

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

TIEMPO EN ALCANZAR NIVELES TERAPÉUTICOS
DE TACROLIMUS POST-TRASPLANTE RENAL
EN NIÑOS SEGÚN GENOTIPO DE CYP3A5.
SEGUIMIENTO A UN MES

T E S I S

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

NEFROLOGÍA PEDIÁTRICA

P R E S E N T A

DRA. ANA CATALINA ALVAREZ ELÍAS



DIRECTOR DE TESIS : DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO

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

Febrero 2015



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

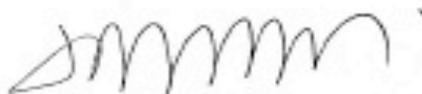
Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

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

TIEMPO EN ALCANZAR NIVELES TERAPÉUTICOS DE TACROLIMUS POS-TRASPLANTE
RENAL EN NIÑOS SEGÚN GENOTIPO DE CYP3A5. SEGUIMIENTO A UN MES

HOJA DE FIRMAS

**DRA. REBECA GÓMEZ CHICO VELASCO
DIRECTORA DE ENSEÑANZA Y DESARROLLO ACADÉMICO**



**DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO
INVESTIGADOR EN CIENCIAS MÉDICAS E**



**DRA. EN C. MARÍA INÉS DEL PILAR GARCÍA ROCA
LAB DE INVESTIGACIÓN EN NEFROLOGÍA Y
METABOLISMO OSEO Y MINERAL**

ÍNDICE.

1. INTRODUCCIÓN.	07
2. MARCO TEÓRICO.	08
3. ANTECEDENTES.	10
4. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	12
5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.	12
6. JUSTIFICACIÓN.	12
7. OBJETIVOS	12
8. HIPÓTESIS	13
9. METODOLOGÍA	14
10. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.	16
11. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES.	16
12. RESULTADOS	16
13. DISCUSIÓN	19
14. CONCLUSIONES	20
15. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES	28
16. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	21
17. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO	26
18. ANEXOS	27

DEDICATORIAS

A mi madre, que me dio la vida y todo lo que tengo.

ABREVIATURAS

A	Base nitrogenada adenina
ABC	Área Bajo la Curva de la concentración plasmática contra tiempo
ADN	Ácido desoxiribonucleico
AMF	Ácido micfenólico
AMP	Adenosin Momo Fosfato
ATP	Adenosintrifosfato
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
bp	Par(es) de base(s)
C	Base nitrogenada citosina
CYP	Citocromo P450
°C	Grado Celsius o centígrado
C ₀	Concentración en valle del fármaco
C _{min}	Concentración mínima del fármaco
C _{max}	Concentración máxima de fármaco
CTP	Citosin trifosfato
dNTPs	Desoxinucleótidos trifosfatados
D	Dosis
d	Día
DAG	Diacilglicerol
EDTA-K2	Etilén diamino tetracético dipotásico
ERCT	Enfermedad Renal Crónica Terminal
DVR	Donador vivo relacionado
DF	Donador fallecido o donador cadavérico
FKBP	Proteína de unión a tacrolimus
g	Gramo
GM-CSF	Factor estimulador de colonias granulocito macrófago
G	Base nitrogenada guanina
GTP	Guanosin trifosfato
h	Hora
HLA	Antígeno linfocitario humano del complejo mayor de histocompatibilidad
HPLC	Cromatografía líquida de alta resolución
IRC	Insuficiencia renal crónica
IFNg	Interferón gama
IL-2	Interleucina 2
IC	Inhibidor de calcineurina
IMPDH	Inosinmonofosfato deshidrogenasa
IP3	Inositol trifosfato
kg	Kilogramo
KDa	Kilodaltones
L	Litro
m ²	Metros cuadrados
min	Minutos
mg	Miligramos

mL	Mililitros
mL	Microlitros
mM	Milimolar
mM	Micromolar
MRP-2	Proteína de resistencia a múltiples fármacos 2
NFAT	Factor nuclear activador de linfocitos T
NFKB	Factor Nuclear KB
ng	Nanogramos
n	Tamaño de muestra
NADPH	Nicotin adenin dinucleótido reducido
PA-1	Activador de proteína 1
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
pM	Picomolar
pmol	Picomoles
PKC	Proteínasa C
sc	Superficie corporal
seg	Segundos
SNP	Polimorfismo en una sola base
T	Base nitrogenada timina
Tac	Tacrolimus
TCR	Receptor de células T
TNFa	Factor de necrosis tumoral alfa
Tmax	Tiempo máximo
$t_{1/2}$	Tiempo de vida media, tiempo medio de eliminación
TTP	Timidin trifosfato
TR	Trasplante renal
Vd	Volumen de distribución
UGT	Glucoronosil transferasa
UV	Ultravioleta
TFG	Tasa de Filtración Glomerular

1. INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal, se define como el daño renal por un tiempo igual o mayor a 3 meses, con presencia de anomalías estructurales y funcionales del riñón con o sin disminución de la velocidad de filtración glomerular (TFG) (1) y una o más de las siguientes características: Alteración de la composición de la orina o sangre. Alteraciones en exámenes de imagen. Alteraciones en la biopsia renal, o en los pacientes que presentan TFG menor de 60 mL/min/1.73 m² igual o mayor a 3 meses con o sin otros signos descritos previamente (1). Las guías K/DOQI clasifican a la enfermedad renal crónica en 5 estadios que son (2).

Estadio 1: TFG mayor a 90 mL/min/1.73 m²

Estadio 2: TFG entre 89 y 60 mL/min/1.73 m²

Estadio 3: TFG entre 59 a 30 mL/min/1.73 m²

Estadio 4: TFG entre 29 y 15 mL/min/1.73 m²

Estadio 5: VGF menor a 15 mL/min/1.73 m² se considera Enfermedad crónica terminal (ERCT) (3-6). Las implicaciones de la ERCT son diferentes en los niños comparados con los adultos. Además de la anemia, hipertensión arterial, desequilibrio electrolítico, enfermedad óseo-metabólica, proteinuria y oliguria, afecta el desarrollo neuro-psicológico y de los diferentes órganos, por lo que el reemplazo de la función renal es de suma importancia (5, 7, 8).

