



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

POLIMORFISMO UGT1A9 E IMPACTO EN LA
FARMACOCINÉTICA DEL ÁCIDO MICOFENÓLICO
EN PACIENTES PEDIÁTRICOS PRE Y POST-
TRASPLANTE RENAL

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

NEFROLOGÍA PEDIÁTRICA

PRESENTA:

Dr. Braulio Jiménez Peña



TUTOR DE TESIS
DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO
Jefe de Laboratorio de Investigación en Nefrología
Hospital Infantil de México Federico Gómez

MÉXICO, D.F. FEBRERO 2014





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.

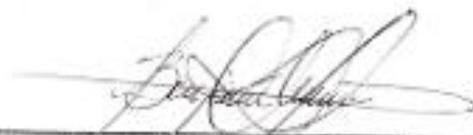
Dra. Rebeca Gómez Chico Velasco
Directora de Enseñanza y Desarrollo Académico
Hospital Infantil de México Federico Gómez



Dra. Mara Medeiros Domingo
Asesor de Tesis
Jefe de Laboratorio de Investigación en Nefrología
Hospital Infantil de México Federico Gómez



Dra. María Inés del Pilar García Roca
Co - asesor de Tesis
Laboratorio de Investigación en Nefrología
Hospital Infantil de México Federico Gómez



M. en C. Benjamín Rodríguez Espino
Co - asesor de Tesis
Laboratorio de Investigación en Nefrología
Hospital Infantil de México Federico Gómez

*A los niños
por la manera de luchar
contra la enfermedad
y ver la vida.*

*Con agradecimiento
a todos los involucrados en el proyecto,
pero especialmente por su apoyo y conocimiento a la*

*Dra. Mara, Dra. Pilar,
Mto. en C. Benjamín y QFB Rosalía*

ÍNDICE

1. Antecedentes.....	5
2. Marco teórico.....	6
3. Planteamiento del problema.....	13
4. Pregunta de investigación.....	14
5. Justificación.....	14
6. Objetivos	14
7. Metodología.....	15
a. Diseño del estudio.....	15
b. Población blanco.....	15
c. Criterios de selección de los pacientes.....	15
d. Recolección de datos.....	16
e. Análisis Estadístico.....	20
f. Consideraciones Éticas.....	20
g. Consideraciones de Bioseguridad.....	21
8. Resultados	22
9. Discusión.....	28
10. Conclusiones.....	29
11. Limitaciones del estudio.....	30
12. Cronograma.....	30
13. Bibliografía.....	31
14. Anexos.....	35

ANTECEDENTES

En la prevención del rechazo de trasplante renal se utiliza una combinación de medicamentos inmunosupresores, la terapia en general incluye esteroides, inhibidores de calcineurina (ciclosporina o tacrolimus) y un inhibidor del ciclo celular (azatioprina o micofenolato de mofetilo).

El micofenolato de mofetilo (MMF) es uno de los medicamentos más empleados en la terapia inmunosupresora, el MMF es profármaco del ácido micofenólico (AMF), molécula que presenta la actividad inmunosupresora. Tras su aprobación en 1995 por la FDA, se ha convertido en el agente antiproliferativo de mayor uso en trasplantes, más del 80 % de los pacientes recibe MMF como parte del esquema inmunosupresor ¹.

Existen diversas presentaciones genéricas del MMF, así como una formulación con capa entérica del ácido micofenólico. Se ha demostrado la intercambiabilidad en pacientes pediátricos sometidos a trasplante renal al utilizar las formulaciones de MMF y de AMF con capa entérica innovadoras, observándose sólo diferencia en el nivel de seguridad al usar AMF con capa entérica en comparación con MMF ²⁻⁴.

La terapia farmacológica para trasplante de órganos comenzó con la introducción de la azatioprina (AZT), un fármaco derivado de la 6-mercaptopurina (6-MC) aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en 1968. La asociación de esteroides y AZA fue el tratamiento inmunosupresor estándar en el trasplante renal por casi 20 años hasta la introducción de la ciclosporina (CyA) en 1980.⁵

El ácido micofenólico (MPA) es el principio activo del Micofenolato de mofetilo (MMF) y del Micofenolato de sodio de liberación entérica (MPS-EC). Como se comentó el MMF fue registrado en la FDA en 1995, tras la realización de tres estudios multicéntricos internacionales que demostraron su mayor eficacia en la prevención del rechazo agudo comparada al de AZA o placebo.³

Tras la aprobación del MMF, el uso clínico de AZA viene disminuyendo progresivamente en los últimos años. Las causas para este creciente uso de MPA son varias, incluyendo la superioridad en la prevención del rechazo agudo, la supervivencia del paciente y supervivencia del injerto con óbito

censurado en pacientes afroamericanos y caucasianos, reducción en la incidencia de rechazo agudo tardío, reducción de la nefropatía crónica.

MARCO TEÓRICO

El ácido micofenólico (AMF) inhibe la inosin-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), enzima limitante en la síntesis de novo de nucleótidos de guanina en linfocitos T y B. El efecto inhibitorio selectivo sobre el sistema inmune se explica por la dependencia de los linfocitos de obtener guanina por la vía de novo y no por vía alternativa de biosíntesis del nucleótido, la falta de guanina provoca inhibición de la proliferación linfocitaria, lo cual lleva a la inmunosupresión no sólo celular, sino también humoral al disminuir la producción de anticuerpos y algunas citocinas^{5,6}.

El ácido micofenólico ya sea tras la administración de micofenolato de mofetilo o micofenolato sódico con capa entérica muestra una farmacocinética muy variable, dichas variaciones se deben a diferentes factores que van desde diferencias intra e inter individuo hasta algunas debidas a las formulaciones⁷⁻¹⁰.

Después de su administración oral, el micofenolato de mofetilo es hidrolizado completamente a ácido micofenólico (principio activo) por esterasas presentes principalmente en el intestino delgado, sangre e hígado⁸.

Su biodisponibilidad es mayor al 90% y el tiempo en el que alcanza la concentración máxima va de 1-2 h post administración pudiendo presentar un segundo pico máximo entre 6-12 h después de la administración debido a que sufre circulación enterohepática³.

Se une extensamente a la albúmina humana (97%) y para su depuración el AMF es metabolizado a través de glucuronidación por diferentes isoformas de la UGT. El principal metabolito es el 7 hidroxiglucurónido del ácido micofenólico (GAMF) generado por la isoenzima UGT1A9 dando lugar a un metabolito inactivo, también se llegan a formar en menor proporción otros dos glucurónidos fenólicos que de igual forma son inactivos y un acilglucurónido

del ácido micofenólico el cual se ha observado que presenta actividad inmunosupresora in vitro.

El gen que codifica para la enzima UGT1A9, localizado en el cromosoma 2q37 tiene cinco exones y 2416 pares de bases, se han descrito los siguientes polimorfismos:¹¹⁻¹⁴

1) rs17868320 (-2152 C>T) en el promotor del gen. El polimorfismo se asocia con niveles de AMF menores.

2) rs6714486 (-275 T>A) también en el promotor del gen. Se ha asociado a mayor glucoronización de AMF. El polimorfismo se asocia con niveles de AMF menores.

3) rs2741096 (-331 T>C), en el promotor del gen. En niños se ha visto que los portadores del alelo TT tienen mayor riesgo de efectos secundarios al MMF como leucopenia y diarrea.

4) rs72551330 (98 T>C), que produce un cambio en la proteína dando una metionina en vez de una treonina. El alelo 98 TT se conoce como *1/*1 y el 98 CC como *3/*3. Los pacientes con el alelo *3 tienen niveles de AMF mayores

5) rs2741049 (1399 T>C) en intrón. No se han reportado cambios en la biodisponibilidad asociados a este polimorfismo.

Los dos polimorfismos en el promotor del gen se han relacionado con una exposición significativamente menor al AMF y a un mayor riesgo de rechazo agudo (razón de momios de 13.3).

