Volumen de distribución (L/Kg) | 2.6 (0.5 – 4.7) | 1.2 (1 – 2) |
| Depuración Cl (L/h/Kg) | 0.14 (0.07 – 0.21) | 0.06 (0.03 – 0.09) |
| Vida media de eliminación t _{1/2} (h) | 12.4 (8 – 16.8) | 12.1 (3.5 – 40.5) |

Efectos adversos

Las reacciones adversas más frecuentes del tacrolimus en cualquier vía de administración son temblor, cefalea, diarrea, náusea, parestesias, dispepsia e hipertensión. La diabetes mellitus, nefrotoxicidad y alopecia se manifiestan con mayor frecuencia con uso de FK-506 en comparación con CsA. La correlación entre tacrolimus y el incremento de diabetes mellitus postrasplante, puede que esté relacionada a concentraciones blanco más elevadas a las recomendadas actualmente, por lo que ante la presencia de esta complicación, se ha recomendado el cambio a otro esquema de inmunosupresión como CsA. Del mismo modo se ha reportado una mayor incidencia de nefropatía por poliovirus (Virus BK) en pacientes en tratamiento con tacrolimus, aunque este efecto aparente podría estar en mayor relación con el nivel total de inmunosupresión. Tanto tacrolimus como la CsA se acumulan en la grasa, hígado, páncreas, corazón, pulmón, bazo, nódulos linfáticos y sangre. Sin embargo, no atraviesan la membrana hematoencefálica o la placenta[2, 3].

Las alteraciones en el metabolismo de los lípidos modifican su distribución y metabolismo. En pacientes con alteraciones hepáticas, especialmente colestasis, la biodisponibilidad de tacrolimus y CsA aumenta de forma considerable, lo que obliga a la reducción de la dosis. El principal efecto colateral del tacrolimus, al igual que la CsA es la nefrotoxicidad, que puede manifestarse como trastornos tubulares incluyendo acidosis tubular renal, disfunción temprana del injerto renal, hasta la falla renal aguda con disminución de la velocidad de filtración glomerular y retención de azoados, así como hipertensión con retención hidrosalina, hipercaliemia, hipomagnesemia e hiperuricemia. Estos efectos mejoran al disminuir la dosis o suspender su administración[2, 3].

Interacciones medicamentosas

El tacrolimus puede interactuar con otros fármacos inductores o inhibidores del CYP3A4 y así disminuir o aumentar su biodisponibilidad, algunos medicamentos pueden incrementar el riesgo de nefrotoxicidad. Dentro de los fármacos que se

describen que incrementan los niveles séricos de tacrolimus se encuentran: Clotrimazol, fluconazol, cisaprida, metoclopramida, itraconazol, metilprednisolona, ketoconazol, claritromicina, eritromicina, bromocriptina, cimetidina, metronidazol, corticoesteroides, omeprazol, nifedipino, diltiazem, verapamil, cloranfenicol, además de jugo de toronja. Los bloqueadores de canales de calcio son fármacos que se consideran como de primera línea para el manejo de hipertensión arterial por ser ahorradores de tacrolimus y de esta manera disminuir el riesgo asociado a la nefrotoxicidad. Los fármacos que disminuyen los niveles de tacrolimus y requieren de ajuste en su administración son: Carbamazepina, fenobarbital, fenitoína, rifabutina, rifampicina, antiácidos, bicarbonato de sodio y primidona. Cualquier fármaco potencialmente nefrotóxico debe ser usado con precaución en combinación con los inhibidores de calcineurina, porque los efectos vasoconstrictores de los fármacos pueden potencializar otros mecanismos nefrotóxicos, tales como los ocasionados por aminoglucósidos y anfotericina, pudiendo presentar daño renal anticipado; se consideran también en este grupo los antiinflamatorios no esteroideos, los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y antagonistas del receptor de angiotensina[3].

Genotipificación y polimorfismos asociados al metabolismo de tacrolimus

Se ha documentado hasta el momento, que el metabolismo de tacrolimus depende de la expresión hepática e intestinal de las enzimas metabolizadoras de fase I de citocromos. Los genes que se encuentran involucrados este metabolismo son aquellos que codifican para el citocromo P450, la familia CYP3A, además de la P-gp 1 (gen MDR-1). Dado a que muchos fármacos llevan a cabo metabolismo intestinal y hepático posterior a su absorción de la luz intestinal, se cree que CYP-A y P – gp son responsables de la pobre biodisponibilidad de los inhibidores de la calcineurina[7, 10, 11]. LA subfamilia CYP3A es un conjunto de cuatro enzimas; CYP3A4 y CYP3A5 son los principales genes involucrados en el metabolismo tanto de CsA como tacrolimus. CYP3A5 se expresa de manera variable y de manera incrementada en los túbulos renales proximales, el gen

CYP3A5*1 (A6986) codifica una proteína activa y es responsable del incremento en el metabolismo de muchos fármacos incluyendo tacrolimus. Durante la fase de transcripción, el alelo CYP3A5*3 (6986 A>G), introduce un sitio alternativo de splicing con un codón de paro prematuro llevando a la producción de una proteína truncada y por lo tanto de la expresión completa de esta proteína FIGURA 2. El fenotipo que expresa la enzima resulta del genotipo homocigoto CYP3A5*1*1 y el heterocigoto CYP3A5*1*3; en tanto que el fenotipo que no expresa la enzima resulta del genotipo CYP3A5*3*3. Existe evidencia que aquellos individuos con el fenotipo activo puede llegar a requerir dosis más altas de algunos fármacos tales como sirolimus, quininas, risperidona, carbamazepina, dextropropoxifeno y tacrolimus, con la finalidad de alcanzar biodisponibilidad equivalente en comparación con portadores de mutaciones[12].

CYP3A4 se expresa abundante y constitutivamente en el epitelio hepático e intestinal, por lo que el aumento en su actividad transcripcional evidenciada por el alelo CYP3A4*1B *in vitro* podría teóricamente una actividad enzimática incrementada *in vivo*[11].

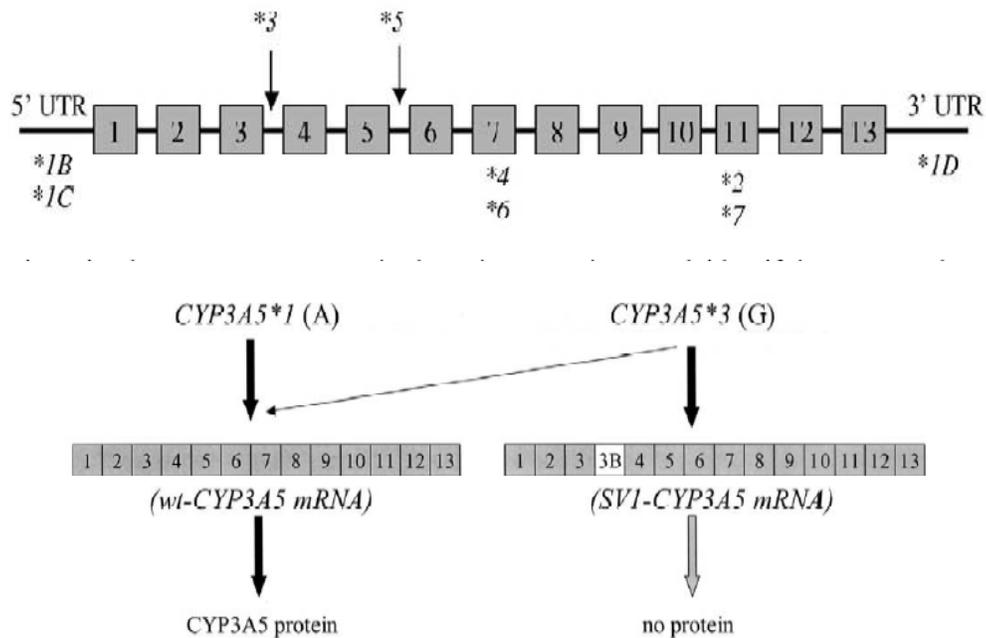


FIGURA 2. Representación esquemática y diferencias entre expresión y no expresión de CYP3A5.