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

Por otro lado, la supervivencia del injerto depende de múltiples factores entre los que destacan la calidad del tejido renal, compatibilidad, condiciones pre-existentes, la edad del receptor y del donador, diferencias raciales, transfusiones de sangre previas y tiempo de isquemia fría, entre otros (8, 12)

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

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

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

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

2. MARCO TEÓRICO

El mecanismo inmunológico relacionado con el rechazo del injerto se inicia por el reconocimiento del injerto a través del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) del receptor el cual activa a los linfocitos T mediante la interacción del antígeno (HLA del donador) y el TCR del linfocito del receptor, ésta interacción promueve la fosforilación de la tirosina presente en la fosfolipasa C gamma, del receptor, y la hidrólisis del fosfatidil difosfato (PIP2) con la subsecuente aparición del inositol trifosfato (IP3) y el diacilglicerol (DAG), éstas moléculas promueven el incremento de calcio y la activación de la proteínkinasa C (PKC) y dan lugar a la estimulación del factor nuclear kB (NFkB), el factor activador de la proteína I (PA-1) y el factor nuclear activador de células T (NFAT), estos factores pasan al núcleo celular y se acoplan a regiones promotoras en el DNA y promueven la producción de IL-2, IL-4 y factores citotóxicos (12, 14).

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

1. **Etapa de inducción** en la cual se establece la pauta profiláctica para prevenir y retrasar el rechazo agudo, en la que son administradas elevadas dosis de inmunosupresor, entre los fármacos empleados se encuentran anticuerpos antilinfocitos poli o monoclonales, anticuerpos contra el receptor de IL-2 (CD25), esteroides, y mayores dosis de inmunosupresores de mantenimiento.

2. **Etapa de mantenimiento** en la que se administran dosis más bajas de inmunosupresores con respecto a la etapa de inducción. En ésta fase se trata de encontrar la dosis mínima del inmunosupresor, necesaria para evitar el rechazo (eficacia) y minimizar los eventos adversos (toxicidad). Los fármacos empleados en esta etapa son:

- a) Los esteroides
- b) Los antiproliferativos: azatioprina y micofenolato de mofetilo
- c) Los inhibidores mTor como sirolimus, everolimus y
- d) Los inhibidores de calcineurina como la ciclosporina y el tacrolimus.

3. **Etapa de tratamiento del rechazo** se caracteriza por la utilización de inmunosupresión intensa durante un periodo corto de tiempo con el objetivo de inhibir la activación del sistema inmune una vez que hubo reconocimiento del injerto.

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

Los inhibidores de calcineurina, ciclosporina y tacrolimus, han mostrado ser básicos en el tratamiento tanto de inducción como en el de mantenimiento del trasplante debido a que se ha comprobado gran eficacia como inhibidores de la respuesta inmune, y mejoran la sobrevida del injerto tanto de donante vivo como de donante

fallecido a 80% a 5 años (17), pero la individualización de la dosis es complicada por el estrecho índice terapéutico y la variabilidad inter e intraindividual que presentan. Además, existen factores propios del individuo como el desarrollo orgánico del paciente, la presencia y naturaleza de la enfermedad existente, el género, el estado nutricional, la adherencia al tratamiento y la herencia genética que complican aún más la dosificación (5, 17-20), lo que hace necesario el monitoreo farmacológico constante, para mantener los niveles sanguíneos adecuados.

TACROLIMUS

Química

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

Dosis.

La dosis inicial es de 0.1 a 0.15 mg/Kg/día, administrados en dos dosis al día; con esta dosificación se alcanzan concentraciones estables entre el tercer y cuarto día. El tipo de trasplante, el uso de otros inmunosupresores y el tiempo post-trasplante son factores que determinan los niveles en valle de tacrolimus que se pretenden alcanzar (21). En pacientes con trasplante renal después de una dosis promedio de tacrolimus de 0.16 mg/Kg/d, el ABC fue de 104 ng*h/L mientras que en trasplante hepático el ABC fue de 252 ng*h/L seguido de una dosis promedio de 0.3 mg/Kg/d. Existe correlación entre el ABC y la Cmin posterior a la primera dosis oral de tacrolimus con un valor $r = 0.9$ y en estado estacionario de $r = 0.83$, lo que sugiere que la Cmin de Tac es un buen indicador de la exposición sistémica (8, 23, 27). La dosis terapéutica descrita en el Manual de Prescripción pediátrica. Carol K Teketomo es de 0.2 a 0.3 mg/kg/día dividido en dos dosis, para paciente de trasplante renal.

Farmacocinética.

Distribución.

La distribución de Tac en sangre depende del hematocrito, la concentración de proteínas en el plasma y la concentración del fármaco (23). En sangre tacrolimus se une entre el 72 y 77% a la albúmina, a la glicoproteína α_1 -ácida y a eritrocitos.

El volumen de distribución (Vd) de Tac administrado por vía intravenosa en adultos es de 1 a 1.5 L/Kg, mientras que en niños es de 2.6 a 2.7 L/Kg, lo que indica que en los niños, el Vd es de hasta 1.8 veces más alto que en adultos (8). En pacientes pediátricos, después de una administración oral, se alcanza un Vd de 9 L/Kg (8, 25, 26). La biodisponibilidad depende de la expresión de las isoenzimas CYP3A4, CYP3A5 y la glicoproteína P (P-gp), la función y actividad de estas proteínas varía marcadamente entre individuos y esto ha sido relacionado con la presencia de los polimorfismos presentes en los genes que codifican a CYP3A4, CYP3A5 y a la P-gp (28).

Efectos Adversos y Toxicidad.

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

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

3. ANTECEDENTES.

Subfamilia CYP3A.

El metabolismo de Tac depende de la expresión hepática e intestinal de las enzimas metabolizadoras de fase I de la familia CYP3A quien es la responsable de la biotransformación del 50% de los medicamentos que se utilizan en el área clínica, esta familia presenta cuatro isoenzimas *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* y *CYP3A43*, estas proteínas son el producto de los genes que llevan su mismo nombre, los cuales se encuentran localizados en el cromosoma 7 (33).

El CP3A4 es el de mayor proporción en los microsomas hepáticos, este citocromo al igual que el CYP3A5 metaboliza al tacrolimus. La variante genotípica *CYP3A4*1B* se ha estudiado ampliamente, tiene una mayor actividad enzimática, su posible efecto ha sido discutido, pero no ha sido comprobado en todos los grupos estudiados, probablemente por su baja frecuencia. (34, 35)

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

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

Mac Phee en el 2008 reportó que el 84% de caucásicos, el 49% de asiáticos y el 15% de negros presentaban el genotipo *CYP3A5*3*3*(38), este mismo autor en un estudio realizado en el 2004 relacionó la concentración del tacrolimus en las primeras dos semanas pos-trasplante con el genotipo del gen *CYP3A5* y encontró que los individuos con la variante alélica *CYP3A5*3*3* tuvieron bajos niveles del tacrolimus

comparados con aquellos con genotipo *CYP3A5*1*1* ó *CYP3A5*1*3* (39). Por otro lado, Xie en el mismo año estimó que entre el 10 al 20% de caucásicos, del 40 al 50% de asiáticos, del 60 al 70 % de hispanos y más del 80% de afro-americanos fueron expresores altos para la proteína *CYP3A5* (40).

Los individuos homocigotos para *CYP3A5*3* con trasplante de órgano sólido, alcanzaron concentraciones hasta dos veces más de Tac que los individuos con genotipo *CYP3A5*1* (29, 41-44). Por otro lado, existen evidencias de portadores del genotipo *CYP3A5*3*3* que requieren menores dosis de Tac sugiriendo que el genotipo puede promover información para individualizar la dosis de Tac (29, 45, 46). Se ha reportado altas dosis ajustadas de Tac (C_0 h/dosis, C_2 h/dosis o ABC/dosis) en individuos que expresaban por lo menos un alelo *CYP3A5*1* con respecto a los individuos que presentaban el alelo *CYP3A5*3*.

En un estudio realizado por nuestro grupo en pacientes con trasplante renal que incluyó pacientes mexicanos tanto pediátricos como adultos, se determinó la frecuencia de los genotipos presentes en el gen *CYP3A5*, encontramos que el 52.2% (152 pacientes) mostraron el genotipo no expresor *CYP3A5*3*3* y el 6.2% (18 pacientes) y el 41.6% (121 pacientes) mostraron los genotipos *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* respectivamente, que se consideraron del tipo expresador. En éste mismo estudio reportamos que los pacientes con genotipo *CYP3A5*3*3* tuvieron menores requerimientos en la dosis de tacrolimus al ser comparados con los genotipos *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3*, para alcanzar niveles en valle similares.

Por otro lado, se estudió la relación entre las variantes polimórficas del gen *CYP3A5* y la farmacocinética de tacrolimus en 51 pacientes pediátricos, en este estudio se observó que los niños con genotipo *CYP3A5*3*3* requirieron menor dosis de tacrolimus (0.06 mg/Kg/d) con respecto a los genotipos *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* (0.15 y 0.13 mg/Kg/d). El grupo con genotipo *CYP3A5*3*3* alcanzó mayor C_{max}/D (253.3 ng*mL/mg*Kg*d), $ABC_{0-12 h}$ (1918.6 h*ng*mL/mg*Kg*d) y menor CL (0.133 L/h), mientras que, los grupos con genotipo *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* mostraron una mayor dosis (0.15 y 0.13 mg/Kg/d) una menor C_{max}/D (80.7 y 149.7 ng*mL/mg*Kg/d), menor ABC_{0-12h} (537,3 y 848,7 h*ng*mL/mg*Kg*d) y un mayor aclaramiento (0.527 y 0.374 L/h) respectivamente (47). Los grupos con genotipo *CYP3A5*1*1* y *CYP3A5*1*3* presentaron el 57.1% de rechazos agudos, mientras que el grupo *CYP3A5*3*3* mostró el 27.6% de rechazos (48).

4. PANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente se proporciona una dosis estándar de tacrolimus a todos los pacientes con trasplante renal que se ajusta según los niveles en sangre, una vez que se ha alcanzado el estado estacionario, esto es, niveles terapéuticos de acuerdo a tiempo de evolución del trasplante entre 7 ng/ml a 15 ng/ml, se considera han alcanzado niveles terapéuticos. Algunos pacientes pueden tardar en alcanzar los niveles objetivo más de una semana y otros pueden llegar a tener niveles tóxicos con la misma dosis.

La dosis de tacrolimus requerida para alcanzar niveles terapéuticos depende del tipo de polimorfismo en las enzimas CYP3A5 de los pacientes. No se sabe si el tiempo para alcanzar niveles terapéuticos de éste fármaco también esté relacionado con el polimorfismo, y si el conocer éste dato nos permita evitar rechazo y toxicidad por éste medicamento.

5. PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN:

¿Existe influencia del genotipo CYP3A5 en el tiempo que tarda en alcanzar niveles terapéuticos de tacrolimus, en niños con trasplante renal?

6. JUSTIFICACIÓN

Es importante lograr niveles terapéuticos de tacrolimus para evitar episodios de rechazo y toxicidad en los pacientes de trasplante renal, principalmente en el periodo de mayor inmunosupresión.

Se ha evidenciado que el metabolismo del fármaco depende del genotipo de la enzima CYP3A5, por lo que es importante evaluar si ésta a su vez influye en el tiempo que tarda el paciente en alcanzar niveles. El encontrar una relación en genotipo y tiempo para alcanzar niveles de tacrolimus nos permite identificar a los pacientes pretrasplante para buscar estrategias de intervención que permitan evitar niveles bajos o muy elevados del fármaco y con esto evitar episodios de rechazo y toxicidad.

Éste estudio puede dar lugar a otros estudios como ensayos clínicos que permitan proponer la dosificación de acuerdo a genotipo.

7. OBJETIVO:

Estudiar si el genotipo de tacrolimus influye en el tiempo que tarda el paciente en alcanzar niveles terapéuticos del fármaco.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS.