Mecanismo de acción

Las células pueden sintetizar bases de purina y de pirimidina a través de dos vías enzimáticas: la de *novo* y la de *salvamento*. En la *vía de novo* la síntesis de bases de purina se inicia a partir de la glutamina y requiere 10 etapas enzimáticas para la síntesis de inosina monofosfato (IMP), mientras que la síntesis de bases de pirimidina necesita de seis etapas para la síntesis de uridina monofosfato (UMP). El IMP es convertido a adenosina monofosfato (AMP) por la acción de la enzima adenina desaminasa (ADA) y a guanosina monofosfato (GMP) por la acción de la enzima inosina monofosfato

deshidrogenasa (IMPDH). La *vía de salvamento* recupera los nucleótidos circulantes, oriundos de la degradación proteica de la dieta o muerte celular y, a través de las enzimas cinasas, los transforma en nucleótidos (NTP) o desoxinucleótidos (dNPT) trifosfatados. Las células con mayor capacidad de duplicación, como linfocitos, depende preferentemente de la vía de novo, mientras que las demás pueden suplir sus necesidades de nucleótidos a través de la vía de salvamento. AZT y MPA son fármacos antiproliferativos inhibiendo la síntesis de nucleótidos de bases de purinas.

Absorción: tras la administración oral, MMF y MPS son rápidamente convertidos en MPA en el estomago, intestino delgado, sangre, hígado y tejidos. Cerca del 90% de la dosis oral de MMF o MPS-EC es regularmente absorbida.

Distribución: en la sangre total, el 99.99% del MPA absorbido está en la fracción plasmática, y apenas el 0.01% está distribuido en los elementos celulares. En pacientes con función renal y hepática normal, 97-99% de la fracción plasmática del MPA está vinculada a la albúmina de forma concentración dependiente.

Metabolismo: el MPA es metabolizado en el tracto gastrointestinal, hígado y riñón a través de la acción de las enzimas uridina difosfato glucoronosiltransferasas (UGT). Existen varias isoformas de esa enzima, y las principales son la UGTA9 y la UGT2B7, que se expresan en concentraciones elevadas en el hígado y riñón. Su metabolito principal, el MPAG, es inactivo, presenta alta capacidad de relación con la albúmina y se encuentra en el plasma en concentraciones 20-100 veces mayores que el MPA. Por lo menos se forman otros dos metabolitos menores, el 7-O-glucosídeo y la acil-glucoronídeo (AcMAPG).

Eliminación: tras la administración oral, cerca del 87% de la dosis es recuperada como MPAG y menos de 1% como MPA. La secreción biliar de MPAG producido por el hígado ocurre a través de la proteína transportadora multidrug resistance protein 2 (MRP-2).

Recirculación enterohepática: el MPAG excretado en la bilis puede ser nuevamente convertido en MPA y reabsorbido en el colon a través de la acción de las enzimas glucoronidasas de las bacterias del tracto gastrointestinal. Se estima que la recirculación enterohepática contribuye con

aproximadamente el 40% (10-60%) de la exposición al MPA durante el intervalo de la dosis.

Después de la administración de MMF o MPS a trasplantados renales estables, la farmacocinética del MPA es lineal, y semejante en el intervalo de dosis utilizado clínicamente. Cuando se administran en dosis equimolares (MMF 1,000 mg vs MPS-EC 720 mg), las dos fórmulas de MPA producen concentraciones de MPA similares durante el intervalo de dosis (área bajo la curva [AUC] de la concentración plasmática de MPA durante el intervalo de dosis). Debido a la liberación entérica producida por el MPS, el tiempo para alcanzar la máxima concentración de MPA en el plasma es mayor comparado con el que se observa tras la administración de MMF. Después de la absorción del MPA, se puede observar un segundo pico de concentración plasmática como consecuencia de la recirculación enterohepática; de esta manera, la depuración plasmática, así como la vida media de eliminación son semejantes, independientemente de la formulación utilizada

Interacciones medicamentosas

Otra causa de las variaciones en los niveles del AMF y/o alguno de sus metabolitos son las interacciones que existen con algunos fármacos como son^{8,26}:

Interacciones mayores:

- *Antiácidos con hidróxido de magnesio y aluminio (interacción establecida)*: La absorción de micofenolato de mofetilo disminuye tras su administración con antiácidos.
- *Vacunas de virus vivos (teórica)*: como son vacunas para paperas, sarampión, rotavirus, polio sabin, varicela y fiebre amarilla.
- *Inhibidores de bomba de protones como omeprazol, lansoprazol, esmoprazol (teórica)*. Pueden disminuir la biodisponibilidad²⁷.

Interacciones moderadas:

- *Ciclosporina (establecida)*: La farmacocinética de la ciclosporina A no experimentó variaciones por el micofenolato de mofetilo. Sin embargo

esta incrementa los niveles de AMF, debido a inhibición en la proteína MRP-2¹⁵.

- Hormonales como valerato de estradiol, estradiol, mestranol, desogestrel (probable)
- *Aciclovir*: Se observaron concentraciones plasmáticas de GAMF y aciclovir más altas tras la administración de ellos de forma concomitante. Dado que las concentraciones plasmáticas de GAMF y aciclovir aumentan cuando está deteriorada la función renal, existe la posibilidad de que los dos fármacos compitan en las secreciones tubulares y, como consecuencia, se eleve aún más la concentración de ambos.
- *Colestiramina*: Tras la administración de micofenolato de mofetilo a sujetos sanos tratados previamente con colestiramina, el área bajo la curva (ABC) del AMF disminuye en un 40%.

Otras interacciones descritas:

- *Tacrolimus*. La depuración de MPA esta disminuida cuando se emplea tacrolimus, por esto se recomienda monitoreo en estos pacientes^{16, 17}.
- *Sirolimus* incrementa niveles de micofenolato.
- *Analgesicos no esteroideos*. Se ha descrito que algunos analgésico no esteroideos como el ácido fluufenámico, el niflunámico (ketorolaco) y el mefenámico inhiben la glucoronidación del MPA^{18, 19}
- Metronidazol

Efectos secundarios

El perfil toxicológico asociado al empleo de fármacos inmunosupresores es a menudo difícil de establecer, debido a la presencia de una enfermedad subyacente y al uso simultáneo de otros medicamentos. Las principales reacciones adversas asociadas a la administración de micofenolato de mofetilo consisten en diarrea, leucopenia, sepsis y vómito²⁰⁻²².

Se indican a continuación las *reacciones adversas* notificadas en pacientes tratados con micofenolato de mofetilo²⁶.

Comunes

- *Cardiovasculares*: hipertensión (trasplante renal 28.2-34%).
- *Metabólicos y nutricionales*: hiperpotasemia, hiperglucemia (trasplante cardiaco 46.7%), hipofosfatemia, hipopotasemia, hipercolesterolemia (trasplante cardiaco 41%), hipocalcemia (trasplante de hígado 30%), edema periférico, edema.
- *Digestivos*: diarrea (trasplante renal 31-36%), vómitos (trasplante cardiaco 34%, trasplante hepático 33%), estreñimiento (trasplante renal 18-23%), náuseas (trasplante renal 20-24%; trasplante cardiaco 54%, trasplante de hígado 54%), náuseas y vómitos, dispepsia, Candidiasis bucal, dolor abdominal (trasplante renal 25-28%),
- *Respiratorios*: infección (trasplante renal 22-24%), disnea (trasplante cardiaco 37%, trasplante hepático 31%), faringitis, aumento de la tos (trasplante cardiaco 31%).
- *Piel y anexos*: herpes simple, acné.
- *Neurológico*. Cefalea, mareos (trasplante renal 16 a 21%, trasplante cardiaco 54%), insomnio (trasplante cardiaco 40.8%).
- *Musculo esquelético*. Dolor lumbar (trasplante cardiaco 34.6%, trasplante hepático 46.6%)
- *Renal*: Elevación de nitrógeno ureico en suero (trasplante cardiaco 34%), infección de vías urinarias (trasplante renal 37%)
- *Otros*: Fiebre (trasplante renal 21-23%)

Eventos adversos serios

- *Gastrointestinales*: Úlcera gástrica (infrecuente), hemorragia gastrointestinal (1.7% a 5.4%)
- *Hematológicos*: anemia (trasplante renal 26%), leucopenia (23-46%), trombocitopenia (23-38%)
- *Inmunológico*: Neoplasia epitelial maligna de piel (1.6 a 4.2%), linfoma maligno (0.4 a 1%), infecciones oportunistas, sepsis.
- *Renal*: enfermedad por virus BK
- *Respiratorio*: Derrame pleural (trasplante hepático 34%)