La P – gp, es una larga proteína transmembrana dependiente de ATP, involucrada en la extrusión extracelular de fármacos y xenobióticos tales como los inhibidores de calcineurina. Más de 700 variaciones de nucleótidos ha sido descritas y, aunque no se conoce aún el impacto clínico de muchas de las variaciones en la función de P –gp, algunas parecen ser relevantes y sustancialmente importantes en la farmacocinética de sus sustratos. El polimorfismo de nucleótido sencillo más investigado al momento del gen MDR1 son 3435C>T (rs1045642) en el exón 26, 1236C>T (rs128503) en el exón 12 y 2677G>T/A (rs2032582) en el exón 21. El polimorfismo 3435C>T es silencioso y puede estar relacionado con el desequilibrio con otros polimorfismos funcionales, incluyendo 2677G>T/A, así como a la reducción de la estabilidad del RNAm del ABCB1 en el hígado, cambiando la conformación y actividad de la proteína.

La frecuencia de los alelos CYP3A5 esta determinada por una variabilidad interétnica, de tal manera que se ha reportado el fenotipo que expresa la enzima con mayor frecuencia en afroamericanos comparado con población caucásica y asiática del sur[13], por lo que se han tratado de llevar a cabo investigaciones en farmacocinética y farmacogenómica en diferentes poblaciones, particularmente con respecto a determinar los intervalos de administración segura de diversos fármacos tales como tacrolimus y de esta manera llevar a individualización de las dosis necesarias para el efecto deseado[11, 14] FIGURA 3.

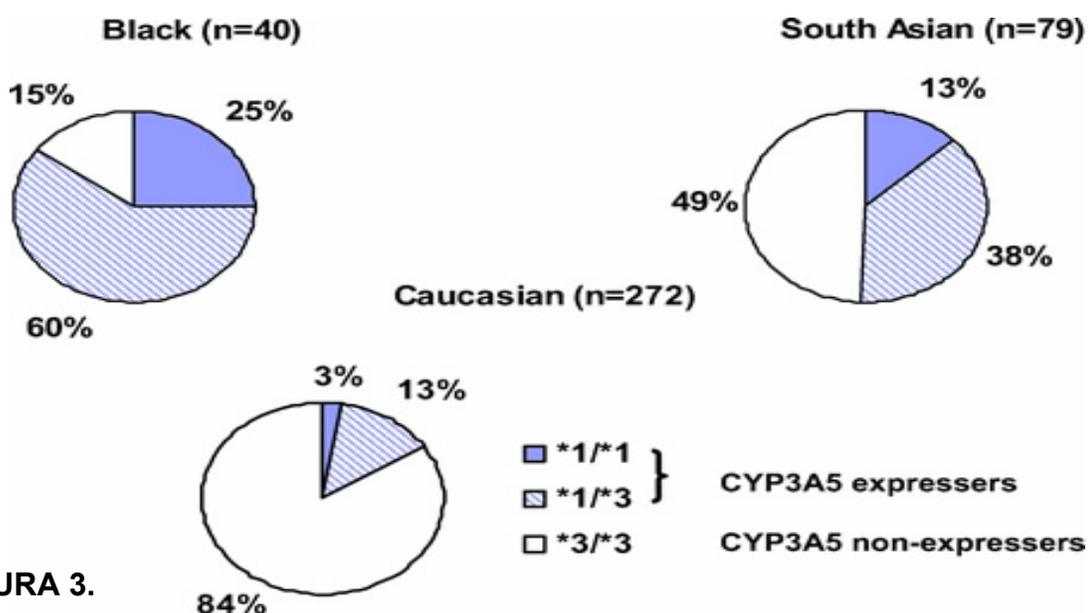


FIGURA 3.

ANTECEDENTES

Desde la introducción de los inhibidores de calcineurina, los eventos de rechazo agudo asociados al injerto renal ha mejorado significativamente, sin embargo la sobrevida del injerto a lo largo del tiempo se ha mantenido estable en la última década. Con la aplicación generalizada de inhibidores de calcineurina, también han aparecido efectos secundarios asociados a su administración. Especialmente para los inhibidores de calcineurina las estrategias de monitorización se discuten en términos de su seguridad y eficacia. El monitoreo farmacocinético del tacrolimus, a través de la medición de los niveles de concentración valle[15, 16], ha sido aceptado como la principal manera de monitorización, aunque los parámetros farmacocinéticos más adecuados para determinar la dosificación de estos fármacos es mediante la determinación del ABC de la concentración de este fármaco, en un tiempo de administración de 12 horas[17], una estrategia difícil de llevar a cabo en la práctica clínica cotidiana. Cabe destacar sin embargo que la monitorización farmacocinética no refleja la actividad biológica del fármaco.

En los últimos 6 años, se ha propuesto a la monitorización farmacodinámica como una nueva estrategia para proveer información acerca del efecto biológico específico ejercido por el mecanismo de acción del tacrolimus[4].

Halloran y Cols en 1999 a través de la farmacocinética de CsA reportan que la Cmax (aproximadamente 2 horas después de la administración del fármaco) está correlacionada con el nivel de inmunosupresión (inhibición de calcineurina en linfocitos)[18].

Giese y Cols en 2004 mostraron que existe una correlación entre el nivel de CsA en sangre y la supresión de IL-2, TNF α y GM-CSF hasta en un 85% lo cual representa un enfoque para evaluar la efectividad biológica de CsA permitiendo individualizar el régimen inmunosupresor[19].

Claudia Sommerer y colaboradores[20-22], proponen que la monitorización farmacodinámica es un método adicional para brindar información acerca del impacto biológico de la CsA en pacientes trasplantados, de tal manera que la inhibición de calcineurina en linfocitos se correlaciona de manera inversa con las

concentraciones sanguíneas de CsA y que se da la máxima inhibición de calcineurina dos horas posteriores a la toma inicial en 90% de los pacientes. El estudio se llevó a cabo en 20 pacientes con trasplante renal con una media de tiempo posterior al trasplante de 4 años reducción progresiva de la dosis administrada, en comparación con pacientes con dosis estable. Se pudo determinar que la inmunosupresión, reflejada por la expresión génica de IL-2 y de IFN- γ , era concordante de manera inversamente proporcional con los niveles séricos de la CsA, estableciendo 20% de expresión génica de citocinas producidas por linfocitos T como límite para el desarrollo de un rechazo agudo. Este mismo grupo de investigación en el 2010[23], demostró que la expresión residual de los genes regulados por NFAT podría ser un método farmacodinámico utilizado para monitorizar a pacientes con trasplante renal tratados con FK-506, identificando baja o sobre inmunosupresión en base a su relación con la presentación de infección o rechazo agudo al injerto.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Existe correlación entre la monitorización farmacocinética de la concentración de tacrolimus en plasma reflejada por el ABC de concentración en un periodo de 12 horas, y la monitorización farmacodinámica mediante la expresión de genes regulados por NFAT (TNF- α), en el tratamiento de pacientes pediátricos con trasplante renal estable.

La genotipificación de los polimorfismos en genes que codifican para enzimas metabolizadoras de inhibidores de calcineurina como CYP3A5, correlacionan con la dosificación establecida de tacrolimus, así como con la expresión génica determinada en niños con trasplante renal.

HIPÓTESIS

Existe una correlación inversa entre la expresión de TNF- α , regulado por el NFAT y las concentraciones de tacrolimus a través de la farmacocinética de 12 horas y el ABC.

El genotipo para CYP3A5 concordante con metabolizador alto, promedio o bajo de tacrolimus tendrá correlación inversa con la dosificación individual del mismo, así como expresión de TNF- α en plasma.