- Estudiar si la dosis está relacionada con el genotipo y con el tiempo en alcanzar niveles terapéuticos del fármaco.
- Estudiar si los niveles de tacrolimus están relacionados con la mejoría de la tasa de filtración glomerular en el paciente trasplantado.

8. HIPÓTESIS

El genotipo CYP3A5 influye en el tiempo que tarda el paciente trasplantado renal, en alcanzar niveles terapéuticos de tacrolimus.

9. METODOLOGÍA

Se realizó un estudio de de tipo observacional de una Cohorte, prospectivo, longitudinal y analítico,. De pacientes pediátricos en programa de estudio para trasplante renal, en quienes en el post-trasplante recibieron un régimen inmunosupresor con tacrolimus.

Tamaño de la muestra: Se calculó inicialmente un estudio en 55 pacientes que recibirían trasplante renal. El estudio de NAPRTCS (North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study) reporta que la incidencia de rechazo agudo el primera año es de 13% en los injertos de 2007 a 2010, y en nuestra Institución es de 30%.

Al hacer el cálculo del tamaño de muestra empleando una potencia de 80 y un valor alfa de 0.05, obtenemos un tamaño de muestra de 49 individuos.

Se consideró un análisis con 55 sujetos seguidos a un mes (considerando un 10% de pérdidas ya que algunos pacientes no tienen apego terapéutico).

Sin embargo la muestra lograda fue de 28 pacientes, por el tiempo de estudio, lo que invita a continuarlo para completar la muestra calculada inicialmente.

Criterios de Inclusión

1. Pacientes pediátricos, con edad entre 3 a 17 años
2. Ambos géneros
3. Que recibieron inmunosupresión que incluyó formulación con tacrolimus una vez realizado el trasplante.
4. Contar con la firma del padre o tutor del consentimiento informado y asentimiento del paciente (en mayores de 6 años)

Criterios de Exclusión

1. Pacientes a los cuales no se pudo terminar de tomar la suficiente muestra durante el estudio
2. Pacientes en los que no se contó con los datos completos durante el seguimiento.

Criterios de Eliminación

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

Los pacientes que se incluyeron en el estudio fueron:

Pacientes en lista de espera de trasplante, a quienes se les realizó genotipo pre-trasplante de *CYP3A5* clasificándose de acuerdo a genotipo de la siguiente manera:

1. Genotipo *CYP3A5* 1*1* (metabolizador rápido) EXPRESAN
2. Genotipo 1*3 (Heterocigoto) EXPRESAN
3. Genotipo 3*3*. Metabolizador lento. Dosis NO EXPRESAN

De acuerdo a estudio previo realizado en una muestra de 81 pacientes.

Recibieron la dosis de tacrolimus estándar al momento del trasplante.

El tacrolimus se da a una dosis de 0.10 mg/kg día dividido en dos dosis ajustando la dosis para alcanzar niveles terapéuticos (7 a 15 ng/mL)

Se determinaron niveles sanguíneos de tacrolimus semanalmente y se reportaron los niveles, dosis, creatinina y tasa de filtración glomerular a la semana y al mes post-trasplante.

Se registró el tiempo necesario para alcanzar niveles terapéuticos de los fármacos estudiados.

De los expedientes clínicos se tomaron los datos demográficos, género, peso, talla, edad, fuente del injerto, esto es si se trató de donador vivo o cadavérico.

Para el cálculo de la Tasa de Filtración Glomerular se realizó mediante fórmula de Schwartz con los siguientes criterios:

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

Metodología para la Genotipificación.

Recolección de muestras sanguíneas

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

Primers

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

Purificación de los productos de PCR

Los productos resultantes de la amplificación por PCR, fueron tratados con ExoSAP-IT[®] (USB[®]) para eliminar el exceso de dATP, dCTP, dGTP y dTTP residual.

Reacción de Secuenciación

Los productos de PCR purificados de cada exón de los genes *CYP3A5* y *UTG1A9*, fueron secuenciados en un analizador genético de capilar ABI Prism[®] 310 (Applied Biosystems[®]), se usó el kit Big Dye[®] Terminator v3.1 para llevar a cabo la reacción de secuenciación. Se analizaron las secuencias mediante un análisis de alineamiento con el software DNAMAN[®] (Lynnon BioSoft[®]).

Consideraciones Éticas.

El proyecto se apega a las recomendaciones internacionales para Investigación en seres humanos (Declaración de Helsinki), y el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.

<http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/nom/compi/rlgsmis.html>.

Por los procedimientos a los que se sometieron los pacientes, se consideró de riesgo mínimo; a los pacientes se les tomaron 3 mL de sangre para hacer la determinación de las variantes polimórficas de los genes *CYP3A5*.

Recursos Materiales.

El proyecto se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo, el cual cuenta con la infraestructura para la total realización del proyecto.

Consideraciones de Bioseguridad.

Para la manipulación tanto del material biológico como de los reactivos que se emplearon durante el desarrollo del proyecto fué 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 se contuvieron 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 sólo recipiente rojo destinado para ese fin. Cada contenedor se encontró debidamente etiquetado. En cuanto al otro tipo de desechos no biológicos empleados para el trabajo de laboratorio; se depositaron en un recipiente destinado a este tipo de productos.

Financiamiento del Estudio.

Para la realización del estudio, se contó con apoyo de Fondos Federales.

10. PLAN DE ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

Se realizó estadística descriptiva, expresando los datos como promedio y desviación estándar para variables con distribución normal y medianas para variables con libre distribución.

El tiempo requerido para alcanzar niveles objetivo de tacrolimus se comparó en ambos grupos expresadores y no expresadores con U de Mann Whitney
Se consideró una p menor a 0.05 como estadísticamente significativa.

11. DESCRIPCIÓN DE VARIABLES.

Variable predictora: Genotipo CYP3A5

Variable de desenlace: Niveles de Tacrolimus en sangre a la semana y mes post-trasplante renal.

NIVEL METODOLÓGICO	DEFINICIÓN CONCEPTUAL	DEFINICIÓN OPERACIONAL	TIPO DE DATO	ESCALA DE MEDICIÓN
INDEPENDIENTE	Genotipo CYP3A5	Se realizará estudio genético para determinar polimorfismos de Citocromo P450 CYP3A5. Se Clasificarán de acuerdo a metabolismo de tacrolimus en: 1*1 rápidos, 1*3 heterocigotos, 3*3 lentos. Acorde a genotipo se asignará la dosis de tacrolimus.	Cualitativa Ordinal	Polimorfismos: 1*1*, 1*3*, 3*3*
DEPENDIENTE	Niveles de Tacrolimus	Serán medidos en el laboratorio del Hospital dentro de la rutina del servicio, en unidades de ng/L, se espera éstos se encuentren en un rango de 8 a 10 ng/L en los primeros 3 meses post- trasplante, de 7 a 9 ng/L del mes 3 a 6, de 5 a 7 ng/L después de los 6 meses hasta el año, de 3 a 5 ng/L hasta el año.	Cuantitativa Continua	De 0 a 20 ng/L en sangre.
CONFUSORA	Marca de Medicamento	Se realizará registro por los pacientes en libretas, anotando la marca del medicamento que se administró, la fecha de inicio y síntomas asociados a los mismos.	Cualitativa nominal policotómica	Prograf Pisa Limustin Octeotrin

12. RESULTADOS

Se obtuvo una muestra de 28 pacientes homogénea en la cual reportamos 14 pacientes que expresan y 14 pacientes que no expresan, teniendo la misma cantidad de masculinos que expresan y no expresan con media de 1.0 y DE de 0.49, en ambos grupos.

En la Tabla. 1 se muestran los datos demográficos:

GENERO (n 28)	
Femenino	10 (35.7%)
Masculino	18 (64.3%)
FUENTE DEL INJERTO (n 28)	
Donador Vivo	10 (35.7%)
Donador Cadavérico	18 (64.3%)
DX DE ENFERMEDAD RENAL (n 28)	
Indeterminado	11 (39.3%)
Uropatía	9 (32.1%)
Síndrome Nefrótico	2 (7.1%)
Púrpura de Henoch Shonlein	1 (3.6%)
Lupus Eritematoso Sistémico	4 (14.3%)
Nefritis Túbulointersticial	1 (3.6%)
DX: Diagnóstico; n: número de pacientes	

Existió una frecuencia mayor del género masculino que del femenino. En cuanto a la fuente del injerto fue más frecuente la donación de cadavérico de de vivo. Y respecto a la causa de uremia la más frecuente fue indeterminada seguida de uropatía, y posteriormente de Lupus Eritematoso Sistémico.

Todos los pacientes fueron manejados con Tacrolimus, Micofenolato y Prednisona. Recibiendo pretrasplante inducción con Baxiliximab y Metilprednisolona, así como Cefalotina.

A la semana post-trasplante el 71.4% (10 pacientes) de los que no expresan (*3*3 metabolizadores lentos) habían alcanzado niveles terapéuticos del fármaco. Lo pacientes que expresan (*1*1, *1*3 metabolizador rápido y heterocigoto respectivamente) únicamente el 21.4% (3 pacientes), habían alcanzado niveles terapéuticos a la semana.

Al mes post-trasplante el 85.7% (12 pacientes) de los que no expresan (*3*3 metabolizadores lentos) habían alcanzado niveles terapéuticos del fármaco. Lo pacientes que expresan (*1*1, *1*3 metabolizador rápido y heterocigoto respectivamente) únicamente el 42.8% (6 pacientes), habían alcanzado niveles terapéuticos al mes.

Todos reajustándose dosis de acuerdo a niveles.

Tabla 2. Relación de Genotipo con Niveles de tacrolimus a una semana y un mes del trasplante renal.

	NIVELES Semana 1	NIVELES Mes 1
Expresan (CYP3A5 *1*1, *1*3) (media) (DE)	3.0 (9.34)	6.45 (2.69)
No Expresan	10.05	9.15

(CYP3A5 *3*3) (media) (DE)	(5.40)	(3.68)
p	0.009	0.027

U de Mann-Whitney; DE: Desviación Estándar.
Para una $p < 0.05$ estadísticamente significativo.

En cuanto a la dosis ponderal de tacrolimus administrada a la semana post trasplante, la más frecuente administrada para el grupo de no expresadores fue de 0.7 a 0.14 mg/k/día. Mientras que en el grupo de expresadores 0.10 a 0.18 mg/k/día. La dosis ponderal de tacrolimus requerida al mes post trasplante, para mantener niveles la más frecuente administrada para el grupo de no expresadores fue de 0.03 a 0.19 mg/k/día. Mientras que en el grupo de expresadores 0.08 a 0.25 mg/k/día.

Tabla 3. Relación de Genotipo con Dosis de tacrolimus a una semana y un mes del trasplante renal.

	DOSIS Semana 1	DOSIS Mes 1
Expresan (CYP3A5 *1*1, *1*3) (media) (DE)	0.13 (0.028)	0.18 (0.055)
No Expresan (CYP3A5 *3*3) (media) (DE)	0.095 (0.216)	0.085 (0.051)
p	0.064	0.001

U de Mann-Whitney; DE: Desviación Estándar.
Para una $p < 0.05$ estadísticamente significativo.

Tabla 4. Relación de Genotipo con Tasa de Filtración Glomerular a una semana y un mes del trasplante renal.

	TFG Semana 1 (ml/min/1.73)	TFG Mes 1 (ml/min/1.73)
Expresan (CYP3A5 *1*1, *1*3) (media) (DE)	94 (25.7)	95 (24)
No Expresan (CYP3A5 *3*3) (media) (DE)	90 (29)	90 (23)

p	0.512	0.872

U de Mann-Whitney; DE: Desviación Estándar. TFG: Tasa de Filtración Glomerular
Para una $p < 0.05$ estadísticamente significativo.

No se encontró diferencia significativa en cuanto a la Tasa de filtración Glomerular a la semana y al mes con respecto al genotipo.

Tabla 5. Relación de Genotipo con Creatinina Sérica a una semana y un mes del trasplante renal.

	Cr Semana 1 (mg/dL)	Cr Mes 1(mg/dL)
Expresan (CYP3A5 *1*1, *1*3) (media) (DE)	0.8 (0.67)	0.9 (0.53)
No Expresan (CYP3A5 *3*3) (media) (DE)	0.8 (0.32)	1.0 (0.42)
p	0.378	0.104

U de Mann-Whitney; DE: Desviación Estándar. Cr: Creatinina Sérica
Para una $p < 0.05$ estadísticamente significativo.

No se encontraron diferencias significativas respecto a la creatinina sérica entre ambos grupos a la semana y al mes.

Análisis de Resultados.

Los pacientes que cuenta con genotipo que NO Expresa esto es acetiladores lentos con polimorfismo *3*3, alcanzan niveles de forma más rápida que los pacientes que expresan ya que un buen porcentaje a la semana y mes del trasplante que presentaron niveles **óptimos de tacrolimus en un 71.4% y 85.7%**

Los pacientes que cuenta con genotipo que Expresa esto es acetiladores rápidos con polimorfismo *1*1 y heterocigotos con polimorfismo *1*3 con polimorfismo *3*3,

alcanzan niveles de forma menos rápida que los pacientes que expresan ya que el porcentaje a la semana y mes del trasplante que presentaron niveles **óptimo de tacrolimus en un 21.4% y 42.8%** de la muestra evaluada.

El análisis una p significativa de 0.009 y 0.027, lo que nos habla de confiabilidad de los resultados.

En cuanto a la dosis de tacrolimus de acuerdo a genotipo los no expresadores requirieron dosis más bajas del fármaco a la semana del trasplante 0.7 a 0.14 mg/k/día. Mientras que los expresadores expresadores requirieron dosis más altas en comparación de 0.10 a 0.18 mg/k/día.

De igual forma al mes de trasplante el grupo de no expresadores requirió dosis menores de tacrolimus con un rango entre 0.03 a 0.19 mg/k/día. Mientras que en el grupo de expresadores requirieron dosis más alta de 0.08 a 0.25 mg/k/día.

13. DISCUSIÓN.

En un estudio realizado a 241 pacientes con Tacrolimus durante el primer año post trasplante renal se realizó genotipificación para: CYP3A5*3, CYP3A4*22, CYP3A4*1B, Y ABCB1; obteniéndose como resultado que los pacientes que expresaban CYP3A5 ameritaban significativamente dosis mayores de tacrolimus. Se concluye que el impacto del alelo CYP3A4*22 en la farmacocinética de tacrolimus como segundo factor genético significativo sumado al alelo CYP3A5*1 influye en las concentraciones sanguíneas para el ajuste de dosis de pacientes con trasplante renal. (57) Lo que coincide con nuestro estudio ya que los pacientes que expresan esto es con polimorfismo CYP3A5 *1*1 y *1*3 ameritaron dosis mayores para alcanzar niveles del fármaco a un mes post trasplante y de hecho no alcanzaron niveles a la primera semana post trasplante más que un pequeño porcentaje.

Estudio realizado por Lina et al, en 2008, a 136 pacientes en París donde se correlacionó el polimorfismo CYP3A5 con la dosis diaria requerida de tacrolimus. Se realizó seguimiento a la semana 6 meses y 12 meses posterior al trasplante. Obteniéndose como resultados que los polimorfismos CYP3A5*1/*1 requerían una dosis mayor de tacrolimus, comparada con en genotipo CYP3A5*3/*3 que requirió dosis menores. Los resultados prevalecieron constantes a lo largo del seguimiento a 6 y 12 meses. (41) Éste estudio correlacione fuertemente con nuestra investigación y que identifican los mismo polimorfismos, los cuales se comportar de igual manera que en los encontrados en nuestra población requiriendo dosis mayores del fármaco para alcanzar niveles por lo que el genotipo ésta estrechamente relacionado con los niveles del fármaco y la dosificación.

Laure Elens et al, realizaron un estudio a 99 pacientes, 49 con tratamiento de tacrolimus y 50 con ciclosporina, ambos calcineurínicos, para determinar la influencia de las variantes alélicas de los polimorfismos CYP3A5 Y CYP3A4 en las concentraciones de ambos fármacos. Observando que las variantes intrónicas 6 C>T

para CYP3A4 y el alelo CYP3A5*3, ameritaron de 1.6 a 2.0 veces más de la dosis convencional de ambos fármacos, especialmente tacrolimus. Concluyendo que dichos polimorfismos están asociados a alteraciones en el metabolismo de ciclosporina y tacrolimus. Por lo que sugieren la realización de genotipificación de los pacientes pretrasplante para ajustar dosis de acuerdo a genotipo y disminuir riesgo de nefrotoxicidad. (58)

Es importante contar con una inmunosupresión adecuada al inicio del trasplante ya que esto ayuda al “fenómeno de acomodamiento” del injerto. Una exposición de antígenos por pobre inmunosupresión podría tener como consecuencia la generación de clonas que en un futuro desencadenarán rechazo. El tener un episodio de rechazo, aunque la creatinina se logró bajar con el arsenal terapéutico actual, es un factor de riesgo para el desarrollo de nefropatía crónica y de pérdida de función a largo plazo. Se debe considerar que es la nefropatía crónica la principal causa de pérdida del injerto renal y no así el rechazo agudo.

14. CONCLUSIONES

- La proporción de pacientes que expresan o no la enzima es similar a lo reportado previamente en población mexicana.
- Únicamente 42% de los pacientes que expresan *CYP3A5* tienen los niveles de tacrolimus en el rango terapéutico, lo cual contrasta con el 82% de los que si expresan ésta enzima.
- Se requiere prolongar el seguimiento para determinar si los pacientes que no alcanzaron niveles terapéuticos al mes presentan mayor número de rechazos al injerto el primer año del trasplante y menor supervivencia del injerto renal.

16. REFERENCIAS

1. Schwartz GJ, Furth SL. Glomerular filtration rate measurement and estimation in chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007;22:1839-48.
2. K/DOQI N. Clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, clasification and stratification. *am J Kidney Dis* 2002;(suppl 1):S1-S266.
3. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004;351:1296-305.
4. Remuzzi G, Benigni A, Remuzzi A. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes. *J Clin Invest* 2006;2:288-96.
5. Kearns GL, Abdel-Rahman SM, Alander SW, Blowey DL, Leeder JS, Kauffman RE. Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med* 2003;349:1157-67.
6. Medeiros-Domingo M, al. e. Renal transplantation in children. *Rev Invest Clin* 2005;2.
7. Medeiros-Domingo M, Romero-Navarro B, Valverde-Rosas S, Delgadillo R, Varela-Fascinetto G, Munoz-Arizpe R. [Renal transplantation in children]. *Rev Invest Clin* 2005;57:230-6.
8. Wallemacq PE, Verbeeck RK. Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients. *Clin Pharmacokinet* 2001;40:283-95.
9. RN F. Renal transplantation for children the only realistic choice. *Kydney INT* 1985;28:5-15.
10. Najarian JS, Almond PS, Gilliam KJ, Mauer M ea. Renal transplantation first five years of life. *Kidney Int* 1993;44:40-44.
11. Tejani A, K S. Long-term follow-up of grow in children post-transplantation. *Kidney Int* 1993;44:56-58.
12. RN F. Renal transplantation for children the only realistic choice. *Kidney INT* 1985;28:5-15
13. Danovitch G. *Trasplante Renal: Marbán libros*, 2002.
14. Abbas A, LAH. *Inmunología Celular y Molecular*, 2004.
15. Tejani A, K. S. Long-term follow-up of grow in children post-transplantation. *kidney Int* 1993;44:56-58.
16. Friis-Hansen B. Body water compartments in children: changes during growth and related changes in body composition. *Pediatrics* 1961;28:169-81.
17. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004;351:2715-29.
18. Alexopoulos E, Papagianni A, Tsamelashvili M, Leontsini M, Memmos D. Induction and long-term treatment with cyclosporine in membranous nephropathy with the nephrotic syndrome. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:3127-32.
20. Balistreri WF, Heubi JE, Suchy FJ. Bile acid metabolism: relationship of bile acid malabsorption and diarrhea. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1983;2:105-21.
21. Alberu J, Urrea EM. [Immunosuppression for kidney transplant recipients: current strategies]. *Rev Invest Clin* 2005;57:213-24.
22. Reyes-Pérez H, Medeiros-Domingo M. Uso de tacrolimus en pediatría. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2006;63:276-85.

23. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995;29:404-30.
24. Scott LJ, McKeage K, Keam SJ, Plosker GL. Tacrolimus: a further update of its use in the management of organ transplantation. *Drugs* 2003;63:1247-97.
25. Machida M, Takahara S, Ishibashi M, Hayashi M, Sekihara T, Yamanaka H. Effect of temperature and hematocrit on plasma concentration of FK 506. *Transplant Proc* 1991;23:2753-4.
26. Piekoszewski W, Jusko WJ. Plasma protein binding of tacrolimus in humans. *J Pharm Sci* 1993;82:340-1.
27. Hesselink D, van Gelder T, van Schaik R. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: one step closer toward individualized immunosuppression? *Pharmacogenomics* 2005;6:323-37.
28. Zahir H, McLachlan AJ, Nelson A, McCaughan G, Gleeson M, Akhlaghi F. Population pharmacokinetic estimation of tacrolimus apparent clearance in adult liver transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2005;27:422-30.
29. Hesselink DA, van Gelder T, van Schaik RH. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: one step closer toward individualized immunosuppression? *Pharmacogenomics* 2005;6:323-37.
30. Reyes H, M. M. Tacrolimus en Pediatría. *Bol Med Hosp Infant Mex* 2006;63:276-85.
31. Hollenberg SM, Klein LW, Parrillo JE, et al. Coronary endothelial dysfunction after heart transplantation predicts allograft vasculopathy and cardiac death. *Circulation* 2001;104:3091-6.
32. Christians U, Braun F, Schidt M KN, et al. Specific and Sensitive measurement of FK506 and its metabolites in blood and urine of liver-graft recipients. *Clin Chemist* 1992;38.
33. Eichelbaum M, Burk O. CYP3A genetics in drug metabolism. *Nat Med* 2001;7:285-7.
34. Reyes-Hernandez OD, Arteaga-Illan G, Elizondo G. Detection of CYP3A4*1B and CYP3A4*2 polymorphisms by RFLP. Distribution frequencies in a Mexican population. *Clin Genet* 2004;66:166-8.
35. Reyes-Hernandez OD, Lares-Asseff I, Sosa-Macias M, Vega L, Albores A, Elizondo G. A comparative study of CYP3A4 polymorphisms in Mexican Amerindian and Mestizo populations. *Pharmacology* 2008;81:97-103.
36. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001;27:383-91.
37. Staatz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet*;49:141-75.
38. MacPhee IA, Holt DW. A pharmacogenetic strategy for immunosuppression based on the CYP3A5 genotype. *Transplantation* 2008;85:163-5.
39. MacPhee IA, Fredericks S, Tai T, et al. The influence of pharmacogenetics on the time to achieve target tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:914-9.
40. Xie HG, Wood AJ, Kim RB, Stein CM, Wilkinson GR. Genetic variability in CYP3A5 and its possible consequences. *Pharmacogenomics* 2004;5:243-72.

41. Thervet E, Anglicheau D, King B, et al. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation* 2003;76:1233-5.
42. Zheng H, Zeevi A, Schuetz E, et al. Tacrolimus dosing in adult lung transplant patients is related to cytochrome P4503A5 gene polymorphism. *J Clin Pharmacol* 2004;44:135-40.
43. Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2004;78:1182-7.
44. Macphee IA, Fredericks S, Mohamed M, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: the CYP3A5*1 allele predicts low dose-normalized tacrolimus blood concentrations in whites and South Asians. *Transplantation* 2005;79:499-502.
45. Anglicheau D, Verstuyft C, Laurent-Puig P, et al. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1889-96.
46. Kreutz R, Zurcher H, Kain S, Martus P, Offermann G, Beige J. The effect of variable CYP3A5 expression on cyclosporine dosing, blood pressure and long-term graft survival in renal transplant patients. *Pharmacogenetics* 2004;14:665-71.
47. Garcia-Roca P, Medeiros M, Reyes H, et al. CYP3A5 polymorphism in Mexican renal transplant recipients and its association with tacrolimus dosing. *Arch Med Res* 2012;43:283-7.
48. García-Roca MIP. CORRELACIÓN DEL GENOTIPO MDR1(ABCB1) Y CYP3A5 CON EL PERFIL FARMACOCINÉTICO DEL TACROLIMUS EN NIÑOS CON TRASPLANTE RENAL. México, OF: CINVESTAV PIN/Hospital Infantil de México Federico Gómez, 2013:1-102.
49. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant* 2006;6:1111-31.
50. 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.
51. 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.
52. 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.
53. Burckart GJ, Armour S. Update on the clinical Pharmacogenomics of organ transplantation. *Pharmacogenomics*. Febrero 2010.
54. Schoeppler KE, Aquilante CL, Kiser TH, Fish DN, Zamora MR. The impact of genetic polymorphisms, diltiazem, and demographic variables on everolimus trough concentrations in lung transplant recipients. *Clin Transplant*. 2014 Mar 13.
55. Almoguera B, Shaked A, Keating BJ. Transplantation genetics: current status and prospects. *Am J Transplant*. 2014 Apr 14.

56. Cusinato DA, Lacchini R, Romao EA, Moysés-Neto M, Coelho EB. Relationship of CYP3a5 Genotype and Abcb1 Diplotype to Tacrolimus disposition in Brazilian Kidney Transplant Patients. *Br J Clin Pharmacol*, 2014 Feb 17.
57. Kurzawski M, Dabrowska J, Dziewanowski K, Domanski L, Peruzynska M, Drozdik M. CYP3A5 and CYP3A4, but not ABCB1 polymorphisms affect tacrolimus dose-adjusted trough concentrations in kidney transplant recipients. *Pharmacogenomics*. 2014 Feb 15.
58. Laure Elens, Ron H van Schaik, Nadtha Panin, Martine de Meyer, Pierre Wallemacq, Dominique Lison, Michel Mourad Effect of a new functional CYP3A4 polymorphism on calcineurin inhibitors' dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. Reserch article. *Pharmacogenomics*, October 2011, Vol. 12, No. 10, Pages 1383-1396 , DOI 10.2217/pgs.11.90 (doi:10.2217/pgs.11.90).

17. LIMITACIÓN DEL ESTUDIO.

Por tratarse de un estudio de Cohorte prospectivo, implica una mayor inversión de recursos para la realización del mismo, la limitante inicial sería económica.

A la planeación de éste estudio por factibilidad se programó un seguimiento corto, sin embargo para hacerlo más significativo valdría la pena un seguimiento a mayor plazo lo que implicaría probable pérdida de pacientes durante el seguimiento así como presencia de mal apego a la terapéutica, mismo que sería complejo de monitorizar y podría generar sesgos a la investigación.

18. ANEXOS

HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título del estudio: **TIEMPO EN ALCANZAR NIVELES TERAPÉUTICOS DE TACROLIMUS POS-TRASPLANTE RENAL EN NIÑOS SEGÚN GENOTIPO DE CYP3A5. SEGUIMIENTO A UN MES.**

Introducción

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

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

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

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

Finalidad del estudio

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

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

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

Procedimiento del estudio.

Si usted acepta que su hijo participe en este estudio solamente se le puncionará una vena del brazo, para obtener el ADN de su hijo con el cual se hará el estudio genético de las enzimas encargadas de metabolizar y eliminar el tacrolimus. Se tomará un volumen total de 3 mL de sangre. Los resultados se proporcionarán al médico tratante.

Riesgo y molestias

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

Beneficios

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

Procedimientos alternativos y costos

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

Accesibilidad de los investigadores y confidencialidad

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

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

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

Normas acerca de las lesiones relacionadas con la investigación

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

Problemas o preguntas

Si surgiera alguna duda o inquietud sobre los procedimientos del estudio o la participación de su hijo(a) por favor póngase en contacto con la Dra Mara Medeiros Domingo o la Dra María Inés del Pilar García Roca en el Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo Mineral Óseo, en el 3er piso del edificio Arturo Mundet del Hospital Infantil de México Federico Gómez, o comuníquese al teléfono 5228-9917 extensión 4410 ó con la Dra Ana Catalina Alvarez Elías en el 4º piso del edificio Federico Gómez en la extensión 2114.

Documento de consentimiento

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

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

Nombre y firma del niño(a) _____ Edad _____
Fecha _____ No. de Registro _____

Nombre y firma de madre, padre o tutor o responsable

Testigo 1

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

Testigo 2

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

Nombre de los investigadores con quienes puede referirse el familiar en caso de duda: Dra Mara Medeiros Domingo y/o Dra María Inés del Pilar García Roca. Departamento de Nefrología en el Hospital Infantil de México Federico Gómez. Tel 5228-9917 ext 4410. Dra. Ana Catalina Alvarez Elías. 4º Piso Edificio Federico Gómez. Ext. 2114.

Firma de el o los investigadores responsables _____

**HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGÍA**

CARTA DE ASENTIMIENTO

Título del estudio: **TIEMPO EN ALCANZAR NIVELES TERAPÉUTICOS DE TACROLIMUS POS-TRASPLANTE RENAL EN NIÑOS SEGÚN GENOTIPO DE CYP3A5. SEGUIMIENTO A UN MES.**

INTRODUCCIÓN

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

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

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

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

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

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

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

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

_____ Si quiero entrar al estudio.

_____ No, no quiero entrar al estudio.

Nombre del niño _____.

Edad en años _____ Registro _____ Fecha _____

Declaración de los padres o Guardián:

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

Nombre del padre o guardián _____

Firma _____ Fecha _____

Relación con el paciente _____

Dirección y telefono _____

Testigo 1

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____

Testigo 2

Nombre _____

Dirección _____

Relación con el paciente _____

Firma _____