Farmacocinética en pacientes pediátricos:

Tanto en pacientes pediátricos como adultos se presenta variabilidad intra e interindividual de los parámetros farmacocinéticos. El área bajo la curva de la concentración plasmática contra tiempo (ABC), está asociada con la eficacia en la prevención de rechazo al injerto, por lo que se han propuesto concentraciones objetivo del ABC_{0-12} como un indicador de ella ^{23, 24}

El nivel terapéutico deseado en adultos se relaciona con una ABC de entre 30-60 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ y en niños los valores se pueden considerar similares o bien entre 36-64 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$.^{3, 25}

En un estudio realizado por nuestro grupo encontramos que la formulación con capa entérica es bioequivalente y más segura que el micofenolato de mofetilo (profármaco). También fue evidente que 75% de nuestros pacientes están sobre-expuestos al AMF³. No hacemos actualmente en HIM monitoreo terapéutico de rutina, ya que se ha sugerido que la mejor manera de vigilar a los pacientes es con área bajo la curva de la concentración plasmática contra tiempo (ABC) y no con C₀h (niveles en valle) ya que no hay buena correlación entre los niveles en valle y el ABC.

El método ideal para la determinación de ácido micofenólico y sus metabolitos es cromatografía líquida de alta presión (HPLC) ^{7,8,28,29}.

La farmacocinética del MPA tras la administración de dosis fijas diarias de MMF o MPS-EC presenta gran variabilidad. Varios factores intervienen en esa variabilidad. La disfunción renal causa reducción de la excreción del MPAG, y la enfermedad hepática y la hipoalbuminemia aumentan la fracción libre del MPA. La alimentación reduce la magnitud y retarda el alcance del pico de MPA, aumentando la formación de MPAG. El metabolismo del MPA parece ser menor en mujeres, probablemente debido al estrógeno con compete con MPA en los sitios de ligación con UGT. Hay un aumento progresivo de las concentraciones de MPA con el tiempo tras el trasplante. La CyA inhibe la secreción biliar de MPAG por el transportador MRP-2 y reduce la recirculación enterohepática de MPA. Las concentraciones plasmáticas de MPA asociado a TAC son 20% mayores que las observadas en pacientes que reciben CyA. La prednisona induce expresión de la enzima UDP-glucuroniltransferasa, aumentando la conversión de MPA a MPAG y reduciendo la concentración plasmática de MPA. Por este motivo, la

reducción de su dosis a largo plazo o su retirada puede aumentar la concentración de MPA. Polimorfismos en los genes de la UGT como UGT1A9, UGT1A8, UGT2B7, de la MRP-2 pueden ser los posibles responsables de diferencias de glucoronidación de MPA y excreción biliar MPAG, respectivamente.

Seguridad y tolerancia

El uso de MPA está asociado a una incidencia mayor de reacciones gastrointestinales y hematológicas adversas y de infecciones virales. La toxicidad gastrointestinal del MPA parece estar asociada a la dosis administrada, siendo responsable de la reducción de la dosis del MMF o eventual interrupción definitiva en hasta 21,3% de los pacientes. Las reacciones adversas hematológicas, incluyendo leucopenia y anemia, han sido asociadas a elevadas concentraciones plasmáticas de MPA. Comparando con los pacientes que recibieron AZT, SRL o everolimus, aquellos que recibieron MPA presentaron una mayor incidencia de infecciones virales, principalmente la enfermedad por citomegalovirus (CMV)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El AMF se metaboliza por glucuronidación por la isoenzima UGT1A9, de la cual existen polimorfismos que pueden interferir en su metabolismo, tal como los dos localizados en el promotor del gen: -2152 C>T y -275 T>A relacionados con una exposición menor al AMF y a un mayor riesgo de rechazo, el 98 T>C que produce un cambio en la proteína dando una metionina en vez de una treonina y que en los pacientes con el alelo *3 tienen niveles de AMF mayores. Actualmente no se conoce la frecuencia de estos polimorfismos en población mexicana. En un estudio de investigación realizado recientemente en este hospital se encontró que el 75% de nuestros pacientes tienen ABC_{0-12h} de ácido micofenólico por arriba de los valores recomendados a pesar de recibir una dosis ponderal apropiada³ por lo tanto: ¿Alguno de estos polimorfismos están presentes en nuestra población con un alta frecuencia que intervienen en la biodisponibilidad del AMF?

PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN

¿Cuál es la frecuencia de los polimorfismos de UGT1A9 en niños mexicanos con trasplante renal?

¿Existe relación entre los polimorfismos de UGT1A9 y la farmacocinética de AMF pre y post-trasplante renal?

JUSTIFICACIÓN

En nuestro Hospital no se realiza monitoreo rutinario de los niveles de ácido micofenólico, principalmente debido a que se recomienda monitoreo en base a área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo (ABC) en vez de niveles en valle y esto requiere de seis a ocho puntos de muestreo en un periodo de 12 horas ya que no hay buena correlación entre los niveles en valle y el ABC, aunado a que tanto en pacientes pediátricos como adultos se presenta variabilidad intra e interindividual de los parámetros farmacocinéticos.

Los polimorfismos en el promotor del gen se han relacionado con una exposición significativamente menor al AMF y a un mayor riesgo de rechazo agudo. Por esto algunos autores recomiendan la genotipificación oportuna, para brindar al paciente una dosis individualizada según el genotipo¹¹.

OBJETIVOS

General:

- Estudiar los polimorfismos de UGT1A9, así como la farmacocinética del AMF en pacientes pediátricos antes del trasplante renal para ayudar en la prescripción médica del fármaco con máxima eficacia y una mínima toxicidad postrasplante.

Específicos:

- Conocer la frecuencia de los polimorfismos en el promotor de UGT1A9 y en el alelo *3/*3 y su relación con la farmacocinética.
- Determinar las características farmacocinéticas del AMF en pacientes pre-trasplantados y compararla con pacientes pos-trasplantados.

METODOLOGÍA Y DISEÑO DEL ESTUDIO

DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio prospectivo.

POBLACIÓN BLANCO

Pacientes pediátricos en el Hospital Infantil de México Federico Gómez (HIMFG) de ambos géneros con diagnóstico de enfermedad renal crónico terminal que se encuentren en lista de espera o programa de estudio para trasplante renal, en quienes se considere recibirán en el post-trasplante régimen inmunosupresor con micofenolato de mofetilo/micofenolato sódico ó alguna formulación de ácido micofenólico.

CRITERIOS DE SELECCIÓN DE LOS PACIENTES

Criterios de inclusión:

- Pacientes de 2 a 17 años de edad en programa de estudio para trasplante renal
- Que vayan a recibir inmunosupresión que incluya formulaciones de micofenolato de mofetilo/micofenolato sódico ó de ácido micofenólico una vez realizado el trasplante.
- Firma de consentimiento informado firmado por el padre ó tutor y asentimiento del paciente (en mayores de 6 años). (ANEXO 1)

Criterios de exclusión:

- Pacientes a los cuales no pueda terminarse de tomar las suficientes muestras durante el estudio.

Criterios de eliminación

- Deseo voluntario de abandonar el estudio
- Pacientes en quienes se documente falta de adherencia

RECOLECCION DE DATOS

Estudio farmacocinético

Los pacientes fueron captados en la consulta externa del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Se les invitó a participar en el estudio y en caso de aceptar se citaron de manera programada al sitio de toma de muestras.

El primer estudio farmacocinético se realizó a una sola dosis de mofetilmicofenolato 30 días a una semana antes de la fecha programada del trasplante renal. Si el paciente no tenía programa para donador vivo relacionado y se encontraba en lista de espera riñón de donante fallecido el estudio se realizó en cuanto firmó el consentimiento informado.

En la primera visita (pre-trasplante) se realizó un examen médico completo registrando edad, sexo, causa de enfermedad renal crónica (ERC), modalidad de diálisis, tratamiento concomitante y presión arterial (ANEXO 2). Se tomó una muestra basal de sangre para los siguientes exámenes de laboratorio: Biometría hemática, transaminasas, proteínas totales y fracciones, creatinina, sodio, potasio, cloro, CO₂t, colesterol, triglicéridos, RNA en células de sangre periférica y muestra para DNA.

