



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

**FACULTAD DE MEDICINA. DIVISIÓN DE
ESTUDIOS DE POSGRADO**

**INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA
“IGNACIO CHÁVEZ”**

TESIS

**PRESENCIA DE POLIMORFISMO rs1800796 DE IL6 ASI COMO rs776746 DE
LA CYP3A5 EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL Y SU ASOCIACION
CON LA EVOLUCION DEL TRASPLANTE RENAL EN POBLACION
MEXICANA.**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE ESPECIALISTA EN
NEFROLOGÍA**

PRESENTA:

Dra. Amaya Caviedes Aramburu

TUTOR:

Dr. Francisco Eugenio Rodríguez Castellanos

MÉXICO DF (Agosto del 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.

DR. JOSE FERNANDO GUADALAJARA BOO

JEFE DE ENSEÑANZA DEL INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA

IGNACIO CHAVEZ

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

FACULTAD DE MEDICINA UNAM

DRA. MAGDALENA MADERO ROVALO

PROFESOR TITULAR DE NEFROLOGÍA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHAVEZ

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

FACULTAD DE MEDICINA UNAM

DR. FRANCISCO EUGENIO RODRIGUEZ CASTELLANOS

PROFESOR DE NEFROLOGÍA

INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHAVEZ

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSTGRADO

FACULTAD DE MEDICINA UNAM

INDICE

I.	MARCO HISTÓRICO	4
II.	EPIDEMIOLOGÍA MUNDIAL	6
III.	EPIDEMIOLOGÍA NACIONAL	9
IV.	INTRODUCCIÓN	11
V.	JUSTIFICACION	18
VI.	HIPÓTESIS	19
VII.	HIPOTESIS NULA	19
VIII.	OBJETIVO PRIMARIO	20
IX.	OBJETIVO SECUNDARIO	20
X.	MATERIAL Y MÉTODOS	21
	Recolección de muestras	22
	Extracción de ADN y genotipificación de Polimorfismos	22
	Análisis Estadístico	23
XI.	RESULTADOS	24
XII.	DISCUSIÓN	32
XIII.	CONCLUSIONES	33
XIV.	BIBLIOGRAFÍA	36

I. MARCO HISTORICO

La definición internacional según la Real Academia española de trasplante, es el tratamiento médico que consiste en trasladar órganos, tejidos o células de una persona a otra. El órgano trasplantado reemplaza y asume la función del órgano dañado del receptor.

La historia del trasplante existe desde descripciones muy antiguas encontradas en papiros orientales y documentos chinos que presuponen la realización del mismo desde los años 50 a.C.

Sin embargo, fue en el siglo pasado, la época de mayor desarrollo científico del mismo, iniciando en 1902 en Viena con el primer trasplante exitoso en animales realizado por Emerich Ullmann. En 1906 en Lyon Francia se realizó la primera anastomosis de vasos renales en un trasplante de un cerdo a un paciente con enfermedad renal terminal sin éxito en la sobrevivencia pero sirviendo como un parteaguas en el avance de la técnica quirúrgica. En los siguientes años, Alexis Carrel, desarrolló la técnica de la anastomosis vascular misma que se persiste en la actualidad. Es para 1914 que ya se había logrado crear una adecuada técnica quirúrgica sin embargo no hubo un avance notable dada la limitante de la incompatibilidad inmunológica.

Después de la segunda Guerra mundial se retomó la investigación realizando en el Hospital de Boston por David Hume y Peter Bent la primera serie de trasplantes cadavéricos sin uso de inmunosupresión lo cual conllevó un fracaso en cuanto a la sobrevivencia del injerto, documentándose las mismas de días a semanas y solo uno que se mantuvo por meses pero

era evidente desde este momento que aun era necesario tener herramientas de inmunosupresion que permitieran mantener el injerto en el receptor. ⁽¹⁾

Paralelo a esto, en 1954 se realizo por Peter Bente Boston el primer trasplante renal entre gemelos identicos sin complicaciones durante la cirugia y mostrando buena respuesta en receptor y donador. Este logro abrio la posibilidad en el mundo cientifico de poder ofrecer nuevas opciones de tratamiento por lo que en los siguientes años éstos grupos de investigacion se dieron a la tarea de encontrar terapias de inmunosupresion, la primera de ellas fue el empleo de radioterapia de cuerpo completo que si bien lograba un efecto de inmunosupresion adecuado conllevaba reacciones adversas severas como aplsia medular que complicaban el curso de los paciente aumentando la mortalidad asociada a infecciones. ⁽¹⁾⁽²⁾

En la década de los 60's Robert Schwartz y William Dameshek descubren en un experimento en ratones que el uso de 6 mercaptopurina, un agente anti neoplasico descubierto en años previos, tenia efectos inmunosupresores que impactaban en la sobrevivida de injertos de piel. Efecto que posteriormente fue demostrado en injertos renales en perros por Roy Calne y Charles Zukoski, este compuesto fue reemplazado en los siguientes años por azatioprina el cual tenia menos efectos adversos.

El papel de los corticoesteroides en el trasplante renal tuvo su primer participacion como tratamiento en los cuadros de rechazo agudo, postreiormente se empleo como terapia combinada con azatioprina como parte del mantenimiento teniendo resultados pobres con tasas de mortalidad del 40% al año. ⁽³⁾

Para 1980 la llamada “Era de Azatioprina” que se había caracterizado por tasas elevadas de mortalidad y pobres resultados a largo plazo fue sustituida por la incursión de nuevos medicamentos como los inhibidores de calcineurina (ciclosporina) mismos que impactaron en el tratamiento de eventos de rechazo agudo y aumentaron la supervivencia del injerto a mediano y largo plazo volviéndose el pilar en el tratamiento de mantenimiento actual.

Finalmente en la última década del siglo pasado se desarrollaron nuevas terapias como el mofetil micofenolato, sirolimus, etc que forman parte del tratamiento inmunosupresor ofreciendo una amplia gama de opciones terapéuticas y combinaciones que se adapten al paciente y que impacten de manera positiva en la supervivencia del injerto renal.

En México, el primer trasplante renal se realizó el 21 de Octubre de 1963 por los doctores Manuel Quijano, Regino Ronces, Federico Ortiz Quezada y Francisco Gómez Mont realizaron el primer trasplante de donador vivo en el Centro Médico Nacional del IMSS. En los siguientes años se continuó perfeccionando el desarrollo de dicha técnica a otros niveles como trasplante de (hígado, páncreas, corazón y pulmón).

II. EPIDEMIOLOGIA MUNDIAL

El avance en las técnicas quirúrgicas, la farmacología inmunosupresora, procedimientos diagnósticos y experiencia clínica han permitido en las últimas décadas un avance significativo en la práctica de trasplantes a nivel mundial.

Según el Registro Mundial de Trasplantes, que gestiona la Organización Nacional de Trasplantes en colaboración con la OMS, se tiene un registro hasta el 2012 de 112.631 trasplantes de órganos sólidos a nivel mundial, lo que representa un aumento del 5,1%

respecto al 2011. De ellos, 76.118 fueron de riñón, 23.721 de hígado, 5.741 de corazón, 4.278 de pulmón, 2.564 de páncreas y 209 de intestino (datos obtenidos de la página WEB de la Organización Mundial de trasplantes del 2012).

Los datos mundiales de donación revelan que el 17% de todas las donaciones registradas son en la Unión Europea y cerca del 4% de todos los trasplantes en el mundo se realizan en España. Teniendo una tasa de trasplante renal en dicho país para el 2012 de 2.551 trasplantes renales. Como se muestra en la figura 1.

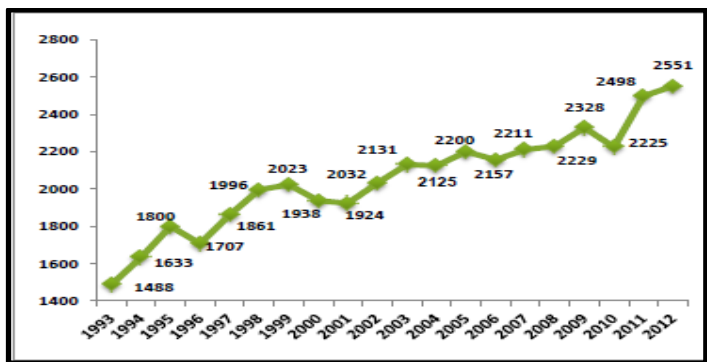


Fig. 1

En cuanto a la tasa de trasplante renal de cadáver por millón de habitantes es de $54 / 10^6$, lo que le confiere el primer lugar también en este rubro a nivel mundial. Figura 2

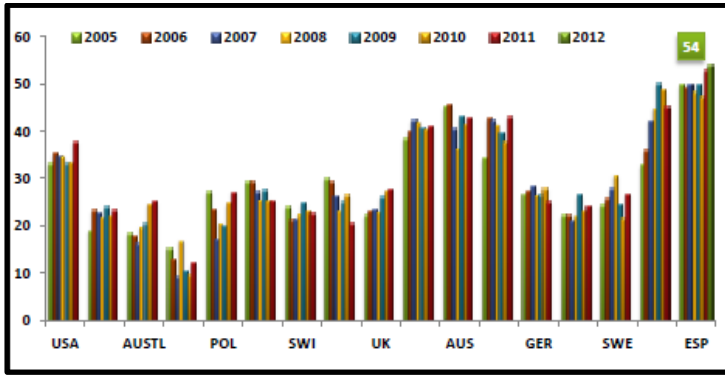


Fig. 2

En cuanto a la proporción de donador vivo en comparación con donador cadavérico ésta ha aumentado a favor de primero como se muestra en la figura 3.

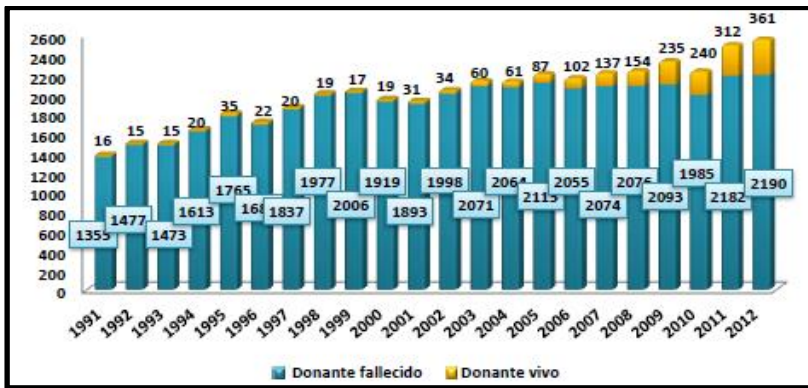


Fig. 3

La edad media de los donadores vivos es de 50.3 años y de los receptores de 43.4 años con edad mínima de 2 años y máxima de 76.

La publicación del Consejo de Europa incluye datos de Estados Unidos, Canadá, Australia y América Latina. En Estados Unidos la tasa de donación permanece estable en los últimos años, donde oscila entre 25 y 26 donantes p.m.p (25,8 en 2012). En Canadá descendiendo más de 3 puntos la tasa de donación, que se sitúa en 12,2, mientras que en Australia se eleva ligeramente y alcanza los 15,5 donantes p.m.p.

En Estados Unidos la tasa de donación permanece estable en los últimos años, sin embargo a la cabeza de los países en nuestro continente. Según cifras obtenidas del registro de National Kidney Foundation para el 2013 se realizaron 14.029 trasplantes renales en Estados Unidos de los cuales 9.314 fueron de donador cadavérico y 4.715 de donador vivo. Con edades en el donador entre 35-49 años, con una proporción M: H de 1.5, con principal origen racial el caucásico con un 69.6%.

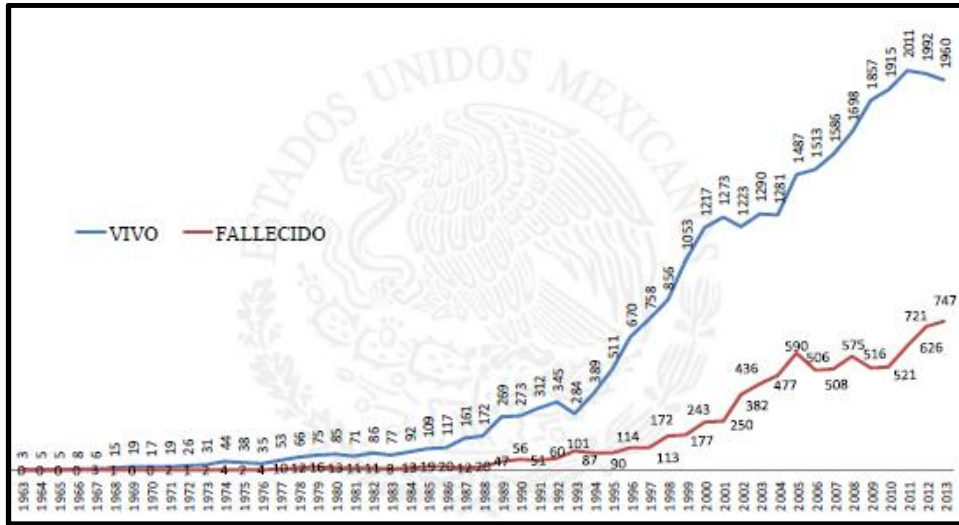
III. EPIDEMIOLOGÍA NACIONAL

En América Latina nuestro país ocupa el 4 lugar en tasa de trasplantes después de países como Costa Rica argentina y Brasil.

Según datos publicados por el Centro Nacional de Trasplantes hasta el 2013 en nuestro país se han realizado 37,808 trasplantes renales de donador vivo y cadavérico. Cuenta con 345 hospitales autorizados con licencia para trasplante renal. Del total de trasplantes de órgano sólido el renal ocupa el segundo lugar, después del de córnea. (5)

En cuanto a la tasa de trasplante renal por año hasta el 2013 fue de 2707 con un crecimiento exponencial por año.

En cuanto al tipo de donador este fue para el 2013 de 1960 en donador vivo y 747 en fallecido con una proporción 2.6 misma que se ha reducido con los años, como se muestra en la siguiente figura 4.



Fuente: SIRNT 15/01/2014

En el análisis de trasplante por Institución este se realizó en su mayoría en la Seguridad Social con un 58% seguido de hospitales públicos en un 27% y finalmente en instituciones privadas en un 15%.⁽⁵⁾

Por entidad federativa el Distrito Federal ocupa el primer lugar con 713 trasplantes renales por año tanto en donador vivo, seguido de Jalisco con 435 / año y Guanajuato con 201/ año. En cuanto a donador cadavérico también ocupa el primer lugar con 165 trasplantes / año, seguido de Guanajuato y Jalisco.⁽⁵⁾

IV. INTRODUCCION

El trasplante renal es hoy en día un milagro de la medicina moderna y constituye la mejor opción terapéutica en pacientes con enfermedad renal crónica. Los avances en el estudio de la inmunología han permitido que en la actualidad se realicen éstos procedimientos entre individuos inmunológicamente distintos y esto se ha logrado en gran medida al desarrollo de medicamentos inmunosupresores que logren mantener el injerto generando una tolerancia inmunológica.

Si bien en un inicio el principal reto fue el desarrollo de una adecuada técnica quirúrgica hoy en días se sabe que el éxito del trasplante recae en el desarrollo de mejores terapias inmunosupresoras que logren aumentar la sobrevida del injerto minimizando la toxicidad de los mismos. El tratamiento de inmunosupresión puede emplearse como inducción, mantenimiento o como parte de tratamiento para un evento de rechazo agudo.

Para entender mejor los mecanismos de acción de los fármacos, primero explicaremos la respuesta inmunológica que se establece ante la presencia de un injerto renal, esto se conoce como el modelo de la triple señal y la respuesta aloinmune.

Los mecanismos aloinmunes implican tanto los linfocitos nativos y los de memoria, incluyendo los linfocitos previamente estimuladas por antígenos virales producto de reacciones cruzadas con los antígenos HLA.⁽⁷⁾

Tanto en el injerto como en los tejidos periféricos, las células dendríticas del donador y receptor pueden activarse y trasladarse a las zonas de células T de los órganos linfoides secundarios. Allí, las células dendríticas portadoras de antígenos se ponen en contacto con células T reactivas y de memoria. Las células T innatas están activadas por

las células dendríticas de órganos linfoides secundarios, pero los antígenos de células experimentados pueden ser activados por otros tipos de células, tales como endotelio del injerto. ⁽⁹⁾

El antígeno de superficie de las células dendríticas activa las células T mediante receptores para las misma, esto se conoce como " la señal 1 " a través del complejo CD3. Las células dendríticas co-estimulan a su vez " señal 2, " cuando CD80 y CD86 en la superficie de las células dendríticas se unen al CD28 en las células T. La activación de estas vías de señalización se llevan a la transducción de las siguientes señales: la vía de calcio - calcineurina, la proteína RAS- activada por mitógenos (MAP) kinasa, y la vía de factor κ B. Estas vías activan factores de transcripción que activan la expresión de varias moléculas como: IL - 2, CD154, y CD25. La IL -2 y otras citocinas (IL- 15) activan la "vía de la rapamicina " que producirá la " señal de 3 ", el detonante de la proliferación celular. Para lograr la proliferación de linfocitos se requiere la síntesis de nucleótidos, proliferación y la diferenciación a un gran número de células T efectora. Las células B se activan cuando antígeno se une a sus receptores de antígenos, por lo general en los folículos linfoides o tejido linfoide periférico, tales como el bazo, o posiblemente en el trasplante, la producción de aloanticuerpos contra los antígenos HLA de los donantes. Por lo tanto, dentro de días la respuesta inmune genera los agentes de rechazo de aloinjerto, las células T efectoras y de aloanticuerpos. ⁽¹⁰⁾ Todos estos mecanismos son los que se ven implicados en los eventos de rechazo tanto agudo como crónico y son los que han sido blanco de las terapias inmunosupresores. ⁽¹⁰⁾

Una vez descrito lo anterior, la inmunosupresión se puede lograr depletando los linfocitos, desviando el tráfico de los mismos o bloqueado su efecto en los órganos blanco.

Estos medicamentos se clasifican en los siguientes grupos:

- De pequeño tamaño molecular
 - Fármacos que se unen a inmunofilinas
 - Inhibidores de la síntesis de nucleótidos
 - Anti metabolitos
 - FTY720
- Proteínas
 - Anticuerpos que depletan anticuerpos (contra células T o B)
 - Los que no depletan anticuerpos
- Glucocorticoides
- Inmunoglobulina Intravenosa

Por motivos de éste trabajo, haremos mención en los de pequeño tamaño molecular dentro de los que se encuentran el grupo de los inhibidores de calcineurina (ciclosporina y tacrolimus) entre otros. Estos derivan de bacterias y tienen como blanco proteínas. Tienen la peculiaridad de inhibir la vía de la calcineurina pero sólo parcialmente por lo que es de vital importancia mantener una cierta concentración sérica para lograr su efecto. ⁽¹¹⁾ Por dos décadas (1960-1980) el uso de azatriopina más corticoesteroides era el esquema de primera elección con sobrevida con injerto funcionante aun escasas del 50% a un año y una sobrevida general del paciente del 80-90%. El empleo en los años 80 de ciclosporina como parte del tratamiento inmunosupresor demostró en ensayos clínicos su superioridad en comparación con azatioprina ⁽¹⁶⁻¹⁷⁾.

Como grupo los inhibidores de calcineurina como parte de una triple terapia son el tratamiento de primera elección. Tanto tacrolimus como ciclosporina son usados en el 90% de los pacientes post trasplantados en Estados Unidos con una proporción a favor de tacrolimus en un 85% vs 12% ⁽¹⁹⁾. Según un meta análisis que incluía 30 estudios con 4102 pacientes publicado en el 2005 ⁽¹⁹⁾ en la que se compara el uso de tacrolimus vs ciclosporina se encontró menor número de rechazos y pérdida del injerto en el grupo de pacientes en tratamiento con dicho fármaco sin embargo estudios más recientes no hay una clara diferencia por lo que aún está en discusión la superioridad ⁽²⁰⁾ y ambos comparten su capacidad para producir nefrotoxicidad y producir síndrome urémico hemolítico sin embargo en el caso del tacrolimus se ha visto una menor asociación para el desarrollo de hipertensión, dislipidemia y alteraciones dermatológicas ⁽¹³⁾. Por lo que actualmente éste fármaco es el de primera línea en este tipo de pacientes sin dejar de individualizar cada caso siendo avalado éste como de primera elección por guías Internacionales ⁽²¹⁾

El mecanismo de acción de tacrolimus consiste en la unión a una inmunofilina FK506 que tiene actividad de isomerasa esto va a bloquear la vía de la calcineurina mediadora de la respuesta que disminuye la transcripción de IL2 y con ello la activación de células T y B.

En cuanto a la farmacocinética del tacrolimus se sabe que la viabilidad después de una administración por vía oral es del 25% y se metaboliza en un gran porcentaje por vía hepática e intestinal a través del citocromo *P4503A* mediante el complejo enzimático de *CYP3A*, *CYP3A4* y *CYP3A5*. Otro porcentaje del medicamento se metaboliza por una glicoproteína P que es un transportador de membrana codificado por el gen *ABCBI/MDRI* que se encuentra en varios órganos y que limita su absorción a nivel intestinal, y aumenta su excreción biliar y urinaria ⁽²²⁾. Todo lo anterior cobra importancia ya que el éxito

inmunosupresor de éste fármaco radica en mantenerse en un rango terapéutico adecuado, sin embargo en este caso este rango es estrecho y se ve influido por variables inter e intra individuo por lo que el lograr niveles terapéuticos adecuados requiere una monitorización continua de las dosis. Lograr adecuados niveles terapéuticos de forma rápida y sostenida serán la clave para el éxito del mismo, evitando la presencia de rechazo y la toxicidad del mismo. En la actualidad para lograr esto se realizan mediciones de concentraciones séricas del fármaco (C_0) generalmente a las 12 hrs posterior a la administración del mismo que se correlaciona con área debajo de la curva de concentración en el tiempo. ⁽²³⁾

En la última década en la que el uso de tacrolimus como primera línea en la terapia de mantenimiento en pacientes con trasplante renal ha puesto en evidencia, en primer lugar, el hecho de que niveles adecuados de inmunosupresión aseguran una mejor supervivencia renal pero que esto se ve influenciado por la variabilidad entre individuos con las mismas características en la concentración de dicho fármaco de hasta 1000 veces, las interacciones con otros medicamentos y/o alimentos, sexo, edad y origen racial ⁽²⁴⁾. La farmacogenómica es la rama que estudia las variaciones heredadas o adquiridas que influyen en la respuesta farmacológica. Dentro de ésta rama de estudio la farmacogenética se enfoca en la identificación de ciertos genes que dentro del genoma humano influyan en el metabolismo, distribución, efecto sobre receptores y sobre el efecto biológico de ciertos fármacos. El demostrar que existen éstos factores genéticos que influyen en el metabolismo farmacológico tendrá impacto en desarrollar terapias individualizadas, optimizar su efecto, minimizar toxicidad en ciertas poblaciones) estudiadas ⁽²⁵⁾ y finalmente tendrá impacto en reducir costos al mejorar la efectividad.

Como parte del avance en la farmacogenómica se han descrito las bases moleculares del metabolismo de cierto fármacos, su transporte y su sitios blanco (receptores) y por ende se han caracterizado docenas de mutaciones y polimorfismos funcionales que influyen en el la respuesta farmacológica inter individual. La influencia genética en la respuesta farmacológica fue descrita desde 1977 por Vessel y se puede dar a través de 5 mecanismos ⁽²⁶⁾, de éstos el que cobra importancia por motivos de éste trabajo es que se da por efectos en la farmacocinética que afecta el metabolismo y con ello los niveles terapéuticos. La mayoría de los estudios en farmacogenómica se han centrado en éste mecanismo, sobre todo en la fase I del metabolismo farmacológico en el que polimorfismos de la familia del citocromo P450 y sus enzimas oxidativas CYP han sido motivo de estudio en las últimas décadas dado su impacto en el metabolismo farmacológico y con ello de la variabilidad de concentración entre individuos y etnias ⁽²⁷⁾

El citocromo P450 (CYP) son parte de una familia de enzimas oxidativas, que representan el sistema principal para el metabolismo oxidativo de la mayor parte de fármacos. La secuenciación del genoma humano ha descrito 58 genes CYP diferentes. La mayoría de los genes que codifican para las enzimas del CYP que están activos en el metabolismo de varias sustancias biológicas son polimórficos, y los polimorfismos que afectan el metabolismo de drogas se han encontrado en un porcentaje significativo de la población ^(28,29). Los polimorfismos en los genes CYP pueden producir una disminución, un aumento o la ausencia en el metabolismo ⁽³⁰⁾. En general, las variaciones genotípicas CYP resultan en tres fenotipos metabólicos: metabolizadores ultrarrápidos, metabolizadores rápidos (normales) y metabolizadores lentos. Los clínicamente más importantes variaciones polimórficas en los CYP hepáticas se ven en la *CYP2C9*, *CYP2C19*, *CYP2D6*, *CYP3A4* y

genes que codifican para enzimas que son responsables del metabolismo de fase I de aproximadamente 60 a 70 % de todos los medicamentos utilizados en humanos.

En estudios previos ^(30,31) se había encontrado que los niveles y la expresión ciertas interleucinas como la IL 10, IL8 IL 6 TNF α y β tenían un papel en el desarrollo de eventos de rechazo tanto agudo como crónico. El desarrollo de la farmacogenómica ha permitido determinar que no solo los niveles de estas influían en el curso del trasplante sino que existían polimorfismos en los genes que las codificaban que se asociaban en una mayor proporción con el desarrollo de rechazo ⁽³²⁾, esto independientemente de su riesgo inmunológico.

Finalmente en publicaciones recientes, ⁽³³⁾ realizados en pacientes con trasplante hepático de origen asiático, se han encontrado que éstas interleucinas en concreto la IL6 tiene un efecto directo en el metabolismo del tacrolimus ya que ésta produce una supresión total del RNAm de la mayoría de las enzimas CYP que como esta descrito previamente son las principales metabolizadores del tacrolimus. Y que el polimorfismo rs 1800796 que se encuentra en la región promotora del gen que codifica la IL 6 pueden ser los responsables de dicha alteración. Por lo que el motivo de éste trabajo es la búsqueda de dicho polimorfismo en población mexicana trasplantada renal y su asociación con la supervivencia del injerto.

V. JUSTIFICACIÓN

El trasplante renal en la actualidad representa una de las principales herramientas para el tratamiento de los pacientes con enfermedad renal crónica por cualquier causa los avances en la investigación de la inmunología del trasplante, las técnicas quirúrgicas y la farmacología han permitido que la sobrevida del mismo sea considerable. Esto ha llevado al estudio en los pacientes ya trasplantados y a la creación de cada vez mejores terapias inmunosupresoras que permitan tanto disminuir los cuadros de rechazo agudo como crónico.

Todo lo anterior ha creado líneas de investigación como la farmacogenética y farmacogenómica las cuales se encargan de la influencia genética de las poblaciones en el metabolismo farmacológico. En otros estudios publicados en otros países e inclusive en el nuestro se han demostrado la presencia de polimorfismos en ciertos genes que influyen en el metabolismo de ciertos fármacos en particular de los inmunosupresores.

La importancia de este estudio dada la variabilidad genética entre poblaciones es determinar la presencia de este polimorfismo en nuestra población y con ello definir su influencia en el metabolismo del tacrolimus y su impacto en desenlaces como toxicidad por inhibidores de calcineurina y rechazo. Logrando con esto terapias individualizadas que permitan una mayor sobrevida del injerto enfocada a nuestra población en particular.

VI. HIPÓTESIS

La presencia del polimorfismo rs1800796 en el gen que codifica para la IL6 así como la presencia de polimorfismo rs776746 de la CYP3A5 influyen en las variables clínicas de los pacientes sometidos a trasplante renal teniendo como desenlaces variaciones en los niveles de tacrolimus que impactan en la sobrevida del injerto a través de la presencia de toxicidad o rechazo.

VII. HIPÓTESIS NULA

La presencia del polimorfismo rs1800796 en el gen que codifica para la IL6 así como la presencia de polimorfismo rs776746 de la CYP3A5 no influyen en las variables clínicas de los pacientes sometidos a trasplante renal por lo que no tiene ningún impacto en los niveles de tacrolimus y no impactan en la sobrevida del injerto a través de la presencia de toxicidad o rechazo.

VIII. OBJETIVO PRIMARIO

Determinar la presencia del polimorfismo rs1800796 en el gen que codifica para la IL6 en población mexicana así como la presencia del polimorfismo rs776746 de la CYP3A5.

IX. OBJETIVO SECUNDARIO

Determinar si la presencia de los polimorfismos antes mencionados influyen en la sobrevida del injerto.

X. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio retrospectivo, transversal y observacional en el que se analizaron los expedientes de todos los pacientes sometidos a trasplante renal en el Instituto Nacional de Cardiología Ignacio Chávez entre los años 2000 y 2013 que estuvieran en tratamiento con triple esquema inmunosupresor a base de tacrolimus por lo menos en los últimos 6 meses. Fueron excluidos del estudio aquellos que no contaran con un expediente completo, que tuvieran menos de 6 meses post trasplante, no mexicanos y aquellos que estuvieran en tratamiento con ciclosporina o con tacrolimus XL (liberación prolongada).

Se realizó un análisis demográfico inicial, así como el análisis de las diferentes etiologías que llevaron a falla renal crónica y los niveles de creatinina al momento del estudio. También fueron analizados los últimos tres niveles registrados de tacrolimus que comprendían un periodo de tiempo entre los 0, 3 y 6 meses. Se definió las posibles comorbilidades en el post trasplante, las características del donador (donador vivo relacionado, vivo no relacionado y cadavérico), el riesgo inmunológicos al momento del trasplante. Clasificándolo según los haplotipos compartidos, el PRA definiendo de alto riesgo si este era mayor al 50% ⁽³⁴⁾ y la presencia o no anticuerpos anti donador específico. Y finalmente en los pacientes con registro de biopsia renal se clasificaron los hallazgos encontrados según los diferentes reportes histopatológicos. Dentro de los hallazgos encontrados se tomaron en cuenta la presencia de rechazo agudo tanto celular como humoral según la clasificación histopatológica de la Banff ⁽³⁵⁾, toxicidad por inhibidores de

calcineurina teniendo como principales marcadores histológicos hipoperfusión glomerular, daño endotelial, microangiopatía crónica y nefropatía crónica del injerto caracterizada por engrosamiento de la pared de los vasos sanguíneos, infiltración por mononucleares, proliferación de miofibroblastos, engrosamiento de la membrana glomerular con la formación de dobles contornos, expansión mesangial y por un grado de fibrosis intersticial variable⁽³⁵⁾.

- Recolección de Muestras

Se obtuvieron muestras de 152 pacientes que cumplieran las características antes descritas durante su seguimiento en la consulta de trasplante renal previo consentimiento informado para su posterior extracción de ADN y medición de polimorfismo.

- Extracción de ADN y genotipificación de los Polimorfismos

Se realizó a través del método modificado no enzimático de extracción de AND mediante muestras de sangre periférica de los receptores de trasplante renal previamente seleccionados. En cuanto al genotipo de los polimorfismos este se realizó mediante PCR en tiempo real con sondas TaqMan.

- Análisis Estadístico

Los valores se expresaron como promedio más menos desviación estándar o como proporciones según corresponda. La comparación de dos medias se efectuó con prueba *T student* para muestras independientes y la comparación de proporciones con prueba de *chi cuadrada* o con prueba exacta de Fisher. La comparación de más de dos medias se llevó a cabo con ANOVA de una vía. Se tomó como un valor significativo una $P < .05$. Se empleó el paquete estadístico SPSS versión 15 para Windows.

XI. RESULTADOS

En cuanto al análisis de las variables clínicas y antropométricas de los pacientes analizados se muestran en las siguientes tablas.

Tabla 1. Datos clínicos e histoquímicos.*

Variable	Total	CYP rs776746 (CC)	CYP rs776746 (C/T)
Edad	34.2 ± 11.7	33.6 ± 11.2	38.1 ± 14.4
Género (H/M)	49.3/50.7%	51.9/48.1%	31.6/68.4%
Cr muestreo	1.36 ± 0.75	1.3 ± .78	1.1 ± .27
CKDEPI muestreo	70.5 ± 1.8	69.7 ± 24.5	75.7 ± 22.9
A. Úrico muestreo	6 ± 1.6	6.1 ± 1.6	5.5 ± .98
Peso	64.6 ± 14	64.9 ± 14.2	62.3 ± 12.5
Dosis FK/kg	4 ± 3.2	.09 ± .06	.08 ± .06
Frecuencia n (%)		133 (87.5%)	19 (12.5%)

* $\bar{X} \pm DS$ n (%)

Tabla 2. Datos clínicos y antropométricos generales y asociados a la IL 6.*

Variable	Total	IL6 rs1800796 (GG)	IL6 rs1800796 (CC)	IL6 rs1800796 (C/G)
Edad	34.2 ± 11.7	35.4 ± 11.8	32.8 ± 8.6	33.2 ± 12.5
Género (H/M)	49.3/50.7%	43.2/56.8%	63.6/36.4%	51.8/48.2%
Cr muestreo	1.36 ± .75	1.3 ± .83	1.4 ± .82	1.3 ± .58
CKDEPI muestreo	70.5 ± 1.8	70.0 ± 25.9	68.6 ± 25.6	71.8 ± 21.8
A. Urico muestreo	6 ± 1.6	5.8 ± 1.7	6.4 ± 1.6	6.1 ± 1.3
Peso	64.6 ± 14	64 ± 13.2	69 ± 16.6	63 ± 13.8
Dosis FK/kg	4 ± 3.2	.08 ± .06	.08 ± .04	.09 ± .06
Frecuencia n(%)		74 (48.7%)	22(14.5%)	56 (36.8%)

* $\bar{X} \pm DS$ n (%)

Otras de las variables clínicas analizadas, fue la proteinuria al momento de la muestra con una media de 315.2 ± 588.5 mg/dl. De los pacientes sometidos a biopsia del injerto la creatinina al momento de la misma tiene una media 1.89 ± 1.6 mg/dl con una tasa de filtrado glomerular CKDEPI 53.1 ± 49.5 ml/min.

En cuanto a la etiología que llevo a falla renal crónica en los pacientes analizados se encontró como de causa no determinada en 104 (68.4%) pacientes, seguida de algún tipo de glomerulopatía en 17 (11.2%), Lupus Eritematoso Sistémico 7 (4.6%), Diabetes Mellitus tanto tipo I como II en 2 (1.3%), Nefroangioesclerosis 10 (6.6%), otras causas dentro de

las que se encontraban en su mayoría causas urológicas y/o infecciosas en 3 (2%), Enfermedad renal Poliquística 4 (2.65%) y Nefropatía crónica del Injerto 5 (3.3%).

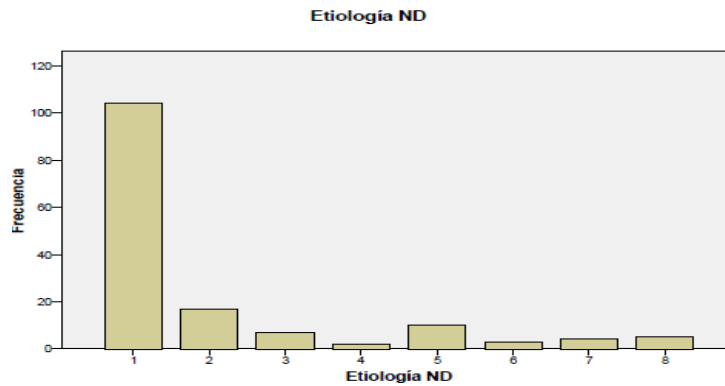


Grafico 1. Etiología de la Enfermedad renal

De la terapia de sustitución renal previo al trasplante se encontró que el 77(50%) se encontraba con Hemodiálisis convencional, 70 (46.1%) en diálisis peritoneal y 5 (3.3%) sin sustitución alguna siendo sometidos a trasplante anticipado.

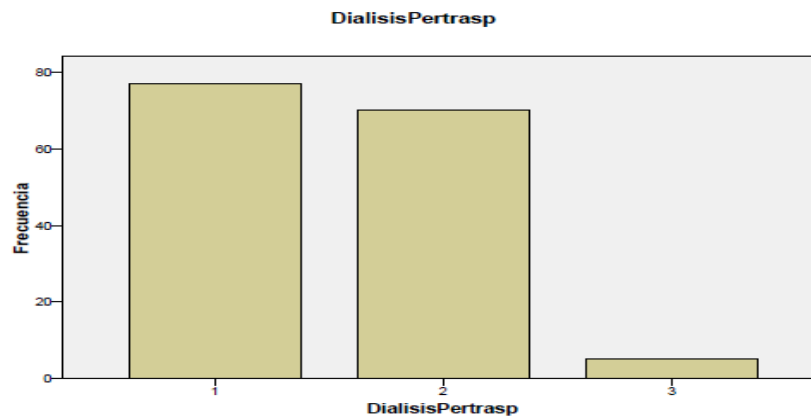


Grafico 2. Modalidades de Diálisis pre trasplante.

Según el tipo de donador encontramos una frecuencia de donador vivo relacionado de 114 (75%), donador vivo no relacionado 21 (13.8%) y cadavérico 17 (11.2%). Grafico 3. En cuanto al riesgo inmunológico se definió como alto o bajo en función de las variables de HLA, PRAI y II y presencia o no de anticuerpos donador específico encontrado un alto riesgo en 26 (26%) y bajo riesgo en 126 (82.9%).Grafico 4. De los esquemas de inducción utilizados encontramos que se usó daclizumab en 66(43.4%), basiliximab 63 (41.4%), cualquiera de los dos anteriores más sesiones de plasmaferesis variables en frecuencia 17(11.2%) y todas las anteriores más timoglobulina en 1 (.7%).Grafico 5

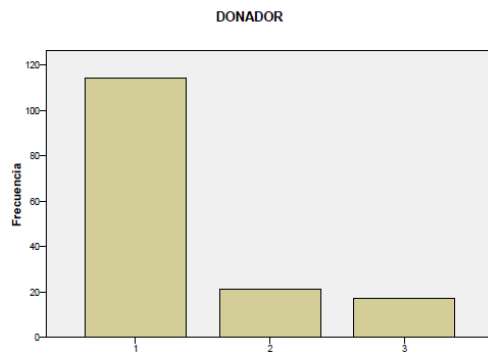


Grafico 4. Tipos de donador

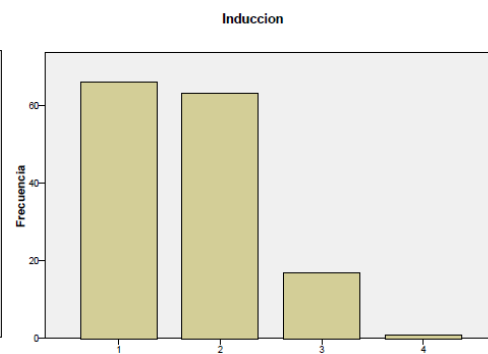


Grafico 5. Esquemas de inducción.

Según el riesgo para desarrollar infección por citomegalovirus se definió según los tipos de riesgo en función de la serología encontrada tanto en donador como receptor encontrado que 121 pacientes (79.6%) presentaban riesgo intermedio, 17 (11.2%) riesgo alto y 8 (5.3%) riesgo bajo.

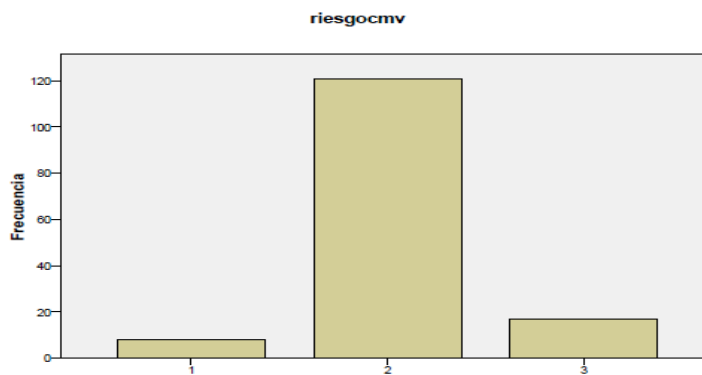


Grafico 6. Riesgo para CMV

En el periodo post trasplante se analizaron las comorbilidades que presentaban los pacientes encontrando a la Hipertensión Arterial Sistémica pre trasplante en 96 (63.2%), HAS post trasplante 45 (29.6%), Diabetes Mellitus pre trasplante 2 (1.3%), en el post trasplante 16 (10.5%), la dislipidemia clasificada según el tipo y frecuencia en mixta 24 (15.8%) hipertrigliceridemia 21 (13.8%) e hipercolesterolemia en 7 (4.6%) y otras en su mayoría asociadas a complicaciones urológicas e infecciosas en 31 (20.4%).

En los hallazgos histopatológicos de los pacientes biopsiados que fueron 72 se encontró en 6 (3.9%) con rechazo agudo de tipo celular, 16 (10.5%) rechazo agudo de tipo humoral, 21 pacientes (13.8%) toxicidad por inhibidor de calcineurina, 16 (10.5%) otros definidos como hallazgos inespecíficos que no correspondían a alguna entidad de las antes mencionadas, 5 (3.3%) con reporte histológico normal, 2 pacientes (1.3%) nefropatía crónica del injerto, 3 (2%) con evidencia simultanea de rechazo humoral más toxicidad por inhibidores de calcineurina y 3 (2%) con rechazo celular más toxicidad.

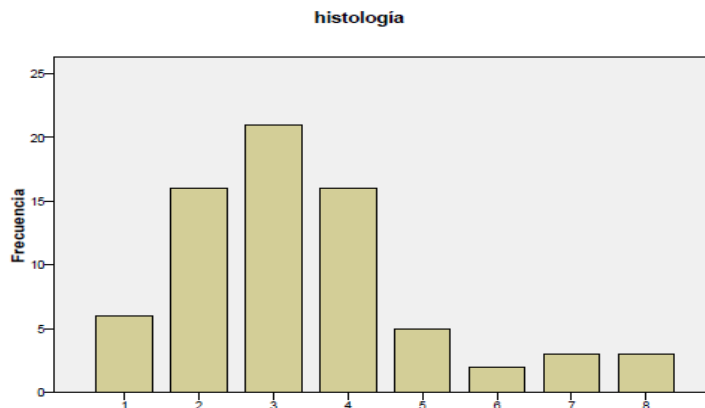


Grafico 7. Hallazgos histológicos en los pacientes con biopsia renal.

Posteriormente se realizó el análisis comparativo entre grupos del polimorfismo CYP rs776746; en donde el grupo 1 (CC) tuvo 133 pacientes, vs el grupo 2 (C/T) con 19 pacientes. De las variables analizadas se encontró una diferencia estadísticamente significativa en los valores de creatinina al momento del muestreo (1.3 ± 0.78 del grupo 1 vs 1.1 ± 0.27 mg/dl; $p=0.003$). De la misma forma se encontró significancia estadística en los niveles de proteinuria (336 ± 625 del grupo 1 vs 169.6 ± 97.6 mg/dl del grupo 2: $p= .005$) y en ácido urico con (6.1 ± 1.6 en grupo 1 vs $5.5 \pm .98$ en grupo 2; $p= .031$).

En términos de sexo se observó un mayor grupo de mujeres con la variante (C/T grupo 2) comparado con hombre (13 vs 6 respectivamente) sin embargo no alcanzo significancia estadística; $p=.078$.

En cuanto a la función renal al momento del muestreo se subdividió en subgrupos en función del filtrado glomerular, siendo grupo 1,2,3 y 4 correspondiendo a una tasa de filtrado glomerular de ≥ 70 ml/min, entre 69-30 ml/min, entre 29-15 ml/min y ≤ 15 ml/min. Se analizó cada subgrupo para determinar su asociación con alguna de las variantes alélicas

del polimorfismo sin embargo no hubo significancia estadística con una $p=.41$. En cuanto al delta de variación de creatinina definido como (Cr muestreo- Cr biopsia) se encontró una tendencia para presentar un mayor cambio en el grupo 1 vs el grupo 2 (15.1 ± 37.9 vs 115.6 ± 245) aunque no resulto estadísticamente significativo $p=0.25$.

Al analizar los hallazgos histopatológicos en este polimorfismo se encontró una tendencia en el grupo 1 (CC) para presentar toxicidad por inhibidores de calcineurina (30.2% en grupo 1 vs 22.2% en el grupo 2) aunque no alcanzo significancia estadística $p=0.84$.

El resto de las variables analizadas que carecieron de significancia estadística incluyeron la etiología de la enfermedad renal, diálisis pre trasplante, HAS pre y post trasplante, DM 2 pre y post trasplante, dislipidemia, tipo de donador, riesgo inmunológico, esquemas de inducción y riesgo de CMV. (Datos no mostrados).

Además se realizó el análisis comparativo entre grupos del polimorfismo rs1800796 IL6; en donde el grupo 1 (GG) tuvo 74 pacientes, el grupo 2 (C/C) con 22 pacientes y el grupo 3 (G/C) con 56 pacientes. De las variables analizadas se encontró en el grupo 2 una tendencia a presentar mayores niveles de Cr al momento del muestreo ($1.47 \pm .82$ vs 1.37 ± 0.83 en grupo 1 y $1.3 \pm .58$ en grupo 3), así como en la tasa de filtrado glomerular. Se mantuvo esta tendencia tanto en la cifra de proteinuria (368 ± 429.2 vs 344.1 ± 761.9 grupo 1 y 256.1 ± 322.8 en grupo3) como en los niveles de ácido úrico y peso. Del resto de las variables analizadas se encontró una cifra menor para el PRAI en el grupo 2 (0.42 ± 1.0 vs grupo 1 15.3 ± 28 y grupo 3 10.5 ± 20.6) la cual resulto estadísticamente significativa; $p = 0.003$.

En el caso de los pacientes con Hipertensión Arterial pre trasplante se encontró que el 100% de los pacientes en el grupo 2 la presentaban a diferencia de los otros grupos 1 (62%) y grupo 3 (50%) con significancia estadística; $p = .000$. Grafica

El resto de las variables analizadas que carecieron de significancia estadística incluyeron sexo, la etiología de la enfermedad renal, diálisis pre trasplante, HAS post trasplante, DM 2 pre y post trasplante, dislipidemia, tipo de donador, riesgo inmunológico, histología, esquemas de inducción y riesgo de CMV. (Datos no mostrados).

XII. DISCUSION

En este estudio retrospectivo analizamos a 153 pacientes sometidos a trasplante renal en los cuales se identificaron los polimorfismos CYP rs776746 y IL6 rs1800796 con el fin de determinar su asociación con la presencia de múltiples variables.

En cuanto a las variables demográficas analizadas en el total de la población es importante resaltar que solo el 45% desarrollo hipertensión arterial sistémica post trasplante a diferencia de la literatura mundial; en donde las cifras se reportan entre un 60-80% ⁽³⁶⁾. En el caso de la diabetes post trasplante esta se diagnosticó en base a los criterios publicados por las guías internacionales del 200. Esta se encontró en un 10.5% que coincide con la literatura mundial en donde se reporta entre un 7- 46% ⁽³⁷⁾. En cuanto a la dislipidemia se presentó en un 34. 2% parecido a lo reportado en la literatura mundial.

En los últimos años autores como Mizutani T. ⁽³⁰⁾ han identificado la presencia de ciertos polimorfismos en el CYP y de algunas interleucinas así como su asociación con la dosis de tacrolimus empleada y desenlaces en cuanto a sobrevida del injerto en pacientes sometidos a trasplante hepático.

Lo primero que se evidencio en este estudio al analizar las frecuencias alélicas del CYP rs776746 es la ausencia del alelo AA que a diferencia de otras publicaciones y poblaciones este si se presenta. En un estudio realizado en pacientes con trasplante hepático en el que se estudió ⁽³³⁾ este mismo polimorfismo se encontró a diferencia de nuestro estudio que la ausencia del alelo A conllevaba un metabolismo menor del tacrolimus por lo tanto concentraciones más altas; lo cual no se reprodujo en este análisis por lo que consideramos pueda estar en relación con el tamaño de muestra.

En un estudio realizado por Jacobson et al ⁽³⁸⁾ se observó que durante los primeros 6 meses post trasplante los pacientes de raza afroamericana recibieron un 60% más de la dosis media diaria de tacrolimus alcanzando concentraciones menores comparado con los no afroamericanos. En la población estudiada por nosotros (mexicanos) no se demostró diferencia estadísticamente significativa para ambos polimorfismos y sus respectivos grupos en los diferentes momentos en cuanto a la concentración de tacrolimus. De forma diferente, un estudio publicado por García Roca et al en población mexicana demostró que el CYP3A5 (A6986) con variante GG requerían menos dosis de tacrolimus que los A/G. Dichas diferencias no se reprodujeron en nuestro estudio probablemente porque nuestra población carecía de la variante alélica AA y el polimorfismo en cuestión era diferente sin embargo crea precedente de posibles variabilidades genéticas.

El CYP se ha asociado a la presencia de ciertas enfermedades como por ejemplo HAS e HAS en el embarazo; en nuestro análisis no existió dicha correlación sin embargo existió una concentración mayor en creatinina, ácido urico y proteinuria en los pacientes que presentaban la variante CC lo que pudiera influenciar en el pronóstico renal lo cual no se demostró en este estudio sin embargo podría ser necesario una muestra mayor.

En los resultados obtenidos de las variantes alélicas en el polimorfismo de la IL 6 a diferencia de lo publicado en la literatura mundial en algunos estudios hechos en trasplante hepático en los que el alelo C resulta más frecuente, en nuestra población no fue así.

En cuanto al papel de la IL 6 en el trasplante renal se ha demostrado en estudios publicados por Dhaquadi et al, su papel pro inflamatorio midiendo las concentraciones séricas de la misma. Sin embargo, no se demostró una asociación con desenlaces como

rechazo o nefropatía crónica. En un estudio realizado en donadores y receptores de trasplante hepático por Dawei et al se encontró que las variantes alélicas en este polimorfismo de IL6 influían en el metabolismo hepático de la IL 6 y con ello en el metabolismo de tacrolimus lo cual generaba variaciones en las concentraciones medidas del fármaco sin embargo esto no fue demostrado en nuestro grupo de pacientes. ⁽³³⁾

De la aportaciones demostradas en este estudio encontramos la asociación de Hipertensión arterial pre trasplante en los pacientes de IL6 rs1800796 del grupo 2 (CC) con significancia estadística pudiera explicar la tendencia (aunque no significativa) de este mismo grupo para presentar mayores cifras de creatinina, proteinuria y ácido úrico. Aunque no exista una relación significativa con los hallazgos histopatológicos reportados si pudiera haber una predisposición a daño micro vascular que finalmente impacte de forma indirecta en la sobrevida del injerto.

Otro de los resultados que se encontró fue la presencia de menor porcentaje de PRAI en el grupo 2 estadísticamente significativo entre grupos lo cual podría significar un factor protector para el desarrollo de rechazos sin embargo esto no se pudo correlacionar con los hallazgos histológicos.

Finalmente dentro de las limitantes del estudio tenemos el tamaño de la muestra y el que sea un estudio retrospectivo.

XIII. CONCLUSIONES

En primer lugar puedo concluir que en definitiva existen factores genéticos como son los polimorfismos que influyen en el metabolismo de ciertos fármacos entre ellos los inmunosupresores lo cual influye en la respuesta inter individual al mismo tratamiento.

Lo ideal es generar una terapia individualizada que disminuya efectos adversos y que logre un efecto terapéutico adecuado.

En el análisis de las variables clínicas del CYP la presencia de cifras mayores en creatinina, proteinuria y ácido urico en el grupo 1 deberán ser tomadas en cuenta para posteriores análisis y con ello definir su asociación con el pronóstico de la sobrevida renal.

En el análisis del polimorfismo IL6 rs1800796 la asociación con Hipertensión pre trasplante genera una tendencia a elevar cifras de creatinina entre otras variables las cuales si bien no fueron estadísticamente significativas si marcan una tendencia.

XIV. BIBLIOGRAFIA

1. Merrill JP, Murray JE, Harrison JH, Guild WR. Successful homotransplantation of the human kidney between identical twins. *JAMA* 1956;160:277-82
2. Tilney NL. *Transplant: from myth to reality*. New Haven, Conn.: Yale University Press, 2003.
3. Hamilton D. Reaching for the impossible: the quest for tissue replacement. In: Ginns LG, Cosimi AB, Morris PJ, eds. *Transplantation*. Boston: Blackwell Science, 1999:1-19.
4. Beatriz Domínguez-Gil et al. Situación actual del trasplante renal. *Revista Nefrológica*. 2010. 30: 3-13.
5. Estado actual de Donación de Trasplantes en México anual 2013 CENATRA.
6. Julio Frenk Mora, Enrique Ruelas B., et al. *Programa de Acción Trasplantes, Primera Edición 2001* Secretaria de Salud.
7. Lombardi G, Sidhu S, Daly M, Batchelor JR, Makgoba W, Lechler RI. Are primary alloresponses truly primary? *Int Immunol* 1990;2:9-13.
8. Adams AB, Williams MA, Jones TR, et al. Heterologous immunity provides a potent barrier to transplantation tolerance. *J Clin Invest* 2003;111:1887-95.
9. Wang D, Matsumoto R, You Y, et al. CD3/CD28 costimulation-induced NF-kappaB activation is mediated by recruitment of protein kinase C-theta, Bcl10, and IkappaB kinase beta to the immunological synapse through CARMA1. *Mol Cell Biol* 2004;24: 164-71.
10. MacLennan IC, Toellner KM, Cunningham AF, et al. Extrafollicular antibody responses. *Immunol Rev* 2003;194:8-18.

11. Batiuk TD, Pazderka F, Halloran PF. Calcineurin activity is only partially inhibited in leukocytes of cyclosporine-treated patients. *Transplantation* 1995;59:1400-4.
12. The U.S. Multicenter FK506 Liver Study Group. A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331:1110-5
13. Meier-Kriesche HU, Kaplan B. Cyclosporine microemulsion and tacrolimus are associated with decreased chronic allograft failure and improved long-term graft survival as compared with Sandimmune. *Am J Transplant* 2002;2:100-4 Ahsan N, Johnson C, Gonwa T, et al.
14. Randomized trial of tacrolimus plus mycophenolate mofetil or azathioprine versus cyclosporine oral solution (modified) plus mycophenolate mofetil after cadaveric Kidney transplantation: results at 2 years. *Transplantation* 2001;72:245-50.
15. Impact of renal cadaveric transplantation on survival in end-stage renal failure: evidence for reduced mortality risk compared with hemodialysis during long-term follow-up. Schnuelle P, Lorenz D, Trede M, Van Der Woude F SOJ *Am Soc Nephrol.* 1998;9(11):2135
16. Immunosuppression in organ transplantation. Carpenter CB. *Engl J Med.* 1990;322(17):1224.
17. Chronic immunosuppression of the renal transplant patient. Helderman JH, Van Buren DH, Amend WJ Jr, Pirsch JD *Am Soc Nephrol.* 1994;4(8 Suppl) : S2 <http://www.ustransplant.org> (Enero, 2010)
18. Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS, Chapman JR, Craig JC 2005;331(7520):810.

19. Renal graft survival and calcineurin inhibitor. Woodward RS, Kutinova A, Schnitzler MA, Brennan DC *Transplantation*. 2005; 80(5):629.
20. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group *Am J Transplant*. 2009; 9 Suppl 3:S1.
21. Venkataraman R, Swaminatan A, Prasad T, et al: Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 29: 404-430, 1995
22. Jusko WJ: Analysis of tacrolimus (FK506) in relation to therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 17: 596-601, 1995.
23. Leufkens HG. The interface between pharmacoepidemiology and pharmacogenetics. *Eur J Pharmacol* 2000; 410:121
24. Wang L, McLeod HL, Weinshilboum RM. Genomics and drug response. *N Engl J Med* 2011; 364:1144.
25. Vesell ES, Passananti GT, Greene FE, Page JG. Genetic control of drug levels and of the induction of drug-metabolizing enzymes in man: individual variability in the extent of allopurinol and nortriptyline inhibition of drug metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 1971; 179:752
26. Eichelbaum M, Spannbrucker N, Steincke B, Dengler HJ. Defective N-oxidation of sparteine in man: a new pharmacogenetic defect. *Eur J Clin Pharmacol* 1979; 16:183.
27. Silverman ES, Hjoberg J, Palmer LJ, et al. Application of Pharmacogenetics to the Therapeutics of Asthma. In: *Therapeutic Targets of Airway Inflammation*, Eissa NT, Huston D (Eds), Marcel Dekker, New York 2003. Vol 177, p.1000.

28. Steimer W, Potter JM. Pharmacogenetic screening and therapeutic drugs. *Clin Chim Acta* 2002; 315:137.
29. Mizutani T. PM frequencies of major CYPs in Asians and Caucasians. *Drug Metab Rev* 2003; 35:99.
30. Wilson AG, Symons JA, McDowell TL, et al: *Proc Natl Acad Sci USA* 94:3195, 1997.
31. L.V. Hutchinson, DM Turnes, et al: *Trasplantation Proceeding*, 30, 862-863 1998.
32. Dawei Chen Junwei Fan, et al: *PLOS One*, 8, 1-5, August 2013.
33. US Transplant <http://www.ustransplant.org> (Febrero 10, 2010)
34. Sis B, Mengel M, Haas M, et al. Banff '09 meeting report: antibody mediated graft deterioration and implementation of Banff working groups. *Am J Transplant* 2010; 10:464.
35. Mangray M, Vella JP. Hypertension after kidney transplant. *Am J Kidney Dis* 2011; 57:331.
36. Cosio FG, Pesavento TE, Osei K, et al. Post-transplant diabetes mellitus: increasing incidence in renal allograft recipients transplanted in recent years. *Kidney Int* 2001; 59:732.