JUSTIFICACIÓN

Actualmente se sabe que los pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica terminal que son sometidos a trasplante renal, requieren de administración crónica de fármacos inmunosupresores para mejorar la sobrevida del trasplante. A pesar de que existen diversos esquemas de tratamiento inmunosupresor, los inhibidores de calcineurina, entre ellos el tacrolimus, son los fármacos principales en el mantenimiento del tratamiento a largo plazo. Efectos adversos se asocian a la administración de tacrolimus aún en dosis consideradas como terapéuticas para el tiempo establecido de trasplante renal y bajo los estándares internacionalmente reconocidos, partiendo solo de la vigilancia de niveles de calcineurínicos en concentración valle. Para evitar la presencia de efectos relacionados a la inmunosupresión excesiva o deficiente con este fármaco se desea conocer la correlación que tiene la medición del efecto biológico posterior a la administración del mismo con la vigilancia farmacocinética ideal en base a concentraciones con ABC.

Este estudio se une al esfuerzo de llevar a cabo una vigilancia real del tratamiento de pacientes con trasplante renal, para posteriormente determinar su correlación con otros factores tales como genotipificación de enzimas fundamentales en su metabolismo y efectos adversos tales como rechazo al injerto o infecciones que pueden resultar en detrimento de la supervivencia del injerto.

OBJETIVOS

General

- Determinar la correlación existente entre la concentración mediante ABC del tacrolimus en un periodo farmacocinético de 12 horas y la expresión génica de TNF- α , regulado por NFAT en pacientes pediátricos con trasplante renal estable.

Específicos

- Identificar la farmacocinética de tacrolimus, mediante la determinación de la concentración de 6 puntos en un periodo de 12 horas, el ABC en pacientes pediátricos con trasplante renal.
- Analizar cuantitativamente la expresión TNF- α , a través de PCR en tiempo Real (PCR-TR) a partir de cDNA de niños con trasplante renal.
- Realizar el genotipo en cada paciente para el citocromo CYP3A5 y la P – gp, para la determinación de la expresión de cada enzima y su correlación con hallazgos farmacocinéticos y farmacodinámicos.
- Establecer la asociación existente con eventos de rechazo agudo al injerto o de infección y la expresión génica en niños con trasplante renal.

METODOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTUDIO

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio transversal experimental analítico

POBLACIÓN BLANCO

Pacientes pediátricos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) de ambos géneros y cualquier grupo etéreo, con el diagnóstico de enfermedad renal crónica terminal, operado de trasplante renal ya sea cadavérico o vivo relacionado, con tres meses mínimos de evolución posterior al evento quirúrgico, dosis sin cambio de tacrolimus con la misma proporción establecida cada 12 horas y función estable del injerto renal.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS PACIENTES

Criterios de inclusión

- Pacientes de ambos géneros y edades entre 3 y 18 años con 3 meses de trasplante renal en HIMFG
- Inmunosupresión establecida con tarolimus.
- Función estable del injerto (Nivel sérico de creatinina basal, sin alteración metabólica, clínicamente estable).
- Sin ajustes en la terapia inmunosupresora previos a la toma de la muestra.
- Sin infección aparente al momento del estudio.
- Participación voluntaria en el estudio mediante una carta de consentimiento informado del padre o tutor y del asentimiento de cada niño (ANEXO 1).

Criterios de exclusión

- Pacientes con trasplante renal con administración de tacrolimus en dosis diferentes en cada toma o intervalo de administración diferente a cada 12 horas.
- Administración concomitante de fármacos ya descritos que alteren las concentraciones plasmáticas de tacrolimus, excepto verapamilo.

- Pacientes con hepatopatías principalmente crónicas al momento del estudio

Criterios de eliminación

- Pacientes con alteración de pruebas de función hepática al momento del estudio, o bien niveles elevados de colesterol o triglicéridos que pudieran generar alteración en la medición plasmática de tacrolimus y otros parámetros séricos.
- Pacientes con cualquier tipo de infección (bacteriana, vírica o fúngica) o con infecciones recientes, o sospechosos de cualquier tipo de infección pudiendo modificar el nivel de inmunosupresión.

RECOLECCION DE DATOS

Se llevó a cabo la revisión por la consulta externa de Nefrología del HIMFG de aquellos pacientes trasplantados desde los años 2009 hasta 2011, que cursaran en ese momento con los criterios de inclusión establecidos (función estable del injerto, dosis igual administrada cada 12 horas de tacrolimus), solicitando su participación en el estudio con acuerdo de consentimiento y asentimiento informado, para definir día para cita de revisión clínica, así como toma de farmacocinética para tacrolimus de 12 horas, así como de muestras destinadas para determinación génica en plasma de genes ya descritos en el estudio. Previo a toma de muestras se llevo a acabo entrevista con el paciente y familiar además de posterior revisión del expediente clínico, mediante la hoja de recolección (ANEXO 2) de datos tomando en consideración las siguientes variables:

- Edad
- Género
- Antropometría completa (Peso, Talla e índice de masa corporal)
- Exploración física completa
- Esquema y dosis de inmunosupresión completo en dosis ponderal, incluyendo tacrolimus, MMF y prednisona, así como tratamiento concomitante con antihipertensivos, profilaxis antimicrobiana y aportes de electrolitos.

- Determinaciones en plasma y séricas de citometría hemática, electrolitos séricos, creatinina sérica y otras pruebas de función renal: ácido úrico (AU), nitrógeno de urea en sangre (BUN) y bióxido de carbono total en sangre (CO2t); pruebas de funcionamiento hepático: alanino amino transferasa (ALT), aspartato amino transferasa (AST), bilirrubinas totales (BT) y albúmina (ALB). De manera individual colesterol total (COL) y triglicéridos TAG).
- Examen general de orina

Con respecto a la farmacocinética y farmacodinamia, se llevó a cabo en un intervalo de 12 horas en todos los pacientes, desde la toma inicial del fármaco a las 8:00am, hasta la toma final a las 20:00hrs. El estudio contempla tomar 6 puntos a lo largo de la exposición a tacrolimus con los siguientes horarios:

| Hora muestreada | Horario |
|------------------------|----------------|
| 0 | 08:00am |
| 1 | 09:00am |
| 2 | 10:00am |
| 4 | 12:00am |
| 6 | 14:00pm |
| 8 | 16:00pm |

En cada hora muestreada se tomó un tubo con EDTA con un total de 4 a 5 mL de sangre total, para su posterior procesamiento. En cada tubo fue determinada la concentración plasmática de tacrolimus, así como la expresión del gen para TNF- α mediada por NFAT. Adicionalmente en la primera muestra tomada, se llevó a cabo procesamiento para obtención de DNA a partir de leucocitos, para posterior determinación de genotipo para CYP3A5. Las muestras fueron almacenadas a 4°C hasta su procesamiento para determinación de niveles plasmáticos y el resto llevado a cultivo celular.

Determinación de niveles de tacrolimus

En el caso de la determinación de niveles plasmáticos, se llevó a cabo mediante un Kit comercial marca Arquitech ABBOT, para análisis inmunoenzimático por partículas (CMIA)., en el laboratorio central del HIMFG.

Preparación de las muestras

La sangre obtenida en tubos de EDTA, fueron estimulados con 1 mL de RPMI - 1640 (medio de cultivo), suplementado con 10% de suero fetal bovino y antibióticos, además de 100ng/ml de acetato forbol miristato (PMA) y 5mg/mL de ionomicina (Sigma, St. Louis, MO), por 3 horas, posterior a centrifugación a 15 seg a 10,000 rpm, en estufa de CO₂, a temperatura controlada de 37°C. Posterior a la lisis de glóbulos rojos y separación de sobrenadante con almacenamiento a -70°C se llevó a cabo lavado de glóbulos blancos con solución salina estéril en dos ocasiones, para su posterior almacenamiento en combinación con reactivo RNA later, a -70°C hasta el momento de determinación de citocinas. Para determinación de expresión génica, a partir de glóbulos blancos aislados se llevó a cabo extracción de RNA a partir de Kit comercial RNAeasy mini kit marca Qiagen. Ya con RNA obtenido se realizó posteriormente transcripción reversa en termociclador para obtención de cDNA. La cuantificación de expresión del gen TNF- α y el gen de control interno 18s, se llevó a cabo mediante PCR en tiempo real, equipo PCR-TR 7500 (Applied Biosystems), con amplificación de secuencias mediante primers comerciales. La concentración del transcrito para los genes blanco, fue calculado a partir de una curva estándar obtenida mediante la graficación de muestra con una concentración ya conocida. Para la normalización de las concentraciones se obtuvo la relación de TNF- α /18s tomando en cuenta la calidad de RNA por muestra y posteriormente obtención de ln.

Determinación de genotipo

Se realizó mediante extracción directa de muestra basal en EDTA, de DNA, para posterior amplificación por PCR, purificación y secuenciación. Alineamiento con secuencias para determinación de genotipo.

DEFINICIÓN OPERATIVA DE VARIABLES

VARIABLES INDEPENDIENTES

- Concentraciones plasmáticas de tacrolimus, determinada en ng/mL, así como parámetros farmacocinéticos derivados de las mismas, expresada como variable cuantitativa continua
- Variables demográficas tales como edad, género, tratamiento concomitante, estudios de laboratorio séricos, cuantitativas continuas.
- Tasa de filtración glomerular determinada por fórmula de Schwartz (Talla en cms x constante dependiente de edad y características del paciente/ creatinina sérica.
- Genotipificación de CYP3A5, cualitativa binomial

VARIABLES DEPENDIENTES

- Concentración de TNF- α , normalizada por control interno 18s, determinada por expresión génica de RNA de linfocitos cultivados, expresada de manera cuantitativa continua como número de copias por μ g de RNA.

INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCION DE DATOS

Se llevó a cabo en cada uno de los pacientes analizados mediante una hoja de recolección de datos (ANEXO 2).

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se llevó a cabo estadística de tipo descriptiva llevando a cabo la determinación del promedio y desviación estándar de aquellos datos con distribución normal; en variables sin distribución normal se realizó el cálculo de medianas y rangos máximo y mínimo.

Para algunas variables se realizó cálculo de proporciones expresadas en proporciones.

Para el cálculo de correlación se realizó la prueba P de Spearman, al contar con distribución anormal de la población de estudio mediante el programa PRISM. Para determinar la comparación existente entre el genotipo que expresan y no expresan el gen CYP3A5 con parámetros farmacocinéticos, se llevó a cabo mediante U-Man-Whitney en SPSS versión 16.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El estudio se realizará con un riesgo mínimo debido a que las muestras sanguíneas serán obtenidas mediante punción venosa y la cantidad obtenida de sangre no sobrepasa el volumen establecido por el Reglamento de Investigación en Seres Humanos de la Ley General de Salud.

RECURSOS MATERIALES

El proyecto será realizado en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nefrología y Mineralización Ósea, así como en el Laboratorio Central del Hospital Infantil de México “Federico Gómez”, el cual cuenta con la infraestructura para la total realización del presente proyecto.

RESULTADOS

Se evaluaron en total 15 pacientes operados de trasplante renal con inmunosupresión basada en la administración de tacrolimus, de los cuales solamente en 6 se llevó a cabo la determinación completa de farmacocinética, determinación de expresión génica de TNF- α y genotipificación para el gen CYP3A5. No hubo eliminación de pacientes durante el estudio.

La mediana de edad fue de 14.5 años con valor mínimo de 9 años y máximo de 18 años.

La distribución entre sujetos del género femenino y masculino fue la misma, con 50% (3 casos) en cada rubro, con mediana de tiempo posterior al trasplante de 13.5 meses con valor mínimo de 5 meses y máximo de 29 meses (TABLA 5).

Al momento del estudio, los niños incluidos, presentaban función del injerto estable, con creatinina sérica concordante con la creatinina sérica basal establecida posterior al trasplante, así como tasa de filtración glomerular dentro de rangos de normalidad para cada edad. No se identificó alteración metabólica alguna, reflejado por determinaciones séricas de electrolitos, nitrógeno de urea y ácido úrico normales. Por otra parte ningún caso presentó cifras de colesterol o triglicéridos por encima de lo esperado para la edad, además de función hepática conservada (TABLA 5).

TABLA 5. DISTRIBUCIÓN DEMOGRÁFICA Y CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS Y DE LABORATORIO EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL

| | Mediana (min – max) |
|---|----------------------------|
| Edad (años) | 14.5 (9 – 18) |
| Genero (masculino) | 3 (50%) |
| Tiempo posterior al trasplante (meses) | 13.5 (5 – 29) |
| Índice de masa corporal (kg/m²) | 19.37 (15.21 – 27.85) |
| Creatinina sérica (mg/dl) | 1 (0.5 – 1.2) |
| Colesterol total (mg/dl) | 135 (96 – 172) |
| Triglicéridos (mg/dl) | 122 (45 – 144) |
| ALT (mg/dl) | 38 (29 – 45) |
| AST (mg/dl) | 24 (17 – 27) |
| Tasa de filtración glomerular (Schwartz) | 101.175 (96.83 – 106.85) |
| Micofenolato (mg/m²SC/día) | 696.015 (675.67 – 806.45) |
| FK-506 (mg/Kg/día) | 0.07 (0.03 – 0.26) |
| Concentración valle de FK506 | 5.9 (2.8 – 6.3) |
| Concentración pico de FK506 | 13.5 (5.9 – 27.1) |

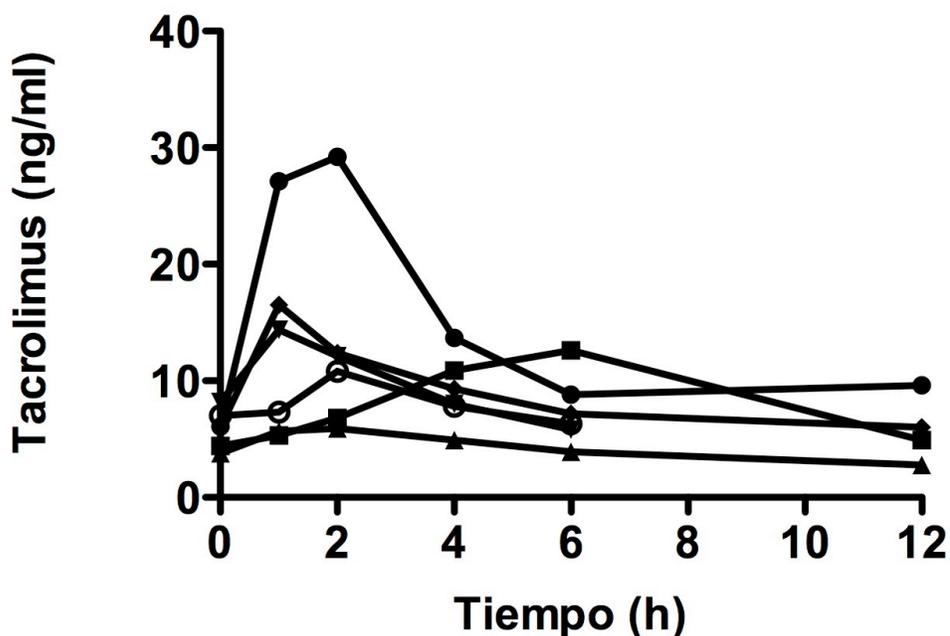
En cuanto al estudio farmacocinético, se tomaron 6 puntos a lo largo de 12 horas de determinación, estableciendo posteriormente los parámetros farmacocinéticos mas significativos, tomando en cuenta el ABC normalizada por la dosis ponderal, tiempo de concentración máxima, concentración máxima, vida media y concentración valle, que se muestran en la TABLA 6. Se representan gráficamente tanto el comportamiento del ABC individualmente GRÁFICA 1, como el ABC global tomando en cuenta la media de cada punto con el error estándar determinado en el total de pacientes GRÁFICA 2.

TABLA 6. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE TACROLIMUS Y GENOTIPIFICACION DE CYP3A5 EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL

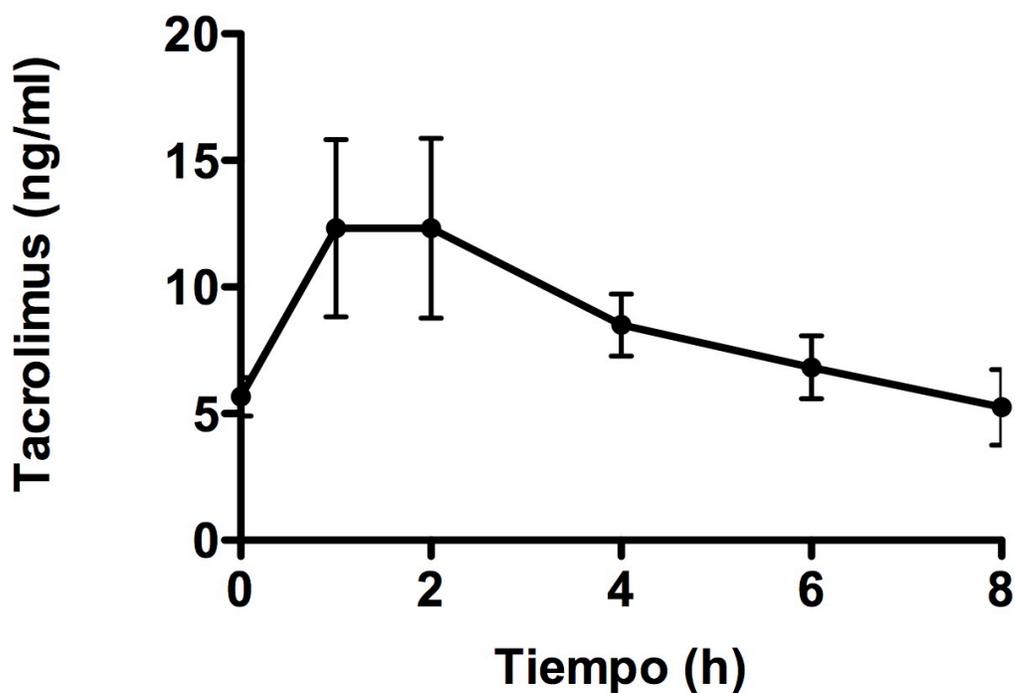
| Paciente | ABC/Dosis (mg/Kg/día) | t_{max} (h) | C_{max} (ng/ml) | $t_{1/2}$ (h) | C_0 (ng/ml) | CYP3A5 |
|----------|-----------------------|---------------|-------------------|---------------|---------------|--------|
| 1 | 1349.58 | 1 | 27.1 | 15.59 | 6.1 | *1*3 |
| 2 | 3666.67 | 8 | 12.6 | 2.93 | 4.4 | *3*3 |
| 3 | 1745 | 2 | 5.9 | 9.9 | 3.8 | *3*3 |
| 4 | 355.92 | 1 | 14.4 | 5.94 | 8.2 | *1*3 |
| 5 | 1780 | 1 | 16.5 | 10 | 6 | *3*3 |
| 6 | 1101 | 2 | 10.8 | 12.98 | 7 | ND |

ABC (Área de concentración tiempo bajo la curva), t_{max} (hora de concentración máxima), C_{max} (concentración máxima alcanzada), $t_{1/2}$ (tiempo de vida media), C_0 (concentración inicial), ND (no determinado).

Curvas de concentración vs tiempo individuales



GRÁFICA 1. Curvas de concentración de tacrolimus vs tiempo en horas



GRÁFICA 2. Curva de farmacocinética concentración contra tiempo global

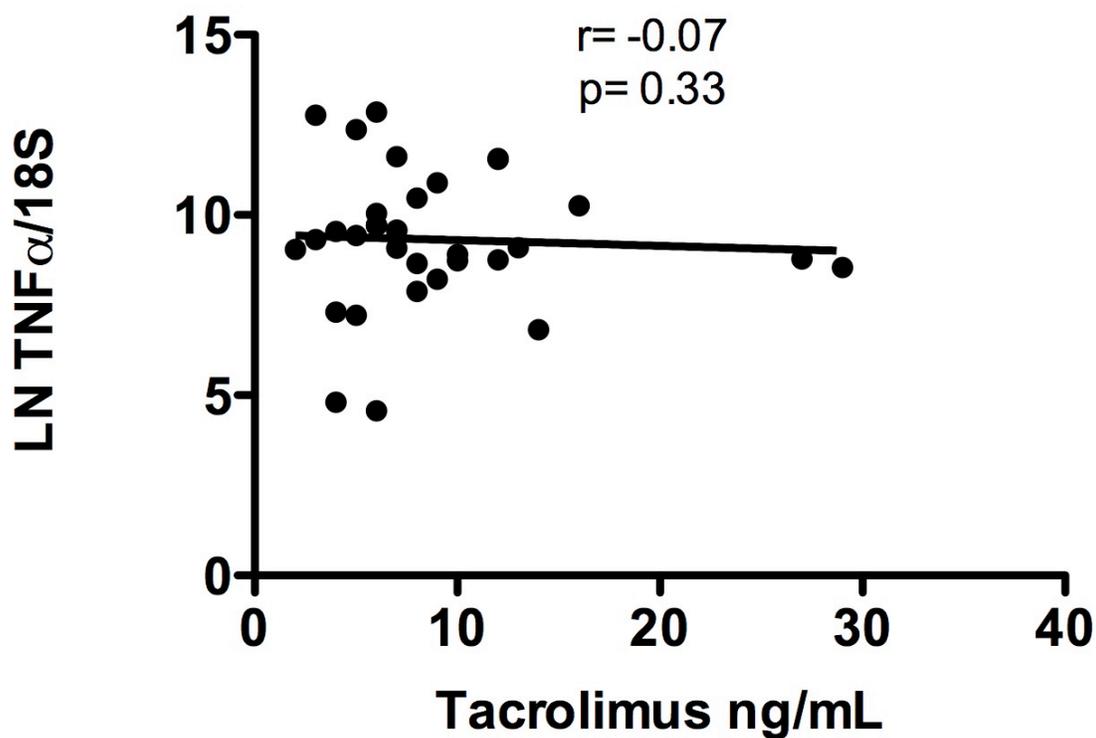
De los 6 pacientes incluidos en el estudio, se llevó a cabo determinación de genotipo para CYP3A5 solamente en 5 de ellos, con muestra inadecuada y lectura errónea del secuenciador en uno de los integrantes. En 3 casos se observó no expresión del citocromo (homocigotos GG - *3*3) y en 2 casos la expresión del mismo (heterocigoto AG - *1*3). En la TABLA 7 se muestra la distribución del genotipo por grupos en comparación con la farmacocinética en cada paciente. En ninguna de las variables el presentar la expresión o no de CYP3A5 resultó estadísticamente significativo.

TABLA 7. COMPARACIÓN DE PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE TACROLIMUS CON GENOTIPIFICACION EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL

| | CYP3A5 *1*3 (Expresan) n =2 | CYP3A5 *3*3 (No Expresan) n =3 | p |
|---|--|---|----------|
| Dosis (mg/Kg/día) | 0.19 (0.12-0.26) | 0.03 (0.03-0.06) | 0.2 |
| C₀ (ng/ml) | 7.15 (6.1-8.2) | 4.4 (3.8-6) | 0.4 |
| C_{max}/Dosis (ng*ml/mg*Kg*día) | 140.61 (55.38-225.83) | 275 (196.67-420) | 0.4 |
| t_{1/2} (h) | 10.77 (5.94-15.59) | 9.9 (2.93-10) | 0.8 |
| t_{max} (h) | 1 (1-1) | 2 (1-8) | 0.4 |
| ABC₀₋₁₂ (h*ng/mL) | 127.25 (92.54-161.95) | 106.8 (52.35-110) | 0.8 |
| ABC₀₋₁₂/Dosis (h*ng*mL/mg*Kg*día) | 852.75 (355.92-1349.58) | 1780 (1745-3666.67) | 0.2 |

P significativa 0.05. U-Man_whitney.

La expresión génica fue determinada con el número de copias por microgramo de RNA de TNF- α , normalizado con el gen control de 18s. En el GRAFICO 3 se muestra la dispersión de puntos de la totalidad de pacientes del LN de TNF α /18 s contra las concentraciones de tacrolimus en todos los puntos de la farmacocinética considerando el tiempo de administración. Fue aplicada una prueba de correlación con r de Spearman observando que existe una tendencia negativa, con r = 0.07, sin embargo sin llegar a tener diferencia estadísticamente significativa; se observa efectivamente que la concentración de TNF- α disminuye en tanto las concentraciones de tacrolimus son mayores, con los más altos niveles al inicio del estudio farmacocinético



GRÁFICA 3. LN TNF α /18s VS concentraciones de tacrolimus en todos los puntos de la farmacocinética expresados de manera individual. Correlación de Spearman, p no significativa de 0.33.

Tomando en consideración las medias de concentración de cada punto de la farmacocinética con respecto al LN TNF- α /18s, se observa en la dispersión de puntos que existe una correlación negativa entre la concentración de tacrolimus de manera global por punto de farmacocinética con respecto a la media correspondiente al mismo punto de LN TNF- α . Aplicando r de Spearman se evidencia $r = -0.498$ con $p = 0.17$. GRÁFICA 4.

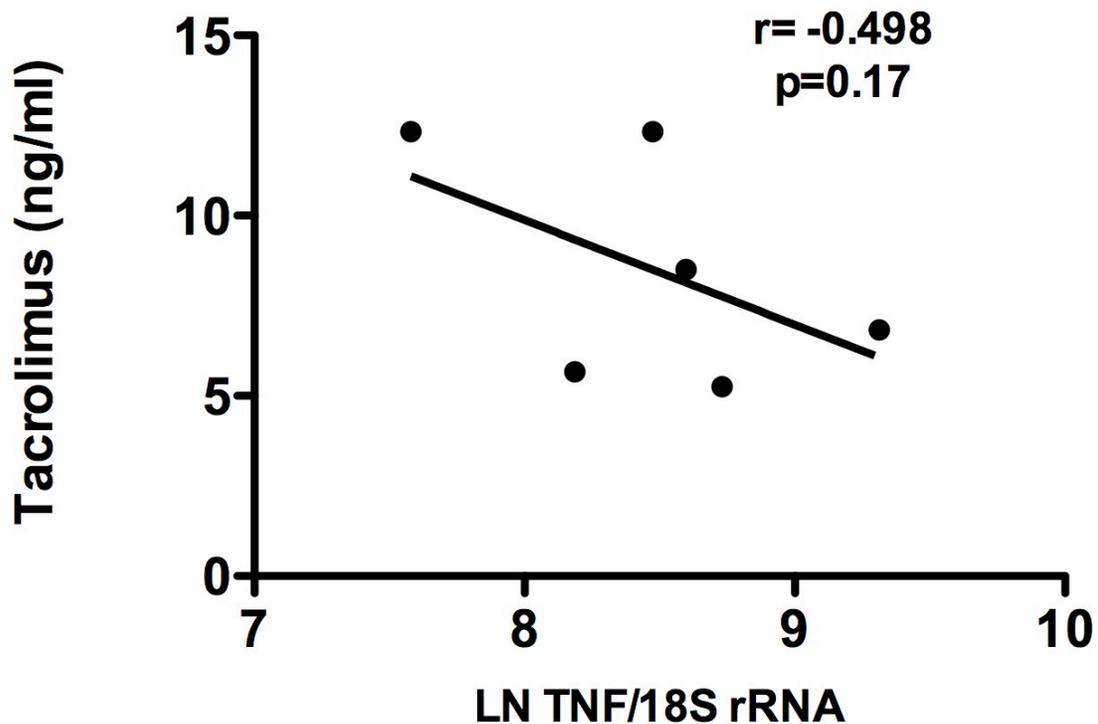
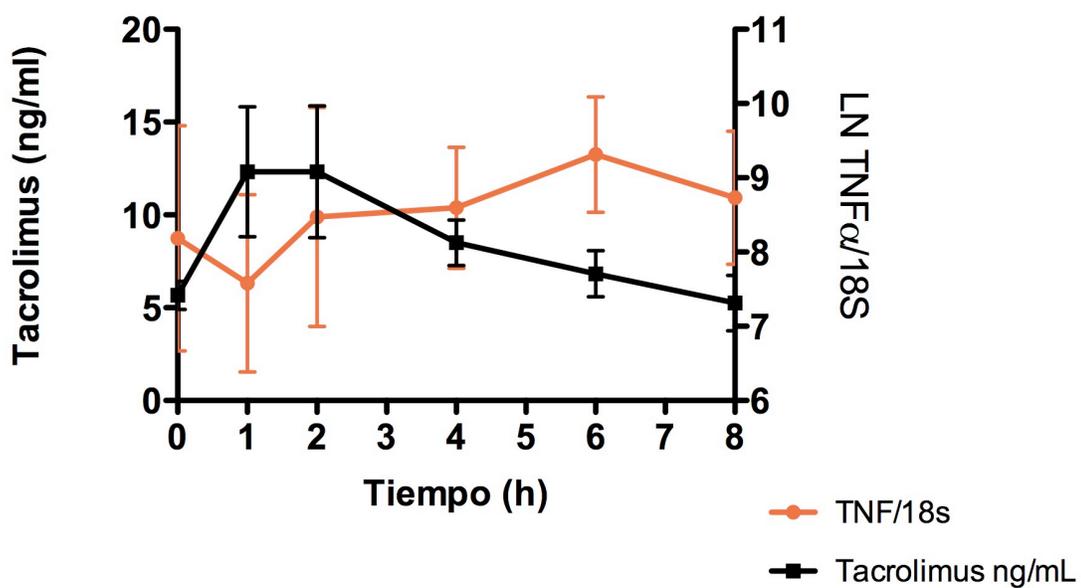


GRÁFICO 4. Dispersión de puntos de farmacocinética con respecto a la media de concentración de FK-506 para cada punto VS LN TNF α /18s

El GRÁFICO 5 muestra la curva de farmacocinética y expresión génica contra el tiempo, en cada punto de la farmacocinética correspondiente, se observa que existe una tendencia a la disminución de los niveles de TNF α ante los niveles más altos de tacrolimus, cabe mencionar la amplia desviación estándar en cada punto, que corresponde al número escaso de pacientes.

GRÁFICO 5.

Curva de farmacocinética y expresión génica vs. tiempo



DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el estudio son similares a los reportados en otros estudios, como los realizados por Claudia Sommerer acerca de la comparación de de farmacocinética con farmacodinamia de inhibidores de calcineurina en cuanto a una correlación inversa entre la administración de CsA o tacrolimus con la determinación de expresión génica. Al momento sólo con asociación no significativa entre ambos parámetros. No fue posible en este estudio recolectar suficiente muestra para generar normalidad en la distribución y significancia estadística, sin embargo la metodología realizada fue la adecuada para determinación de farmacocinética y cultivo celular para extracción de RNA y posterior cuantificación d expresión génica. Es interesante que hay evidencia en la literatura, también presente en el actual estudio, que la vigilancia de los inhibidores de calcineurina con niveles plasmáticos aislados no es suficiente para la individualización de la dosis por paciente y que el factor genético, con identificación de polimorfismos de CYP3A5 y MDR1, además de parámetros farmacocinéticos completos y la expresión génica de genes producidos por linfocitos, es fundamental para la prevención en lo más posible de eventos de rechazo agudo, infecciones, nefrotoxicidad y disfunción del injerto a largo plazo.

CONCLUSIONES

Dentro del abordaje clínico y de laboratorios séricos tomados a cada paciente cabe destacar que ninguno cursaba con alteración de la función renal o hepática y sin dislipidemia que pudiera alterar la determinación de niveles de FK-506.

En cuanto a la correlación existente entre la concentración mediante ABC del tacrolimus en un periodo farmacocinético de 12 horas, se observa que a pesar de que la correlación no fue estadísticamente significativa, si se tiene una r que representa que esta es negativa, con lo cual se apoya el hecho de considerar la expresión génica de este gen como marcador farmacodinámico dado a que su concentración puede sugerir inmunosupresión excesiva o insuficiente.

Es importante considerar que en el presente estudio el número de pacientes incluido fue escaso, por lo que las diferencias pueden ser no estadísticamente significativas aunque haya una tendencia sobretodo a una correlación inversa con respecto a los niveles de tacrolimus en comparación con la expresión de TNF- α .

Con respecto a la genotipificación, tampoco se obtuvo una asociación estadísticamente significativa, con respecto a aquellos pacientes con expresión del CYP3A5 y aquellos sin expresión del mismo en cuanto a parámetros farmacocinéticos, sin embargo esto corresponde al tamaño de muestra insuficiente ya que es esperado también requerimientos de dosis inferiores a aquellos sin expresión del citocromo en comparación a aquellos con expresión. En el estudio se presentó una distribución de los polimorfismos semejante a la que se reporta en otros estudios para asiáticos.

Es necesario realizar este estudio en poblaciones mexicanas con mayor número de pacientes pediátricos para determinar el potencial de la cuantificación de la expresión génica como parámetro de vigilancia farmacodinámico del tacrolimus, con la finalidad de individualización de la inmunosupresión.

BIBLIOGRAFÍA

1. Danovich, G., *handbook of kidney trasnplantation*. fifth ed. 2010, usa: Lippincott Williams & Wilkins.
2. Alberú J, M.L., *Trasplante renal*. 2011, México: Permanyer.
3. Reyes-Pérez H, M.M., *Uso de tacrolimus en pediatría*. Bol Med Hosp Infant Mex, 2006. **63**: p. 276-85.
4. Sommerer, C., et al., *New concepts to individualize calcineurin inhibitor therapy in renal allograft recipients*. Saudi J Kidney Dis Transpl. **21**(6): p. 1030-7.
5. Iwasaki, K., *Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics*. Drug Metab Pharmacokinet, 2007. **22**(5): p. 328-35.
6. Wallemacq, P.E. and R.K. Verbeeck, *Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients*. Clin Pharmacokinet, 2001. **40**(4): p. 283-95.
7. Staatz, C.E. and S.E. Tett, *Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation*. Clin Pharmacokinet, 2004. **43**(10): p. 623-53.
8. Kearns, G.L., et al., *Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children*. N Engl J Med, 2003. **349**(12): p. 1157-67.
9. Venkataramanan, R., et al., *Clinical pharmacokinetics of tacrolimus*. Clin Pharmacokinet, 1995. **29**(6): p. 404-30.
10. Cherala, G., et al., *Tacrolimus pharmacokinetics in Hispanic children after kidney transplantation*. Transplant Proc. **43**(10): p. 3708-12.
11. Garcia-Roca, P., et al., *CYP3A5 Polymorphism in Mexican Renal Transplant Recipients and its Association with Tacrolimus Dosing*. Arch Med Res.
12. Turolo, S., et al., *Frequencies and roles of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms in Italian teenagers after kidney transplantation*. Pharmacol Rep. **62**(6): p. 1159-69.
13. Lamba, J.K., et al., *Common allelic variants of cytochrome P4503A4 and their prevalence in different populations*. Pharmacogenetics, 2002. **12**(2): p. 121-32.
14. MacPhee, I.A. and D.W. Holt, *A pharmacogenetic strategy for immunosuppression based on the CYP3A5 genotype*. Transplantation, 2008. **85**(2): p. 163-5.
15. Midtvedt, K., et al., *C2 monitoring in maintenance renal transplant recipients: is it worthwhile?* Transplantation, 2003. **76**(8): p. 1236-8.
16. Einecke, G., et al., *The value of C2 monitoring in stable renal allograft recipients on maintenance immunosuppression*. Nephrol Dial Transplant, 2004. **19**(1): p. 215-22.
17. Morris, R.G., et al., *Comparison of trough, 2-hour, and limited AUC blood sampling for monitoring cyclosporin (Neoral) at day 7 post-renal transplantation and incidence of rejection in the first month*. Ther Drug Monit, 2002. **24**(4): p. 479-86.
18. Halloran, P.F., et al., *The temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine in vivo*. Transplantation, 1999. **68**(9): p. 1356-61.

19. Giese, T., et al., *Monitoring of NFAT-regulated gene expression in the peripheral blood of allograft recipients: a novel perspective toward individually optimized drug doses of cyclosporine A*. *Transplantation*, 2004. **77**(3): p. 339-44.
20. Sommerer, C., et al., *Pharmacodynamic monitoring of cyclosporine a in renal allograft recipients shows a quantitative relationship between immunosuppression and the occurrence of recurrent infections and malignancies*. *Transplantation*, 2006. **82**(10): p. 1280-5.
21. Sommerer, C., et al., *Ciclosporin A tapering monitored by NFAT-regulated gene expression: a new concept of individual immunosuppression*. *Transplantation*, 2008. **85**(1): p. 15-21.
22. Sommerer, C., et al., *Activity of nuclear factor of activated T cells is independent of the number of peripheral lymphocytes in FTY720-treated patients*. *Transplant Proc*, 2008. **40**(5): p. 1416-8.
23. Sommerer, C., et al., *Individualized monitoring of nuclear factor of activated T cells-regulated gene expression in FK506-treated kidney transplant recipients*. *Transplantation*. **89**(11): p. 1417-23.

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO "FEDERICO GÓMEZ"

**DEPARTAMENTO DE NEFROLOGIA
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Introducción

Por medio de la presente solicitamos su autorización para que su hijo(a) participe en el estudio de investigación **RELACION FARMACOCINETICA-FARMACODINAMIA EN INHIBIDORES DE CALCINEURINA EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL** que se llevará a cabo en el Hospital Infantil Federico Gómez durante los años 2011 - 2013. Su participación es voluntaria de manera que usted puede decidir no participar o retirarse del estudio en el momento en que usted lo decida. En cualquier caso su hijo (a), 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 cualquier otro profesional de la salud.

Finalidad del estudio

El tacrolimus o la ciclosporina son medicamentos que su hijo(a) recibe para prevenir el rechazo del trasplante. El uso de estos medicamentos requiere que se vigilen los niveles en sangre ya que niveles bajos pueden favorecer rechazo y niveles altos provocar toxicidad.

Se sabe que los niveles de medicamento pueden variar en cada persona dependiendo sus actividades metabólicas. Esto complica aún más el poder tener una dosis adecuada de estos medicamentos para los niños, además se desconoce si la dosis administrada es suficiente para lograr una adecuada inmunosupresión del niño. Por lo cual el propósito del estudio es evaluar el nivel de inmunosupresión ejercido por tacrolimus o ciclosporina.

Procedimiento del estudio

Si usted acepta que su hijo(a) participe en este estudio solamente se le solicita su autorización para tomarle 6 muestras de sangre (0, 0.5, 1, 2, 8 y 12h) durante 12 hrs y medir los niveles del medicamento (tacrolimus o ciclosporina) para ver como

lo maneja el cuerpo y analizarlo para saber si la dosis que su hijo (a) toma logra una adecuada inmunosupresión de su sistema inmune. Para tomar las muestras de sangre a su hijo(a) se le colocara una aguja (yelco) en una vena del brazo o de la mano para **evitar picarlo(a)** varias veces.

Riesgos y molestias

El estudio se realizará con un riesgo mínimo debido a que las muestras sanguíneas serán obtenidas mediante punción venosa, el niño podrá sentir un dolor a causa del piquete y la cantidad obtenida de sangre no sobrepasa el volumen establecido por el Reglamento de Investigación en Seres Humanos de la Ley General de Salud.

Beneficios

Con este trabajo su hijo(a) podrá tener una dosis adecuada para evitar el riesgo de desarrollar reacciones secundarias o toxicidad así como rechazo del injerto. La investigación puede proporcionar información que ayude, en el futuro inmediato, a otros niños con la misma enfermedad que la de su hijo(a).

Costo de los procedimientos

El estudio no tendrá ningún costo para usted

Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad

Los médicos que atiendan a su hijo(a) estarán en todo momento, dispuestos a responder a todas sus preguntas e inquietudes respecto a los resultados del estudio que se realizara a su hijo(a).

En todo momento se mantendrá la confidencialidad de los resultados de los exámenes practicados en su sangre. Solamente usted y los médicos conocerán los resultados del estudio.

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 y que usted pueda tomar las decisiones siguientes con mayor fundamento.

Problemas o preguntas

Si surgiera algún problema o tuviese usted alguna pregunta con respecto a este estudio, a sus derechos como participante en la investigación o cualquier situación relacionada con la misma, debe comunicarse con: la M.en C. Pilar García Roca o la Dra. Mara Medeiros Domingo Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Oseo del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Tel. 5228-9917, extensión 2366.

CONSENTIMIENTO

- 1.- Leí o me leyeron y me explicaron en mi idioma este consentimiento informado que describe el proyecto
- 2.-Tuve la oportunidad de preguntar al investigador y sus colaboradores las dudas relacionadas con el presente estudio y he recibido respuestas satisfactorias.
- 3.- Tengo una copia de este consentimiento firmada por el investigador.
- 4.-Tengo el conocimiento de los objetivos del estudio, procedimientos y maniobras al que será sometida mi sangre, así como los riesgos y beneficios, por este motivo, doy libremente mi consentimiento para que mi sangre sea analizada en el proyecto.
- 5.- Tengo entendido que puedo rehusarme a que mi sangre sea utilizada en el proyecto en cualquier momento sin perder los beneficios de atención que a mi hijo(a) recibe de parte del personal del hospital.

Nombre o huella dactilar del paciente

Nombre y firma del padre/madre o tutor responsable del niño(a), dirección, fecha, parentesco

Testigo: Nombre, firma, dirección, relación con el niño(a), fecha, parentesco

Testigo: Nombre, firma, dirección, relación con el niño(a), fecha, parentesco

DECLARACIÓN DEL INVESTIGADOR

Se le ha explicado al padre/madre del niño(a) la naturaleza del proyecto, por tal motivo **CERTIFICO** que el padre/madre firmo esta forma de consentimiento informado, con una idea clara de los objetivos, procedimientos, riesgos y molestias inherentes al mismo. El padre/ madre tiene conciencia de su participación voluntaria y de la libertad de retirar su consentimiento en cualquier momento que lo decida sin que esto signifique perder los beneficios de atención que otorga el Hospital. Tanto la información oral y escrita le fue proporcionada en su idioma natal, sin términos médicos o legales fuera de su entendimiento.

Dra. Mara Medeiros Domingo
Lab. Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Oseo
Hospital Infantil de México Federico Gómez
Tel. 52-28-99-17 Ext. 2366

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO "FEDERICO GÓMEZ"
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGIA

CARTA DE ASENTIMIENTO

Título del estudio: RELACION FARMACOCINETICA-FARAMACODINAMIA EN INHIBIDORES DE CALCINEURINA EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL

Introducción

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

Se quiere conocer cómo maneja tu cuerpo una medicina que tomas para el riñón trasplantado.

Si decides entrar al estudio vendrás al Hospital una vez para esto. El doctor te revisará para ver que todo esté bien, medirá qué 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 colocará una aguja en una vena, donde se quedará unas horas para tomarte muestras de sangre y no tener que picarte cada vez. Trataremos de hacer las cosas de forma que no duela tanto, pero la aguja puede doler un poco y dejar un moretón.

Se te tomará una muestra de sangre antes de que tomes tus medicamentos y otras después de haberlos tomado par lo cual te pediremos que te quedes cerca del hospital de las 8 de la mañana a las 8 de la noche. Las muestras de sangre se sacaran, en este tiempo de la aguja del brazo sin picarte otra vez. En total sacaremos como una cucharadita y media de sangre.

Cuando el doctor te haga una pregunta es importante que contestes la verdad. Tú también puedes hacerle todas las preguntas que quieras por e estudio que te vamos a hacer. Tu participación en el estudio puede ayudar a otros niños.

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

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

___ Sí 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 _____

Firma _____

Relación con el niño _____ Fecha _____.:

Testigo 1

Nombre _____

Firma _____

Relación con el niño _____ Fecha _____.:
Dirección: _____

Testigo 2

Nombre _____

Firma _____

Relación con el niño _____ Fecha _____.:
Dirección: _____

ANEXO 2

**RELACION FARMACOCINETICA-FARMACODINAMIA EN INHIBIDORES DE
CALCINEURINA EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL**

Formato de datos clínicos del paciente

Fecha: ____/____/____.

Nombre _____

No. Registro _____

Género: Masculino (___) Femenino (___)

Fecha de Nacimiento ____/____/____.

Fecha del trasplante ____/____/____. DVR (___) _____
DF (___)

Edad _____ Peso _____ Talla _____ TA _____

Biometría hemática

Hemoglobina _____g/dl Hematocrito _____% Basofilos _____%
Eosinofilos _____% Mielocitos _____% Juveniles _____%
Bandas _____% Plaquetas _____ Linfocitos _____ Monocitos _____
Blastos _____

General de orina

Aspecto y color _____ pH _____
Densidad _____ Albúmina _____gm/L Glucosa _____ Acetona _____
Hemoglobina _____ Bilirrubina _____
Eritrocitos _____ Leucocitos _____ Cilindros _____ Cristales _____
Otros _____
Glucosuria _____gm/L Cuenta minutada _____ Cel. epiteliales _____
Bacterias _____

Funcionamiento hepático

Bilirrubinas: Directa _____mg Indirecta _____mg Total _____mg Proteínas
totales _____
Albuminas _____gm Globulinas _____gm Transaminasas glutámico-
oxalacética _____U
Glutámico piruvica _____U

Química sanguínea

Bun _____ Ac. urico _____ Creatinina _____ Glucemia _____
Colesterol _____ Electrolitos séricos: Cloro _____ Sodio _____
Potasio _____ Triglicéridos _____

Antiginemia

CMV _____ EBK _____ BKV _____ Otra
 infección _____

| FARMACO | DOSIS | DOSIS PONDERAL | MARCA |
|--------------|-------|----------------|-------|
| TACROLIMUS | | | |
| MMF | | | |
| PDN | | | |
| VERAPAMIL | | | |
| PRAZOCIN | | | |
| OMEPRAZOL | | | |
| TMP/SMZ | | | |
| CICLOSPORINA | | | |
| OTROS | | | |

RUTA CRITICA DEL MEDICAMENTO

Nombre _____

No. Registro _____

Fecha de examen _____

| DIA ANTERIOR A LA TOMA DE MUESTRA | | |
|--|------------|------------------|
| Medicamentos que tomo: | | hora de la toma: |
| Ceno: si no | ¿Qué ceno? | Hora: |
| TOMA DE MUESTRA | | |
| Ingreso al hospital | | Hora real |
| Instalar catéter y toma de muestra de sangre predosis. Colocar el adaptador para toma múltiple con previa purga de solución de heparina. | Muestra 0 | |
| ADMINISTRACIÓN DE TACROLIMUS O CICLOSPORINA Hora: | | |
| Muestra de sangre de 0.5 hora | Muestra 1 | |
| Muestra de sangre de 1 hora | Muestra 2 | |
| DESAYUNO LIGERO | | |
| Muestra de sangre de 2 horas | Muestra 3 | |
| Muestra de sangre de 6 horas | Muestra 4 | |

Observaciones: