



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO
FACULTAD DE MEDICINA

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD MEDICA DE ALTA ESPECIALIDAD
HOSPITAL DE PEDIATRÍA
CENTRO MEDICO NACIONAL DE OCCIDENTE

Título: Análisis de la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus

Tesis que se presenta para optar el grado de especialista en
Nefrología Pediátrica

PRESENTA:

Residente Dra. Diana Marisela Bonilla Ruvalcaba

Matrícula: 991443492

Médico Residente de Nefrología Pediátrica

Correo: diana_10mbr@hotmail.com Teléfono: 3318211827

INVESTIGADOR RESPONSABLE:

Dra. Santa Ramírez Godínez

Matrícula: 8470723

Jefa del servicio de Nefrología Pediátrica de la UMAE Hospital de Pediatría CMNO

Correo electrónico: santa.ramirez@imss.gob.mx Teléfono: 3331713613

Domicilio: Av. Belisario Domínguez No. 735 Col. Independencia, CP 44340

21 octubre 2019. Guadalajara, Jalisco, México



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.

ALUMNO

Tesista: Dra. Diana Marisela Bonilla Ruvalcaba

Residente de segundo año de la Subespecialidad de Nefrología Pediátrica.

UMAЕ Hospital de Pediatría. CMNO del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Av. Belisario Domínguez No. 735 Col. Independencia.

CP 44340, Guadalajara, Jalisco.

Matrícula: 991443492

Teléfono: 3318211827 Correo electrónico: diana_10mbr@hotmail.com

INVESTIGADOR RESPONSABLE

Director de Tesis: Dra. Santa Ramírez Godínez

Médico Especialista en Nefrología Pediátrica, Diálisis y Trasplante Pediátrico.

Jefe del Servicio de Nefrología Pediátrica.

Av. Belisario Domínguez No. 735 Col. Independencia.

CP 44340, Guadalajara, Jalisco.

UMAЕ Hospital de Pediatría, CMNO del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Matrícula: 8470723

Teléfono: 3331713613 Correo electrónico: santa.ramirez@imss.gob.mx

INVESTIGADOR ASOCIADO

Asesor Metodológico: Dra. Elvira Torres Infante

Médico Especialista en Nefrología Pediátrica, Diálisis y Trasplante Pediátrico.

Maestra en Ciencias Médicas.

UMAЕ Hospital de Pediatría, CMNO, del Instituto Mexicano del Seguro Social.

Av. Belisario Domínguez No. 735 Col. Independencia

CP 44340, Guadalajara, Jalisco.

Matrícula: 9823239

Teléfono: 339683370 Correo electrónico: torinel68@hotmail.com

INVESTIGADOR ASOCIADO

Asesor: Dra. Caridad Áurea Leal Cortés

División de investigación quirúrgica

Centro de Investigación Biomédica de Occidente

Instituto Mexicano del Seguro Social

Dirección: Sierra Mojada 800, Col. Independencia.

CP 44340, Guadalajara, Jalisco.

Matrícula: 9298223

Teléfono: 36177385 Correo electrónico: lealc36@yahoo.com

INDICE

| | |
|---|-----------|
| INDICE DE ABREVIATURAS | 7 |
| 1 RESUMEN..... | 9 |
| 2 MARCO TEÓRICO..... | 13 |
| 2.1 Enfermedad renal crónica | 13 |
| 2.2 Tratamiento sustitutivo renal | 16 |
| 2.2.1 Trasplante renal como terapia de sustitución renal..... | 17 |
| 2.2.1.1 Receptor infantil de trasplante renal..... | 18 |
| 2.2.1.2 Tratamiento inmunosupresor en el trasplante renal..... | 20 |
| 2.2.1.2.1 Glucocorticoides | 21 |
| 2.2.1.2.2 Inhibidores de síntesis de purinas | 22 |
| 2.2.1.2.3 Inhibidores de calcineurina | 22 |
| 2.2.1.2.4 Inhibidores de mTOR..... | 22 |
| 2.3 Tacrolimus | 22 |
| 2.3.1 Tacrolimus en trasplante renal..... | 22 |
| 2.3.2 Mecanismo de acción..... | 25 |
| 2.3.3 Absorción | 27 |
| 2.3.4 Distribución | 28 |
| 2.3.5 Metabolismo y eliminación | 29 |
| 2.3.6 Farmacogenómica de tacrolimus..... | 30 |
| 2.3.6.1 Gen CYP3A5 y su polimorfismo..... | 32 |
| 2.3.6.2 Gen CYP3A4 y su polimorfismo..... | 34 |
| 2.3.7 Dosificación y monitorización del tratamiento con tacrolimus..... | 36 |
| 2.3.8 Nefrotoxicidad por tacrolimus, alteraciones clínicas y bioquímicas.. | 37 |
| 2.3.8.1 Nefrotoxicidad | 37 |
| 2.3.8.2 Hipertensión | 39 |
| 2.3.8.3 Neurotoxicidad | 40 |

| | |
|---|-----------|
| 2.3.8.3 Anomalías metabólicas | 41 |
| 2.3.8.4 Infecciones | 41 |
| 2.3.8.5 Riesgo de malignidad | 41 |
| 2.4 Antecedentes | 42 |
| 3 JUSTIFICACIÓN | 45 |
| 4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA..... | 49 |
| 5 OBJETIVOS | 52 |
| 5.1 Objetivo general | 52 |
| 5.2 Objetivos específicos..... | 52 |
| 6 HIPÓTESIS | 53 |
| 7 MATERIAL Y MÉTODOS | 53 |
| 7.1 Tipo de diseño del estudio | 53 |
| 7.2 Universo de estudio | 53 |
| 7.3 Tamaño de Muestra..... | 53 |
| 7.3.1 Muestreo | 54 |
| 7.4 Forma de selección o asignación de los sujetos de estudio a los grupos de estudio..... | 54 |
| 7.5 Criterios de selección | 54 |
| 7.5.1 Criterios de Inclusión | 54 |
| 7.5.2 Criterios de Exclusión | 55 |
| 7.5.3 Eliminación..... | 55 |
| 7.6 Temporalidad | 55 |
| 7.7 Variables..... | 55 |
| 7.7.1 Definición de las variables..... | 56 |
| 7.7.1.1 Variantes polimórficas de CYP3A4 Y CYP3A5 | 56 |

| | |
|--|-----------|
| 7.7.1.2 Concentración de tacrolimus | 56 |
| 7.7.2 Operacionalización de las variables | 58 |
| 7.8 Desarrollo de procedimientos | 61 |
| 7.8.1 Paso 1: Selección de muestras | 62 |
| 7.8.2 Paso 2: Obtención de los datos | 63 |
| 7.8.3 Paso 3: Genotipificación | 63 |
| 7.9 Procesamiento de datos y análisis estadístico | 64 |
| 8 ASPECTOS ÉTICOS | 65 |
| 9 RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD | 70 |
| 10 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES | 72 |
| 11 RESULTADOS | 74 |
| 11.1 Descripción comparativa | 78 |
| 12 DISCUSIÓN | 79 |
| 13 CONCLUSIONES | 82 |
| 14 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 84 |
| 15 ANEXOS | 98 |
| 15.1 Anexo 1 Hoja de recolección de datos | 98 |
| 15.2 Anexo 2 Consentimiento informado y asentimiento informado | 100 |
| 15.3 Anexo 3 Carta de Confidencialidad | 107 |
| 15.4 Anexo 4 Medicamentos que interfieren con el metabolismo de inhibidores de calcineurina | 108 |
| 15.5 Anexo 5 Encuesta de apego a tratamiento | 109 |
| 15.6 Anexo 6 Valores séricos de referencia | 110 |

INDICE DE ABREVIATURAS

| | |
|----------------------|--|
| A | Adenina |
| ABCB1 | Del inglés ATP Binding cassette subfamily B member 1 |
| AINES | Antiinflamatorio no esteroideo |
| ALANEPE | Archivos latinoamericanos de Nefrología Pediátrica |
| Anti-IL2 | Anticuerpo contra interleucina 2 |
| Anti-TGF-beta | Anticuerpo contra TGF-beta |
| ATG | Anticuerpo antilinfocito policlonal |
| ATP | Del inglés Adenosine Triphosphate |
| C0 | Nivel de tacrolimus a las 12 horas de la ingesta |
| C2 | Nivel de tacrolimus a las 2 horas de la ingesta |
| CMNO | Centro Médico Nacional de Occidente |
| CMV | Citomegalovirus |
| CsA | Ciclosporina |
| CYP3A4 | Del inglés Cytochrome P450, family 3, subfamily A, member 4 |
| CYP3A5 | Del inglés Cytochrome P450, family 3, subfamily A, member 5 |
| Da | Dalton |
| DNA | Del inglés Desoxirribonucleic Acid |
| EC-MFA | Micofenolato sódico con capa entérica |
| EDTA | Del inglés Food and Drugs Administration |
| ERA-EDTA | Del inglés European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association |
| ERC | Enfermedad renal crónica |
| ERCT | Enfermedad renal crónica terminal |
| EUA | Del inglés FK Binding protein 12 |
| FDA | Del inglés Food and Drugs Administration |
| FKBP-12 | Del inglés FK Binding protein 12 |
| G | Guanina |
| GEFS | Glomeruloesclerosis focal y segmentaria |

| | |
|------------------|--|
| IC | Inhibidores de calcineurina |
| MDR-1 | Del inglés, Multidrug Resistance Protein 1 |
| MMF | Acido micofenólico |
| mTOR | Del inglés mammalian Target of Rapamicyn |
| NAPRTCS | Del inglés The North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies |
| NF-AT | Del inglés Nuclear Factor of Activated T-cells |
| OPTN | Del inglés Organ Procurement trasplant Network |
| P-gp | Glicoproteína-p |
| PMP | Personas por millón de personas |
| SLANH | Sociedad Latinoamericana de Nefrología e Hipertensión |
| SNP | Del inglés Single nucleotid Polimorfism |
| SNPs | Polimorfismos de un solo nucleótido |
| TGFB | Factor de crecimiento transformante beta |
| OPTN/SRTR | Del inglés Organ Procurement trasplant Network/Scientific Registry of Trasplant Recipients |
| USRDS | Del inglés United States Renal Disease Survey |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|-----------------------|----|
| Figura 1 | 26 |
| Figura 2 | 27 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|----------------------|----|
| Tabla 1 | 56 |
| Tabla 2 | 58 |
| Tabla 3 | 63 |
| Tabla 4 | 65 |
| Tabla 5 | 72 |

1 RESUMEN

Análisis de la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus

Antecedentes: La enfermedad renal crónica es un problema de salud pública ya que la incidencia de ERC estadio 5 en niños a nivel mundial es de aproximadamente de 1 a 3 niños por un millón de la población con evidencia importante de su incremento. No existe evidencia de la ERC en México ya que sólo se han registrado pacientes en estadio 5 con algún tratamiento sustitutivo renal por lo que la verdadera prevalencia se encuentra subestimada. La causa principal en pediatría son las malformaciones del tracto urinario y en segundo lugar las glomerulopatías. El trasplante renal es la terapia sustitutiva de elección ya que implica una mejor calidad de vida para los pacientes. Sin embargo, a pesar de los avances en el tratamiento inmunosupresor, existen factores inmunológicos y no inmunológicos que afectan la sobrevida del injerto renal. Los inhibidores de la calcineurina son considerados la piedra angular del tratamiento, siendo el tacrolimus el más utilizado por sus propiedades farmacológicas y su mayor potencia inmunosupresora, permitiendo mejor sobrevida del injerto. El tacrolimus tiene un estrecho margen terapéutico y una variabilidad interindividual farmacocinética considerable. La exposición a niveles bajos del fármaco puede condicionar episodios de rechazo mediados inmunológicamente y la exposición a niveles altos puede aumentar el riesgo de infecciones, neoplasias, diabetes postrasplante y nefrotoxicidad. Los efectos de su toxicidad tienen impacto a corto y largo plazo para la supervivencia del injerto renal. Por lo tanto, su uso en trasplante renal requiere la monitorización de los niveles sanguíneos para realizar ajustes en la dosis y lograr niveles terapéuticos. Planteamiento del problema: Con base en investigaciones previas, existe evidencia de que la presencia de polimorfismos modifica el resultado final del tratamiento con tacrolimus. Sin embargo, en México no contamos con estudios realizados en población pediátrica al respecto. Por lo tanto, nos hacemos la siguiente pregunta: ¿Cuál es la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la

presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus? Justificación: La enfermedad renal crónica es un problema de salud pública con alta prevalencia e incidencia a nivel mundial. El éxito del trasplante renal como terapia sustitutiva de elección se debe en gran parte a los avances realizados en el campo del tratamiento inmunosupresor. El conocimiento de la farmacogenética del tratamiento inmunosupresor con tacrolimus puede mejorar el mismo teniendo mayor supervivencia del injerto renal. Se cuenta con un área especializada que atiende a estos pacientes: Consulta externa de Nefrología y Trasplante renal. Un estudio previo en población pediátrica con trasplante renal (R-2014-1302-42) facilitó la oportunidad de crear una genoteca y base de datos de pacientes trasplantados desde el 2009. Los estudios en población mexicana en esta área son limitados y de diferente diseño como ya se describió por Reyes en el 2008, García 2012, Jacobo 2015, Arreola 2016, además de contar con tamaño de muestra pequeño. El conocer la variabilidad farmacogenética ha hecho que para muchos países el manejo de la inmunosupresión basada en los genotipos CYP3A forme parte de las guías de manejo del paciente trasplantado. Hipótesis: Los pacientes portadores del polimorfismo CYP3A5*3 y el alelo silvestre CYP3A4*1 presentan menos episodios de rechazo del injerto renal y un mayor número de alteraciones clínicas y bioquímicas por ser metabolizadores lentos. **Objetivos:** **Objetivo general;** analizar la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus. **Objetivos específicos;** 1) estudiar la variabilidad genética y su asociación con presencia de rechazo en pacientes con trasplante renal, 2) estudiar la variabilidad genética y su asociación con alteraciones clínicas (neurotoxicidad, hipertensión, infecciones, malignidad) y bioquímicas (nefrotoxicidad, hiperuricemia, hiperlipidemia, hipercalcemia, hipomagnesemia, hiperglucemia, transaminasemia) en pacientes con trasplante renal, 3) estudiar la variabilidad genética y su asociación con niveles de tacrolimus, 4) describir las características sociodemográficas, 5) determinar la frecuencia de la presencia de polimorfismos del tacrolimus CYP3A5*3 y CYP3A4*1B, 6) registrar

terapia de sustitución renal previa al trasplante renal, 7) describir terapia inmunosupresora de inducción y mantenimiento al trasplante renal.

Material y métodos: Diseño de estudio; cohorte ambispectiva. Universo de estudio y lugar; Trasplantados renales tratados con tacrolimus menores de 18 años de edad en la UMAE Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente, Guadalajara, Jalisco. Criterios de selección: Inclusión; toda la población pediátrica con tratamiento sustitutivo renal trasplante en tratamiento con tacrolimus en la UMAE Hospital de Pediatría de CMNO menores de 18 años. Exclusión; no deseo de participar, no uso de tacrolimus por mas de 6 meses, información incompleta en expediente. Eliminación; defunción, cambio de inmunosupresor y no llegar a tener uso de tacrolimus por 6 meses o más, que decidan salir del estudio, información incompleta en expediente, pérdida de derechohabencia, muestras inadecuadas para la amplificación de ADN, pacientes con función hepática anormal en el momento de la medición de nivel de tacrolimus. Muestra por conveniencia por tratarse de una cohorte. Variables; presencia de rechazo y alteraciones clínicas y bioquímicas (dependiente) y presencia de polimorfismos (independiente). Descripción de procedimientos; el protocolo de investigación se encuentra en evaluación y proceso de autorización por el comité local de ética e investigación en salud (CLEIES 1310) de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital De Gineco Obstetricia Centro Médico Nacional De Occidente. Se solicitó consentimiento informado, se aplicó una encuesta para valorar apego a tratamiento, con la cual se descartó a aquellos con mal apego al tratamiento que pudieran presentar rechazo del injerto renal sin ser metabolizadores rápidos. Se procedió a la revisión de expedientes clínicos del archivo obteniendo la información necesaria y toma de muestras séricas de los pacientes aun no integrados en la genoteca previamente creada con autorización en el estudio previo con número de registro R-2014-1302-42, la frecuencia alélica ha sido determinada por el método de conteo directo a partir de la frecuencia de genotipos, este procedimiento de muestras se ha realizado por la Dra. Caridad Áurea Leal Cortés en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social. Dicha información se registró en una hoja de recolección de datos, que se vació en una base de datos en el programa

Excel. Análisis estadístico; como parte de la estadística descriptiva se realizó frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas. Con base en la distribución de la población, las cuantitativas se expresan como mediana, rangos de media y desviación estándar. Las variables cualitativas y la frecuencia de genotipos y alelos de CYP3A4 Y CYP3A5 se comparan con la prueba de χ^2 , esta última para determinar que existe equilibrio Hardy-Weinberg. Se realizó prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov para determinar la distribución de la muestra y la prueba de Levene para determinar homocedasticidad de varianzas en las variables continuas. Se compararon las variables cuantitativas mediante prueba de T student (comparación de medias) o U de Mann-Whitney (comparación de medianas). Se determinó la razón de momios e intervalo de confianza al 95% para rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas. Se realizó regresión logística para determinar covariación de las variables significativas en el análisis bivariado. Para la captura y análisis de datos se utilizó el programa Excel de Office XP para Windows y el paquete estadístico SPSS v.22.0, respectivamente, y se consideró como valor significativo una $p < 0.05$. **Recursos e infraestructura:** Materiales; hojas de papel blancas de reciclaje, lápices, borradores y bolígrafos, equipo de cómputo, impresora, tinta para la impresora, unidad de almacenamiento USB. Humanos; Tesista; Diana Marisela Bonilla Ruvalcaba, Actividad asignada: Revisión bibliográfica y elaboración de protocolo. Investigador Principal; Dra. Santa Ramírez, Actividad asignada: Dirección de tesis, revisión bibliográfica y revisión de protocolo. Asesor metodológico: Dra. Elvira Torres. Financieros: Proyecto de investigación no comercial. Se obtuvo material genético a través de la genoteca ya autorizada por el comité local de investigación con el número de autorización R-2014-1302-42. Se obtendrá material genético a través de la genoteca ya autorizada, previamente comentada. **Experiencia del grupo:** Los participantes del proyecto de investigación cuentan con amplia experiencia en la asesoría de proyectos. **Tiempo a desarrollarse:** Total de realización del protocolo; marzo del 2018 a octubre del 2019, con captación de datos de mayo del 2019 a agosto del 2019 y entrega de tesis final en octubre del 2019.

2 MARCO TEÓRICO

2.1 Enfermedad renal crónica

La enfermedad renal crónica en la actualidad es considerada como problema de salud pública en nuestro país, tanto en niños como en adultos. La incidencia de ERC (enfermedad renal crónica) estadio 5 en niños a nivel mundial es de aproximadamente de 1 a 3 niños por un millón de la población. En América Latina se reporta un amplio rango, de 2.8 a 15.8 casos nuevos por millón en menores de 15 años, mientras que en Italia se reportan 12.1 casos por millón y en Japón, 16.6% de su población de menores de 15 años.^{1,2}

A nivel mundial, tiende a incrementarse. La enfermedad renal crónica es un padecimiento con un gran impacto en la población infantil mexicana, con consecuencias limitantes y graves a corto plazo. La pobreza y la falta de justicia social del entorno influyen en la atención oportuna y rehabilitación a largo plazo.³

Durante los últimos años numerosos informes en forma consistente han señalado este aumento en la ERC^{3,4} así como reportes del USRDS (Annual Data Report: Atlas of End- Stage Renal Disease in the United States)⁵, y la ERA-EDTA (European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association)⁶ o los datos de la SLANH (Sociedad Latinoamericana de Nefrología e Hipertensión)⁷ evidencian la cuantía progresivamente en ascenso de la ERC.

En México se desconoce la verdadera prevalencia de la enfermedad renal crónica, aunque se estima que uno de cada 9 adultos padece enfermedad renal (existen aproximadamente 60 000 pacientes en diálisis).^{8,9}

No hay registro completo de pacientes pediátricos con ERC en México, por lo que se desconoce con certeza cuál es la proporción de niños con la enfermedad en sus diferentes fases. La mayoría de los estudios en México y en muchos países se han

realizado en adultos, sobretodo tomando la información epidemiológica a partir de los datos disponibles de pacientes en estado terminal, es decir cuando la terapia de reemplazo (diálisis o trasplante) es necesaria para mantener la vida. Por lo anterior las cifras existentes de ERC solo son de la enfermedad en estado terminal, de tal manera que existe una subestimación en todas las poblaciones. ¹⁰

En nuestro país, se sabe que los estados con mayor marginación son precisamente los que tienen mayor incidencia y mortalidad por enfermedad renal crónica ¹¹.

En Jalisco en el estudio realizado por García et al, se ha documentado que los pacientes más pobres son los que acuden en etapas más avanzadas de la enfermedad, cuando ya no es posible detener la progresión de la enfermedad renal. ¹²

En 2008 se estimó una incidencia mundial de pacientes de 4 a 18 años en terapia de reemplazo renal de 9/1000000 ¹⁴. Con base en estos datos, se ha propuesto que si la proporción de niños con enfermedad renal crónica en países desarrollados es de aproximadamente 20 a 25%, en nuestro país podríamos tener de 3 000 a 6000 niños con este problema ². En el IMSS, en 2011 el Hospital de Pediatría del CMNO informó a prestaciones médicas de la Delegación Jalisco, que de acuerdo al registro de pacientes atendidos en urgencias por presentar estadio terminal y que pasaron a cualquiera de los programas de sustitución y consulta de Nefrología, se estimó una prevalencia de 20 casos nuevos por millón de habitantes. Nuevamente esta estimación no consideró los casos en las etapas tempranas de la enfermedad ya que por su naturaleza de tercer nivel solo atiende los pacientes con la enfermedad crónica terminal.

En niños menores de 10 años, las malformaciones del tracto urinario y enfermedades glomerulares de tipo hereditario son comunes. Sin embargo, el síndrome nefrótico fuera de la edad habitual (sobre todo en adolescentes) ha ido en

aumento ^{9, 15}, y no hay información suficiente sobre el motivo de este comportamiento. Además, el incremento de la enfermedad renal en todos los grupos de edad en Latinoamérica, también se ha asociado a la desigualdad social, especialmente malas condiciones de vivienda, contaminantes en agua y la falta de acceso a los servicios de salud ^{11, 13}.

La enfermedad renal crónica se define según las guías internacionales, como el daño renal (estructural o funcional) que permanece por tres meses o más, con o sin disminución de la velocidad de filtración glomerular y alguno de los siguientes hallazgos: 1) alteración en la composición de la sangre o de la orina, 2) alteración en los estudios de imagen o 3) alteración en la biopsia renal o aquellos pacientes que tengan una velocidad de filtración glomerular $< 60 \text{ ml/min/1.73m}^2 \text{ SC}$, con o sin los otros signos de daño previamente descritos. A su vez, se describen cinco estadios de la enfermedad. El estadio 5 o etapa terminal (ERCT) se define cuando la velocidad de filtración glomerular $< 15 \text{ ml/min}$, o bien que el paciente requiera terapia de reemplazo renal (diálisis, hemodiálisis o trasplante renal). ¹⁶

En la población pediátrica, en la mayoría de los casos, no puede realizarse el diagnóstico preciso de la causa que ocasionó la uremia. En el trabajo de Medeiros et al, se reportó que las principales causas conocidas son las malformaciones congénitas (displasia, hipoplasia, malformaciones urinarias) seguidas de las glomerulopatías. ^{17, 18}

Torche, et al, realizó un estudio en Paraguay, en un periodo comprendido entre 1990 y 2002, resultando con incidencia anual de al menos 2.3 pacientes /año en 1990 a 1998 y aumentando a 8 casos en el periodo reportado en el año 1999 al 2000 en pacientes con diagnóstico de enfermedad renal crónica. ¹⁹

El Registro Estatal de Diálisis y Trasplantes de Jalisco ha indicado un continuo aumento de pacientes con ERC. En términos de incidencia, la cifra se incrementó

de 92 pacientes por millón de habitantes en 1999 a 400 pacientes por millón de habitantes en el año 2008. ²⁰

2.2 Tratamiento sustitutivo renal

Dichos tratamientos son de alta especialidad, muy costosos y fuera del alcance económico de un gran número de familias. En el mundo existen alrededor de dos millones de personas que requieren terapia de reemplazo renal y esto implica un costo muy alto para los servicios de salud. ²¹

La diálisis peritoneal se ha constituido en el tratamiento de sustitución más utilizado para el manejo de la insuficiencia renal crónica terminal en pediatría. Su fácil acceso a través de un catéter peritoneal, la ventaja de ser una terapia ambulatoria, la estabilidad hemodinámica y el buen control de la hipertensión y de la anemia, además de que permite tener una dieta menos rigurosa y el hecho de realizarla en la modalidad diálisis peritoneal automatizada les genera mayor integración a la escolaridad evitando ausencia constante y aumentar el rendimiento escolar, así como ayudar en la dinámica familiar a que los padres puedan acudir a sus trabajos e integrarse a su vida social. En comparación con la hemodiálisis, hacen de esta forma terapéutica la terapia de elección en la edad pediátrica. El reporte anual 2011 del Estudio Colaborativo Norteamericano Pediátrico en Trasplante Renal (NAPRTCS) informó de 7,039 pacientes pediátricos en diálisis, mostrando disminución en pacientes que se encontraban en diálisis peritoneal (de un 65,3% en 1992 a 55,7% en una media de los años comprendidos del 2008, 2009 y 2010 y un aumento correspondiente en hemodiálisis de 34,7% en 1992 para el 44,3% al 2011. ²²

En el caso de los adultos la hemodiálisis sigue siendo el método más común de terapia sustitutiva en todo el mundo con al menos el 80% de los pacientes con ERC terminal en esta modalidad de terapia. ²³

2.2.1 Trasplante renal como terapia de sustitución renal

El trasplante renal es considerado como la terapia sustitutiva de elección ya que ha demostrado una menor mortalidad y mejor calidad de vida que hemodiálisis o diálisis peritoneal. Según datos del USRDS (United States Renal Data System) del 2014 solo el 54% de los pacientes en hemodiálisis y el 65% de los pacientes en diálisis peritoneal están vivos después de tres años del inicio del tratamiento dialítico, comparado con un 84 y 93% de los pacientes con trasplante renal de donador cadavérico y vivo respectivamente.²⁴

El trasplante renal pediátrico ha de abordar circunstancias únicas, físicas, fisiológicas, psicológicas, sociales, inmunológicas, etc. y además peculiaridades técnicas características de la edad pediátrica que han sido documentadas en las últimas décadas.²⁵

Podemos asegurar que el trasplante renal es la forma óptima de terapia sustitutiva para el niño con enfermedad renal crónica terminal, no sólo para el periodo de desarrollo durante la edad pediátrica sino también para su futura vida adulta y estabilidad familiar.^{18, 22} Mejora el desarrollo neurológico, psicológico, la calidad y el tiempo de vida en forma muy superior a los procedimientos dialíticos.^{26, 27}

La supervivencia del paciente pediátrico con Enfermedad Renal Terminal con trasplante renal funcional, se ha incrementado de forma continua en las últimas dos décadas. Para el paciente con injerto de donador vivo la sobrevida a 5 años en NAPRTCS es de un 83% en comparación al 70% que se observa en pacientes con donante de cadáver. La mortalidad a largo plazo se produce preferentemente por complicaciones infecciosas o cardiovasculares (40 a 50%) y tanto la hipertensión arterial como períodos prolongados de diálisis son factores de riesgo.^{22, 25}

Un estudio reciente, basado en datos del Registro ERA-EDTA demuestra que hay un incremento de adultos jóvenes que recibieron terapia renal sustitutiva en la edad

pediátrica pasando de 71 pmp > 18 años en 1985 a 116 pmp en 2004. En este grupo de niños la expectativa de vida para los que alcanzan la edad adulta con un trasplante renal funcionante es de 63 años, frente a 38 para los que permanecieron en diálisis. ²⁸

En nuestro país, de acuerdo al reporte anual del Centro Nacional de Trasplantes, se reportó en el año 2008 que se lograron efectuar un total de 2,274 trasplantes de los cuales 576 fueron de donador fallecido y 1698 de donador vivo; estas cifras desde entonces han ido en discreto incremento llegando a 2,610 trasplantes en el año 2014, de los cuales 748 fueron de donador cadavérico y 1862 de donador vivo. En el estado actual de receptores, donación y trasplantes en México en el primer trimestre del 2017 se han reportado 520 trasplantes de donador vivo y 234 han sido de donador cadavérico. Ocupa así el segundo lugar por entidad federativa el estado de Jalisco realizando un total de 157 trasplantes en ese año siendo de estos 39 en pacientes pediátricos, habiéndose realizado en la UMAE Hospital de Especialidades y en la UMAE Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente. ²⁹

2.2.1.1 Receptor infantil de trasplante renal

Algunos aspectos clínicos del trasplante renal son similares tanto en niños como en adultos así como los medicamentos empleados para la inmunosupresión tienden a ser muy similares, la creatinina sérica es el mayor biomarcador para ambos, y en los casos de rechazo agudo será determinado primariamente por el resultado de las biopsias con el uso de la clasificación de Banff; así pues, también existen diferencias entre estos dos grupos etarios como lo son: los factores inmunológicos, la enfermedad renal primaria desencadenante de la falla renal, a menudo con la asociación de anomalías urológicas y las inmunizaciones que se requieren previamente a la cirugía de trasplante. Las políticas asignadas para la procuración de riñones de donadores cadavéricos, las técnicas quirúrgicas en niños pequeños, y los aspectos metabólicos de medicamentos tienen distintos aspectos en niños. ²⁶ La variación en la respuesta inmunológica y en la cinética de los inmunosupresores obligan a una dosificación más ajustada y controlada. ²⁵

Dentro de los bastos efectos negativos que la enfermedad renal crónica terminal se encuentra la afección de la capacidad cognitiva y el desarrollo educacional; sin embargo, el trasplante renal funcional favorece al desarrollo intelectual cognitivo, la vida académica y la calidad de vida en la vida adulta del niño con enfermedad renal crónica terminal, eso entre muchos más beneficios que conlleva el trasplante renal.

25

A pesar de los avances en el tratamiento del trasplante renal, que han permitido disminuir la tasa de rechazo agudo temprano a menos del 15% y han logrado una supervivencia del injerto renal al año del 90%, los resultados a largo plazo han permanecido constantes y sin cambios con una tasa estimada de pérdida de injerto del 4% por año.²⁹ Existen factores inmunológicos y no inmunológicos que provocan la pérdida de injertos renales, alguno de ellos tiene mayor impacto en el primer año del trasplante y otros causan lesión de forma más tardía. El daño tardío al injerto se ha asociado a nefrotoxicidad por inhibidor de calcineurina, glomerulonefritis recurrente, rechazo crónico celular y mediado por anticuerpos, hipertensión y rechazo agudo tardío.³⁰

Pese a los esfuerzos se ha logrado identificar que en un 25-50% de los pacientes con trasplante renal presentan disfunción inicial del injerto con oliguria o anuria secundaria a necrosis tubular aguda, siendo importante descartar rechazo agudo o nefrotoxicidad por anticalcineurínicos.^{26, 27} En Estados Unidos y Europa se ha logrado determinar que la tasa de rechazo agudo probado por biopsia es del 15% durante el primer año postrasplante, independiente del tipo de donante. Pero el 16% hasta el 64 % de los pacientes con trasplante en otra complicación frecuente es la nefrotoxicidad. La sociedad latinoamericana de trasplante pediátrico identificó que el 11.3% (154 injertos) de pérdidas de injerto de los 1,458 trasplantes ocurrieron secundarias a muertes con injerto funcionante, nefropatía crónica del injerto, recurrencia de Glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS), trombosis vascular, rechazo agudo y nefrotoxicidad.¹³

2.2.1.2 Tratamiento inmunosupresor en el trasplante renal

Gran parte del éxito del trasplante renal como terapia sustitutiva de elección se debe a los avances en el tratamiento inmunosupresor, el cual comprende diferentes combinaciones de fármacos dependiendo de si el paciente se encuentra en fase de inducción o de mantenimiento.³⁰ En la terapia de inducción se usan principalmente agentes biológicos de aplicación intrahospitalaria que comprenden anticuerpos monoclonales y policlonales, mientras que en la de mantenimiento se usan combinaciones de dos a tres fármacos de pequeña molécula que se pueden clasificar según las vías de señalización de la respuesta inmune sobre las que ejercen su acción inmunosupresora en glucocorticoides, inhibidores de la calcineurina, inhibidores de la síntesis de purina e inhibidores de mTOR (mammalian Target of Rapamycin).^{30, 31}

La población pediátrica se distingue por numerosas diferencias fisiológicas relacionadas con la composición corporal (agua/grasa), proteínas plasmáticas y actividad metabólica; la farmacocinética de muchos medicamentos es diferente en esta población. En el trasplante renal pediátrico al igual que en el adulto tienen particular importancia los inhibidores de calcineurina (ciclosporina y tacrolimus), ya que en general los niños requieren mayor dosis en mg/kg que los adultos para alcanzar niveles terapéuticos similares, e incluso en niños menores de siete años puede ser necesario acortar el intervalo de dosificación.³²

El tratamiento inmunosupresor es necesario mientras dure la función del injerto y su objetivo es prevenir o controlar la respuesta inmune del receptor contra el órgano trasplantado.

Es importante distinguir dos situaciones:

1. Inmunosupresión primaria: previene el rechazo agudo y crónico, en las primeras semanas se denomina terapia de inducción siendo más intensa

y potente, en forma crónica denominada de mantenimiento.

2. Tratamiento del rechazo agudo: trata de frenar la lesión inmunológica del injerto, es potente y de corta duración. Se utilizan corticoesteroides intravenosos u orales y los anticuerpos monoclonales o policlonales.^{26,}

27

Los inmunosupresores se pueden clasificar en

- a) Corticoesteroides
- b) Inhibidores de la calcineurina: ciclosporina (CsA) y tacrolimus.
- c) Inhibidores de la síntesis de nucleótidos: Acido micofenólico (MMF), micofenolato sódico con cubierta entérica (EC-MFA) y azatioprina.
- d) Inhibidores del m-TOR o de la señal de proliferación: sirólimus o everólimus.
- e) Anticuerpos antilinfocitarios policlonales (ATG) o monoclonales anti CD3 (OKT3), o anti receptor de IL-2 (basiliximab, daclizumab).^{33, 34}

2.2.1.2.1 Glucocorticoides

Su efecto inmunosupresor es complejo sobre citocinas, sustancias vasoactivas, moléculas de adhesión, apoptosis y activación de células inflamatorias. Se usan en terapia de inducción, mantenimiento y en los episodios de rechazo agudo de injerto. Los fármacos más utilizados de este grupo son prednisona y metilprednisolona. En las fases de inducción se usan por vía intravenosa a dosis altas con posterior reducción en la fase de mantenimiento e incluso suspensión en algunos pacientes con riesgo inmunológico bajo.³¹

La experiencia con eliminación total de esteroides en 129 trasplantes renales en pacientes pediátricos con bajo riesgo inmunológico (protocolo de Stanford), ha mostrado beneficios en la recuperación de talla, mejoría del riesgo cardiovascular y de los aspectos cosméticos. En esta serie la conversión de protocolo sin esteroides a esteroides es de un 13%, siendo la causa fundamental de la conversión rechazo agudo recurrente o recidiva de glomerulonefritis.²⁵

2.2.1.2.2 Inhibidores de síntesis de purinas

Impiden la síntesis de DNA y tienen efecto antiproliferativo. En este grupo se incluye azatioprina y micofenolato, ambos se utilizan en la terapia de mantenimiento. Actualmente se prefiere micofenolato ya que ha demostrado una mejor eficacia y perfil de seguridad que azatioprina. ³¹

2.2.1.2.3 Inhibidores de calcineurina

Actúan sobre moléculas citoplasmáticas llamadas inmunofilinas que inhiben a la enzima calcineurina previniendo la síntesis de interleucina 2. Son considerados actualmente la piedra angular del tratamiento inmunosupresor e incluyen a tacrolimus y ciclosporina. Se utilizan tanto en terapia de inducción como mantenimiento. ³¹ En el trasplante renal tiene particular importancia los inhibidores de la calcineurina; el tacrolimus ha mostrado ser el de mayor beneficio desde hace varios años. Las revisiones sistemáticas lo mencionan como el mejor tratamiento por sus ventajas clínicas, como aumento en la supervivencia y disminución en rechazo agudo, así como por su mejoría en costo-efectividad al compararse con la ciclosporina. ^{27, 34, 35}

2.2.1.2.4 Inhibidores de mTOR

Son inhibidores de proliferación celular con potente actividad inmunosupresora que se usan en terapia de inducción y mantenimiento. En este grupo se incluyen sirólimus y everolimus. ³¹

2.3 Tacrolimus

2.3.1 Tacrolimus en trasplante renal

Tacrolimus es un fármaco inmunosupresor del grupo de los inhibidores de la calcineurina utilizado en terapia de inducción y mantenimiento del trasplante renal.

Fue aprobado por la Food and Drug Administration (FDA) en 1997 para el tratamiento del trasplante renal y desde entonces su uso se ha incrementado superando a ciclosporina como terapia inmunosupresora de mantenimiento.³⁶

La ALANEPE (Archivos latinoamericanos de Nefrología Pediátrica) en su primer registro realizado durante el periodo de 2004-2008, en donde se incluyeron 1,458 pacientes, con un seguimiento promedio de $23,4 \pm 17$ meses, reporta que el 54,3% de los trasplantes realizados fueron de donador de muerte cerebral (DMC), siendo el tipo de donante más frecuente en Venezuela y Chile (70%), México (30%), Brasil y Argentina (50%). La terapia de inducción fue 71% anti-IL2 (anticuerpo contra interleucina 2), 13% timoglobulina y no recibió inducción un 14%. La inmunosupresión de mantenimiento más utilizada fue tacrolimus 64%, ciclosporina 32%, MMF 54%, no recibieron mTOR 96%, esteroides 90% y retiro precoz o no esteroides un 10%. La pérdida de injerto ocurrió 20 en 155/1.458 (11%), muerte con injerto funcional (3,4%), trombosis vascular (2,8%), rechazo agudo (2,8%), recurrencia de enfermedad (1%). Cuarenta y ocho pacientes fallecieron (3,3%); las infecciones fueron las principales causas (2,1%). La supervivencia global del paciente a 1, 3 y 5 años fue 97%, 96% y 96% respectivamente. La supervivencia del injerto a 1, 3 y 5 años en (donador vivo) fue 96%, 93% y 89%; en DMC de 92%, 86% y 76% respectivamente. La supervivencia del paciente e injerto fueron mayores en Donador Vivo ($p < 0,001$).³⁷

En la revisión más actual de la ALANEPE del 2012 a partir del 30 día postrasplante se observa la casi desaparición de ciclosporina, el descenso del uso de esteroides en la última década del 90% al 50% y la combinación micofenolato y tacrolimus como inmunosupresión de elección, asociada o no a esteroides. La preferencia de tacrolimus sobre ciclosporina está basada en la mejor supervivencia del injerto, menores tasas de rechazo agudo con tacrolimus y además para evitar los efectos cosméticos indeseables de la ciclosporina, que junto a la de los esteroides contribuyen al no cumplimiento terapéutico.²⁵

Según datos del reporte anual del OPTN/SRTR (Organ Procurement trasplant Network/Scientific Registry of Trasplant Recipients) del año 2004, en el periodo de los años 2002 a 2003 se reportó un incremento en uso de tacrolimus de 64 a 67%, mientras que ciclosporina disminuyó de 30 a 26%.³⁸

En otro estudio realizado en Taiwán en trasplantados renales en los años 2002 a 2009 se reportó un incremento significativo en el uso de terapia inmunosupresora que incluía a tacrolimus de 35.1 a 58.2%, mientras que el uso de ciclosporina disminuyó del 62.2 al 24.8%.³⁹

Finalmente, según datos del reporte anual del OPTN/SRTR (Organ Procurement trasplant Network/Scientific Registry of Trasplant Recipients) del año 2013, para el año 2010 tacrolimus era parte de la terapia inmunosupresora en aproximadamente 90% de los pacientes con trasplante renal a un año postransplante.⁴⁰

La preferencia hacia el uso de tacrolimus sobre ciclosporina en el tratamiento del trasplante renal en las últimas décadas se debe a que este fármaco ha demostrado ser 10-100 veces más potente en modelos de inmunosupresión in vitro e in vivo, además de que se han reducido los episodios de rechazo, así como la severidad de los mismos.⁴¹

En su estudio Pirsch et al, demostraron en el seguimiento a un año, que el 30.7% de los pacientes tratados con tacrolimus habían presentado rechazo agudo comparado con 46.4% de los tratados con ciclosporina. La incidencia de rechazo moderado a severo en el grupo tratado con tacrolimus fue 10.8% comparado con 26.5% en el grupo de ciclosporina.⁴²

Tacrolimus tiene un estrecho margen terapéutico y una variabilidad interindividual farmacocinética considerable. La exposición a niveles bajos del fármaco puede condicionar episodios de rechazo mediados inmunológicamente y la exposición a niveles altos puede aumentar el riesgo de infecciones, neoplasias, diabetes

postrasplante y nefrotoxicidad. Los efectos de su toxicidad tienen impacto a corto y largo plazo para la supervivencia del injerto renal. Por lo tanto, su uso en trasplante renal requiere de la monitorización de los niveles sanguíneos para realizar ajustes a su dosis y lograr niveles terapéuticos.⁴³

2.3.2 Mecanismo de acción

Tacrolimus es un macrólido que fue aislado en 1984 de la bacteria *Streptomyces tsukubaensis*, microorganismo encontrado en el suelo del monte Tsukuba en Tokio por investigadores de la Universidad Chiba de Japón.²⁴ Tiene un peso molecular de 822.05 Da. El medicamento es biológicamente activo al unirse a la inmunofilina FK Binding protein 12 (FKBP-12) localizada en el citoplasma de la célula formándose un complejo FKBP12-Tacrolimus, el cual inhibe la actividad fosfatasa de la calcineurina, molécula que es fundamental en la síntesis de varias interleucinas, incluida la interleucina 2.⁴¹ De esta forma, el tacrolimus inhibe la activación y proliferación de células T y la síntesis de linfocitos T citotóxicos, frena el crecimiento y diferenciación de células B al interferir la expresión de receptores IL-4 y la síntesis de IL-5.⁴⁴

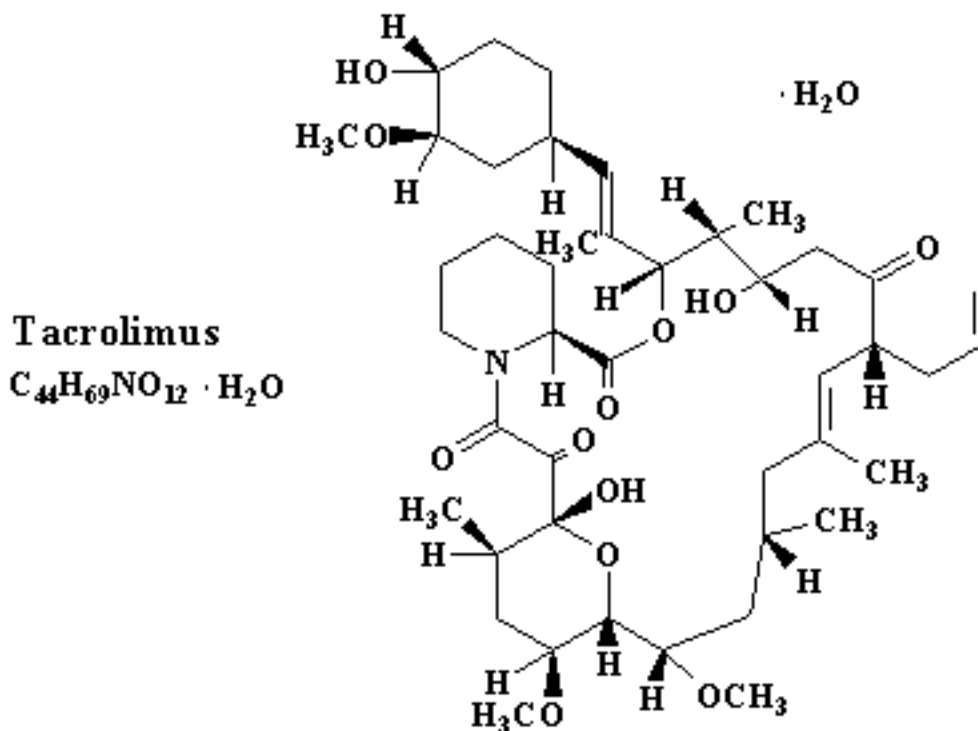


Figura 2: Estructura de tacrolimus ⁴⁶

2.3.3 Absorción

Tacrolimus es un fármaco lipofílico con variabilidad en su absorción y metabolismo de primer paso. ⁴¹ La absorción ocurre en el intestino delgado y tiene una participación activa de la glicoproteína-p (P-gp) quien en repetidas ocasiones introduce y bombea fuera de las células intestinales del enterocito a los 1C, incrementando de esta manera la posibilidad de ser metabolizada por las enzimas CYP3A. La P-gp transporta los metabolitos del tacrolimus formados en la mucosa hasta el lumen intestinal, ahí se absorbe en el intestino delgado independiente de las sales biliares ^{44,47}

Tiene una biodisponibilidad oral baja en promedio de un 25% (rango 4-93%). ³⁶ Las concentraciones pico de tacrolimus en sangre C2 se alcanzan aproximadamente dos horas después de la administración vía oral. ⁴⁸ La tasa y grado de absorción disminuyen en presencia de alimento reportándose hasta una

disminución del 25 -40% en el área bajo la curva cuando el medicamento es ingerido después de un alimento. ³⁶ Se ha demostrado que posterior a la ingesta de alimento rico en grasa y carbohidratos la tasa de absorción de tacrolimus disminuye cuando el medicamento ha sido administrado de 0.25 a 1.5 horas después del alimento. ⁴⁸

2.3.4 Distribución

El fármaco está unido altamente a los eritrocitos en una forma concentración - dependiente, por lo que la medición de sus niveles en sangre entera es el medio para evaluar sus concentraciones terapéuticas. ⁴⁸ Tiene una unión a proteínas del 99%, con la mayor parte del medicamento unido a la albúmina y a la glicoproteína alfa 1 ácida. ³⁶ El volumen de distribución de tacrolimus es de 0.85 a 1.4 L/Kg en pacientes con trasplante renal que reciben el fármaco vía intravenosa y de 1.9 L/Kg en voluntarios sanos que lo reciben vía oral. Estudios en animales indican que el medicamento se distribuye extensamente en la mayoría de los tejidos incluidos pulmones, bazo, corazón, riñón, páncreas, músculo e hígado. Tacrolimus cruza barrera placentaria y es detectable en la leche materna. ⁴⁸

En los pacientes pediátricos se ha identificado aspectos farmacocinéticos particulares potencialmente relacionados a la edad. Uno de estos es el requerimiento mayor (mg/kg) para alcanzar concentraciones terapéuticas similares, lo cual puede deberse a variaciones en la maduración biológica principalmente del hígado que es el órgano en el que más se producen los citocromos. ⁴⁹

También existen cambios en los parámetros fisiológicos que pueden impactar en la biodisposición de drogas como son el pH gástrico, tiempo de tránsito intestinal, grasa corporal, composición de agua, composición de grasa y concentración de proteínas plasmáticas. ^{49, 50} Por lo anterior, los niños menores de siete años tienen mayor volumen de distribución corporal y en consecuencia tienen tasas de aclaramiento mayores, por lo que puede ser necesario acortar el intervalo de dosificación, por lo cual mantener estable la concentración de los IC en el paciente

pediátrico es uno de los principales problemas que tienen que enfrentar los médicos tratantes de pacientes con trasplante.^{51, 52} Esta situación, en múltiples ocasiones se suma a las causas de pérdida del injerto, y aunado a que su utilización presenta un rango terapéutico muy estrecho, la consecuencia se traduce en rechazo si no se alcanza la dosis terapéutica o nefrotoxicidad si se sobrepasa la dosis.¹⁷

2.3.5 Metabolismo y eliminación

A nivel intestinal el tacrolimus es sustrato de la P glicoproteína o MDR-1, la cual es codificada por el gen ABCB1 (ATP Binding cassette subfamily B member 1). Esta proteína es un transportador dependiente de ATP localizada en la membrana del enterocito y regula el paso de sustancias desde el interior de la célula hacia el espacio extracelular. La acción de la P glicoproteína sobre tacrolimus puede reducir su biodisponibilidad oral.⁴⁸

Tacrolimus es metabolizado predominantemente en el hígado y en menor grado en la mucosa intestinal mediante las isoenzimas CYP3A4 y CYP3A5, las cuales tienen grados variables de actividad entre los pacientes con trasplante renal. CYP3A5 tiene una actividad catalítica hacia tacrolimus 1.6 veces mayor que CYP3A4. El fármaco es convertido por hidroxilación y dimetilación a 15 metabolitos, siendo el principal de ellos el 13-O-dimetiltacrolimus.³⁶ La vida media de eliminación reportada es variable, con valores promedio de 19 horas en pacientes con trasplante renal. La eliminación fecal del medicamento es del $92.6 \pm 3.07\%$ y la eliminación urinaria es del $2.3 \pm 1.1\%$. La principal vía de excreción de tacrolimus en las heces es biliar.⁴⁸

Los principales fármacos que interactúan con los inhibidores de calcineurina son inductores o inhibidores de CYP3A4. Los fármacos inhibidores de dichas enzimas aumentan los niveles sanguíneos de tacrolimus y pertenecen a diferentes grupos de medicamentos como corticoides, antihipertensivos (diltiazem, verapamilo, nifedipino y nicardipino), antimicóticos (fluconazol, ketonazol, itraconazol y

clotrimazol) antibióticos (claritromicina y eritromicina) y procinéticos (cisaprida y metoclopramida). Los fármacos inductores disminuyen los niveles sanguíneos de tacrolimus y pertenecen al grupo de medicamentos anticonvulsivantes (carbamazepina, fenobarbital, fenitoína) y antifúngicos (rifampicina, rifabutina e isoniazida). Otras interacciones medicamentosas relevantes son el uso de antiácidos que pueden disminuir la biodisponibilidad de tacrolimus y el uso concomitante de otros medicamentos nefrotóxicos como los AINES.^{36, 48}

Las diferencias en las dosis administradas en pacientes pediátricos y adultos para alcanzar concentraciones mínimas comparables en sangre, se explica por las diferencias en depuración y distribución, ya que la depuración del tacrolimus en niños es más rápida y tienen un mayor volumen de distribución.⁵³

Existe una gran variabilidad en la farmacocinética de cada individuo, que se ha observado interviene en alcanzar concentraciones óptimas del medicamento, necesarios para obtener los buenos resultados en su efecto después de un trasplante, esto se ha identificado además de la población pediátrica, con diferencias étnicas, en receptores afroamericanos se ha determinado que requieren más dosis que los caucásicos para obtener rangos terapéuticos similares.^{54, 55} Lo anterior señala que es necesario analizar la interacción de proteínas y fármacos en individuos de diferentes poblaciones. Existen otros factores identificados que pueden influir en la farmacocinética de inhibidores de la calcineurina que incluyen el tipo de trasplante (riñón, hígado, corazón, etc.), función hepática y renal, el uso de medicamentos concomitantes tales como corticosteroides, tiempo después del trasplante, edad del paciente, raza, administración de alimentos entre los más importantes.⁵⁵

2.3.6 Farmacogenómica de tacrolimus

La farmacogenómica es la ciencia que estudia la variabilidad en la respuesta de un fármaco en relación a los factores genéticos involucrados en la farmacocinética

y el mecanismo de acción de la droga en el organismo. Esta variabilidad depende de los polimorfismos genéticos, los cuales son variantes alélicas de genes presentes en al menos 1% de la población. Estas variantes codifican diferentes isoformas moleculares de la misma proteína y en la mayor parte de los casos consisten en polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs), los cuales determinan la generación de isoformas que difieren en su mayoría por un solo aminoácido. ⁴¹

El sistema del citocromo P450 (CYP) es responsable de la mayor parte de la biotransformación y metabolismo oxidativo de muchas moléculas y consiste en más de 50 isoenzimas. CYP3A es la familia de citocromos que más participa en el metabolismo de medicamentos, incluyendo los inhibidores de Calcineurina tacrolimus y ciclosporina. CYP3A consiste en cuatro isoenzimas principales, codificadas cada una por un gen con el mismo nombre: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7, CYP3A43. La isoforma CYP3A4 es la más abundante y se expresa en hígado y epitelio del intestino delgado, la inmunohistoquímica ha identificado una mínima tinción de esta enzima en el riñón mientras que el CYP3A5 se expresa de forma más variable en hígado, intestino delgado y riñón, aparentemente depende de la variación de ancestros raciales. ^{56, 57} CYP3A4 y CYP3A5 se han determinado hasta la actualidad como los de mayor participación en el metabolismo de medicamentos inmunosupresores. El CYP3A7 se expresa principalmente durante la vida fetal y finalmente el CYP3A3 se expresa en próstata y testículos, pero su contribución al metabolismo de fármacos todavía es desconocida. ^{33, 55, 58}

Los cuatro genes del CYP3A llamados como las enzimas: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43 se encuentran localizados en la banda q21 del cromosoma 7. ⁵⁸

Los polimorfismos en genes que codifican para enzimas que participan en el metabolismo de los fármacos pueden causar diferencias fenotípicas significativas en su expresividad y actividad catalítica. Las implicaciones clínicas de estos polimorfismos incluyen aspectos de la biodisponibilidad, eliminación,

farmacodinámica e índice terapéutico del medicamento. De los múltiples polimorfismos genéticos identificados, sólo un pequeño número de estos condicionan consecuencias clínicas significativas, en el caso de tacrolimus, un polimorfismo en el gen CYP3A5 ha sido considerado el mayor responsable de la variabilidad en su farmacocinética. Otros con menor impacto sobre esta variabilidad son los localizados en los genes del CYP3A4 y ABCB1.

Al realizar la genotipificación de estos polimorfismos en pacientes con trasplante renal, se pretende lograr la optimización de las dosis de inicio y mantenimiento del tacrolimus, alcanzar concentraciones en sangre adecuadas de forma más rápida y limitar los efectos adversos asociados a la dosis. Los beneficios de la genotipificación de polimorfismos del gen CYP3A4 como una práctica de rutina en el tratamiento de pacientes con trasplante renal no están aún bien establecidos en estudios prospectivos.⁴¹

2.3.6.1 Gen CYP3A5 y su polimorfismo

En CYP3A5 se conocen algunas variantes en las regiones codificadoras, especialmente en los exones 7 y 11, tales como CYP3A5*2, CYP3A5M, CYP3A5*8, CYP3A5*9 y CYP3A5*10. En este gen también se han detectado SNPs en los intrones, algunos de los cuales afectan el empalme del RNAm afectando la función de CYP3A5. Un ejemplo de estas variantes es el alelo CYP3A5*3, el cual es un cambio de A (adenina) por G (guanina) en la posición 6986 del gen que afecta el empalme del RNAm provocando la retención de parte del intrón 3. Este defecto a su vez lleva al corrimiento del marco de lectura originando un codón de terminación y con ello la terminación prematura de la proteína. Así el gen con una A en la posición 6986 (llamado alelo CYP3A5*1) codifica una proteína CYP3A5 normal o silvestre (por haber sido el primer CYP3A5 encontrado), mientras que el gen con una G en la misma posición (alelo CYP3A5*3) da lugar a una proteína corta no funcional.⁵⁹ Diversas poblaciones han reportado este polimorfismo en frecuencias variables, por ejemplo el alelo CYP3A5*3 está presente en el 85-95% de Caucásicos, en el 32-48% de Africanos-Americanos y en Mexicanos de un estudio

realizado en Estados Unidos por Macphee y colaboradores, reportaron este alelo en frecuencia del 30%.^{60, 61} El alelo CYP3A5*1 es más frecuente en poblaciones africanas.

Solo los individuos con el alelo silvestre, parecen producir enzimas metabolizadoras a un nivel significativo, arriba de un 50% del contenido hepático del CYP3A que influye en el metabolismo de los substratos.⁴⁷

Casi todos los estudios reportan una concentración alta de tacrolimus tanto en CO y C2 así como requerimientos bajos del medicamento en el homocigoto CYP3A5*3; en individuos que poseen el alelo silvestre CYP4A5*1 se ha observado una consistente capacidad metabólica.^{60, 62}

Un polimorfismo de un solo nucleótido localizado en este gen que involucra una transición de A (adenina) a G (guanina) en la posición 6986 del intrón 3 (rs776746) y denominado alelo CYP3A5*3 es el responsable de aproximadamente el 50% de la variabilidad farmacocinética total.⁶⁴ Se ha asociado con alteraciones en la farmacocinética y farmacodinamia del tacrolimus. A pesar de que no todos los estudios están de acuerdo en la cantidad de CYP3A5 expresado en hígado, todos parecen estar de acuerdo que por lo menos 10-20% del contenido total de CYP3A expresa algún tipo de CYP3A5 y es predecible su participación en la depuración de medicamentos.

La variabilidad en cada grupo étnico necesita de más estudios que incluyan mayor número de muestras para obtener resultados determinantes para cada población analizada.

Es importante señalar que la mayoría de los estudios no reportan si excluyeron o no a los pacientes con ingesta de medicamentos que interaccionan con las proteínas CYP, así como la exclusión o método de ajuste de diversas covariables como pueden ser edad, trastornos en absorción intestinal u otras enfermedades

concomitantes, o el propio injerto (genotipo del donador), que podrían tener participación ^{44, 62, 63} e intervenir en las concentraciones de tacrolimus.

El alelo CYP3A5*1 es considerado el alelo silvestre y corresponde a la presencia de una A en la posición 6986 del gen CYP3A5. Los individuos con al menos una copia del alelo CYP3A5*1 expresan proteína CYP3A5 funcional a niveles significativos mayores al 50% del contenido hepático total del CYP3A4. ⁵⁷ Mientras que los portadores homocigotos del alelo CYP3A5*3 carecen de la proteína funcional (no expresores). La presencia del alelo CYP3A5*3 permite clasificar a cada paciente en el fenotipo metabolizador lento si es homocigoto CYP3A5*3/*3 y metabolizador intermedio o extensivo si es heterocigoto CYP3A5*1/*3 u homocigoto CYP3A5*1/*1 respectivamente. ⁵⁶

La frecuencia de los alelos CYP3A5*1 y CYP3A5*3 es variable de acuerdo al grupo étnico. Se estima que aproximadamente un 80% de los caucásicos son metabolizadores lentos (homocigotos para alelo CYP3A5*3) mientras que el 30% de los asiáticos y un 70% de los individuos de ascendencia africana son metabolizadores intermedios o rápidos. ⁵⁷

2.3.6.2 Gen CYP3A4 y su polimorfismo.

En CYP3A4 se han identificado cinco cambios o polimorfismos de un solo nucleótido (SNPs) en la región promotora y aproximadamente 20 SNPs dentro de la región codificadora. El genotipo silvestre CYP3A4*1 contiene una A (Alanina) en la posición -290 (A-290) y se le llamó CYP3A4*1 por haber sido el primer genotipo identificado. Su presencia en caucásicos se encuentra por arriba del 80%. El polimorfismo más estudiado es el cambio de A por G: -290A>G, llamado CYP3A4*1B que es una transición en la región reguladora 5'.

La frecuencia de este cambio es 4% en caucásicos y 67% en negros. No se han encontrado variantes en chinos ni japoneses a pesar de su búsqueda. En mexicanos existe el reporte de Reyes-Hernández y colaboradores, en donde describe que el

polimorfismo se encuentra presente en un 6 a 8.8% en una población abierta mestiza del Distrito Federal ^{58, 65} y 8.0% en Tepehuanos. ^{65, 66}

El efecto de dichos polimorfismos ha sido controvertido. Se ha postulado que la presencia de CYP3A4*1B aumenta la actividad enzimática, y algunos experimentos *in vitro* han mostrado que el cambio puede provocar un aumento en la transcripción que teóricamente resultaría en una mayor producción de proteína y por ende una mayor actividad enzimática *in vivo*. ⁵⁹ Hesselink et al, en 2003 por ejemplo, identificaron que la expresión de CYP3A4*1B en sus pacientes requirió mayor dosis de tacrolimus, pero no de CsA. Otro estudio por el mismo autor utilizando un modelo de farmacocinética doble compartamental también demuestra un mayor metabolismo en pacientes con CYP3A4*1B. ^{63, 67} Sin embargo otros estudios incluso de los mismos autores contradicen estos hallazgos al no identificar efecto significativo de esta variante sobre los requerimientos de la dosis. ^{68, 69} A nivel mundial los resultados hasta el momento son escasos y poco concluyentes ⁷⁰, no se ha determinado en la población Mexicana el efecto de este polimorfismo en la concentración de tacrolimus.

Este polimorfismo de un solo nucleótido en la región promotora del gen (-392 A>G) y denominado CYP3A4*1B se ha relacionado con un requerimiento mayor de la dosis del fármaco ya que los portadores de este alelo presentan mayor cantidad de proteína CYP3A4 funcional. Otro polimorfismo recientemente descrito es el CYP23A4*22. ⁶⁹ Sin embargo, ninguno de estos polimorfismos ha mostrado de forma consistente una relación con la variabilidad en la dosis de tacrolimus en comparación con el polimorfismo del gen CYP3A5 antes mencionado. Se han identificado también polimorfismos de un solo nucleótido en el gen ABCB1 que codifica a la P-glicoproteína. Los polimorfismos más estudiados son 3435 C>T y 2677 G>T/A. Sin embargo, los resultados han sido contradictorios mostrando impacto escaso o limitado de estos SNP sobre los niveles en sangre de tacrolimus.

^{69, 48}

2.3.7 Dosificación y monitorización del tratamiento con tacrolimus

Tacrolimus tiene una gran variabilidad farmacocinética que depende, en parte, de la presencia de polimorfismos en genes que codifican para las enzimas que participan en su metabolismo, así como de otros factores como el tipo de trasplante, función renal y hepática basales, uso concomitante de corticoesteroides, edad y etnia del paciente, el tiempo después del trasplante, nivel de albúmina, hematocrito y la administración de alimento. Por lo tanto, la dosificación de este medicamento también es variable; según datos obtenidos del estudio Symphony, la dosis recomendada inicial es de 0.1-0.3 mg/kg/día. Dosis bajas de 0.1 mg/kg/día mostraron mejores desenlaces clínicos en cuanto a supervivencia del injerto, tasa de rechazo y función renal comparado con dosis bajas de sirolimus o ciclosporina.

71

La monitorización terapéutica del tacrolimus inicia después del trasplante renal para facilitar la dosificación y asegurar adecuados niveles sanguíneos del medicamento. El parámetro más ampliamente utilizado es la medición de la concentración del fármaco en sangre total (C₀), el cual se realiza 12 horas después de su administración y tiene una buena correlación con el área bajo la curva de concentración.⁴¹ Los niveles sanguíneos recomendados son diferentes de acuerdo al tiempo posterior al trasplante; en el primer mes son de 10-15 ng/ml, hasta el tercer mes entre 10 a 12 ng/ml. Del cuarto al sexto mes entre 8 y 10 ng/ml, del séptimo al doceavo mes entre 6 y 10 ng/ml. A partir del año se sugiere mantener niveles entre 6 y 8 ng/ml.⁷²

Lograr y mantener niveles sanguíneos adecuados de acuerdo al tiempo del trasplante es importante por la relación existente entre toxicidad, rechazo de injerto y los niveles C₀ de tacrolimus.⁷³ La estrategia terapéutica ante la toxicidad consiste en disminuir la dosis o incluso suspender el tratamiento con tacrolimus, lo cual se asocia a un riesgo incrementado de rechazo agudo y de lesión inumonológica subclínica. Los eventos de rechazo a largo plazo incrementan el riesgo de disfunción crónica y pérdida de injerto. Por lo tanto, la monitorización terapéutica y la

individualización de la dosis de tacrolimus son fundamentales para el pronóstico del injerto a corto y largo plazo.⁷⁴

Aunque existe una fuerte asociación entre los niveles sanguíneos de tacrolimus y la nefrotoxicidad, los efectos tóxicos a nivel renal se pueden observar aún en presencia de niveles adecuados (4-6 ng/ml), esta discrepancia puede ser explicada por los efectos de diferentes factores clínicos y genéticos en el metabolismo del fármaco. Algunos factores bioquímicos y clínicos como hematocrito, albúmina, edad, género, índice de masa corporal y absorción intestinal han sido propuestos como los más significativos. Los polimorfismos en los genes CYP3A4 y CYP3A5 son las variables genéticas mejor estudiadas que se han relacionado con la variabilidad en la respuesta farmacodinámica.⁷⁵

2.3.8 Nefrotoxicidad por tacrolimus, alteraciones clínicas y bioquímicas

Tacrolimus es considerado actualmente la piedra angular del tratamiento inmunosupresor ya que ha mejorado de forma considerable la supervivencia del injerto renal en el primer año pos-trasplante al disminuir la tasa de rechazo agudo.⁷⁵

2.3.8.1 Nefrotoxicidad

Su estrecho margen terapéutico somete al paciente a diferentes efectos adversos relacionados con la mayor o menor exposición a niveles del medicamento en sangre y suponen una amenaza para la sobrevida del injerto a largo plazo. Uno de los efectos adversos más frecuentes es la nefrotoxicidad, la cual puede ser aguda o crónica y ha sido reportada con incidencias del 17 al 50% para la aguda y de 14.7 a 24 % para la crónica.⁷⁵ Hasta hace algunos años la ciclosporina era el inhibidor de calcineurina más utilizado, por lo que la información con la que se cuenta sobre la nefrotoxicidad pertenece a este fármaco y se considera que tacrolimus se comporta de forma similar.

La nefrotoxicidad por tacrolimus puede presentarse de forma aguda manifestada como oligoanuria o elevación de creatinina. Los principales mecanismos asociados son la vasoconstricción de la arteriola aferente y el daño tubular directo, los cuales son secundarios a un aumento de factores vasoconstrictores como endotelina, tromboxano, activación de sistema renina angiotensina y disminución de vasodilatadores como prostaglandina E2, prostaciclina y óxido nítrico. Este tipo de nefrotoxicidad se considera funcional, reversible y es común que se presente en el periodo postquirúrgico temprano en el cual se utilizan dosis más altas del medicamento.

Los hallazgos histológicos de la nefrotoxicidad aguda por inhibidores de calcineurina comprenden la arteriopatía aguda manifestada solo por disfunción renal sin alteraciones histológicas, la tubulopatía toxica asociada a la presencia de vacuolización isométrica del citoplasma de las células tubulares, hallazgo inespecífico y que no se ha relacionado con progresión a nefrotoxicidad crónica, la presencia de cuerpos de inclusión cercanos a las vacuolas que corresponden a mitocondrias gigantes, las cuales tampoco son un hallazgo específico y la microangiopatía trombótica.⁷⁶

La nefrotoxicidad crónica por inhibidor de calcineurina ha sido considerada el talón de Aquiles de los regímenes inmunosupresores actuales.⁸⁹ Nankivell et al en su estudio prospectivo de 120 pacientes con trasplante renal y pancreático en quienes se realizaron biopsias de injerto 10 años después del trasplante encontró que el 100% de los pacientes habían desarrollado signos de toxicidad crónica por ciclosporina o tacrolimus.²⁴

Por lo tanto, se concluyó que la nefrotoxicidad crónica por inhibidor de calcineurina era una de las causas principales de daño histológico y deterioro progresivo de la función renal a largo plazo.⁷⁷

La etiología de la nefrotoxicidad crónica por inhibidor de calcineurina comprende cambios hemodinámicos y efectos tóxicos directos en las células tubulares. El daño crónico afecta de forma irreversible a todos los compartimentos del riñón: vasos, túbulo-intersticio y glomérulos. El daño vascular se manifiesta en la biopsia renal como depósitos hialinos nodulares en la media de las arteriolas aferentes y se denomina hialinosis arteriolar. Estos depósitos hialinos llegan a ser lo suficientemente grandes para causar un estrechamiento de la luz arteriolar causando hipoxia e isquemia. Los cambios tubulointersticiales se caracterizan por fibrosis intersticial en banda y atrofia tubular, los cuales son secundarios a la hipoxia-reoxigenación que condicionan formación de radicales libres de oxígeno que causan muerte celular y apoptosis. A nivel glomerular el principal hallazgo es la glomeruloesclerosis global asociada a la arteriopatía severa, puede presentarse también glomérulos atubulares y glomeruloesclerosis focal y segmentaria secundaria a hiperfiltración.⁷⁶

Los principales factores de riesgo para presentar nefrotoxicidad por tacrolimus son la sobre-exposición a niveles elevados del fármaco en sangre a nivel sistémico, polimorfismos de los genes CYP3A4, CYP3A5 y ABCB1, uso de fármacos que interactúan con enzimas y transportadores comunes al metabolismo de tacrolimus (corticoides, antibióticos, antiarrítmicos, antifúngicos y antiepilépticos), uso de AINES, edad mayor del donador, depleción de sal y uso de diuréticos.⁶¹ Sin embargo, no se han identificado de forma prospectiva predictores clínicos para identificar a los pacientes con mayor riesgo de presentar nefrotoxicidad por inhibidores de calcineurina.⁷⁴

2.3.8.2 Hipertensión

Causada por la vasoconstricción renal y la retención de sodio, generalmente se desarrolla dentro de las primeras semanas de tratamiento. La estimulación del cotransportador de cloruro de sodio renal es un mecanismo potencial por el cual los inhibidores de la calcineurina pueden mediar este efecto⁷⁸. La elevación de la presión arterial generalmente responde a la reducción de la dosis, pero se pueden

requerir medicamentos antihipertensivos. Los bloqueadores de los canales de calcio generalmente se consideran los medicamentos de elección. El inicio de diltiazem debe provocar una reducción inmediata de la dosis de tacrolimus y un control cuidadoso de las concentraciones en sangre. Diltiazem también revierte la vasoconstricción aguda inducida por la ciclosporina; Sin embargo, no hay pruebas convincentes de que esto prevenga la nefrotoxicidad crónica de la ciclosporina.

2.3.8.3 Neurotoxicidad

Asociada con la ciclosporina y el tacrolimus puede manifestarse de la siguiente manera ⁷⁹:

- El temblor leve es común con el uso de ciclosporina y tacrolimus, y se presenta en el 35 a 55 por ciento de los pacientes. Puede mejorar a pesar de la terapia continua.
- En raras ocasiones, los pacientes desarrollan cefalea severa, anomalías visuales y convulsiones. Este síndrome se asocia con hipertensión aguda y se asemeja a la encefalopatía hipertensiva. La leucoencefalopatía posterior generalmente se observa en las imágenes del cerebro. ⁸⁰
- Se han notificado mutismo acinético, encefalopatía, convulsiones, anomalías neurológicas focales e incluso coma con tacrolimus intravenoso. ⁸¹
- Se ha informado un síndrome de dolor por inhibidor de la calcineurina tanto con ciclosporina como con tacrolimus. ⁸² Este síndrome se caracteriza por dolor simétrico en las extremidades inferiores, que generalmente afecta los huesos de los pies, los tobillos y las rodillas. La resonancia magnética puede mostrar un edema medular. Los síntomas generalmente mejoran con el cese del fármaco y / o el uso de bloqueadores de los canales de calcio.

Los efectos secundarios neurológicos suelen ser reversibles después de un cambio de la administración intravenosa a una preparación oral, la reducción de la dosis del fármaco o la interrupción del mismo. ⁷⁹

2.3.8.3 Anomalías metabólicas

EL tacrolimus se han asociado con las siguientes anomalías metabólicas:

- Intolerancia a la glucosa y diabetes mellitus
- Hiperlipidemia
- Hiperuricemia
- Hipercalemia
- Hipomagnesemia ⁸³

2.3.8.4 Infecciones

Las infecciones bacterianas, virales con mayor frecuencia, citomegalovirus (CMV) y las infecciones por hongos a menudo se desarrollan en los receptores de trasplantes que reciben terapia inmunosupresora combinada. En un gran ensayo de receptores de trasplante de hígado que comparó la eficacia y la seguridad de los regímenes inmunosupresores basados en ciclosporina y tacrolimus, la infección, la sepsis y la enfermedad por CMV ocurrieron en aproximadamente el 40, 20 y 15 a 25 por ciento de los pacientes, respectivamente. ⁸⁵

2.3.8.5 Riesgo de malignidad

Está asociado con un mayor riesgo de cáncer de piel de células escamosas y trastornos linfoproliferativos benignos o malignos. Puede producirse una regresión espontánea del linfoma si el medicamento se suspende de manera temprana.

El nivel general de inmunosupresión parece ser el principal factor que aumenta el riesgo de malignidad postrasplante. Sin embargo, la evidencia de modelos animales sugiere que puede promover la progresión del cáncer, principalmente a través de la producción de factor de crecimiento transformante (TGF) -beta. In vitro, el tratamiento con ciclosporina de una línea celular de adenocarcinoma normalmente no invasiva indujo un fenotipo invasivo; además, la ciclosporina promovió el crecimiento tumoral en animales inmunodeficientes. ⁸⁴ Tanto los cambios in vitro como los in vivo se evitaron mediante la administración de anticuerpos anti-TGF-beta.

2.4 Antecedentes

Yi-Ping et al, reportó en su metaanálisis en donde fueron involucrados a 268 pacientes pediátricos con trasplante renal, representando en un 95% en frecuencia los portadores del polimorfismo CYP3A5*1, además con significancia estadística en pacientes con dosis diaria media de Tacrolimus entre los portadores y los que no expresaban dicho polimorfismo por diferencia de medias estandarizadas 0.44, IC del 95% a 0.68 ($p < 0,001$).⁸⁶

Sireen Shilbayeh et al, en su estudio realizado del 2007 al 2009 donde se obtuvieron un total de 38 pacientes pediátricos con trasplante renal, identificando respectivamente por frecuencia los genotipos CYP3A5*1/*1 (5.3%), CYP3A5*1/*3 (10.5%) y CYP3A5*3/*3 (84.2%), teniendo como resultado estos genotipos similares a los descritos en pacientes caucásicos y japoneses. Sin embargo, estas frecuencias genotípicas eran diferentes a las poblaciones afroamericanas que han sido reportado.⁸⁷

En un estudio realizado en hospitales de la capital de nuestro país, se encontró que el 52.2% de los pacientes son metabolizadores lentos, 41.6% son metabolizadores intermedios y 6.2% metabolizadores extensivo.⁸⁸

Se han realizado estudios retrospectivos que han evaluado la dosificación de tacrolimus con base a la presencia del polimorfismo del gen CYP3A5, Haufroid et al sugieren utilizar una dosis inicial de 0.15 mg/kg/día en portadores del alelo CYP3A5*1 y dosis más baja en los homocigotos para el alelo CYP3A5*3 de 0.075 mg/g/día.⁸⁹

Hesselink et al evaluó la capacidad de optimizar la dosis inicial de tacrolimus con base en el genotipo CYP3A5 se encontró que en los pacientes en quienes se adaptó la dosificación de acuerdo al genotipo se lograron niveles meta después de tres días en mayor proporción que en el grupo control (43.2% vs 29.1%, $P = 0.03$), además

de que se requirieron menor número de ajustes a la dosis y menor tiempo para alcanzar niveles C0 meta. ⁷³ Los pacientes portadores de al menos una copia del alelo CYP3A5*1 requieren una dosis de tacrolimus 50% mayor que los pacientes con el genotipo CYP3A5*3/*3 para alcanzar los mismos niveles sanguíneos. ⁹⁰

En nuestro país la variabilidad en la farmacocinética de inmunosupresores se documentó por primera vez por Palma-Aguirre y cois en 1997, quienes observaron en 23 individuos mexicanos sanos que la biodisponibilidad de CsA oral era mayor que la reportada en estadounidenses y europeos en condiciones similares, sugiriendo la posible existencia de factores étnicos en la farmacocinética de CsA. ⁹¹

Después se describe en un estudio la frecuencia de la variante más estudiada del gen CYP3A4 (CYP3A4*1B) en población mestiza sana del D.F. y en un grupo étnico sano del Norte (65), y en otra investigación reportan la frecuencia de la variante más estudiada del gen CYP3A5 (CYP3A5*3) en pacientes adultos y niños con trasplante renal del D.F. abordando su impacto en el requerimiento de dosis de tacrolimus. ⁸⁸ El primer trabajo da a conocer que nuestra población es portadora de esas variantes en una frecuencia que difiere de lo reportado en otros países (CYP3A4 en el 8 a 8.8% en mexicanos, diferente del 20-60% en poblaciones asiáticas o africanas). El segundo nos informa que la variante CYP3A5*3 es mucho más frecuente (más del 60%) e influye en el requerimiento de dosis del inmunosupresor.

Recientemente se observó que los pacientes mexicanos con trasplante renal que utilizan el tacrolimus, como parte de la terapia de mantenimiento del injerto exhiben una gran variabilidad en sus niveles del medicamento en sangre y que a esa variabilidad contribuyen, tanto la variante CYP3A5*3 como la formulación (patente o genérico). ⁹² Otro estudio realizado por Arreóla-Guerra y cois, observaron que las dificultades para lograr el nivel de tacrolimus deseado influyen profundamente en la presentación de rechazo en paciente adulto con injerto renal. ⁹³

En el estudio de Metalidis et al, realizado a cabo en 103 pacientes con trasplante renal a los que se les realizó biopsia renal y determinación por inmunohistoquímica de la expresión de CYP3A5 se demostró que la expresión intrarrenal de CYP3A5 está asociada a la aparición de novo de hialinosis arteriolar nodular como signo de nefrotoxicidad crónica. ⁹⁴

Los estudios que han evaluado la relación entre el genotipo CYP3A5 y la nefrotoxicidad aguda y crónica han aportado resultados contradictorios. ⁹⁰

Glowacki et al en su estudio de 209 pacientes con seguimiento a dos años, encontraron nefrotoxicidad crónica documentada por biopsia en un 50% de los homocigotos para el alelo CYP3A5*3 comparado con los metabolizadores intermedios o extensivos. ⁹⁵

En el estudio de Quteineh et al, que incluyó a 136 pacientes no se encontró asociación entre el polimorfismo del CYP3A5 y la nefrotoxicidad. ⁹⁶

En un meta-análisis de estudios observacionales que incluyó 363 pacientes trasplantados renales con seguimiento a 10-12 meses no se encontró asociación entre el polimorfismo del gen CYP3A5 y la nefrotoxicidad aguda, mientras que para nefrotoxicidad crónica se incluyeron 867 pacientes con seguimiento a 50 meses y se encontró un riesgo incrementado en aquellos portadores de al menos una copia del alelo CYP3A5*1 (OR=2.42, IC 95%1.51-3.9; I²=0%). En este mismo grupo de pacientes se encontró un riesgo incrementado de rechazo agudo (OR 1.32, IC 95% 1.02-1.71, I²=3%). ⁹⁷

Se concluye que el riesgo incrementado de nefrotoxicidad en los portadores del alelo silvestre es secundario al acumuló de metabolitos de tacrolimus debido al mayor metabolismo del fármaco en los pacientes con la enzima CYP3A5 funcional en comparación con los portadores del genotipo CYP3A5*3/*3 (no expresores). ⁹⁰

3 JUSTIFICACIÓN

La magnitud de la enfermedad renal crónica es un problema de salud pública con alta prevalencia e incidencia a nivel mundial, en México y en Jalisco. El trasplante renal constituye la mejor opción de terapia sustitutiva para pacientes con ERCT debido a que mejora la calidad de vida, disminuye la mortalidad y los costos para el sistema de salud. Los avances en diversos campos de la medicina del trasplante renal han logrado disminuir de forma significativa las complicaciones tempranas logrando una supervivencia de los injertos renales al año del 90%. Sin embargo, los resultados a largo plazo no se han modificado manteniéndose una tasa de pérdida de injerto de 4% por año. La pérdida tardía de injerto renal tiene diversas causas, destacando los episodios de rechazo agudo tardío, rechazo crónico mediado por anticuerpos y la nefrotoxicidad por inhibidores de calcineuria.

El trascendencia se demuestra en el éxito del trasplante renal como terapia sustitutiva de elección se debe en gran parte a los avances realizados en el campo del tratamiento inmunosupresor. De los medicamentos disponibles en nuestro medio, el grupo de los inhibidores de la calcineurina ha sido considerado la piedra angular del tratamiento. Dentro de este grupo se encuentra tacrolimus, el cual es utilizado ampliamente en terapia de inducción y mantenimiento siendo variable su dosis y eficacia terapéutica entre cada individuo. Se ha demostrado que un porcentaje considerable de esta variabilidad farmacocinética se debe a la presencia de un polimorfismo del gen CYP3A5, el cual codifica para la isoenzima citocromo P450-3A5 que es la responsable del metabolismo del fármaco a nivel hepático, intestinal y renal.

La inmunosupresión es la piedra angular en el trasplante de órganos y tejidos. La CsA y el tacrolimus son los inhibidores de calcineurina más utilizados como inmunosupresores en trasplante. Su utilización presenta un rango terapéutico muy estrecho, debido a gran variabilidad en la farmacocinética entre individuos. Las causas de esa variabilidad aún no están bien entendidas, pero hay evidencias de

que existen factores demográficos y biológicos que intervienen. Por ejemplo, la biodisponibilidad tanto de CsA como de tacrolimus es más elevada en niños y personas de raza negra lo que implica un mayor nivel del medicamento circulante con dosis menores. A partir de esta variabilidad entre individuos y entre poblaciones, se han investigado los diversos factores genéticos que influyen en la biodisponibilidad de los inmunosupresores utilizados en trasplante. Ambos, CsA y tacrolimus se metabolizan por los citocromos CYP3A4 y CYP3A5 y las variaciones en la secuencia de los genes que los codifican, han sido motivo de intenso estudio por su posible efecto sobre la actividad metabolizadora de la proteína.

La variante más estudiada es CYP3A5*3 se ha asociado a una disminución en la actividad metabolizadora, debido a que el cambio de A>6 en la posición 6986 del gen, afecta el empalme del RNAm con el consecuente corrimiento del marco de lectura, originando un codón de terminación y con ello la terminación prematura de la proteína. Las personas portadoras de la variante CYP3A5*3 son consideradas pobres metabolizadoras, por lo que al usar tacrolimus podrían tener niveles elevados en sangre y estar más expuestos a los efectos adversos del medicamento, entre ellos la nefrotoxicidad. La variante CYP3A4*1B también ha sido muy estudiada pero el efecto sobre la actividad del citocromo es controvertida. En general la información que han arrojado los estudios de la participación de los citocromos CYP3A4 y CYP3A5 en trasplante, apoya que cada población podría ser distinta en términos de su capacidad para metabolizar la CsA y el tacrolimus.⁹⁸ Como consecuencia, la biodisponibilidad y nivel del medicamento en sangre, que normalmente se utiliza como rutina para monitorear la inmunosupresión en el paciente, también podría ser diferente en cada población. No todos los estudios han encontrado una relación directa entre la presencia de las variantes CYP3A4 o CYP3A5 y esa variabilidad en el requerimiento de dosis o nivel del inmunosupresor en sangre, lo que deja dudas sobre el impacto que tiene el factor farmacogenético en la respuesta al trasplante bajo un esquema de inmunosupresión particular. Esto podría señalar, por un lado, que la variabilidad inicialmente observada podría estar

dada, no por una, sino diversas variantes en la secuencia de los genes codificantes de los citocromos.

Por otro lado la vulnerabilidad de los estudios depende de múltiples factores como el diseño, cantidad de pacientes analizados y el tipo de medicamento utilizado ya sea de patente o genérico, difieren en los diferentes trabajos, provocando que la información no sea consistente con lo publicado. A pesar de esto, pero basados en información propia, diferentes países reconocen la variabilidad en la farmacocinética por el factor genético e incluso lo consideran ya de forma rutinaria para el manejo de la inmunosupresión. De tal manera que para muchos países el manejo de la inmunosupresión basada en los genotipos CYP3A5 forma parte de las guías de manejo del paciente trasplantado por lo que esta situación es vulnerable de resolverse.⁹⁹

Los estudios en población mexicana en esta área son limitados y de diferente diseño como ya se describió,^{65, 88, 92, 93} lo que no ha permitido entender por completo qué pasa a este respecto con la población mexicana, y si las recomendaciones internacionales para el manejo de la inmunosupresión, serán igualmente efectivas en nuestro país como lo son en Estados Unidos o Europa. Las guías clínicas de manejo institucionales⁹⁹ en nuestro país están basadas en resultados de estudios en poblaciones diferentes a la nuestra lo que, si bien son base para guiar, no necesariamente han mostrado la efectividad esperada; desafortunadamente los resultados clínicos basados en estas guías también son escasos en México¹⁰⁰

Otro inconveniente de los trabajos mencionados es el tamaño de muestra analizada, lo que apoya la realización de una investigación con el mayor tamaño de muestra posible, para validar los resultados encontrados, de ser así, la simple genotipificación de los citocromos podría ser una guía para el médico tratante que considere incluso, qué dosis prescribir si el medicamento es de patente o genérico. No hay información sobre la participación de la variante CYP3A4*1B y los niveles

de tacrolimus en sangre en población mexicana pediátrica, tampoco existen estudios en nuestro país que analicen los haplotipos CYP3A4/CYP3A5.

El estudio es factible ya que se cuenta con un área especializada que atiende a estos pacientes: Consulta externa de Nefrología y Trasplante renal.

En el Centro Médico Nacional de Occidente, Guadalajara Jalisco se cuenta con el equipo de laboratorio necesario, así como el material y reactivos específicos para llevar a cabo el análisis de genotipificación.

Un estudio previo en población pediátrica con trasplante renal (2014-1302-42) facilitó la oportunidad de crear una genoteca y base de datos de pacientes trasplantados desde el 2009, logrando un banco de muestras y datos de cerca de 350 pacientes. Esta fue la fuente de muestras y datos para llevar a cabo esta propuesta.

Viabilidad y aplicabilidad: La variabilidad farmacocinética de tacrolimus condiciona que el paciente pueda estar expuesto a niveles bajos o altos del fármaco, lo cual favorece episodios de rechazo o efectos adversos antes mencionados que pueden tener consecuencias indeseables a largo plazo para la función del injerto. La determinación del polimorfismo del gen CYP3A5 y CYP3A4 en cada paciente aporta información sobre la capacidad para metabolizar el tacrolimus con el objetivo de personalizar la dosificación y prevenir de esta forma la nefrotoxicidad o los episodios de rechazo agudo. Además, conocer si la frecuencia de los polimorfismos de los genes CYP3A5 y CYP3A4 en una población tiene impacto sobre el tratamiento con tacrolimus y, por lo tanto, en la función del injerto renal a corto y largo plazo.

Conocer las variantes de los genes CYP3A4 y CYP3A5 permite identificar pacientes que tengan mayor riesgo de no alcanzar concentración óptima de este inmunosupresor y en consecuencia mayor riesgo de rechazo, o aquellos que tengan mayor riesgo de efectos adversos por metabolizar más lentamente el medicamento.

Esto ayuda a realizar el manejo personalizado de la inmunosupresión y tomar medidas adecuadas para disminuir la frecuencia de complicaciones que desencadenan la pérdida de injerto. El conocimiento de la intervención de las variantes genéticas de CYP3A en nuestro país, puede ser el paso inicial para buscar individualizar la dosis de tacrolimus, y así lograr dosis óptimas del medicamento en menor tiempo. Los niños muestran mayor variabilidad en las concentraciones del inmunosupresor por lo que son una población en donde se proporcionaría un mayor beneficio.

La estrategia para genotipificar los citocromos mencionados como parte del protocolo de trasplante, podría transferirse al laboratorio clínico.

El IMSS es la institución que más trasplantes realiza en el país, tanto en pacientes adultos como niños, los resultados podrían apoyar que el número de injertos funcionantes a largo plazo, también sean parte de la estadística del éxito de los programas de Trasplante en la institución.

4 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La enfermedad renal crónica es un problema de salud pública en todo el mundo con una creciente incidencia y prevalencia, que genera un alto costo en los diversos países. El trasplante renal es el tratamiento ideal en la población pediátrica debido a la calidad y tiempo de vida, así como a la reducción de los costos que esta genera.

El tratamiento inmunosupresor empleado en el trasplante renal consiste en combinaciones de fármacos de diferente mecanismo de acción, dentro de estos se encuentra tacrolimus que pertenece al grupo de los inhibidores de la calcineurina.

Se ha identificado una gran variabilidad en la farmacocinética de cada individuo, cuya causa no se ha determinado con certeza. La población pediátrica es más

vulnerable debido a la variación de la maduración biológica, cambios en parámetros fisiológicos conforme el desarrollo que pueden llevar a que las tasas de aclaramiento sean mayores a menor edad. La raza es otro factor que puede intervenir; como se ha descrito en múltiples estudios la raza negra presenta mayor biodisponibilidad, lo que implica una mayor concentración del medicamento circulante con dosis menores a diferencia de caucásicos.

El responsable de la biotransformación y metabolismo oxidativo es el sistema del citocromo P450 (CYP). El CYP3A es la familia de citocromos que más participa en el metabolismo de medicamentos, incluyendo el tacrolimus y la ciclosporina, específicamente el CYP3A4 Y CYP3A5 son las de mayor intervención en su metabolismo y depuración.

Este fármaco es utilizado en terapia de inducción y mantenimiento del trasplante renal, tiene un estrecho margen terapéutico y una variabilidad farmacocinética considerable. Hasta un 50% de esta variabilidad es atribuida a un polimorfismo de un solo nucleótido localizado en el intrón 3 del gen CYP3A5 (denominado alelo CYP3A5*3), gen que codifica para una isoenzima de la familia citocromo P450, que es la responsable del metabolismo del fármaco. También se ha involucrado el polimorfismo del gen CYP3A4.

La presencia de estos alelos condiciona la producción de proteína no funcional, por lo que se puede clasificar a los pacientes de acuerdo a tres genotipos; metabolizador lento (homocigotos CYP3A5*3/*3), metabolizador intermedio (heterocigotos CYP3A5*1/*3) o metabolizador extensivo (homocigotos CYP3A5*1/*1). Se ha demostrado que los metabolizadores intermedios y extensivos requieren hasta una dosis hasta un 50% mayor que los lentos. También se ha sugerido en algunos estudios que existe asociación entre la presencia del polimorfismo CYP3A5 y mayor riesgo de nefrotoxicidad.

Evaluar el impacto que tiene el polimorfismo del CYP3A5 en esta variabilidad a la respuesta al tratamiento con tacrolimus debe considerar las diferencias étnicas, ya que se ha reportado una prevalencia diferente del polimorfismo de acuerdo al grupo étnico. Hasta el momento son escasos los estudios realizados en población mexicana y del occidente del país sobre la frecuencia de este polimorfismo.

Por su parte, el CYP3A5*3 ha demostrado consistencia en su asociación con las concentraciones de tacrolimus en múltiples estudios. El menor requerimiento de dosis de medicamento para alcanzar concentración óptima del mismo, se ha observado en muchos grupos incluyendo población mexicana,⁸⁸ pero estos estudios no consideraron las concentraciones del inmunosupresor en sangre que es el indicador en el que se basa el médico tratante para determinar si la inmunosupresión del paciente es adecuada durante la vigilancia del injerto.

El efecto del polimorfismo en CYP3A4 ha sido controvertido, en algunos estudios se mostró que la expresión del alelo CYP3A4*1B en pacientes trasplantados presentó un mayor metabolismo requiriendo mayor dosis de tacrolimus, pero otros autores han observado resultados contradictorios. No existen estudios en población Mexicana que analice la participación de este gen en trasplante.

Por otra parte, aún no se ha demostrado que el resultado del trasplante mejore al considerar la dosis inicial del inmunosupresor de acuerdo al genotipo. Una posible causa es que en la mayoría de tales estudios no se consideró el ajuste de variables intervinientes en las concentraciones de tacrolimus siendo parte de sus deficiencias metodológicas. Por otro lado, la mayoría de estudios incluyendo el realizado en población mexicana⁸⁸ sólo han evaluado los efectos de variantes individuales. Ante la participación conjunta de los citocromos en el metabolismo de los medicamentos, es esperado que no uno sino múltiples polimorfismos puedan interactuar para producir un efecto combinado, por lo que es necesario el análisis que involucre las variantes de ambos genes tanto CYP3A4 como CYP3A5, además del análisis ajustado por variables intervinientes. Dadas las características especiales de

mestizaje de la población mexicana y las características clínicas del paciente pediátrico es necesario conocer si las variantes de CYP3A4 y CYP3A5 explican la variabilidad identificada en la concentración de tacrolimus en este grupo poblacional, lo cual ha llevado a la siguiente pregunta de investigación.

¿Cuál es la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus?

5 OBJETIVOS

5.1 Objetivo general

- Analizar la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas (neurotoxicidad, hipertensión, infecciones, malignidad) y bioquímicas (nefrotoxicidad, hiperuricemia, hiperlipidemia, hipercalemia, hipomagnesemia, hiperglucemia) en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus

5.2 Objetivos específicos

- Estudiar la variabilidad genética y su asociación con presencia de rechazo en pacientes con trasplante renal.
- Estudiar la variabilidad genética y su asociación con alteraciones clínicas (neurotoxicidad, hipertensión, infecciones, malignidad) y bioquímicas (nefrotoxicidad, hiperuricemia, hiperlipidemia, hipercalemia, hipomagnesemia, hiperglucemia) en pacientes con trasplante renal.
- Estudiar la variabilidad genética y su asociación con niveles de tacrolimus.
- Describir las frecuencias alélicas y genotípicas para los polimorfismos de tacrolimus (CYP3A5*3 y CYP3A4*1B) en los pacientes pediátricos con trasplante renal.

- Identificar las características sociodemográficas, clínicas y bioquímicas, de los pacientes pediátricos con trasplante renal de la UMAE Hospital de Pediatría CMNO, IMSS.
- Enumerar los diferentes esquemas de inmunosupresión de inducción y mantenimiento utilizados en los pacientes pediátricos con trasplante renal.

6 HIPÓTESIS

Los pacientes portadores del polimorfismo CYP3A5*3 y el alelo silvestre CYP3A4*1 presentan menos episodios de rechazo de injerto renal y un mayor número de alteraciones clínicas y bioquímicas por ser metabolizadores lentos.

7 MATERIAL Y MÉTODOS

7.1 Tipo de diseño del estudio

Cohorte ambispectiva

7.2 Universo de estudio

La selección de muestras, captación de datos, y análisis de variables asociadas se realizó en el área de nefrología pediátrica en la UMAE Hospital de Pediatría, Centro Médico Nacional de Occidente, del Instituto Mexicano del Seguro Social. Av. Belisario Domínguez No. 735 Col. Independencia. CP 44340, Guadalajara, Jalisco.

7.3 Tamaño de Muestra

No existe tamaño de muestra por ser estudio de tipo cohorte, por lo que se trata de muestra por conveniencia.

7.3.1 Muestreo

Se analizaron las muestras de la genoteca almacenada correspondiente a los pacientes que dieron autorización en el proyecto con registro 2014-1302-42, para que su muestra de ADN sobrante se utilizara en otros estudios de trasplante. Se tomaron muestras a los pacientes con trasplante renal que acuden a consulta y que no se encuentran integrados en la genoteca, se les invitó a participar, se solicitó firmar el consentimiento informado y se tomó una muestra (parte del sobrante de sus exámenes de rutina) para la obtención del ADN.

7.4 Forma de selección o asignación de los sujetos de estudio a los grupos de estudio

Se incluyeron todas las muestras de la genoteca del proyecto con registro 2014-1302-42, además se invitaron a participar en el estudio aquellos pacientes de los que no se cuente con ADN en la genoteca, que estén con tratamiento sustitutivo renal de tipo trasplante renal en tratamiento con tacrolimus que acuden a consulta en la UMAE Hospital de Pediatría de CMNO.

7.5 Criterios de selección

7.5.1 Criterios de Inclusión

- Trasplantados renales de la UMAE Hospital de Pediatría de CMNO tratados con tacrolimus por lo menos 6 meses posterior al trasplante renal.
- Muestras de la genoteca del proyecto con registro 2014-1302-42 con datos clínicos y bioquímicos incluyendo niveles de tacrolimus.

7.5.2 Criterios de Exclusión

- Que no deseen participar
- No uso de tacrolimus
- Información incompleta en expediente
- Muestra en condiciones subóptimas para la determinación de los polimorfismos
- Mal apego a tratamiento (definido por anexo 4)

7.5.3 Eliminación

- Defunción
- Cambio de inmunosupresor antes de 6 meses posterior al trasplante renal
- Que decidan salir del estudio
- Información incompleta en expediente
- Pérdida de derechohabiencia
- Muestras inadecuadas para la amplificación de ADN
- Pacientes con función hepática anormal en el momento de la medición de tacrolimus, determinado por el registro de sus pruebas hepáticas en expediente con fecha igual a la cuantificación del tacrolimus.

7.6 Temporalidad

- Captación de datos: mayo a agosto 2019
- Tiempo de realización de proyecto: marzo 2018 a octubre 2019

7.7 Variables

- Dependiente: Presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas
- Independiente: Presencia de polimorfismos

7.7.1 Definición de las variables

7.7.1.1 Variantes polimórficas de CYP3A4 Y CYP3A5

De acuerdo con los reportes de la literatura se considera alelo silvestre a CYP3A4*1 y CYP3A5*1 y alelo polimórfico CYP3A4*1B y CYP3A5*3. El alelo CYP3A4*1B aparentemente provoca un aumento en el metabolismo por lo que se encontrarían concentración baja del inmunosupresor en sangre y requerimiento mayor de dosis para alcanzar la concentración terapéutica a los 6 meses en población pediátrica (del cuarto al sexto mes entre 8-10 ng/ml).⁹⁹

El alelo polimórfico CYP3A5*3 da lugar a una proteína corta no funcional, por lo que el inmunosupresor podría acumularse con menor dosis comparado con el genotipo silvestre. La concentración del inmunosupresor en sangre, contrario a CYP3A4*1B, se encontrará elevado respecto a la concentración esperada a los 6 meses postrasplante.

| Tabla 1 Definición de variables genéticas | |
|--|-------------------------------------|
| Gen | Definición |
| CYP3A5*1 | Metabolizador rápido Silvestre |
| CYP3A5*3 | Metabolizador lento Polimórfico |
| CYP3A4*1 | Metabolizador lento Silvestre |
| CYP3A4*1B | Metabolizador rápido Polimórfico |

7.7.1.2 Concentración de tacrolimus

Se consideraron para este estudio los registros a los niveles posteriores a 6 meses postrasplante que es el periodo en que los pacientes ya ingieren la dosis ajustada de mantenimiento. Como dato informativo, todas las muestras se procesan

en forma rutinaria en el mismo laboratorio del hospital con el equipo de inmunoensayo AxSYM System, a las 12 horas de ingerido el medicamento (llamado CO). La concentración se reporta en ng/ml.

- Dependiente: Presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas
- Independiente: Presencia del polimorfismo
- Intervinientes: Los datos de las variables intervinientes son edad (receptor y donador), sexo (donador y receptor), índice de masa corporal, rechazo del injerto, uso de medicamentos relacionados al metabolismo del tacrolimus, dosis de tacrolimus, uso de antimicóticos, antibióticos, filtración glomerular, diagnóstico de la biopsia renal los que la tengan, compatibilidad HLA.

7.7.2 Operacionalización de las variables

Tabla 2 Operacionalización de las variables

| Variable, descripción | | Tipo | Escala | Unidad de medición | Definición operacional | Prueba estadística |
|---------------------------------------|--|--------------|----------|----------------------------|---|------------------------|
| Alelo del gen CYP3A5 CYP3A4 | CYP3A4*1 CYP3A4*1B CYP3A5*1 CYP3A5*3 | Cualitativa | Nominal | Dicotómica Nominal | Si No | Frecuencia, porcentaje |
| Nefrotoxicidad aguda por tacrolimus | Vacuolización isométrica, arteriopatía aguda o microangiopatía trombótica evidenciada por biopsia de injerto renal | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Sin Nefrotoxicidad aguda 1=Con Nefrotoxicidad aguda | Frecuencia, porcentaje |
| Nefrotoxicidad crónica por tacrolimus | Atrofia tubular y fibrosis en banda, hialinosis arteriolar de la media y glomerulosclerosis evidenciada por biopsia de injerto renal | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Sin Nefrotoxicidad crónica 1=Con Nefrotoxicidad crónica | Frecuencia, porcentaje |
| Niveles en sangre total de Tacrolimus | Nivel de Tacrolimus en sangre total tomado 12 horas posterior a la dosis nocturna y medido por inmunoensayo | Cuantitativa | Continua | ng/ml | Promedio de los últimos tres niveles de tacrolimus | Media ± DE |
| Creatinina (anexo 6) | Producto de desecho de la creatina, formado en su mayoría en el músculo a través de la eliminación no enzimática de agua del fosfato de creatina. Se excreta en la orina a través del glomérulo renal. Se eleva si existe nefrotoxicidad | Cuantitativa | Continua | mg/dL | Promedio | Media ± DE |
| Tasa de Filtrado Glomerular | Volumen de fluido filtrado por unidad de tiempo desde los capilares glomerulares renales hacia el interior de la cápsula de Bowman | Cuantitativa | Continua | ml/min/1.73 m ² | Promedio | Media ± DE |
| Disfunción de injerto renal | Elevación de la cr 20% de la basal posterior al trasplante renal | Cualitativa | Nominal | dicotómica | Si No | Frecuencia, porcentaje |

| | | | | | | |
|-----------------------------------|--|--------------|----------|------------|----------------|---------------------------|
| Rechazo injerto renal | Biopsia injerto renal: Celular Humoral | Cualitativa | Nominal | Dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Peso | El peso corporal actual medido en una báscula. | Cuantitativa | Continua | kg | No aplica | Media + DE |
| Talla | Distancia del piso al plano más alto de la cabeza medido en el sujeto de pie con un estadímetro | Cuantitativa | Continua | m | No aplica | No aplica |
| IMC | Razón que se establece al dividir el peso corporal expresado en kilogramos entre la estatura expresada en metros elevada al cuadrado | Cuantitativa | Continua | kg/m2 | Promedio | Media ± DE |
| Consumo de AINES | Consumo de medicamentos antiinflamatorios no esteroideos | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Consumo de antihipertensivos | Consumo de medicamentos antihipertensivos con metabolismo por CYP3A como verapamilo, diltiazem, nicardipino y nifedipino | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Consumo de fármacos antimicóticos | Consumo de medicamentos antimicóticos con metabolismo por CYP3A como fluconazol, itraconazol, ketoconazol y clotrimazol | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Consumo de antibióticos | Consumo de medicamentos antibióticos con metabolismo por CYP3A como claritromicina, eritromicina, , quinupristina/daldopristina, rifampicina, nafcilina, rafabutina e isoniazida | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Consumo de anticonvulsivantes | Consumo de medicamentos anticonvulsivantes con metabolismo por CYP3A como carbamazepina, fenobarbital y fenitoina | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Consumo de procinéticos | Consumo de medicamentos procinéticos con metabolismo por CYP3A como metoclopramida y cisaprida | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Consumo de corticoides | Consumo de prednisona o deflazacort | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Consumo de antiácidos | Consumo de medicamentos antiácidos como Omeprazol | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |

| | | | | | | |
|---|---|--------------|----------|------------|---------------------|---------------------------|
| Hipertensión | Presión arterial de la percentil 95 para la edad, talla y sexo | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Neurotoxicidad/ Temblor | Presencia de temblor fino al extender extremidades distales Crisis convulsivas Dolor en extremidades inferiores Leucoencefalopatía | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Albúmina (anexo 6) | Principal proteína de la sangre sintetizada en el hígado | Cuantitativa | Continua | g/dL | Promedio | Media ± DE |
| Hiperlipidemia (anexo 6) | Colesterol total mas de 200 LDL mayor de 130 | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Hiperglucemia (anexo 6) | Glucosa en ayuno mayor a 100 a 105 | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Acidosis metabólica (anexo 6) | pH sérico menor de 7.35 y HCO ₃ menor a 20 (clasificar de acuerdo a la edad) | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Hipercalemia (anexo 6) | Electrolito que se eleva en presencia de toxicidad por tacrolimus K sérico mayor a 5.3 mEq/L (clasificar de acuerdo a la edad) | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Hipomagnesemia (anexo 6) | Electrolito que disminuye en presencia de toxicidad por tacrolimus Menor a 1.5 mg/dl | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Hiperuricemia (anexo 6) | Aparece hiperuricemia en presencia de toxicidad por tacrolimus Acido úrico mayor a 7.7 mg/dl (clasificar de acuerdo a la edad) | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Elevación de enzimas hepáticas (anexo 6) | Elevación de enzimas hepáticas en presencia de toxicidad por tacrolimus | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Edad del donador | Duración de la existencia de un individuo medida en unidades de tiempo en el momento en que se realizó el trasplante | Cuantitativa | Continua | Años | Promedio | Media± DE |
| Género del donador | Categoría a la cual se asigna un individuo según el sexo al que pertenece | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0=Hombre 1=Mujer | Frecuencia, porcentaje |
| Edad del paciente | Duración de la existencia de un individuo medida en unidades de tiempo | Cuantitativa | Continua | Años | Promedio | Media ± DE |
| Género del paciente | Categoría a la cual se asigna un individuo según el sexo al que pertenece | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0=Hombre 1=Mujer | Frecuencia, porcentaje |

| | | | | | | |
|---------------------|---|--------------|----------|--------------|----------------|------------------------|
| Dosis de Tacrolimus | Cantidad de tacrolimus que el paciente recibe en 24 horas | Cuantitativa | Continua | mg/kg/24 hrs | Promedio | Media \pm DE |
| Infecciones | Bacterianas Virales Hongos | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |
| Neoplasias | Cualquier neoplasia principalmente células de escamosas y linfoproliferativas | Cualitativa | Nominal | dicotómica | 0= Si 1= No | Frecuencia, porcentaje |

7.8 Desarrollo de procedimientos

El protocolo de investigación fue evaluado y autorizado se encuentra por el comité local de ética e investigación en salud (CLEIES 1310) de la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital De Gineco Obstetricia Centro Médico Nacional De Occidente.

El estudio se llevó a cabo en pacientes pediátricos que han recibido un injerto renal en la UMAE hospital de especialidades pediátricas dentro del periodo enero 2009 al 31 de julio del 2019, los cuales son pacientes vigentes que reciben atención médica de vigilancia del injerto en forma ordinaria. Otros ya han sido dados de alta de la UMAE por mayoría de edad, pero han participado en otros estudios de investigación en trasplante y cuentan con autorización de que la muestra de ADN sobrante fuera almacenada y utilizada en otros estudios de trasplante, como se puede observar en la carta de consentimiento informado utilizada en el proyecto con número de registro R-2014-1302-42 que estuvo bajo la dirección de la Dra. Elvira Torres Infante, Especialista en Nefrología Pediátrica de la UMAE (ver anexo 2).

Los pacientes que no ingresaron a ese protocolo pero que aún son vigentes en la UMAE, se captaron cuando acudían a su cita ordinaria de vigilancia del injerto. Cuando se identifico a un paciente trasplantado que no haya participado en el estudio de la Dra. Elvira Torres Infante, se le explicó tanto a los padres como al paciente los objetivos de la investigación, los posibles beneficios de conocer si es o no, portador de alguna variante de los citocromos que pudiera influir en el

metabolismo de su inmunosupresor (es decir que sea lento o rápido metabolizador), que su participación será donar una muestra sobrante de sangre y el riesgo mínimo que conlleva la punción venosa que se realizará para la toma de muestra ya que es dentro de sus exámenes de rutina, como por ejemplo la posible formación de un moretón en el sitio de la punción. Los pacientes que aceptaron participar se les pidió la firma del consentimiento informado por parte de los padres.

Durante el proceso de captación del paciente, se aplicó una encuesta inicial para valorar apego a tratamiento (ver anexo 4), esto tiene como fin identificar aquellos pacientes que han sufrido disfunción del injerto por mal apego y eso permitirá descartar a aquellos que puedan presentar presencia de rechazo del injerto renal por mal apego al tratamiento, evitando así confundir de que se trate de un paciente que sea metabolizador rápido. La encuesta que se aplicó es un instrumento ya validado en otros estudios, tanto de trasplante como en otras enfermedades crónicas.¹⁰²

Enseguida se procedió a la toma de muestra y posterior obtención de ADN que se almacenará en la genoteca ya elaborada por la Dra. Elvira Torres Infante.

Los datos sociodemográficos, clínicos y bioquímicos de los pacientes se obtuvieron mediante revisión de expedientes clínicos digital y físico del archivo.

Dicha información será registró en una hoja de recolección de datos, que se vació en una base de datos en el programa Excel.

7.8.1 Paso 1: Selección de muestras

Las muestras que se utilizaron de la genoteca del proyecto R-2014-1302-42, se seleccionaron previamente para asegurar tanto la integridad de la muestra de ADN como que el paciente haya estado de acuerdo en participar en estudios posteriores de acuerdo con su consentimiento informado firmado. Las nuevas muestras se

agregaron a la genoteca con previa autorización a través del consentimiento informado.

7.8.2 Paso 2: Obtención de los datos

Se revisaron los expedientes electrónicos y físicos de los mismos, los cuales son de acceso restringido y son información oficial por lo que se consideran fidedignos y reflejan el estado actual del individuo; se vaciaron los datos a una hoja de captura (ver anexo 1), en donde se registraron: marcadores bioquímicos, antecedentes del trasplante y reporte de biopsia renal con nefrotoxicidad aguda o crónica por tacrolimus, y/o rechazo.

7.8.3 Paso 3: Genotipificación

La verificación de la integridad del ADN se llevó a cabo mediante electroforesis en gel de agarosa al 1% teñido con SYBR Green I. La genotipificación de la variante *3 del gen CYP3A5 y *1B del gen CY3A4 se llevó a cabo mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en tiempo real, en equipo LightCycler 96, utilizando las sondas Taqman diseñadas específicamente y disponibles de forma comercial, utilizando los iniciadores descritos (Tabla 3).

| Tabla 3 Genes a estudiar y su iniciador | | | | |
|--|---|--|----------------------------------|----------------------------------|
| GEN | Primer forward | Primer reverse | Sonda Alelo silvestre | Sonda alelo polimórfico |
| CYP3A4 (-290 A>G) rs2740574 | 5'TGGAAT GAGGACA GCCATAG AGA3' | 5'AGTGGA GCCATTG GCATAAAA TCT3' | VIC- AAGGGCAAGAGA GAG3' | FAM- AAGGGCAGGAGAGAG 3' |
| CYP3A5 (6986 A>G) rs776746 | 5'CGAATG CTCTACTG TCATTTCT AACCA3' | 5'TGAAGG GTAATGTG GTCCAAA CAG3' | FAM- TTTGTCTTTCAAT ATCTC3' | VIC- TTTGTCTTTCAATATCT C3' |

La mezcla de reacción que se utilizó será de 25 μ l en total, consistirá de 100 ng ADN, Taqman Universal PCR master mix, primers y sonda específica para cada gen. La mezcla se incubará a 52°C durante 2 min en AmpErase UNG para eliminar fuentes de contaminación del ADN y enseguida a 95°C durante 10 min seguido de 40 ciclos de amplificación a 92°C durante 15 seg y 60°C durante 1 min. El análisis de corridas se realizó con el programa del equipo LightCycler 96 para determinar los genotipos.

La frecuencia alélica ha sido determinada por el método de conteo directo a partir de la frecuencia de genotipos, este procedimiento de muestras se ha realizado por la Dra. Caridad Áurea Leal Cortés en el Centro de Investigación Biomédica de Occidente, Instituto Mexicano del Seguro Social.

7.9 Procesamiento de datos y análisis estadístico

Como parte de la estadística descriptiva se realizaron frecuencias y porcentajes para las variables cualitativas. En base a la distribución de la muestra las variables cuantitativas, se expresaron como mediana, rangos de media y desviación estándar. Las variables cualitativas, la frecuencia de genotipos y alelos de CYP3A4 y CYP3A5 se compararon con la prueba de χ^2 , esta última para determinar que existe equilibrio Hardy-Weinberg. Se realizó prueba de normalidad Kolmogorov-Smirnov para determinar la distribución de la muestra y la prueba de Levene para determinar homocedasticidad de varianzas en las variables continuas. Dependiendo de la prueba anterior, se compararon las variables cuantitativas mediante prueba de T student (comparación de medias) o U de Mann-Whitney (comparación de medianas). Se determinó la razón de momios e intervalo de confianza al 95% para nefrotoxicidad y rechazo. Se realizó regresión logística para determinar covariación de las variables significativas en el análisis bivariado. Se realizó el análisis agrupando a los pacientes de acuerdo a las combinaciones genéticas encontradas que puede ser las siguientes: CYP3A5*1-CYP3A4*1, CYP3A5*1-CYP3A4*1B, CYP3A5*3-CYP3A4*1, CYP3A5*3-CYP3A4*1B (Tabla 4).

| Tabla 4 Grupos encontrados | | | |
|-----------------------------------|----------------|----------------|----------------|
| Grupo A | Grupo B | Grupo C | Grupo D |
| A5*1 A4*1 | A5*1 A4*1B | A5*3 A4*1 | A5*3 A4*1B |

Para la captura y análisis de datos se utilizó el programa Excel de Office XP para Windows y el paquete estadístico SPSS v.22.0, respectivamente, y se consideró como valor significativo una $P < 0.05$.

8 ASPECTOS ÉTICOS

La investigación se apegó al reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, en su título primero, capítulo único, en sus artículos 1, 2 y 3. Ya que este ordenamiento tiene por objeto proveer, en la esfera administrativa, al cumplimiento de la Ley General de Salud en lo referente a la investigación para la salud en los sectores público, social y privado, siendo este de aplicación en todo el territorio nacional y sus disposiciones son de orden público e interés social.

La ley general de salud en su artículo 17 clasifica el tipo de riesgo, siendo este estudio clasificado como investigación con riesgo mínimo ya que considera estudios prospectivos que emplean el riesgo de datos a través de procedimientos comunes en exámenes físicos o psicológicos de diagnósticos o tratamiento rutinarios, en este estudio se requiere toma de muestras por venopunción asociado a la toma de sangre del sobrante de sus estudios de rutina, por lo que requiere consentimiento informado.

La realización de esta investigación contribuye al conocimiento de la frecuencia de polimorfismos asociados a la farmacogenética del medicamento tacrolimus en pacientes con trasplante renal y su asociación con presencia de rechazo, nefrotoxicidad y alteraciones clínicas y bioquímicas.

Se apega a su título segundo de los aspectos éticos de la investigación en seres humanos, capítulo I en sus artículos 13, 14, 15, 16, 20, 22 y 24, ya que en esta investigación prevalece el criterio de respeto a su dignidad y protección de sus derechos y bienestar, ya que el grupo de trabajo corresponde a todos los pacientes trasplantados tratados con tacrolimus menores de 18 años, se consideran de autonomía disminuida y vulnerables por ser menores de edad, por lo que sus padres comprendieron en forma verbal y escrita en qué consiste el estudio, así como firmaron el documento de consentimiento bajo información donde también se explica el estudio, riesgos, beneficios, y la posibilidad de abandonar el estudio si ellos así lo consideran. Existen estudios previos realizados con resultados prometedores, prevaleciendo así los beneficios sobre los riesgos predecibles que son mínimos y los cuales consisten en molestias relacionadas a la toma de muestra sanguínea (hematoma, sangrado mínimo, dolor) y son sobrantes tomados de sus estudios bioquímicos de rutina. Previo al inicio de la recolección de datos por parte del residente de nefrología que es un profesional de la salud experto en el tema a investigar, se explicó en forma clara, precisa, y con el lenguaje adecuado sobre la finalidad y el objetivo, así como los posibles riesgos y benéficos del estudio, posteriormente se firmó el consentimiento informado en este caso por su representante legal.

Se protege la privacidad del participante ya que será identificado con un número de folio, y en caso de aceptar la utilización de sus datos para estudios posteriores y publicación de manuscritos científicos no se identificará con su nombre o algún otro dato que puede identificarlo. El representante legal del participante puede retirarse del estudio cuando lo desee, sin necesidad de dar a conocer el motivo, se le informará de los resultados.

El estudio de investigación se apega a las disposiciones del Capítulo III en sus artículos 34, 35, 36, 37 y 38. Ya que para participar en la investigación se deberá contar por escrito con el consentimiento informado de quienes ejerzan la patria potestad o la representación legal del menor, además deberá obtenerse su

aceptación en caso de los niños mayores de 6 años, ya que en esta edad ya son capaces de comprender, explicándoseles en qué consiste el estudio.

Toda la información del estudio clínico se documentó, archivó y respaldó, guardándose en forma digital en una computadora a la cual solo tendrá acceso el investigador principal, documentos en físico que son resguardados en un archivero bajo llave, de tal forma que permitirá los accesos solo del investigador principal protegiendo la identidad de los participantes.

Se apega cabalmente a los 13 principios básicos de las directivas de la buena práctica clínica de la conferencia internacional de armonización, basados en la Declaración de Helsinki.

Durante a la realización del estudio se cumplió con los siguientes principios bioéticos:

- Beneficencia: Ya que al participar se realizará ajustes en su manejo inmunosupresor de acuerdo a resultados, así también se beneficia al resto de la población pediátrica con la posibilidad de un mejor tratamiento en trasplantes renales actuales y los que se realizarán en el futuro.
- Justicia: No se excluyeron a pacientes por diferencia en clase social, cultural o lugar de residencia. Los pacientes estudiados son beneficiados directamente con los procedimientos de investigación.

Se firmó consentimiento informado solicitado por el tesista Dra. Diana Marisela Bonilla Ruvalcaba.

Este estudio es continuación de un estudio anterior registrado con el número 2014-1302-42, en el cual se solicitó consentimiento informado debido a que requería de la participación del paciente donando la muestra de sangre sobrante de la última prueba cruzada antes de realizar el trasplante, para analizar participación de genes de citocinas en la respuesta al trasplante renal. La carta de consentimiento utilizada,

incluyó un apartado de solicitud de anuencia para que, el sobrante de la muestra de ese estudio se almacenara a -80°C y se utilizara en posteriores investigaciones en trasplante, siempre y cuando el nuevo estudio se registrara en el comité correspondiente. Se realiza consentimiento informado para las muestras nuevas por tomar de pacientes que aun no se encuentran en la genoteca. (Anexo 2).

Brevemente se describe el procedimiento utilizado para solicitar la participación del paciente en el estudio con registro 2014-1302-42 y el proceso que se hizo para este estudio.

- 1) Se acudió al hospital de Pediatría el día que se citó al paciente a consulta de vigilancia de trasplante y que usen tratamiento inmunosupresor con tacrolimus, la investigadora responsable explicó la naturaleza del estudio, los objetivos e invitó a los pacientes y a su respectivo donador a participar de manera voluntaria en el proyecto. Después de contestar las preguntas e inquietudes de los padres o tutores del paciente, se obtuvo el consentimiento informado firmado. Se solicitó asentimiento informado. Específicamente para la obtención del genoma, se utilizó la muestra sobrante de sus exámenes de rutina.
- 2) Al paciente menor se le explicó para qué se realizó la investigación, y cómo los resultados son de beneficio en el futuro a todos los pacientes que se trasplantan. La participación del paciente consistió solamente en autorizar que el sobrante de la muestra se enviará para la obtención del ADN y su inclusión en el proyecto. Así mismo se les explicó que la muestra se identificaría con un número y una letra y que los investigadores no sabrán el nombre del paciente en ningún momento, solo el médico tratante sabría de quién se trata y nos proporcionaría los datos clínicos para saber cómo evoluciona su trasplante.
- 3) **Proceso realizado en el estudio con registro 2014-1302-42:** Para el proyecto 2014-1302-42 también se solicitó la utilización del sobrante de las muestras de sangre tomadas de rutina para análisis de citocinas en suero, como se menciona en la carta de consentimiento informado utilizado para dicho estudio.
- 4) El proyecto 2014-1302-42 se consideró sin riesgo agregado, ya que la muestra

de sangre es el sobrante de sus estudios de rutina. La molestia de la punción venosa conocida por el paciente y su donador no implicó más que la posible formación de hematoma en un mínimo de personas. La toma de la muestra se realizó por personal del laboratorio clínico entrenado para ello y no se realizó ningún manejo adicional al paciente fuera de lo estipulado en el protocolo de trasplante.

- 5) Los pacientes que aceptaron participar pudieron aclarar dudas y realizar preguntas de su participación y de la naturaleza de la investigación con los colaboradores del proyecto. Para ello, en la carta de consentimiento se proporcionaron los datos y nombres del investigador responsable y colaboradores clínicos para comunicarse en el momento deseado. Los pacientes recibieron una copia de esa carta.
- 6) Los datos del paciente y su respectivo donador fueron manejados con código numérico para asegurar la confidencialidad de los datos. Esto además garantizó la imposibilidad para los investigadores que vuelvan a utilizar las muestras pudieran identificar personalmente al paciente.
- 7) Se respetó la decisión del paciente de dejar de participar en cualquier momento del estudio, sin que esto afectara su atención médica.

9 RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD

Humanos

Investigador Principal y Responsable

Dra. Santa Ramírez

Actividad Asignada: Dirección de tesis

Revisión bibliográfica y revisión de protocolo

Investigador Asociado y Asesor Metodológico

Dra. Elvira Torres Infante

Actividad Asignada: resguardo de la genoteca, apoyo en el análisis e interpretación de resultados, asesoría metodológica a la estudiante.

Estudiante Residente de la Especialidad en Nefrología Pediátrica

Diana Marisela Bonilla Ruvalcaba

Actividad Asignada: Revisión bibliográfica, obtención de datos sociodemográficos, clínicos y bioquímicos de los pacientes a través de la revisión de expedientes, elaboración de protocolo, obtención y análisis de resultados, elaboración de manuscrito de tesis.

Materiales

Hojas de papel blancas de reciclaje.

Lápices, borradores y bolígrafos.

Equipo de cómputo, impresora, tinta para la impresora, unidad de almacenamiento USB.

Financieros

Proyecto de investigación no comercial, a través la genoteca creada en el proyecto con numero de registro autorizado por el comité local de investigación

2014-1302-42 donde se autorizó el uso de material genético para estudios posteriores.

Infraestructura

Se cuenta en la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente con el personal hospitalario a evaluar de quienes se obtendrán los datos para la revisión y análisis de resultados.

Factibilidad

El estudio es factible ya que la Unidad Médica de Alta Especialidad, Hospital de Pediatría del Centro Médico Nacional de Occidente ya que se cuenta con un área especializada que atiende a estos pacientes: Consulta externa de Nefrología y Trasplante renal. Además, se cuenta con una población activa de personal clínico y no clínico suficiente para la muestra del presente estudio.

10 CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES

Tabla 5 Cronograma de actividades

| | Año | Enero Febrero | Marzo Abril | Mayo Junio | Julio Agosto | Septiembre Octubre | Noviembre Diciembre |
|--|------|------------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------------|------------------------|
| Revisión bibliográfica | 2018 | | | | | | |
| Elaboración de Protocolo | 2018 | | | | | | |
| | 2019 | | | | | | |
| Envío del protocolo al CLIEIS 1310 para su evaluación | 2019 | | | | | | |
| Captación de pacientes y toma de muestras de sangre | 2019 | | | | | | |
| | 2020 | | | | | | |
| Genotipificación del alelo (polimorfismo) | 2019 | | | | | | |
| | 2020 | | | | | | |
| Base de datos | 2019 | | | | | | |
| | 2020 | | | | | | |
| Análisis estadístico, entrega para titulación de residente | 2019 | | | | | | |
| Redacción de resultados y conclusiones, entrega para titulación de residente | 2019 | | | | | | |
| Presentación del trabajo preliminar | 2019 | | | | | | |

| | | | | | | | |
|---|------|--|--|--|--|--|--|
| para titulación de residente | | | | | | | |
| Corrección de errores | 2019 | | | | | | |
| Redacción del proyecto final para titulación de residente | 2019 | | | | | | |
| Entrega de la tesis para titulación de residente | 2019 | | | | | | |

11 RESULTADOS

Se obtuvieron 94 muestras en total, se excluyeron 15 pacientes; 2 por trombosis del injerto renal, 2 por mal apego y 11 por inmunosupresión diferente a tacrolimus a los 6 meses de trasplante renal. Representando las características sociodemográficas en las siguientes tablas:

| Tabla 6 Reporte por genero de pacientes con genotipificación | | |
|---|----------|----------|
| Genero | N | % |
| Masculino | 44 | 56.4 |
| Femenino | 34 | 43.6 |

Se describe que 44 pacientes representando un 56.4% se trata de pacientes pediátricos del sexo masculino y el resto con un porcentaje de 43.6% son mujeres del total de muestras incluidas para genotipificación (Tabla 6).

La edad media reportada fue de 7 - 22 años con un promedio de 12.75 años de edad, y desviación estándar de 1.8 años. En más del 50% de los casos, la etiología de la enfermedad renal crónica terminal no se logró determinar (Tabla 7). La principal etiología renal es la no determinada, teniendo en segundo lugar uropatías.

| Tabla 7. Etiología de Enfermedad Renal Crónica en los pacientes con Trasplante Renal. | | |
|--|---------------|----------|
| Etiología | Numero | % |
| No determinada | 51 | 54.2 |
| Uropatia | 16 | 17 |
| Glomerulopatia | 7 | 7.4 |
| Enfermedad Poliquística Renal | 2 | 2.1 |
| Enfermedad hereditaria: Alport | 1 | 1 |

| | | |
|---------------|---|---|
| Nefroblastoma | 1 | 1 |
| LRA | 1 | 1 |

La diálisis peritoneal constituyó la terapia de reemplazo renal más frecuente en los pacientes previo al trasplante (50.6 %) como se ve representado en la (Tabla 8).

| Tabla 8. Terapia de Reemplazo Renal previo a Trasplante. | | |
|---|---------------|----------|
| | Numero | % |
| Prediálisis | 3 | 3.8 |
| Hemodiálisis | 19 | 24 |
| Diálisis | 40 | 50.6 |
| Ambas | 17 | 1.2 |

En el 73.4 % de los casos el tipo de donador de injerto renal predominante fue el Donador vivo relacionado (Tabla 9).

| Tabla 9. Tipo de Donador de injerto renal. | | |
|---|---------------|----------|
| | Numero | % |
| Vivo relacionado | 58 | 73.4 |
| Muerte cerebral | 19 | 24 |
| Vivo no relacionado | 2 | 2.5 |

La compatibilidad por grupo sanguíneo al recibir trasplante en su mayoría fue grupo sanguíneo O Rh+ / O Rh + en un 48.8% y el resto es representado en la tabla 10.

| Tabla 10. Compatibilidad por grupo sanguíneo en pacientes que recibieron trasplante renal. | | |
|---|---------------|----------|
| Hemotipo | Numero | % |
| O+/O+ | 44 | 55.6 |
| O-/O+ | 1 | 1.2 |
| A+/O+ | 4 | 5 |
| A+/A+ | 23 | 29.1 |
| A+/AB+ | 1 | 1.2 |
| A-/A- | 1 | 1.26 |
| B+/B+ | 5 | 6.3 |

La dosis media de tacrolimus a los 6 meses de trasplante fue de 0.12 +/- 0.04, en la tabla 11 se demuestra el promedio de los estudios bioquímicos asociado al metabolismo del tacrolimus.

| Tabla 11. Estudios bioquímicos relacionados al metabolismo de tacrolimus. | | |
|--|--------------|-----------|
| Valor | Media | DE |
| CrH | 0.8 | 0.5 |
| Cr6 | 0.8 | 0.3 |
| FG | 74.8 | 21.2 |
| pH | 7.37 | 0.04 |
| Bicarbonato | 23.1 | 3.3 |
| Acido úrico | 5.7 | 1.45 |
| K | 4.9 | 0.45 |
| Colesterol | 140.5 | 33.3 |
| Triglicéridos | 141.2 | 64.1 |
| TGO | 25.7 | 10.2 |
| TGP | 35.7 | 15.2 |

| | | |
|---------------------|-------|-----|
| Glucosa | 86.75 | 7.8 |
| Nivel de tacrolimus | 8.47 | 4.4 |

CrH: creatinina habitual. Cr6: creatinina a los 6 meses. FG: filtrado glomerular

Se demuestra en la Tabla 12 que el tipo de metabolizador lento es el más común representando el 67%, en segundo lugar el metabolizador intermedio/lento con 20.2%.

| Tabla 12. Genotipos del alelo CYP3A5 y CYP3A4, frecuencia en 94 pacientes mexicanos que han recibido trasplante renal. | | |
|---|---------------|----------|
| Tipo de metabolizador | Numero | % |
| Intermedio / Intermedio | 7 | 7.4 |
| Intermedio / Rápido | 1 | 1 |
| Intermedio / Lento | 19 | 20.2 |
| Rápido / Rápido | 0 | 0 |
| Lento / Lento | 63 | 67 |
| Rápido / Lento | 4 | 4.2 |
| Total | 94 | 100 |

En la tabla 12 se muestra la prevalencia de los tipos de metabolizador en pacientes con trasplante renal en tratamiento con tacrolimus.

| Tabla 12. Genotipos del alelo CYP3A5 y CYP3A4, frecuencia en 94 pacientes mexicanos que han recibido trasplante renal. | | |
|---|---------------|----------|
| Tipo de metabolizador | Numero | % |
| Intermedio / Intermedio | 7 | 7.4 |
| Intermedio / Rápido | 1 | 1 |
| Intermedio / Lento | 19 | 20.2 |
| Rápido / Rápido | 0 | 0 |

| | | |
|----------------|----|-----|
| Lento / Lento | 63 | 67 |
| Rápido / Lento | 4 | 4.2 |
| Total | 94 | 100 |

11.1 Descripción comparativa

Tabla 13. Comparación de tipo de metabolizador con alteraciones clínicas y bioquímicas.

| Variable | L/L | L/R | I/I | I/L | I/R | Valor de P |
|---------------------|-----|-----|-----|-----|-----|-------------|
| Acidosis metabólica | 17 | 1 | 0 | 3 | 0 | 0.36 |
| Hipomagnesemia | 22 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0.03 |
| Hiperkalemia | 7 | 0 | 1 | 1 | 0 | 0.84 |
| Hiperuricemia | 12 | 0 | 1 | 0 | 1 | 0.04 |
| Dislipidemia | 24 | 2 | 2 | 6 | 0 | 0.68 |
| Transaminasemia | 15 | 1 | 2 | 2 | 1 | 0.28 |
| Hiperglucemia | 1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0.97 |
| Toxicidad clínica | 38 | 2 | 3 | 9 | 1 | 0.29 |
| Biopsia: toxicidad | 12 | 0 | 0 | 2 | 0 | 0.55 |

Valor de p = < 0.05

Tabla 14. Comparación de tipo de metabolizador con alteraciones clínicas y bioquímicas.

| Variable | L/L | Otros | Valor de P | OR | I/R | Valor de P |
|---------------------|-----|-------|---------------|------|------|------------|
| Acidosis metabólica | 17 | 4 | 0.04 | 2.76 | 0.85 | 10.63 |
| Hipomagnesemia | 22 | 2 | 0.0005 | 8.95 | 2.16 | 61.29 |
| Hiperkalemia | 7 | 2 | 0.23 | 1.93 | 0.39 | 14.45 |
| Hiperuricemia | 12 | 2 | 0.044 | 3.69 | 0.84 | 26.14 |
| Dislipidemia | 24 | 10 | 0.22 | 1.45 | 0.55 | 3.87 |

| | | | | | | |
|---------------------------|----|----|---------------|-------|------|--------|
| Transaminasemia | 15 | 6 | 0.27 | 1.41 | 0.48 | 4.5 |
| Hiperglucemia | 1 | 0 | 0.35 | 0.53 | 0.01 | 21.38 |
| Toxicidad clinica | 38 | 15 | 0.033 | 2.53 | 1 | 6.78 |
| Tacrolimus sérico elevado | 20 | 1 | 0.0002 | 15.83 | 2.63 | 352.32 |
| Biopsia: toxicidad | 17 | 10 | 0.07 | 0.29 | 0.03 | 1.47 |
| Valor de p = < 0.05 | | | | | | |

12 DISCUSIÓN

Las implicaciones directas clínicas y bioquímicas demostradas por los IC en el manejo del paciente con trasplante renal se relacionan de forma directa con la función renal por la concentración del medicamento determinada por su farmacogenética donde se han implicado polimorfismos en genes como CYP3A5*2, CYP3A5*3, CYP3A5*4, CYP3A5*6, CYP3A5*8, CYP3A5*9 y CYP3A5*10. Ejemplos de estas variantes son los alelos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B.

En la frecuencia de los alelos CYP3A5 exhibe variabilidad étnica según reporte de casos ya registrados. Se ha informado que el genotipo CYP3A5 *1/*3 es más frecuente en afroamericanos en comparación con los Asiáticos y Caucásicos donde predominan los genotipos CYP3A5 *3/*3 catalogados como metabolizadores lentos.

Se sabe que el 90% de la población mexicana se compone de mestizos que exhiben una mezcla de ancestros amerindios, europeos y africanos. Adicionalmente, se hicieron comparaciones entre los resultados observados en Mexicanos con aquellos reportados para otros grupos étnicos.

La prevalencia del CYP3A*1 en nuestro centro hospitalario fue del 67.7% similar a estudios previamente realizados, en el estudio realizado por Yi-Ping reportó en un metaanálisis en donde fueron involucrados a 268 pacientes pediátricos con

trasplante renal, representando en un 95% en frecuencia los portadores del polimorfismo CYP3A5*1.

En este estudio se encontró la frecuencia de los alelos siguiente: CYP3A5*1/*1 (8.1%), CYP3A5*1/*3 (35.7%) y CYP3A5*3/*3 (56.12%) teniendo una frecuencia similar a lo reportado por Sireen Shilbayeh en el 2007 en un estudio de 38 pacientes donde encontró la frecuencia de los genotipos CYP3A5*1/*1 (5.3%), CYP3A5*1/*3 (10.5%) y CYP3A5*3/*3 (84.2%), teniendo como resultado estos genotipos similares a los descritos en pacientes caucásicos y japoneses. Sin embargo, estas frecuencias genotípicas eran diferentes a las poblaciones afroamericanas.

En México en el 2012 se realizó un estudio donde se encontró que el 52.2% de los pacientes son metabolizadores lentos, muy similar al nuestro en el que encontramos 52.7%, el 41.6% fueron metabolizadores intermedios, en el nuestro fue de 36.1%, en ese estudio el 6.2% fueron metabolizadores rápidos en comparación con este estudio donde se encontró un nivel mas alto que fue del 26.1%.

Se han realizado estudios retrospectivos que han evaluado la dosificación de tacrolimus con base a la presencia del polimorfismo del gen CYP3A5, Haufroid et al sugieren utilizar una dosis inicial de 0.15 mg/kg/día en portadores del alelo CYP3A5*1 y dosis más baja en los homocigotos para el alelo CYP3A5*3 de 0.075 mg/kg/día. En este estudio encontramos la asociación de el tipo metabolizador lento en relación al nivel sérico elevado de tacrolimus encontrando un intervalo de confianza adecuado con p de 0.0002 con un OR de 15.83 (IC 2.63 – 352.32).

Hesselink et al evaluó la capacidad de optimizar la dosis inicial de tacrolimus con base en el genotipo CYP3A5 se encontró que en los pacientes en quienes se adaptó la dosificación de acuerdo al genotipo se lograron niveles meta después de tres días en mayor proporción que en el grupo control (43.2% vs 29.1%, P =0.03), además de que se requirieron menor número de ajustes a la dosis y menor tiempo para

alcanzar niveles C0 meta. ⁷³ Los pacientes portadores de al menos una copia del alelo CYP3A5*1 requieren una dosis de tacrolimus 50% mayor que los pacientes con el genotipo CYP3A5*3/*3 para alcanzar los mismos niveles sanguíneos. En este estudio observamos que la presencia de los alelos CYP3A5*3 Y CYP3A4*1 en forma homocigota se asocia a elevados niveles séricos de tacrolimus siendo estadísticamente confiable (p de 0.0002, OR de 15.83, IC 2.63 – 352.32) lo cual nos puede ayudar a decidir al ajuste de dosificación del medicamento y manteniéndonos en alerta sobre el riesgo de nefrotoxicidad y permitiéndonos tener mejor control de las alteraciones clínicas y bioquímicas generadas por este medicamento.

En el estudio realizado por Reyes en el 2008 da a conocer que nuestra población es portadora de estas variantes en una frecuencia que difiere de lo reportado en otros países (CYP3A4 en el 8 a 8.8% en mexicanos, diferente del 20-60% en poblaciones asiáticas o africanas). En este estudio se encontró un porcentaje de 12.9%. Además nos informa que la variante CYP3A5*3 es mucho más frecuente (más del 60%) en nuestro estudio fue de 92.8%.

Los estudios que han evaluado la relación entre el genotipo CYP3A5 y la nefrotoxicidad aguda y crónica han aportado resultados contradictorios. En este estudio se encontró una p de 0.07 la cual no es estadísticamente significativa entre la asociación de la presencia de metabolizadores lentos y toxicidad por tacrolimus por biopsia, sin embargo se requiere mayor cantidad de muestra ya que no todos los pacientes cuentan con biopsia renal. Glowacki et al en su estudio de 209 pacientes con seguimiento a dos años, encontraron nefrotoxicidad crónica documentada por biopsia en un 50% de los homocigotos para el alelo CYP3A5*3 comparado con los metabolizadores intermedios o extensivos.

En el estudio de Quteineh, que incluyó a 136 pacientes no se encontró asociación entre el polimorfismo del CYP3A5 y la nefrotoxicidad. Al igual que nuestro estudio sin embargo el tamaño de muestra es mas pequeño que el estudio realizado por Glowacki. En un meta-análisis de estudios observacionales que incluyó 363

pacientes trasplantados renales con seguimiento a 10-12 meses no se encontró asociación entre el polimorfismo del gen CYP3A5 y la nefrotoxicidad aguda, mientras que para nefrotoxicidad crónica se incluyeron 867 pacientes con seguimiento a 50 meses y se encontró un riesgo incrementado en aquellos portadores de al menos una copia del alelo CYP3A5*1 (OR=2.42, IC 95%1.51-3.9; I²=0%). En este mismo grupo de pacientes se encontró un riesgo incrementado de rechazo agudo (OR 1.32, IC 95% 1.02-1.71, I²=3%).⁹⁷

Se concluye que el riesgo incrementado de nefrotoxicidad en los portadores del alelo silvestre es secundario al acumuló de metabolitos de tacrolimus debido al menor metabolismo del fármaco en los pacientes con la enzima CYP3A5 funcional en comparación con los portadores del genotipo CYP3A5*3/*3 (no expresores).

13 CONCLUSIONES

- En este estudio se encontró que el metabolizador lento es el mas común tanto para los alelos CYP3A4 y CYP3A5 como se observa en la tabla 12. Siendo una prevalencia similar a estudios previamente realizados en nuestro país.
- La prevalencia es similar a estudios realizados en caucásicos y japoneses.
- Se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia del genotipo para metabolizador lento homocigoto con elevación del nivel sérico de tacrolimus, toxicidad bioquímica a expensas de hipomagnesemia, acidosis metabólica e hiperuricemia y con manifestaciones clínicas de toxicidad. No se encontró significancia estadística con la presencia de transaminasemia, dislipidemias y elevación de glucosa ya que dichas alteraciones pueden estar dadas por otros fármacos como esteroides que se usan en todos los pacientes como parte del tratamiento inmunosupresor.
- El conocer el genotipo de los pacientes ayudaría a la dosificación inicial y de mantenimiento del tacrolimus ya que se encontró evidencia

estadísticamente significativa entre el nivel sérico y el tipo de metabolizador de cada paciente, evitando las complicaciones por este fármaco que afectan a la morbilidad del paciente y vida del injerto renal.

- En este estudio se encontró una p de 0.07 la cual no es estadísticamente significativa entre la asociación de la presencia de metabolizadores lentos y toxicidad por tacrolimus por biopsia, sin embargo se requiere mayor cantidad de muestra ya que no todos los pacientes cuentan con biopsia renal. En los estudios realizados por Glowacki y Rojas con mayor cantidad de muestra se encontró asociación estadísticamente significativa entre la presencia de nefrotoxicidad y el tipo de genotipo de CYP3A5.

14 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Cantú Guillermo, Rodríguez Graciela, Luque-Coqui M., Romero Benjamín, Valverde S. Vargas Silvia et al. Análisis de las características sociodemográficas de los pacientes con enfermedad renal crónica terminal: diferencias en un periodo de seis años. Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 2012; 69(4): 290-94.
- (2) Medeiros M, Muñoz-Arizpe R. Enfermedad renal en niños. Un problema de salud pública. Bol Med Hosp Infant Mex. 2011; 68:259-261.
- (3) López-Cervantes M, Rojas-Russell M, Tirado-Gómez LL, Durán-Arenas L, Pacheco-Domínguez RL, Venado-Estrada AA, et al. Enfermedad renal crónica y su atención mediante tratamiento sustitutivo en México. Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México, México D.F. México; 2009;47-58.
- (4) Schieppat A, Perico N, Remuzzi G. Preventing end-stage renal disease: the potential impact of screening and intervention in developing countries. Nephrol Dial Transplant. 2003; 18: 858-59.
- (5) USRDS: Annual Data Report: Atlas of End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda. United States Renal Data System, 2005. <http://www.usrds.org/adr.htm> . [Consulta: 2018, diciembre 12].
- (6) ERA-EDTA Registry: Annual Report 2003. European Renal Association, 2005. <http://www.era-edta-reg.org/index.jsp?p=annrep> [Consulta: 2018, diciembre 12].

- (7) Registro Latinoamericano de Diálisis y Trasplante. "Informe del Año 2003". Sociedad Latinoamericana de Nefrología e Hipertensión, <http://www.slanh.org/registro/informes.asp> [Consulta: 2018, diciembre 12].
- (8) Cueto-Manzano AM. El papel del médico de primer contacto en la detección y tratamiento tempranos de la enfermedad renal crónica: retos y oportunidades. *Rev Invest Clin.* 2008;60:517-526.
- (9) Obrador GT, Garcia-Garcia G, Villa AR, et al. Prevalence of chronic kidney disease in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP) Mexico and comparison with KEEP US. *Kidney Int Suppl.* 2010;77:S2-S8.
- (10) Calvo-Vázquez I, Sánchez-Luna O, Yañez-Sosa AL. Prevalencia de enfermedad renal crónica no diagnosticada en pacientes con diabetes mellitus tipo 2 en atención primaria a la salud. *Med Int Mex.* 2015; 31:41-49.
- (11) Franco-Marina F, Tirado-Gómez LL, Venado-Estrada A, et al. Una estimación indirecta de las desigualdades actuales y futuras en la frecuencia de la enfermedad renal crónica terminal en México. *Salud Pública Mex.* 2011; 53 suppl4:506-515.
- (12) García-García G, Renoirte-López K, Márquez-Magaña I. Disparities in renal care in Jalisco, México. *Semin Nephrol.* 2010;30:3-7
- (13) García C, Delucchi A, Orta N, Goulart P, et al. Registro Latinoamericano de trasplante renal pediátrico 2004-2008. *Arch Latin Neph Ped* 2010;10:4-11
- (14) Harambat J, van Stralen KJ, Kim JJ, Tizard EJ. Epidemiology of chronic kidney disease in children. *Pediatr Nephrol.* 2012;27:363-73.
- (15) Ríos-Moreno MP, Patiño-García G. Características del síndrome nefrótico primario en edades no habituales en un hospital pediátrico de tercer

nivel en Guadalajara, Jalisco, México. Bol Med Hosp. Infant Mex. 2011; 68(4):271-77.

- (16) Hogg RJ, Furth S, Lemley KV, Portman R, Schwartz GJ, Coresh J, et al. National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease in Children and Adolescents: Evaluation, Classification, and Stratification. *Pediatrics*. 2003;111:1416-21.
- (17) Martin P. Errasti P. Trasplante Renal. *An Sist Sanit Navar*. 2006;29: 79-91.
- (18) Medeiros-Domingo M, Romero-Navarro B, Valverde-Rosas S, Delgadillo R, Varela-Fascinetto G, Muñoz-Arizpe R. [Renal transplantation in children]. *Rev Invest Clin*. 2005; 57:230-236.
- (19) Troche, A; Ferreira, S; Zarza de Bolaños, M. Características epidemiológicas de la insuficiencia renal crónica (ICR) en pediatría / Epidemiological characteristics of chronic renal failure (CRF) in pediatrics. *Pediatr*. 2005; 32(1): 34-39.
- (20) Martínez H, Cueto A, Rojas E, et al. Estrategias para la prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad renal crónica temprana en primer nivel de atención. *Residente*. 2011; 6:44-50.
- (21) Klarenbach S, Manns B. Economic evaluation of dialysis therapies. *Semin Nephrol*. 2009; 29:524-32.
- (22) The North American Pediatric Renal Trials and Collaborative Studies. NAPRTCS 2011 annual dialysis report. 2011. Available at: www.emmes.com/study/ped/
- (23) Méndez DA., Méndez BF, Tapia YT, et al. Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en México. *Rev Dial Traspl*. 2010; 31:7-11.

- (24) Foley RN, Chen SC, Solid CA, Gilbertson DT, Collins AJ. Early mortality in patients starting dialysis appears to go unregistered. *Kidney Int.* 2014; 86:392-398.
- (25) Navarro Mercedes, Torres, Laura Espinosa Román. Trasplante renal pediátrico *Arch Latin Nefr Ped.* 2012;12(1):3-16.
- (26) Dharnidharka Vikar, M.D., M.P.H, Fiorina Paolo, M.D., Ph.D., and Harmon E. William, M.D. Kidney transplantation in Children. *The New England Journal of Medicine.* Review article. Massachusetts, August 7. 2014. Pags: 549 – 571.
- (27) Sharma A, Ramanathan R, Posner M, Fisher RA. Pediatric kidney transplantation: a review. *Transplant Research and risk Management.* 2013; 5:21-31.
- (28) Kramer A, Stel VS, Tizard J, Verrina E, Rönholm K, Pálsson R, Maxwell H, Jager KJ. Characteristics and survival of young adults who started renal replacement therapy during childhood. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24:926-33
- (29) Informe anual sobre donación y trasplante 2014. Centro Nacional de Trasplantes.
Secretaría de Salud. Disponible en: http://www.cenatra.salud.gob.mx/interior/trasplante_estadisticas.html
- (30) Nankivell BJ, Kuypers DR. Diagnosis and prevention of chronic kidney allograft loss. *Lancet.* 2011 15; 378:1428-1437.
- (31) Samaniego M, Becker BN, Djamali A. Drug insight: Maintenance immunosuppression in kidney transplant recipients. *Nat Clin Pract Nephrol.* 2006; 2:688-699.

- (32) Medeiros-Domingo M., Romero-Navarro B., Valverde-Rosas S., Delgadillo R. Trasplante renal en pediatría. *Rev. invest.clín.* 2005; 57(2):230-236.
- (33) Godman-Gilman, A., Rail, T.W., Nies, A.S. y Taylor, P. Drug metabolism, Pharmacogenetics and The science of drug therapy (Chapter 3, 4y 5). In: *The Pharmacological Basis of Therapeutic*. Godman-Gilman A, eds. Décimo primera edición, U.S.A: Editorial McGraw-Hill Medical Publishing Division. 2006.
- (34) Gaston, R.S. Current and evolving immunosuppressive regimens in kidney transplantation. *Am J of Kidney Diseases*. 2006; 47: S3-S21.
- (35) Webster AC, Woodroffe RC, Taylor RS, et al. Tacrolimus versus ciclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients: meta-analysis and meta-regression of randomised trial data. *BMJ*. 2005; 8;331:810-15.
- (36) Mejia JC, Basu A, Shapiro R. Calcineurin Inhibitors. In: Morris PJ, Knechtle SJ. *Kidney transplantation: Principles and Practice*. 7ª ed. Toronto: Saunders Elsevier. 2014. pp. 231-49.
- (37) Exeni R., Saieh C. Registro Latinoamericano de Trasplante Renal Pediátrica 2004-1008. *Archivos Latinoamericanos de Nefrología Pediátrica*. 2010, 10 (1): 1-60.
- (38) Shapiro R, Young JB, Mildford EL, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1993-2003. *American Journal of Transplantation*. 2005; 5:874-886.
- (39) Tsai SF, Cheng CY, Shu KH, et al. Trends in Maintenance Immunosuppressive Drugs Used in Taiwanese Kidney Transplant Recipients:

An Analysis of the National Health Insurance Research Database. Transplantation Proceedings. 2012; 44: 190-192.

- (40) Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, et al. OPTN/SRTR 2013 Annual Data Report: kidney. Am J Transplant. 2015; 15:1-34.
- (41) Provenzani A, Santeusanio A, Mathis E, et al. Pharmacogenetic considerations for optimizing tacrolimus dosing in liver and kidney transplant patients. World Journal of Gastroenterology. 2013; 19:9156-9173.
- (42) Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, et al. A comparasion of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group. Transplantation. 1997;63:977-83.
- (43) Elens L, Bouamar R, Shuker N, et al. Clinical implementation of pharmacogenetics in kidney transplantation: calcineurin inhibitors in the starting blocks. Br J Clin Pharmacol. 2014; 77(4):715-28.
- (44) Barbarino JM, Staatz CE, Vankataramanan R, et al. PharmGKB summary cyclosporine and tacrolimus pathways. Pharmacogenetics and genomics. 2013; 23(10):563-85
- (45) Obtenido de <http://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-tacrolimus-13015500> el día 12/12/2018
- (46) Obtenido de https://www.google.com.mx/search?q=tacrolimus&safe=active&source=Inms&tbm=isch&sa=X&ved=0ahUKEwiOw--Fxp7fAhUHQ6wKHZZkDWsQ_AUIDigB&biw=1360&bih=624#imgrc=HuWfdTXWrMgZjM: el dia 13/12/2018

- (47) 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; 27:383-391.
- (48) Plosker GL y Foster RH. Tacrolimus: a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. *Drugs.* 2000; 59:323-389.
- (49) Molina-Ortíz D, Camacho-Carranza R, Dominguez-Ramirez AM et al. Modulación de la expresión de enzimas del citocromo p450 hepáticas durante las etapas fetal y pediátrica. *REB.* 2012; 31:60-71.
- (50) Ferro A. Paediatric prescribing: why children are not small adults. *Br J ClinPharmacol.* 2015; 79:351-353.
- (51) Batchelor HK, Marriot JF. Paediatric pharmacokinetics: key considerations. *Br J Pharmacol.* 2015;79:395-404.
- (52) Reyes-Pérez H, Medeiros-Domingo M. Uso de tacrolimus en pediatría. *Bol Med Hosp Infant Mex.* 2006;63:276-285.
- (53) Filler G, Grygas R, Mai I, Stolpe HJ, Greiner C, Bauer S, et al. Pharmacokinetics of tacrolimus (FK 506) in children and adolescents with renal transplants. *Nephrol Dial Transplant.* 1997; 12: 1668–71
- (54) Neylan JF: Racial differences in renal transplantation after immunosuppression with tacrolimus versus cyclosporine. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation.* 1998; 65:515-518.
- (55) Neylan JF: Effect of race and immunosuppression in renal transplantation: three-year survival results from a US multicenter, randomized trial. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplant Proc.* 1998; 30:1355.

- (56) Tavira B, Díaz-Corte C, Coronel D, et al. Pharmacogenetics of tacrolimus: from bench to bedside? *Nefrología*. 2014; 34:11-17.
- (57) Williams JA, Cook J y Hurst SI. A significant drug-metabolizing role for CYP3A5? *Drug Metab Dispos*. 2003; 31:1526- 1530.
- (58) Daly AK. Significance of the Minor Cytochrome P450 3a Isoforms. *Clin Pharmacokinet*. 2006; 45:13-31.
- (59) Thervet E, Legendre C, Beaune P, Anglicheau D. Cytochrome P450 3A polymorphism and immunosuppressive drugs. *Pharmacogenomics*. 2005; 6:1-11.
- (60) MacPhee I, Federicks S, W Holt D. Does pharmacogenetics have the potential to allow the individualization of immnosuppressive drug dosing in organ transplantation?. *Expert Opin. Pharmacother*. 2005;6: 2593-2605.
- (61) Utecht KN, Hiles JJ, Kolesar H. Efect of genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of calcineurin inhibitors. *Am J Health Syst Pharm*. 2006; 63: 2340-2348.
- (62) Pallet N, Etienne I, Buchler M, et al. Long-Term Clinical Impact of Adaptation of Initial Tacrolimus Dosing to CYP3A5 Genotype. *Am J Transplantation*. 2016;16(9):2670-5.
- (63) Hesselink DA et al. Population pharmacokinetics of cyclosporine in kidney and heart transplant recipients and the influence of ethnicity and genetic polymorphisms MDR-1, CYP3A4 and CYP3A5 genes. *Clin Pharmacol Ther*. 2004;76:545-56.

- (64) Coto E, Tavira B, Suárez-Álvarez B, et al. Pharmacogenetics of tacrolimus: ready for clinical translation?. *Kidney International Supplements*. 2011; 1:58-62
- (65) Reyes-Hernández OD, Lares-Asseff I, Sosa-Macías M, et al. A comparative study of CYP3A4 polymorphisms in Mexican Amerindian and Mestizo population. *Pharmacology*. 2008; 81:97-103.
- (66) Reyes-Hernández O.D., Arteaga-Illán G., Elizondo G. Detection of CYP3A4*1B and CYP3A4*2 polymorphisms by RFLP. Distribution frequencies in a Mexican population. *Clin. Genet*. 2004; 66,166-168.
- (67) Hesselink DA, Ron HN et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther*. 2003; 74: 245-254.
- (68) Hesselink DA, Van SchaikRH, Van Agieren M. CYP3A5 genotype is not associated with a higher risk of acute rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics*. 2008;18:339-348.
- (69) Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Alvarez V, et al. A search for new CYP3A4 variants as determinants of tacrolimuse dose requirements in renal-transplanted patients. *Pharmacogenet Genomics*. 2013; 23:445-448.
- (70) Santoro AB, Struchiner CJ, Felipe CR, et al. CYP3A5 genotype, but not CYP3A4*1b, CYP3A4*22, or hematocrit, predicts tacrolimus dose requirements in Brazilian renal transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*. 2013;94:201-202.

- (71) Ekberg H1, Tedesco-Silva H, Demirbas A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med.* 2007; 357:2562-2575.
- (72) Terapia inmunosupresora en el Trasplante Renal, México: Secretaria de Salud. 2009.
- (73) Thervet E, Lorient MA, Barbier S, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetics testing. *Clin Pharmacol Ther.* 2010; 87:721-726.
- (74) Jacobson PA, Schlatt D, Israni A, et al. Genetic and clinical determinants of early, acute calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity: results from a kidney transplant consortium. *Transplantation.* 2012; 93:624-631.
- (75) Thölking G1, Fortmann C1, Koch R, et al. The tacrolimus metabolism rate influences renal function after kidney transplantation. *PLoS One.* 2014; 9:e111128.
- (76) Kuypers DR, Naesens M, Jonge H, et al. Tacrolimus dose requirements and CYP3A5 genotype and the development of calcineurin inhibitor-associated nephrotoxicity in renal allograft recipients. *Ther Drug Monit.* 2010; 32:394-404.
- (77) Snanoudj R, Royal V, Elie C, et al. Specificity of histological markers of long term CNI nephrotoxicity in kidney-transplant recipients under low dose cyclosporine therapy. *Am J Transplant.* 2011; 11:2635-2646.
- (78) Hoorn EJ, Walsh SB, McCormick JA, Fürstenberg A, Yang CL, Roeschel T, Paliege A, Howie AJ, Conley J, Bachmann S, Unwin RJ, Ellison DH. The calcineurin inhibitor tacrolimus activates the renal sodium chloride cotransporter to cause hypertension. *Nat Med.* 2011 Oct;17(10):1304-9.

- (79) Schwartz RB, Bravo SM, Klufas RA, Hsu L, Barnes PD, Robson CD, Antin JH. Cyclosporine neurotoxicity and its relationship to hypertensive encephalopathy: CT and MR findings in 16 cases. *AJR Am J Roentgenol.* 2005;165(3):627.
- (80) Hinchey J, Chaves C, Appignani B, Breen J, Pao L, Wang A, Pessin MS, Lamy C, Mas JL, Caplan LR. A reversible posterior leukoencephalopathy syndrome. *N Engl J Med.* 1996;334(8):494.
- (81) Eidelman BH, Abu-Elmagd K, Wilson J, Fung JJ, Alessiani M, Jain A, Takaya S, Todo SN, Tzakis A, Van Thiel D. Neurologic complications of FK 506. Department of Neurology, University of Pittsburgh School of Medicine. 1991;23(6):3175-8.
- (82) Prommer E. Calcineurin-inhibitor pain syndrome. *Clin J Pain.* 2012 Jul;28(6):556-9
- (83) Thiébaud D, Krieg MA, Gillard-Berguer D, Jacquet AF, Goy JJ, Burckhardt P. Cyclosporine induces high bone turnover and may contribute to bone loss after heart transplantation. *Eur J Clin Invest.* 1996;26(7):549.
- (84) Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, Shimbo T, Suthanthiran M. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature.* 1999;397(6719):530.
- (85) Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. European FK506 Multicentre Liver Study Group. *Lancet.* 1994;344(8920):423.
- (86) Yi-Ping Z., Zi-Jie W., e al. Effects of CYP3A5 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics in pediatric kidney transplantation: a systematic

review and meta-analysis of observational studies. *World J Pediatr, Online First*, May. 2017. 13 (5) 421-426.

- (87) Sireen-Shilbayeh, Rawan-Zmeili, Reham-Issa A., The Impact of CYP3A5 and MDR1 Polymorphisms on Tacrolimus Dosage Requirements and Trough Concentrations in Pediatric Renal Transplant Recipients. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2013;24(6):1125-1136.
- (88) García-Roca P, Medeiros M, Reyes H, Rodríguez-Espino BA et al. CYP3A5 Polymorphism in Mexican Renal Transplant Recipients and its Association with Tacrolimus Dosing *Archives of Medical Research.* 2012; 43:283-287.
- (89) Haufroid V1, Wallemacq P, VanKerckhove V. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *Am J Transplant.* 2006; 6:2706-2713.
- (90) Hesselink DA, Bouamar R, Elens L, et al. The role of pharmacogenetics in the disposition of and response to tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2014; 53:123-139.
- (91) Palma-Aguirre JA, Flores-Murrieta FJ, González-Llaven J. Bioavailability of oral cyclosporine in health Mexican volunteers: Evidence for interethnic variability. *J of Clin Pharmacol.* 1997;37:630-634.
- (92) Jacobo-Cabral CO, García-Roca P, Romero-Tejeda EM, et al. Population pharmacokinetic analysis of tacrolimus in Mexican paediatric renal transplant patients: Role of CYP3A5 genotype and formulation. *Br J Clin Pharmacol.* 2015; 80:630- 641.

- (93) Arreola-Guerra JM, Serrano M, Morales-Buenrostro LE, et al. Tacrolimus trough levels as a risk factor for acute rejection in renal transplant patients. *Ann Transplant*. 2016; 21:105-114.
- (94) Metalidis C, Lerut E, Naesens M, et al. Expression of CYP3A5 and P-glycoprotein in renal allografts with histological signs of calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Transplantation*. 2011; 91:1098-1102.
- (95) Glowacki F1, Lionet A, Buob D, et al. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms in donor and recipient: impact on Tacrolimus dose requirements and clinical outcome after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2011; 26:3046-3050.
- (96) Quteineh L, Verstuyft C, Furlan V, et al. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008; 103:546-552.
- (97) Rojas L, Neumann I, Herrero MJ, et al. Effect of CYP3A5*3 on kidney transplant recipients treated with tacrolimus: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *Pharmacogenomics J*. 2015; 15:38-48.
- (98) Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet*. 2004; 43:623-653.
- (99) Guía de Práctica Clínica: Terapia Inmunosupresora en Trasplante Renal. Elaborada por el Instituto Mexicano del Seguro Social. Dirección de Prestaciones Médicas, División de Excelencia Clínica. 2009.
- (100) Robles-Piedras AL, Fuentes-Noriega I, Romano-Moreno S, et al. Generic substitution of tacrolimus in de novo Mexican renal transplant recipients: A single center experience. *J Biomed Pharmacol* 2015; 8:15-21.

- (101) Waraday BA, Chadha V. Chronic kidney disease in children: the global perspective. *Pediatr Nephrol* 2007; 22:1999-2009
- (102) Morisky DE, Green LW, Levine DM. Concurrent and predictive validity of a self-reported measure of medication adherence. *Med Care* 1986;24:67-74.
- (103) Soghier, L. Reference Range Values for Pediatric Care. *American Academy of Pediatrics*. 2014;1:68-84.

15 ANEXOS

15.1 Anexo 1 Hoja de recolección de datos



Análisis de la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus

Folio: _____

Fecha: _____ Edad: _____ Sexo: M _____ F _____

Fecha de nacimiento: _____

Datos sociodemográficos:

Donante: _____ Edad: _____ Genero: _____

Peso: _____ Talla: _____ IMC: _____ Percentil _____

Condición clínica y datos bioquímicos:

Diagnóstico de enfermedad renal crónica: _____

Causa de enfermedad renal crónica:

Fecha de trasplante: _____ Isquemia fría: _____ caliente: _____

Tipo de tratamiento sustitutivo tiempo: _____

Tratamiento actual: _____

Inducción _____ Dosis de tacrolimus: _____

HLA/compatibilidad: _____

Apego: _____ Marca: _____

| Laboratorio | | | | | |
|-------------|--|-----|--|----|--|
| Hb | | Hto | | FG | |
| | | | | | |

| | | | | | |
|-----------------------|--|----------------------|--|-------------------|--|
| Cr basal | | Albumina | | Glucosa | |
| Cr habitual | | | | | |
| Cr actual | | | | | |
| TGO | | TGP | | GGT | |
| pH / HCO ₃ | | Mg | | Acido úrico | |
| | | k | | | |
| Triglicéridos | | Colesterol | | Nivel 6 meses | |
| Medicamentos | | | | | |
| AINES | | Corticoides | | Antihipertensivos | |
| Antimicóticos | | Anticonvulsivantes | | Procinéticos | |
| Antiácidos | | Antibióticos | | Antifímicos | |
| Clínico | | | | | |
| Temblor | | Hiperplasia gingival | | Tensión arterial | |
| Infecciones | | | | | |
| Malignidad | | | | | |
| Disfunción injerto | | | | | |
| Genotipo | | | | | |
| Biopsia | | | | | |

15.2 Anexo 2 Consentimiento informado



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN:

Nombre del estudio: Análisis de la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus

No. de registro: _____

Guadalajara, Jalisco a _____ de _____ del 2018/2019

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO DEL ESTUDIO: Se me ha explicado que la finalidad del estudio es buscar la probabilidad de riesgo al rechazo del trasplante renal, así como alteraciones clínicas y en sangre, lo cual puede ocasionar que disminuya la función del trasplante renal de mi hijo. Se tomará la cantidad de sangre sobrante de los estudios de rutina realizados en el laboratorio. Se me ha explicado de manera clara, con palabras entendibles, hasta satisfacer mi deseo de información, el motivo para la realización de este estudio y que la participación de mi hijo implica lo siguiente:

PROCEDIMIENTO: Se me informó que para hacer el estudio se tomará sangre por parte de laboratorio dentro de sus exámenes de rutina y como parte del seguimiento de su enfermedad, dejando un sobrante para este estudio y después se harán estudios de genes (material dentro de la célula) por médico especialista para conocer la presencia de alteraciones en dichos genes que se pueden asociar a la presencia de rechazo, alteraciones en el trasplante renal, clínicas y en sangre con el uso de tacrolimus. De tal manera que no será necesaria una punción venosa extra. La muestra de sangre será guardada en un espacio físico denominado genoteca durante 10 años, la cual fue iniciada con la autorización del proyecto con número de registro 2014-1302-42. Se me aclaró que la información que se obtenga de mi hijo será guardada confidencialmente, en un expediente físico (en papel) bajo llave y en una base de datos electrónica (en un programa de computadora) a los cuales sólo tendrán acceso el investigador responsable y los médicos que son colaboradores de esta investigación.

POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS: Se me explicó que se trata de un estudio con riesgo mínimo que implica toma de muestra por punción en la vena. Las molestias relacionadas a la toma de muestra sanguínea pueden ser morete, sangrado mínimo y dolor las cuales duran menos de 2 semanas. Dicha muestra se tomará del sobrante de sus estudios de sangre de rutina. Se me explicó que es mayor el beneficio que el riesgo.

BENEFICIO: Se me explicó que se podrá beneficiar a otros niños ya que este estudio ayudará a los médicos a saber sobre el tratamiento de otros niños de acuerdo a los resultados. También se me explicó que por medio de este estudio podremos saber si mi hijo tiene mayor riesgo de rechazo del injerto renal, alteraciones en el trasplante renal o alteraciones clínicas y en sangre asociado al uso de tratamiento con tacrolimus, permitiendo a los médicos poder darse cuenta a tiempo y así poder hacer ajustes en el tratamiento, tener mejor función y duración del injerto renal.

INFORMACIÓN SOBRE RESULTADOS Y ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO: Se me explicó que al terminar el estudio podré saber el estado de mi hijo, se podrá dar a conocer el resultado genético y se podrán hacer ajustes en su tratamiento.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO: Manifiesto que la participación en este estudio es de mi voluntad y de mi hijo, sin ninguna presión y que en cualquier momento que yo lo decida podré retirar a mi hijo del estudio, pudiendo no decir el motivo. No recibiré dinero por participar en el estudio.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD: Se me dijo que la información que se tenga con el estudio de mi hijo, se me dará a conocer y que al acabar el estudio se identificará con un número sin dar a conocer el nombre u otros datos como su nombre con los que puedan reconocerlo.

Previo asentimiento de mi hijo acepto lo siguiente:

- | | |
|--------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> | No autorizo que se tome la muestra. |
| <input type="checkbox"/> | Si autorizo que se tome la muestra solo para este estudio. |
| <input type="checkbox"/> | Si autorizo que se tome la muestra para este estudios y estudios futuros. |

Nombre y firma padre o representante legal

Nombre y firma de quien obtiene el tutor o consentimiento

Nombre y firma del testigo

Nombre y firma del testigo

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas al estudio podrá dirigirse con los investigadores responsables: Dra. Diana Marisela Bonilla Ruvalcaba, residente de nefrología en esta unidad, celular 3318211827 y/o Dra. Santa Ramírez Godínez, Jefe del servicio de Nefrología Pediátrica de la UMAE Hospital de Pediatría CMNO, Teléfono: 3331713613 y/o Dra. Elvira Torres Infante, Médico Especialista en Nefrología Pediátrica, Diálisis y Trasplante Pediátrico. Maestra en Ciencias Médicas. UMAE Hospital de Pediatría, CMNO, del Instituto Mexicano del Seguro Social. Teléfono: 339683370. En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse al Comité Local de Ética en Investigación 1302 del IMSS, Avenida Belisario Domínguez No. 735, colonia independencia, Guadalajara, Jalisco CP 44340. Teléfono 3336683000 extensión 32696 y32697.

En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS, Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso Bloque "B" de la unidad de Congresos, colonia Doctores, México, D.F, CP 06720. Teléfono 5556276900 extensión 21230, Correo electrónico: comiion.etica@imss.gob.mx

Anexo 2 Asentimiento informado



INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLÍTICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO EN MENORES DE EDAD (NIÑOS Y PERSONAS CON DISCAPACIDAD)

CARTA DE ASENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPACIÓN EN PROTOCOLOS DE INVESTIGACIÓN:

Nombre del estudio: Análisis de la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus.

No. de registro: _____

Guadalajara, Jalisco a _____ de _____ del 2019

JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVO DEL ESTUDIO: Se me ha explicado que el estudio es para buscar si hay mayor riesgo de rechazo de mi trasplante renal, alteraciones clínicas y en sangre lo cual puede ocasionar que disminuya la función de mi trasplante renal. Se me tomará la cantidad sobrante de sangre, la cual se toma de mis estudios de rutina. Se me ha explicado de manera clara, con palabras entendibles el motivo para la realización de este estudio y que mi participación implica lo siguiente.

PROCEDIMIENTO: Se me informó que para hacer el estudio se me tomará sangre de mis exámenes de rutina dejando un sobrante para este estudio donde se analizará la presencia de alteraciones genéticas (material que existe dentro de mis células) que se pueden asociar a la presencia de rechazo, alteraciones en mi trasplante renal, alteraciones clínicas y en sangre con el uso de tacrolimus.

POSIBLES RIESGOS Y MOLESTIAS: Se me explicó que se trata de un estudio con riesgo mínimo que implica toma de muestra por punción de mi vena. Las molestias relacionadas a la toma de muestra sanguínea pueden ser morete, sangrado mínimo y dolor y se me explicó que no duran más de 2 semanas. Dicha muestra se tomará del sobrante de mis estudios de sangre de rutina y seguimiento.

BENEFICIO: Se me explicó que con estos resultados se pueden ayudar a otros niños, además se me explicó que por medio de este estudio podré saber si tengo mayor riesgo de rechazo, alteraciones en mi trasplante renal o alteraciones clínicas

y en sangre asociado al uso de tratamiento con tacrolimus, permitiendo a los médicos poder darse cuenta a tiempo y así poder hacer ajustes en mi tratamiento, tener mejor función y duración de mi trasplante renal.

INFORMACIÓN SOBRE RESULTADOS Y ALTERNATIVAS DE TRATAMIENTO:

Se me explicó que al terminar el estudio podre saber mi estado, se me podrá dar a conocer el resultado genético.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO: La participación en este estudio es de mi voluntad, sin ninguna presión y en cualquier momento que yo lo decida podré retirarme, pudiendo no decir el motivo. No recibiré dinero por participar en el estudio.

PRIVACIDAD Y CONFIDENCIALIDAD: Se me dijo que la información que se tenga con el estudio, se me dará a conocer y que al acabar el estudio se identificará con un número sin dar a conocer mi nombre u otros datos con los que puedan reconocermme.

- | | |
|--------------------------|---|
| <input type="checkbox"/> | No autorizo participar |
| <input type="checkbox"/> | Si autorizo participar para este estudio. |
| <input type="checkbox"/> | Si autorizo participar para este estudios y estudios futuros. |

Por favor escribe tu nombre en la siguiente línea si estas de acuerdo en participar en este estudio:

En caso de dudas o aclaraciones relacionadas al estudio podrá dirigirse con los investigadores responsables: Dra. Diana Marisela Bonilla Ruvalcaba, residente de nefrología en esta unidad, celular 3318211827 y/o Dra. Santa Ramírez Godínez, Jefe del servicio de Nefrología Pediátrica de la UMAE Hospital de Pediatría CMNO, Teléfono: 3331713613 y/o Dra. Elvira Torres Infante , Médico Especialista en Nefrología Pediátrica, Diálisis y Trasplante Pediátrico. Maestra en Ciencias Médicas. UMAE Hospital de Pediatría, CMNO, del Instituto Mexicano del Seguro Social. Teléfono: 339683370. En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse al Comité Local de Ética en Investigación 1302 del IMSS, Avenida Belisario Domínguez No. 735, colonia independencia, Guadalajara, Jalisco CP 44340. Teléfono 3336683000 extensión 32696 y 32697. En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante podrá dirigirse a: Comisión de Ética de Investigación de la CNIC del IMSS, Avenida Cuauhtémoc 330 4º piso Bloque “B” de la unidad de Congresos, colonia Doctores, México, D.F, CP 06720. Teléfono 5556276900 extensión 21230, Correo electrónico: comiion.etica@imss.gob.mx

Anexo 2 Consentimiento informado

Carta de consentimiento informado utilizada en el proyecto con número de registro 2014-1302-42



**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
UNIDAD DE EDUCACIÓN, INVESTIGACIÓN
Y POLITICAS DE SALUD
COORDINACIÓN DE INVESTIGACIÓN EN SALUD
(MENORES DE EDAD)**

Lugar y Fecha: Guadalajara, Jalisco, a ____ de _____ de 20__.

Por medio de la presente le pedimos su autorización para incluir a su hijo (a):
_____ con número de afiliación:
_____ en el proyecto de investigación titulado:
Asociación del polimorfismo *IL-6 -174G>C* con las concentraciones séricas de IL-6 en pacientes pediátricos con Enfermedad Renal Crónica Terminal.

Registrado ante el Comité Local de Investigación en Salud 1302 con el número: 2014-1302-42. El objetivo de este estudio es analizar algunos genes que participan en la respuesta inflamatoria de la Enfermedad Renal, con el propósito de conocer más su influencia sobre la aparición de complicaciones y su evolución final. Le pedimos a Ud. su autorización para analizar el material genético (ADN) de las células de su hijo(a).

Su participación en esta investigación consistirá en: a) Responder a las preguntas que permitan conocer su historia clínica b) Permitir que se extraiga el ADN del sobrante de un tubo de sangre que se le tomó a su hijo para sus estudios clínicos de rutina, una vez que el laboratorio de análisis clínico haya concluido su estudio y c) Si es necesario, acceder a repetir alguno de los procedimientos anteriores a fin

de corroborar algún dato, estudio o completar la cantidad de muestra. Debido a que se utilizará el sobrante de la muestra de sangre que se le toma a su hijo(a) para su evaluación clínica de rutina, su participación no implica maniobras adicionales que puedan perjudicar su integridad física.

No se le otorgará ninguna compensación económica derivada de la participación de su hijo en este proyecto de investigación. No recibirá ningún beneficio directo por su participación; sin embargo, los resultados del estudio permitirán un avance en el conocimiento de la enfermedad que se diagnosticó a su hijo, al conocer algunos de los tipos de genes que intervienen en su evolución.

Usted tiene el derecho de negarse a aceptar que su hijo sea incluido en este estudio y cualquiera que sea su decisión; ésta no afectará la calidad de la atención médica que se merece derechohabiente del Instituto.

Es necesario mencionar que la información que se obtenga de su hijo será guardada confidencialmente, en un expediente físico (en papel) bajo llave y en una base de datos electrónica (en un programa de computadora) a los cuales sólo tendrán acceso el investigador responsable y los médicos que son colaboradores de esta investigación. Como medida adicional de seguridad en la protección de la información que obtengamos de su familiar, la muestra será etiquetada con un número de identificación y sólo los investigadores colaboradores del proyecto conocerán a quién pertenece dicho número. También le hacemos de su conocimiento que la información obtenida se unirá a la de otras personas que acepten participar y cuando se presente en congresos o artículos científicos, se realizarán de forma grupal y no se revelará en ningún momento la identidad de su familiar. En caso de que, terminado este proyecto, sobrara algo de su muestra, le pedimos su autorización para emplearla en otros estudios relacionados, siempre y cuando lo autorice también un comité de ética en investigación autorizado.

Usted tiene derecho a solicitar información para aclarar cualquier duda que se le presente acerca de los procedimientos que se lleven a cabo, los riesgos, los beneficios o cualquier otro asunto relacionado con esta investigación. Puede

obtener información llamando al teléfono 36683000, ext. 31720, con la Dra. Elvira Torres Infante. En caso de dudas o aclaraciones sobre sus derechos como participante en este proyecto de investigación, puede dirigirse al: Comité Local de Investigación y Ética en Salud No 1302, del Hospital de Pediatría, en el área de Investigación en Salud ext. 31664.

En caso de que, terminado este proyecto, sobrara algo de su muestra, le pedimos su autorización para emplearla en otros estudios relacionados, siempre y cuando lo autorice también un comité.

_____ Sí autorizo que se tome la muestra sólo para este estudio

_____ Sí autorizo que se tome la muestra para este y futuros estudios.

NOMBRE Y FIRMA DE AMBOS PADRES O TUTOR O DEL REPRESENTANTE
LEGAL

NOMBRE, FIRMA Y MATRÍCULA DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL

NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

NOMBRE Y FIRMA DEL TESTIGO

15.3 Anexo 3 Carta de Confidencialidad

Guadalajara, Jalisco a _____ del 2019

El C. Santa Ramírez Godínez Investigador responsable del proyecto titulado “Análisis de la asociación de los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A4*1B con la presencia de rechazo, alteraciones clínicas y bioquímicas en pacientes con trasplante renal tratados con tacrolimus”, con domicilio ubicado en Av. Belisario Domínguez No. 735, Colonia Independencia. C. P 44340. Guadalajara, Jalisco; a 16 de junio del 2019, me comprometo a resguardar, mantener la confidencialidad y no hacer mal uso de los documentos, expedientes, reportes, estudios, actas, resoluciones, oficios, correspondencia, acuerdos, directivas, directrices, circulares, contratos, convenios, instructivos, notas, memorandos, archivos físicos y/o electrónicos, estadísticas o bien, cualquier otro registro o información que documente el ejercicio de las facultades para la evaluación de los protocolos de investigación, a que tenga acceso en mi carácter investigador responsable, así como a no difundir, distribuir o comercializar con los datos personales contenidos en los sistemas de información, desarrollados en el ejercicio de mis funciones como investigador responsable.

Estando en conocimiento de que en caso de no dar cumplimiento se estará acorde a la sanciones civiles, penales o administrativas que procedan de conformidad con lo dispuesto en la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública Gubernamental, la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares y el Código Penal del Estado de Jalisco, a la Ley Federal de Protección de Datos Personales en Posesión de los Particulares, y demás disposiciones aplicables en la materia.

Acepto

Nombre y firma

15.4 Anexo 4 Medicamentos que interfieren con el metabolismo de inhibidores de calcineurina ¹⁰¹

Grupo que inhiben CYP 450 - disminuyen metabolismo - aumentan concentración:

- Bloqueadores de canales de calcio: diltiazem, nicardipina, verapamilo, nicardipino y nifedipino.
- Antimicóticos: Fluconazol, Itraconazol, ketoconazol, clotrimazol.
- Antibióticos: Claritromicina, Eritromicina, Quinupristina/Daldopristina, rifampicina, rafabutina e isoniazida.
- Glucocorticoides: Prednisona o deflazacort
- Fármacos gastrointestinales: Metoclopramida y cisaprida
- Otros: Alopurinol, Bromocriptina, Coichicina, Danazol, Amiodarona, antiácidos (omeprazol) y AINES

Grupo que inducen CYP450 - aumentan metabolismo - disminuyen concentración:

- Antibióticos: Rifampicina, Nafcilina, rifabutina e isoniazida
- Anticonvulsivantes: Carbamacepina, Fenobarbital, Fenitoína.
- Otros: Ocreotido, Tidopidina, Orlistat.

15.5 Anexo 5 Encuesta de apego a tratamiento ¹⁰²

Numero de registro:

- 1) ¿Se le olvida alguna vez tomar sus medicinas?
- 2) A algunas personas se les pasa tomarse sus medicinas por otras razones y no un simple olvido. Si recuerda las ultimas dos semanas ¿hubo algún día en el que se le olvidó tomar la medicina?
- 3) ¿Alguna vez ha reducido la dosis o directamente dejado de tomar la medicina sin decirlo a su medico por que sentía peor al tomarla?
- 4) Cuando viaja o esta fuera del hogar ¿se le olvida la medicina alguna vez?
- 5) ¿Tomó su medicina ayer?
- 6) ¿Cuándo siente que su enfermedad esta bajo control, deja a veces su medicina?
- 7) Tomar medicamentos cada día puede ser un problema para muchas personas ¿Con qué frecuencia tiene dificultades para recordar todas sus medicinas?
 - Nunca o casi nunca
 - Rara vez
 - Algunas veces
 - Habitualmente
 - Siempre

Alta adherencia: 0

Buena adherencia: 1 – 2

Baja adherencia: 3 – 8

15.6 Anexo 6 Valores séricos de referencia ¹⁰³

| Determinación | Valor de referencia | |
|--------------------------|---------------------|----------|
| Creatinina mg/dL | | |
| Recién nacido | 0.3–1.0 | |
| Menor de 2 años | 0.2–0.4 | |
| Mayor de 2 años | 0.3–0.7 | |
| Adolescente | 0.5–1.0 | |
| Hombre | 0.9–1.3 | |
| Mujer | 0.6–1.1 | |
| Albumina (U/L) | Masculino | Femenino |
| 1-6 meses | 2.8-4.6 | 2.9-4.2 |
| 6-12 meses | 2.8-4.8 | 3.3-4.8 |
| 1-3 años | 3.4-4.2 | 3.4-4.2 |
| 4-6 años | 3.5-5.2 | 3.5-5.2 |
| 7-9 años | 3.7-5.6 | 3.7-5.6 |
| Glucosa mg/dL | | |
| Menores de 16 años | 60–100 | |
| Mayores de 16 años | 70–105 | |
| Potasio mEq/L | | |
| Recién nacido | 3.7–5.9 | |
| Menos de 2 años | 4.1–5.3 | |
| Mas de 2 años | 3.4–4.7 | |
| Adulto | 3.5–5.1 | |
| Magnesio mg/dl | 1.5 a 2.5 | |
| Ácido úrico mg/dl | | |
| 0 a 30 días | 1.0–4.6 | |
| 1 a 12 meses | 1.1–5.6 | |
| 1 a 5 años | 1.7–5.8 | |
| 6 a 11 años | 2.2–6.6 | |
| 12 a 19 años niño / niña | 3.0–7.7 / 2.7–5.7 | |
| Bicarbonato mEq/L | | |
| Recién nacido | 17 a 24 | |
| 2 meses a 2 años | 19 a 24 | |
| Mayor de 2 años | 22 a 26 | |
| Colesterol mg/dl | | |
| Niños | Menos de 200 | |
| LDL | Menos de 130 | |

| Triglicéridos mg/dl | Niño | Niña |
|---|-----------|----------|
| 0 a 7 días | 21–182 | 28–166 |
| 8 días a 1 mes | 30–184 | 30–165 |
| 1 a 3 meses | 40–175 | 35–282 |
| 3 a 6 meses | 45–291 | 50–355 |
| 6 meses a 1 año | 45–501 | 36–431 |
| 1 a 3 años | 27–125 | 27–125 |
| 4 a 6 años | 32–116 | 32–116 |
| 7 a 9 años | 28–129 | 28–129 |
| 10 a 19 años | 24–145 | 37–140 |
| Alanino aminotransferasa (U/L) | Masculino | Femenino |
| 1-3 años | 1-25 | 5-45 |
| 4-6 años | 4-35 | 10-25 |
| 7-9 años | 5-45 | 10-35 |
| 10-11 años | 10-25 | 10-30 |
| 11-13 años | 10-35 | 10-30 |
| 14-15 años | 10-35 | 5-30 |
| Aspartato aminotransferasa (U/L) | Masculino | Femenino |
| 1-3 años | 20-60 | 20-60 |
| 4-6 años | 15-50 | 15-50 |
| 7-9 años | 15-40 | 15-40 |
| 10-11 años | 10-60 | 10-40 |
| 11-13 años | 15-40 | 10-30 |
| 14-15 años | 15-40 | 10-30 |