Toma de muestras para farmacocinética: Se colocó un yelco en una vena del brazo o mano. Se tomaron los exámenes de laboratorio ya mencionados previamente y una muestra para tiempo 0 de 3.5mL en microtainer con anticoagulante.

Se administró una dosis de mofetilmicofenolato 600mg/m²SC dosis única. Las siguientes muestras de 1 mL cada una se tomaron a los siguientes tiempos: 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, y 12 horas. Las muestras de la farmacocinética se almacenaron hasta su análisis a -20°C, debiéndose analizar en un periodo menor a 2 meses de obtenidas.

La genotipificación de los polimorfismos en los promotores de UGT1A9 y el alelo *3 se hicieron por secuenciación directa.

Una vez realizado el trasplante se anotó fecha, fuente de injerto, creatinina basal, calculo de tasa de filtración glomerular.

El esquema inmunosupresor que se emplea actualmente en todos los niños con trasplante renal incluye micofenolato, sin embargo este medicamento se puede retirar cuando presentan alguna complicación infecciosa grave o bien por enfermedad linfoproliferativa. En casos extremos también puede indicarse otro tipo de inmunosupresor antiproliferativo por razones de costo. El esquema de inmunosupresión que se emplea en nuestro Hospital considera dos bolos de metilprednisolona (Día del trasplante y día 1 post-trasplante) posteriormente reciben prednisona oral 2mg/Kg/día y se disminuye progresivamente la dosis, de modo que al mes reciben una dosis de prednisona de 0.5mg/kg/día y a los tres meses 0.1mg/kg día. Mofetilmicofenolato, inicia el día del trasplante renal a dosis de 600 a 900mg/m²SC/día. Tacrolimus inicia una vez que la creatinina sérica está por debajo de 2mg/mL a dosis de 0.10-0.15mg/Kg/día para tener niveles en valle entre 5 y 10. Mofetilmicofenolato a las dosis ya señaladas. Actualmente no hacemos monitoreo terapéutico.

El paciente continuó el seguimiento habitual en la consulta externa de nefrología con visitas semanales. Alrededor de los 3-4 meses postrasplante o al momento en que se encontró con dosis iguales de MMF matutina y nocturna se realizó un segundo estudio farmacocinético.

Segundo perfil farmacocinético:

El paciente llegó antes de la hora de administración de la dosis matutina, en ayunas y habiendo tomado la dosis de la noche de manera exacta. Se les pesó, midió y solicitó datos sobre la formulación de micofenolato y otros medicamentos que estuvieran tomando, así como una evaluación de los posibles eventos adversos relacionados con el medicamento, se tomaron los mismos exámenes que en perfil farmacocinético basal exceptuando la muestra para DNA.

Las concentraciones de ácido micofenólico se determinaron mediante HPLC.

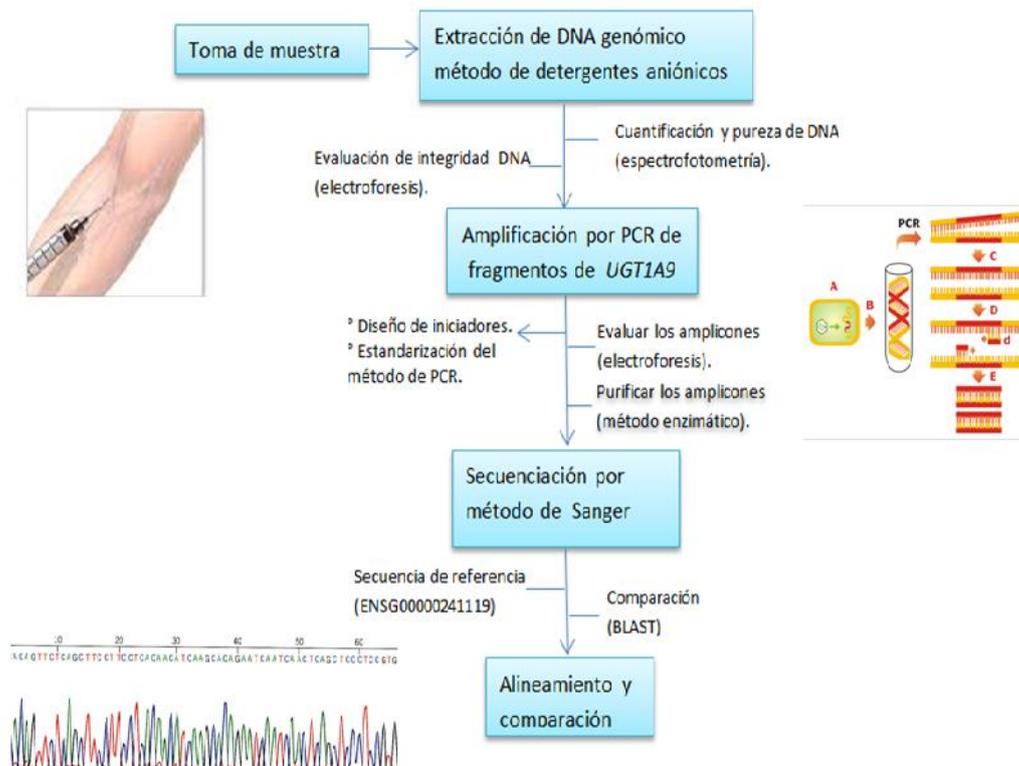
Análisis Farmacocinético:

Se calculó el ABC de la concentración plasmática contra tiempo usando el método de los trapezoides, C_{\min} , C_{\max} y t_{\max} , se tomaron directamente de los puntos experimentales y la vida media se calculó estudiando la fase de caída usando el programa WinNonLin versión 6.0. Se hizo una corrección de los valores de ABC, C_{\max} y C_{\min} según la dosis recibida en $\text{mg}/\text{m}^2\text{SC}/\text{día}$.

Estudio de polimorfismos de UGT1A9

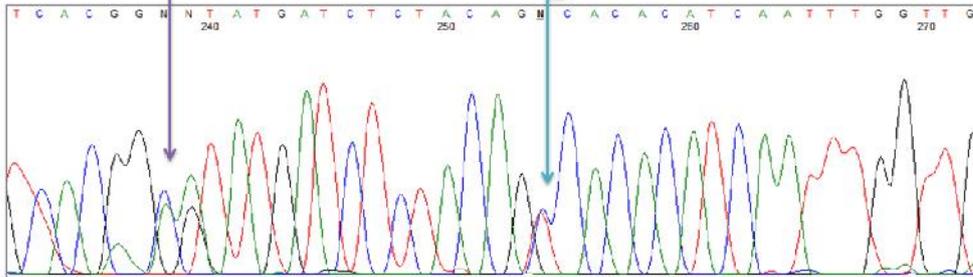
Con la muestra de sangre periférica obtenida para análisis del DNA tomada al momento del primer análisis farmacocinético se realizó el análisis de los polimorfismos de estudio por PCR utilizando las sondas ya publicadas en la literatura¹².

Flujograma



Score	Expect	Identities	Gaps	Strand
357 bits(193)	1e-103	206/216(95%)	1/216(0%)	Plus/Plus
Query 1	TCGAGGACATTATATATGCCCACCGTT- TTTTCAAAAATGCCCTAGAAATAGCCTCTGAA	59		
Sbjct 1	TCGAGGACATTATATATGCCANNNTCTTTTCAAAAATGCCCTAGAAATAGCCTCTGAA	60		
Query 60	ATTCTCCAAACACCTGTTACGGAGTATGATCTCTACACCCACACATCAATTTGGTTGTTG	119		
Sbjct 61	ATTCTCCAAACACCTGTTACGGNNATGATCTCTACACNCACACATCAATTTGGTTGTTG	120		
Query 120	CGAACGGACTTTTGGTGGACTATCCCAAACCCCGTATGCCCAACATGATCTTCATTGGT	179		
Sbjct 121	CGAACGGACTTTTGGTGGACTATCCCAAACCCCGTATGCCCAACATGATCTTCATTGGT	180		
Query 180	GGTATCAACTGCCATCAGGGAAAACCGTTGCCATG	215		
Sbjct 181	GGTATCAACTGNCATCAGGGAAAACCGTTGCCATG	216		

Resultado del alineamiento en BLAST de la secuencia del exón 1 de un paciente, contra la secuencia de referencia ENSG00000241119.



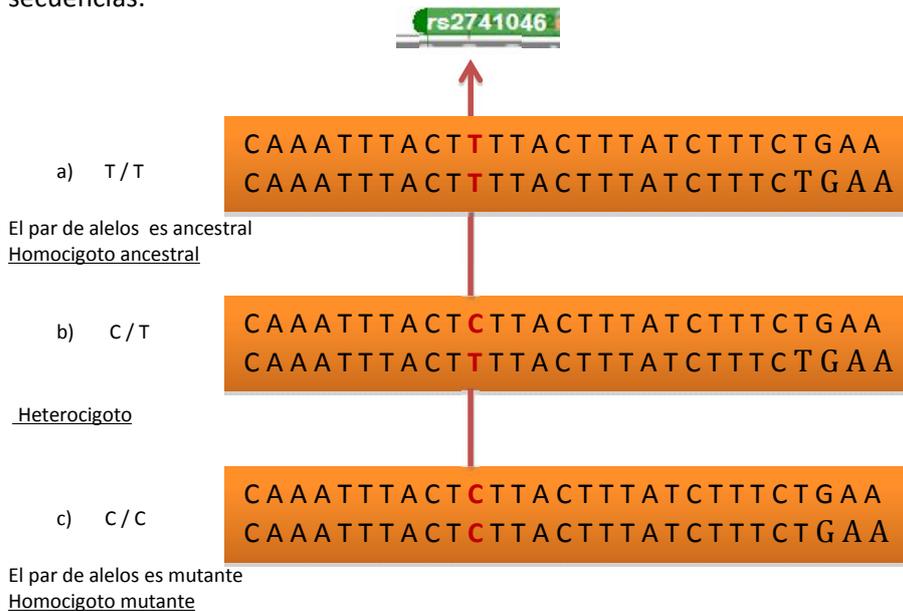
Ejemplo de un electroferograma del exón 1. Se observan cambios heterocigotos en la secuencia del paciente.

rs2741046 ← Nombre asignado que se le da en las bases de datos
 ← -331 T > C → Nomenclatura para mostrar el polimorfismo
 Ésta es la posición que tiene en el gen Se lee T es sustituida por C.
 (Lo que quiere decir que el alelo es T, pero en el alelo mutante la T es sustituida por C)

Polimorfismos de estudio:

rs17868320	rs6714486	rs2741046	rs72551330	rs2741049
- 2152 C > T	- 275 T > A	- 331 T > C	98 T > C	1339 T > C
(C/C ancestral)	(T/T ancestral)	(T/T ancestral)	(T/T ancestral)	(T/T ancestral)

Ejemplo con el polimorfismo rs2741046. Estos son los tres posibles resultados al obtener las secuencias:



ANALISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se analizaron usando prueba t- Student para las variables con distribución normal y U de Mann-Whitey para aquellas variables con distribución libre, dicho análisis se hizo con el programa estadístico Graph Pad versión 6.0 para MacOs X.

Se utilizó la χ^2 para comparar las frecuencias encontradas en nuestra población con las reportadas en la literatura. También se empleó χ^2 para evaluar las desviaciones de las frecuencias alélicas del equilibrio de Hardy-Weinberg. Se consideró significativa una $p < 0.05$.

El análisis farmacocinético se realizó con el programa WinNonLin versión 6.0.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El proyecto se apega a las recomendaciones internacionales para Investigación en seres humanos y al Reglamento de Investigación en Seres Humanos de la Ley General de Salud.

Por los procedimientos a los que fueron sometidos los pacientes, se consideró de riesgo mayor que el mínimo, los pacientes recibieron una dosis de mofetilmicofenolato antes de ser trasplantados y fueron sometidos a dos estudios farmacocinéticos que pueden producir dolor y flebitis en el sitio toma de las muestras de sangre. La cantidad de la muestra sanguínea no fué mayor al límite establecido por el Reglamento de Investigación en Seres Humanos de la Ley General de Salud.

Se consideró un volumen total de sangre en el primer estudio farmacocinético de 15mL y en el segundo estudio farmacocinético de 10mL.

RECURSOS MATERIALES

El proyecto se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nefrología y Mineralización Ósea, así mismo en el Laboratorio Central del Hospital Infantil de México Federico Gómez, el cual cuenta con la infraestructura para la total realización del proyecto. Recibe apoyo de Fondos

Federales y se cuenta con aprobación de los Comités de Ética, Investigación y Bioseguridad con número HIM/2011/2013.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

Para la manipulación tanto del material biológico como de los reactivos a emplear durante el desarrollo del proyecto fue necesario utilizar de manera permanente elementos de protección personal: bata, guantes y en algunos casos protectores como cubre bocas 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 encontraba debidamente etiquetado. En cuanto a otro tipo de desechos no biológicos empleados para el trabajo de laboratorio se depositaron en un recipiente destinado a este tipo de productos.

RESULTADOS

Se incluyeron un total de 23 pacientes en protocolo de trasplante renal, observándose una edad media de 15.09 ± 4.17 años, 12 (52.1%) fueron del género masculino, 5 (21.7%) de ellos aún en espera de trasplante renal. (Cuadro 1).

Cuadro 1. Características demográficas

Característica	n (%)
Genero	
Masculino	12 (52.1 %)
Femenino	11 (47.8 %)
Edad (años \pm DS)	15.09 ± 4.17
Fuente de Injerto	
Donador Vivo Relacionado	10 (51.2 %)
Donador Fallecido	8 (48.8 %)
Pendiente de trasplantar	5 (21.7 %)
Causa de Uremia	
Desconocida	14 (60.8 %)
Estructural	8(34.7 %)
Glomerular	1(4.3 %)
Dosis de MMF ($\text{mg}/\text{m}^2 \pm$ DS)	
Cinética 1	595.96 ± 113.76
Cinética 2	776.63 ± 104.94
Intervalo entre trasplante y cinética 2 (días \pm DS)	132.71 ± 41.62

En cuanto al estudio farmacocinético pre-trasplante se realizó a 23 pacientes; se tomaron 8 puntos a lo largo de 12 horas de determinación, estableciéndose posteriormente los parámetros farmacocinéticos más significativos, tomando en cuenta el área bajo la curva de la concentración plasmática vs. tiempo (ABC), tiempo de concentración máxima, concentración máxima, vida media y concentración valle que se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Cinética 1 de MPA (pretrasplante) Valores en mediana y rango (min,max)	
Parámetro	Mediana (min, max) n=23
ABC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	10.7 (0, 71)
C_{max} (μg)	7.58 (0, 34)
T_{max} (h)	1 (0, 3)
$C_{0\text{h}}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0 (0, 0.9)
$C_{12\text{h}}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0 (0, 6.7)
MPA: Ácido micofenólico, ABC: área de concentración tiempo bajo la curva, C_{max} : concentración máxima alcanzada, T_{max} : hora de concentración máxima, C_0 : concentración inicial, C_{12} : concentración a las 12 horas.	

De acuerdo a la fecha de trasplante y por el ajuste en relación a la inmunosupresión con el MMF se realizó la segunda farmacocinética en 15 de 18 pacientes trasplantados con media de 132.71 ± 41.62 días posteriores al trasplante, en donde nuevamente se tomaron 8 puntos a lo largo de 12 horas después de la administración matutina del AMF. (Tabla 2).

En el área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo ($ABC_{0-12\text{h}}$) postrasplante, observamos que diez (66.6%) de los pacientes presentaron un valor $< 30 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, tres pacientes (20%) un valor $> 60 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ y solamente dos (13.3%) un valor dentro del rango terapéutico establecido. (Tabla 3)

Tabla 2. Cinética 2 de MPA (postrasplante) Valores en mediana y rango (min,max)	
Parámetro	Mediana (min, max) n=15
ABC ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	17.04 (0, 96.4)
C_{max} (μg)	7.8 (0, 43.3)
T_{max} (h)	1 (0, 12)
$C_{0\text{h}}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0 (0, 3.97)
$C_{12\text{h}}$ ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	0 (0, 8.8)
MPA: Ácido micofenólico, ABC: área de concentración tiempo bajo la curva, C_{max} : concentración máxima alcanzada, T_{max} : hora de concentración máxima, C_0 : concentración inicial, C_{12} : concentración a las 12 horas.	

Tabla 3. Área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo de MPA (postrasplante)	
Concentración $ABC_{0-12\text{h}}$	n=15
< 30 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$	10 (66.66 %)
30 - 60 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$	2 (13.33 %)
> 60 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$	3 (20 %)
MPA: Ácido micofenólico, ABC: área de concentración tiempo bajo la curva.	

En cuanto al estudio de los polimorfismos se realizaron los genotipos correspondientes encontrando que para el rs17868320 (-2152 C>T) fueron homocigotos para el alelo ancestral CC 22 pacientes (95.65%); heterocigotos CT, 1 paciente (4.34%) y no encontramos homocigotos mutantes TT. (Cuadro 2).

Los genotipos observados para rs6714486 (-275 T>A) fueron homocigotos para el alelo ancestral TT 22 pacientes (95.65%); un paciente fue heterocigoto TA (4.34%) y ninguno homocigoto mutante AA. (Cuadro 2)

En cuanto a rs2741046 (-331 T>C) tuvieron homocigotos ancestral TT 17 pacientes (73.91%); heterocigotos CT, 5 pacientes (21.73%) y homocigotos mutante CC, un paciente (4.34%). (Cuadro 2).

Los genotipos observados para rs72551330 (98 T>C) se encontró que todos los pacientes tuvieron el alelo ancestral homocigotos TT, 23 pacientes (100%) (Cuadro 2).

Y por último para rs2741049 (1339 C>T) fueron homocigotos TT (alelo ancestral) nueve pacientes (39.13%); heterocigotos CT, 14 pacientes (60.83%) y ninguno homocigoto mutante CC. (Cuadro 2).

Cuadro 2. Frecuencia de genotipos y alelos del gen UGT1A9

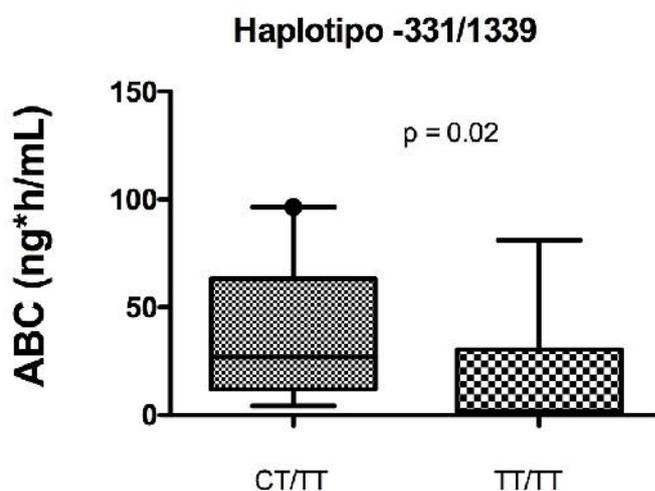
Genes	n	%
rs17868320		
- 2152 C > T		
Genotipos		
CC	22	95.65
CT	1	4.34
TT	0	0
Alelos		
C	45	97.82
T	1	2.17
rs6714486		
- 275 T > A		
Genotipos		
TT	22	95.65
TA	1	4.34
AA	0	0
Alelos		
T	45	97.82
A	1	2.17
rs2741046		
- 331 T > C		
Genotipos		
TT	17	73.91
CT	5	21.73
CC	1	4.34
Alelos		
C	7	15.21
T	39	84.78
rs72551330		
98 T>C (M33T)		
Genotipos		
TT	23	100
CT	0	0
CC	0	0
Alelos		
C	0	0
T	46	100
rs2741049		
1339 C > T		
Genotipos		
TT	9	39.13
CT	14	60.83
CC	0	0
Alelos		
C	14	30.43
T	32	69.56

Se tiene segunda farmacocinética en 15 pacientes. Al analizar los polimorfismos de UGT1A9 y la farmacocinética, no encontramos diferencias estadísticamente significativas si se toman en cuenta los polimorfismos en forma individual, sin embargo hay posiciones en las que solo contamos con un heterocigoto y en varios no hubo homocigoto mutante por lo que se hizo un análisis considerando el haplotipo en rs2741049 (1339 C>T) y rs2741046 (-331 C>T), ya que en ellos tuvimos mayor número de heterocigotos, considerando a los pacientes con el alelo ancestral en ambos (TT/TT) y aquellos con algún alelo mutante (CT).

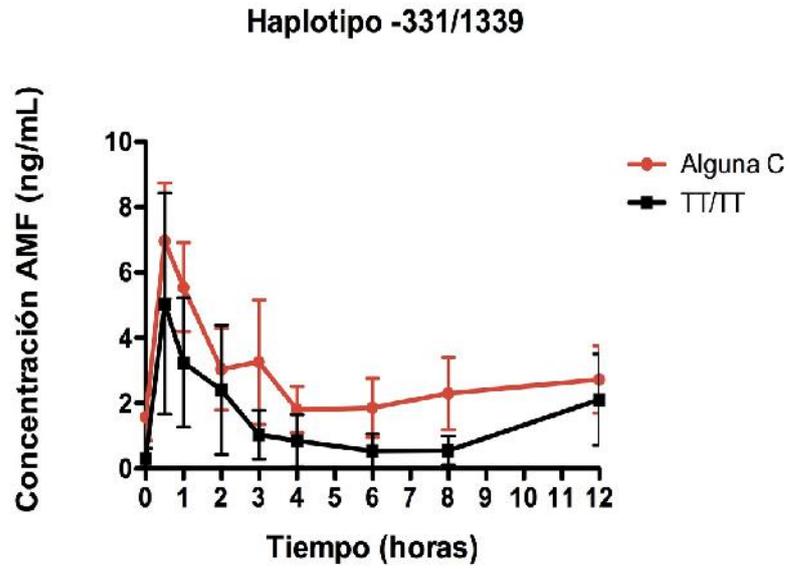
De esta manera encontramos que los pacientes con algún alelo C tienen el ABC significativamente mayor que aquellos con el alelo ancestral en el haplotipo -331/1339 (Gráfica 1).

La curva de concentración plasmática vs. tiempo según el haplotipo se muestra en la Gráfica 2.

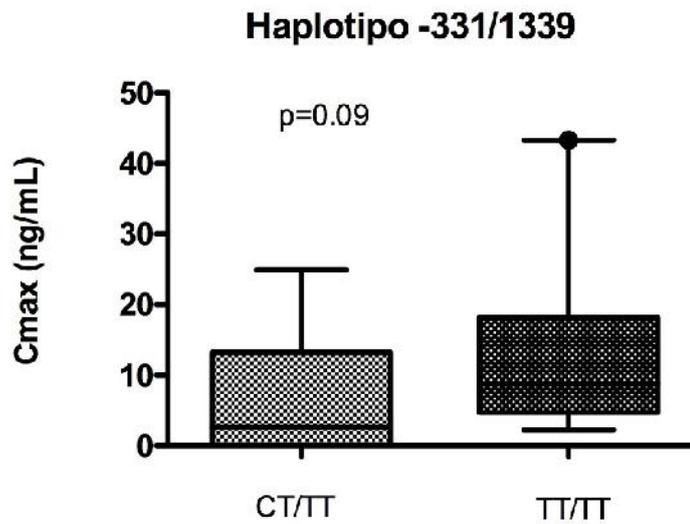
No encontramos diferencias en Cmax según el haplotipo -331/1339 según Gráfica 3



Gráfica 1. Área bajo la curva según haplotipo -331/1339 en 15 niños con trasplante renal



Grafica 2. Concentración de AMF vs. tiempo en 15 niños con trasplante renal según haplotipo -331/1339



Grafica 3. Cmax según haplotipo -331/1339 en 15 niños con trasplante renal

DISCUSION

El ácido micofenólico (AMF) es uno de los medicamentos más empleados en la terapia inmunosupresora. Es un antiproliferativo que inhibe la inosinmonofosfato deshidrogenasa (IMPDH), enzima limitante en la síntesis de novo de nucleótidos de guanina en linfocitos T y B.

Las principales reacciones adversas asociadas a la administración de AMF son síntomas gastrointestinales (dolor, reflujo, diarrea y vómito), leucopenia y sepsis, que se han relacionado con los niveles pico del AMF. El monitoreo terapéutico se realiza con área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo (ABC), el valor terapéutico de ABC_{0-12h} es de 30-60 $\mu\text{g/mL}$.

Existe una gran variabilidad de factores que pueden influir en la farmacocinética del MMF, una de las variables a considerar es el polimorfismo de la UGT1A9 aunque existen a la fecha pocos reportes que describan la contribución genética en la farmacocinética de AMF en pacientes pediátricos con trasplante renal ³⁰.

Este es el primer reporte de los polimorfismo de UGT1A9 en población mexicana, desgraciadamente tenemos un pequeño número de pacientes y para las posiciones rs17868320 - 2152 C >T, rs6714486 - 275 T > A y el rs72551330 98 T>C (M33T), no encontramos alelo mutante, por lo que no se encuentran en equilibrio de Hardy Weinberg. Por esta razón decidimos analizar los datos según el haplotipo en -331/1339, y encontramos que la presencia del alelo mutado C en cualquiera de las dos posiciones ocasiona una mayor biodisponibilidad del AMF.

Se debe resaltar que en los 15 pacientes que cuentan con farmacocinética post-trasplante tan solo dos tienen el ABC en valores recomendados de 30-60 $\mu\text{g/mL}$. La mayoría tiene ABC baja 10/15 (66%).

Dado que aún no se han completado todas las cinéticas post-trasplante y el seguimiento a un año no es posible realizar el análisis del impacto de la biodisponibilidad de AMF con los episodios de rechazo y/o toxicidad.

CONCLUSIONES

- Encontramos que para rs72551330 (98 T>C) todos los pacientes tuvieron el alelo ancestral TT
- Para el rs17868320 (-2152 C>T) fueron homocigotos para el alelo ancestral CC 22 pacientes (95.65%); heterocigotos CT, 1 paciente (4.34%) y no encontramos homocigotos mutantes TT
- Para rs2741049 (1339 C>T) fueron homocigotos TT (alelo ancestral) nueve pacientes (39.13%); heterocigotos CT, 14 pacientes (60.83%) y ninguno homocigoto mutante CC.
- Para rs6714486 (-275 T>A) fueron homocigotos para el alelo ancestral TT 22 pacientes (95.65%); un paciente fue heterocigoto TA (4.34%) y ninguno homocigoto mutante AA.
- Para rs2741046 (-331 T>C) tuvieron homocigotos ancestral TT 17 pacientes (73.91%); heterocigotos CT, 5 pacientes (21.73%) y homocigotos mutante CC, un paciente (4.34%).
- El haplotipo de UGT1A9 -331/1339 se asocia a una mayor biodisponibilidad de AMF en pacientes que tienen algún alelo mutado C.
- 66% de los niños tienen ABC por debajo de los valores recomendados post-trasplante.
- Es necesario incluir a más pacientes y prolongar el seguimiento

CRONOGRAMA

FASES	PERIODOS					
	Junio 2012	Julio 12 a Mayo 2013			May.13	Jun.13
1. Recolección de la información.	<u>XXXXXXXX</u>					
2. Planeación de experimentos y acopio de los materiales necesarios.		<u>XXXXXX</u>				
3. Obtención de datos y realización de procedimientos.	<u>XXXXXXXX</u>	<u>XXXXXXXX</u>	<u>XXXXXXXX</u>	<u>XXXXXXXX</u>		
4. Realización de tablas y gráficos.				<u>XXXXXX</u>	<u>XXXXXX</u>	
5. Análisis e interpretación de datos.			<u>XXXXXX</u>	<u>XXXXXX</u>	<u>XXXXXX</u>	
6. Elaboración del escrito final del trabajo de investigación.					<u>XXXXXX</u>	
7. Entrega del trabajo final						<u>XXXXXX</u>

LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Tenemos un escaso número de pacientes y en algunos polimorfismos no hemos encontrado el alelo mutado.

No todos los pacientes han completado la segunda farmacocinética y el año de seguimiento.

Algunos pacientes han cambiado de formulación de AMF durante el post-trasplante.

Existen otras variables que pueden afectar la biodisponibilidad del AMF como son la frecuencia y tipo de alimentos, interacciones medicamentosas, presencia de diarrea o estreñimiento, la edad, etc.

BIBLIOGRAFÍA

1. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant* 2006;6:1111-31.
2. Shehata M, Bhandari S, Venkat-Raman G, et al. Effect of conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium on maximum tolerated dose and gastrointestinal symptoms following kidney transplantation. *Transpl Int* 2009;22:821-30.
3. Reyes H, Hernandez AM, Valverde S, et al. Efficacy and safety of conversion of mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in Mexican renal transplant children. *Pediatr Transplant* 2010;14:746-752.
4. Pape L, Ahlenstiel T, Kreuzer M, Ehrich JH. Improved gastrointestinal symptom burden after conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in kidney transplanted children. *Pediatr Transplant* 2008;12:640-2.
5. Sokoloski JA, Sartorelli AC. Effects of the inhibitors of IMP dehydrogenase, tiazofurin and mycophenolic acid, on glycoprotein metabolism. *Mol Pharmacol* 1985;28:567-73.
6. Srinivas TR, Schold JD, Meier-Kriesche HU. Mycophenolate mofetil: long-term outcomes in solid organ transplantation. *Expert Rev Clin Immunol* 2006;2:495-518.
7. Staats CE, Duffull SB, Kiberd B, Fraser AD, Tett SE. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid during the first week after renal transplantation. *Eur J Clin Pharmacol* 2005;61:507-16.
8. Staats CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007;46:13-58.
9. Esquivel A, Gonzalez-Ramirez R, Alberu J, Gracida C, Medeiros M, Castaneda-Hernandez G. Comparison of dissolution properties of 2 enteric-coated formulations containing mycophenolate sodium: Myfortic vs Femulan. *Transplant Proc* 2010;42:353-6.
10. Shaw LM, Korecka M, van Breeman R, Nowak I, Brayman KL. Analysis, pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid. *Clin Biochem* 1998;31:323-8.
11. Barraclough KA, Lee KJ, Staats CE. Pharmacogenetic influences on mycophenolate therapy. *Pharmacogenomics*;11:369-90.

12. Prausa SE, Fukuda T, Maseck D, et al. UGT genotype may contribute to adverse events following medication with mycophenolate mofetil in pediatric kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2009;85:495-500.
13. Levesque E, Benoit-Biancamano MO, Delage R, Couture F, Guillemette C. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil and its glucuronide metabolites in healthy volunteers. *Pharmacogenomics* 2008;9:869-79.
14. van Schaik RH, van Agteren M, de Fijter JW, et al. UGT1A9 -275T>A/-2152C>T polymorphisms correlate with low MPA exposure and acute rejection in MMF/tacrolimus-treated kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 2009;86:319-27.
15. van Gelder T, Klupp J, Barten MJ, Christians U, Morris RE. Comparison of the effects of tacrolimus and cyclosporine on the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Ther Drug Monit* 2001;23:119-28.
16. Undre NA, van Hooff J, Christiaans M, et al. Pharmacokinetics of FK 506 and mycophenolic acid after the administration of a FK 506-based regimen in combination with mycophenolate mofetil in kidney transplantation. *Transplant Proc* 1998;30:1299-302.
17. van Gelder T, Smak Gregoor PJ, Weimar W. Drug interaction between mycophenolate mofetil and tacrolimus detectable within therapeutic mycophenolic acid monitoring in renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 2000;22:639.
18. Vietri M, Pietrabissa A, Mosca F, Pacifici GM. Mycophenolic acid glucuronidation and its inhibition by non-steroidal anti-inflammatory drugs in human liver and kidney. *Eur J Clin Pharmacol* 2000;56:659-64.
19. Vietri M, Pietrabissa A, Mosca F, Pacifici GM. Inhibition of mycophenolic acid glucuronidation by niflumic acid in human liver microsomes. *Eur J Clin Pharmacol* 2002;58:93-7.
20. Behrend M. Adverse gastrointestinal effects of mycophenolate mofetil: aetiology, incidence and management. *Drug Saf* 2001;24:645-63.
21. Arns W. Noninfectious gastrointestinal (GI) complications of mycophenolic acid therapy: a consequence of local GI toxicity? *Transplant Proc* 2007;39:88-93.
22. Bennett WM. Immunosuppression with mycophenolic acid: one size does not fit all. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2414-6.
23. Barbari A, Stephan A, Masri MA, et al. Mycophenolic acid plasma trough level: correlation with clinical outcome. *Exp Clin Transplant* 2005;3:355-60.

24. Behrend M, Lueck R, Pichlmayr R. Mycophenolic acid and mycophenolic acid glucuronide trough levels after renal transplantation. *Transplant Proc* 1997;29:2936-8.
25. Ferraris JR, Tambutti ML, Prigoshin N, Grosman M, Cardoni RL. Conversion from mycophenolate mofetil to delayed formulation in pediatric renal transplantation: Higher mycophenolic acid predose level but no changes in the immune biomarkers. *Pediatr Transplant* 2009.
26. Micromedex® Healthcare Series [Internet database]. Greenwood Village, Colo: Thomson Reuters (Healthcare) Inc. Accesado el 31/enero/2011.
27. Kofler S, Deutsch MA, Bigdeli AK, Shvets N, Vogeser M, Mueller TH, Meiser B, Steinbeck G, Reichart B, Kaczmarek I. Proton pump inhibitor co-medication reduces mycophenolate acid drug exposure in heart transplant recipients. *J Heart Lung Transplant*. 2009 Jun; 28(6):605-11.
28. Bullingham RE, Nicholls AJ, Kamm BR. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet*. 1998 Jun;34(6):429-55.
29. de Winter BC, Mathot RA, Sombogaard F, Vulto AG, van Gelder T. Nonlinear Relationship between Mycophenolate Mofetil Dose and Mycophenolic Acid Exposure: Implications for Therapeutic Drug Monitoring. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010 Nov 18
- 30 Tsuyoshi Fukuda, et al. UGT1A9, UGT2B7, and MRP2 Genotypes Can Predict Mycophenolic Acid Pharmacokinetic Variability in Pediatric Kidney Transplant Recipients *The Drug Monit*. Volumen 34, Number 6, december 2012; 671-679

ANEXOS

Anexo 1. Carta de consentimiento

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO "FEDERICO GÓMEZ"
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGIA
CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN UN
ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN

Título del estudio: POLIMORFISMO UGT1A9 E IMPACTO EN LA FARMACOCINETICA Y FARMACODINAMICA DEL ÁCIDO MICOFENÓLICO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS PRE Y POST- TRASPLANTE RENAL

Introducción

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

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 micofenolato es un medicamento que su hijo(a) recibe para prevenir el rechazo del riñón trasplantado. Este fármaco inhibe una enzima conocida como IMPDH, que se encuentra en unas células de la sangre llamadas linfocitos y evita que éstas células aumenten y dañen el riñón.

Se sabe que los niveles en sangre del medicamento pueden variar en cada persona, es en el hígado donde se limpia la sangre del medicamento y la cantidad de enzimas que limpian la sangre en el hígado está determinado por la genética.

El propósito del estudio es estudiar los genes que regulan las enzimas que participan en la limpieza del micofenolato de la sangre y relacionarlo con los niveles de micofenolato en sangre y la expresión de la IMPDH en linfocitos.

Procedimiento del estudio

Si usted acepta que su hijo(a) participe en este estudio se le realizarán dos visitas con toma de muestra de sangre para este fin.

La primera visita se realizará de 7 a 30 días antes de la fecha programada de trasplante renal. Si su hijo(a) se encuentra en lista de espera para riñón de donante fallecido la primera visita podrá realizarse en cuanto acepte la participación en este estudio.

En la primera visita (pre-trasplante) se realizará examen médico y se le puncionará una vena del brazo, posteriormente se le dará una dosis única de micofenolato, medicamento que se da de rutina en el post-trasplante. Se tomarán muestras de sangre en diferentes tiempos para ver cómo maneja el cuerpo el

medicamento (micofenolato), para esto se toman 8 muestras de sangre en un periodo de 12 horas, en las que se medirán los niveles del medicamento, también se extraerá el ADN para el estudio genético y se medirá la expresión de la enzima IMPDH en linfocitos. El volumen total de sangre que se tomará en esta visita es de una cucharada y media (15ml). Los resultados obtenidos se proporcionarán al médico tratante.

A los tres meses post-trasplante se realiza una segunda y última visita en la que se tomarán los mismos exámenes que en la primera excepto la muestra para estudio genético, con un volumen de sangre aproximado de 1 cucharada (10ml).

Riesgos 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. Si la vía venosa que se coloca para tomar las muestras se tapa, puede ser necesario realizar una segunda punción.

Beneficios

El conocer el genotipo de las enzimas que manejan el micofenolato permitirá ajustar mejor la dosis del medicamento.

Procedimientos alternativos y costos

Actualmente no se hace vigilancia rutinaria de los niveles de micofenolato en los niños trasplantados en nuestro hospital.

La obtención de la muestra de sangre y los estudios de genotipificación, niveles de micofenolato y expresión de la enzima IMPDH no tendrán 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.

En todo momento se mantendrá la confidencialidad de los resultados de los exámenes practicados en la muestra de sangre de su hijo. Solamente usted y los médicos conocerán el resultado 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.

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 algún problema o tuviese usted una pregunta con respecto a este estudio, a sus derechos como participante en la investigación o cualquier situación relacionada con la misma, debe comunicarse con los investigadores que participan en este estudio: Dra. Mara Medeiros y M. en C. Pilar García Roca del Laboratorio de Investigación de Nefrología del Hospital Infantil de México Federico Gómez, Tel. 52-28-89-17, extensión 2633.

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 las explicaciones acerca de este estudio y se me ha dado la oportunidad de discutirlos y de hacer preguntas. Por este medio otorgo mi consentimiento para participar en este estudio.

Nombre del sujeto de estudio:

Registro:

Nombre y Firma de padre, madre o tutor responsable del niño:

Fecha:

Testigo 1

Nombre:

Dirección:

Relación con el paciente:

Firma:

Testigo 2

Nombre:

Dirección:

Relación con el paciente:

Firma:

Médico responsable:

Nombre, posición en el Hospital

Teléfono

Firma.

Nombre del Investigador principal en donde puede referir al familiar en caso de duda: Dra. Mara Medeiros Domingo, Laboratorio de Investigación en Nefrología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Tel. 52-28-99-17, Ext. 2633.

HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO "FEDERICO GÓMEZ"
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA
CARTA DE ASENTIMIENTO PARA PARTICIPAR EN UN ESTUDIO DE
INVESTIGACIÓN

Título del estudio: POLIMORFISMO UGT1A9 E IMPACTO EN LA FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA DEL ÁCIDO MICOFENÓLICO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS PRE Y POST- 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 para el riñón trasplantado.

Si decides entrar al estudio vendrás al Hospital dos veces para esto, una antes del trasplante y otra tres meses después del trasplante.

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 dará una dosis del medicamento que estamos estudiando y te pediremos que te quedes cerca del hospital de las 8 de la mañana a las 8 de la noche, en este tiempo te estaremos sacando sangre de la aguja del brazo sin picarte otra vez. En total sacaremos como una cucharadita y media de sangre.

Se hará lo mismo tres meses después del trasplante, cuando ya estés tomando todos los días la medicina que nos interesa estudiar.

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 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.

_____ 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 y Firma de padre, madre o tutor responsable del niño:

Fecha:

Testigo 1

Nombre:

Dirección:

Relación con el paciente

Firma:

Testigo 2

Nombre:

Dirección:

Relación con el paciente:

Firma:

Anexo 2. Hoja de recolección

HOJA DE REGISTRO DE DATOS

Número
Nombre
Registro
Edad
Fecha

SEXO	M.	F.
------	----	----

TRDvR	TRDC
PESO : TALLA:	SC:
DOSIS DE MMF:	MARCA:
TTG:	

Muestra	Hora
0	
0.5	
1	
2	
3	
4	
6	
8	
12	

TRATAMIENTO ACTUAL

REACCIONES ADVERSAS

OBSERVACIONES: