

TESIS DOCTORAL
M^a Ángeles López-Montenegro Soria

**PERSONALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR
CON TACROLIMO EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL**



**VNIVERSITAT
E VALÈNCIA**

FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

**PERSONALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO
INMUNOSUPRESOR CON TACROLIMO EN
PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL**

TESIS DOCTORAL
M^a Ángeles López-Montenegro Soria
Valencia, 2013

**Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica
Servicio de Farmacia. Hospital Universitario Dr.Peset**

**PERSONALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO
INMUNOSUPRESOR CON TACROLIMO EN PACIENTES
CON TRASPLANTE RENAL**

Programa de doctorado: Biodisponibilidad y aspectos biofísicos y clínicos de los medicamentos

Directores:

N Víctor Jiménez Torres

Begoña Porta Oltra

Luis Pallardó Mateu

Doctoranda: M^a Ángeles López-Montenegro Soria

Valencia, 20 de Marzo de 2013

Los que suscriben, **N Víctor Jiménez Torres**, Catedrático de Farmacia y tecnología Farmacéutica de la Universidad de Valencia y Jefe de Servicio de Farmacia del Hospital Universitario Dr. Peset, **Begoña Porta Oltra**, Doctora en Farmacia, Especialista en Farmacia Hospitalaria y **Luis Pallardó Mateu**, Doctor en Medicina y Jefe de Servicio de Nefrología del Hospital Universitario Dr. Peset.

CERTIFICAN:

Que la Memoria para optar al grado de Doctor realizada por **M^a Ángeles López-Montenegro Soria**, cuyo título es:

**“PERSONALIZACIÓN DEL TRATAMIENTO
INMUNOSUPRESOR CON TACROLIMO EN PACIENTES CON
TRASPLANTE RENAL”**

ha sido realizada bajo su dirección y reúne todos los requisitos para su juicio y calificación.

En Valencia a 20 de Marzo de 2013,

N Víctor Jiménez Torres Begoña Porta Oltra Luis Pallardó Mateu

Agradecimientos

En primer lugar quiero agradecer al Dr. N Víctor Jiménez Torres la formación impartida durante todos estos años, porque gracias a sus consejos y a su continuo estímulo he sido capaz de desarrollarme personal y profesionalmente.

A todo el personal del Servicio de Farmacia por su colaboración en la realización de esta tesis doctoral, en especial a la Dr. Begoña Porta por sus acertadas correcciones, a Ana Moratalla, a los residentes y a los estudiantes en rotación por la Unidad de Farmacocinética Clínica.

A los profesionales del Servicio de Nefrología, particularmente al Dr. Luis Pallardó, a Julia Kanter y a Sandra Beltrán por su ayuda en el reclutamiento de los pacientes, porque sin ellos hubiese sido imposible realizar esta tesis doctoral.

A la Asociación de Farmacéuticos del Hospital Dr. Peset (AFAHPE) y a la Fundación para la investigación, por financiar el proyecto y fomentar la investigación en el hospital.

Finalmente, quiero dar las gracias a mi familia, especialmente a mis padres por darme la formación necesaria para llevar a cabo este trabajo, a mi marido por aguantar todas las horas que he pasado delante del ordenador y a mi hija por acompañarme durante la redacción de esta memoria.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
1.1. OBJETIVOS.....	6
CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES.....	7
2.1. TRASPLANTE RENAL	9
2.1.1. Actividad del trasplante renal en España.	9
2.1.2. Protocolo de trasplante renal en el Hospital Universitario Dr. Peset.	11
2.1.3. Complicaciones en el paciente trasplantado.....	15
2.1.4. Tratamiento inmunosupresor.....	19
2.2. FARMACOGENÉTICA EN TRASPLANTE RENAL	29
2.2.1. Farmacogenética de las dianas moleculares.	33
2.2.2. Farmacogenética de los transportadores de fármacos.	38
2.2.3. Farmacogenética de las Enzimas metabólicas.	46
2.3. INDIVIDUALIZACIÓN POSOLÓGICA DE TACROLIMO	53
2.3.1. Características farmacocinéticas y farmacodinámicas.	53
2.3.2. Monitorización farmacocinética.....	59
2.3.3. Monitorización farmacogenética.....	64
CAPÍTULO 3: MATERIAL Y MÉTODOS	71
3.1. PACIENTES Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR.....	73
3.1.1. Criterios de selección de pacientes.....	73
3.1.2. Tamaño de la muestra de pacientes.....	74
3.1.3. Comité Ético e Información al paciente.....	76
3.1.4. Tratamiento inmunosupresor.....	76
3.2. DISEÑO DEL ESTUDIO	79
3.2.1. Fase I. Estudio retrospectivo.	79
3.2.2. Fase II. Estudio prospectivo.	79
3.2.3. Seguimiento del paciente trasplantado.	82

3.3. VARIABLES ESTUDIADAS	85
3.3.1. Variables basales.....	85
3.3.2. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética- farmacocinética.....	87
3.3.3. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica..	88
3.4. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	89
3.4.1. Extracción de la muestra	89
3.4.2. Técnica analítica.....	89
3.4.3. Individualización posológica tradicional.	92
3.5. ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO	94
3.5.1. Extracción de la muestra.....	94
3.5.2. Genes seleccionados.....	95
3.5.3. Técnica analítica.....	97
3.5.4. Aplicabilidad en la práctica clínica.....	101
3.6. INDICADORES DE CALIDAD ASISTENCIAL Y SEGURIDAD EN EL PACIENTE	101
3.6.1. Indicadores farmacocinéticos.....	101
3.6.2. Indicadores clínicos.....	103
3.6.3. Indicadores de proceso asistencial.....	104
3.6.4. Indicadores económicos.....	104
3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....	105
3.7.1. Descripción de las pruebas estadísticas utilizadas.....	105
3.7.2. Aplicación de las pruebas estadísticas al estudio.....	108
CAPÍTULO 4: RESULTADOS	111
4. 1. PACIENTES Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR.....	113
4.1.1. Pacientes y tratamiento inmunosupresor.....	113
4.1.2. Potencia del estudio retrospectivo.....	114

4.2. VARIABLES ESTUDIADAS	115
4.2.1. Variables basales.....	115
4.2.2. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética- farmacocinética.....	117
4.2.3. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética- clínica.	125
4.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	135
4.4. ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO	136
4.5. INDICADORES DE CALIDAD ASISTENCIAL Y SEGURIDAD DEL PACIENTE.....	138
4.5.1. Indicadores farmacocinéticos.....	138
4.5.2. Indicadores clínicos.....	144
4.5.3. Indicadores de proceso asistencial.....	148
4.5.4. Indicadores económicos.....	151
4.6. FASE II. APLICACIÓN Y VALIDACIÓN DEL PROTOCOLO DE PERSONALIZACIÓN TERAPÉUTICA	154
4.6.1. Selección del protocolo de personalización terapéutica.....	154
4.6.2. Aplicación del protocolo. Pacientes incluidos y tratamiento inmunosupresor.....	156
4.6.3. Validación del protocolo.....	160
CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN	179
5.1. PACIENTES Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR.....	182
5.2. VARIABLES ESTUDIADAS	184
5.2.1. Variables basales.....	184
5.2.2. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética- farmacocinética.....	188

5.2.3. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica.	197
5.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO	212
5.4. ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO	214
5.5. INDICADORES DE CALIDAD ASISTENCIAL Y SEGURIDAD EN EL PACIENTE	216
5.5.1. Indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad.	216
5.5.2. Indicadores clínicos.	222
5.5.3. Indicadores de proceso asistencial.	227
5.5.4. Indicadores económicos.	230
5.6. FASE II. APLICACIÓN Y VALIDACIÓN DEL PROTOCOLO DE PERSONALIZACION TERAPÉUTICA.	234
5.6.1. Aplicación del protocolo. Pacientes incluidos.	234
5.6.2. Validación del protocolo.	237
CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES	253
BIBLIOGRAFÍA	259
ANEXOS	283
Anexo I. Tratamiento farmacoterapéutico en el trasplante renal.	
Anexo II. Clasificación de Banff.	
Anexo III. Hoja de información al paciente y consentimiento informado del estudio retrospectivo.	
Anexo IV. Hoja de información al paciente y consentimiento informado del estudio prospectivo.	
Anexo V. Modelo de informe farmacogenético.	
Anexo VI. Resultados del análisis farmacogenético de los 50 pacientes del estudio retrospectivo.	

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

El trasplante renal es el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedad renal crónica ya que incrementa la supervivencia y mejora la calidad de vida respecto a la diálisis. No obstante, la escasez de órganos y la comorbilidad del paciente con enfermedad renal crónica hace que muy pocos enfermos del programa de diálisis se beneficien del trasplante renal. Así, durante el año 2011 se han realizado en nuestro país un total de 2.498 trasplantes renales, correspondiendo a un 10% de los pacientes que se encuentran en programas de diálisis (23.647)¹.

El tratamiento inmunosupresor se inicia en el postrasplante inmediato y se administra de forma crónica con el objetivo de prevenir la aparición de una reacción inmunológica de rechazo contra el órgano trasplantado. La terapia inmunosupresora de mantenimiento consiste en la asociación de tres fármacos inmunosupresores químicos con diferente mecanismo de acción, entre ellos un fármaco *inhibidor de la calcineurina* (tacrolimo o ciclosporina) asociado a un *inhibidor de la proliferación celular* (azatioprina o micofenolato de mofetil) o *inhibidor de la proteína m-Tor* (sirolimus o everolimus) y a un *corticoide*. El inhibidor de calcineurina es el inmunosupresor principal de la terapia inmunosupresora; *ciclosporina* fue el primer fármaco anticalcineurínico que se comercializó y permitió incrementar la supervivencia del injerto y del paciente tras el trasplante, posteriormente en los años 80 se incorporó *tacrolimo* que es el fármaco anticalcineurínico más utilizado en la actualidad. En un metaanálisis realizado por Cochrane en 2005 que incluía 30 ensayos clínicos realizados en un total de 4.102 pacientes, se concluía que tacrolimo es más eficaz que ciclosporina ya que los pacientes con tacrolimo presentan menos incidencia de rechazo agudo y mayor supervivencia del injerto respecto a los pacientes en tratamiento con ciclosporina².

Tacrolimo presenta un estrecho índice terapéutico y una elevada variabilidad inter e intraindividual, por ello es un fármaco candidato a la individualización terapéutica en base a su concentración sanguínea. Los últimos documentos de consenso para la individualización posológica de tacrolimo³ recomiendan monitorizar la concentración mínima en sangre total (C_{min}) para individualizar la dosis de mantenimiento. La dosis inicial de tacrolimo se establece empíricamente y oscila entre 0,15-0,30mg/kg/día por vía oral, repartidos en dos tomas⁴. La dosis de mantenimiento se establece en base a la monitorización farmacocinética de la C_{min} de tacrolimo y depende del periodo postrasplante y del tratamiento concomitante, el valor de C_{min} esta ampliamente relacionado con la presencia de rechazo agudo o toxicidad^{5,6,7}, de modo que diversos autores establecen un ámbito terapéutico entre 5 y 15 ng/ml, por ser el considerado más efectivo y menos toxico^{8,9}.

A pesar de que la monitorización farmacocinética se considera el estándar de práctica para el ajuste posológico de tacrolimo en el paciente trasplantado, se observa que en determinados pacientes sometidos a una monitorización farmacocinética exhaustiva no se alcanzan el ámbito terapéutico con la rapidez deseada y en consecuencia incrementa el riesgo de rechazo del injerto¹⁰, por ello es necesario recurrir a nuevos métodos que permitan individualizar la terapia inmunosupresora.

La farmacogenética es la ciencia que permite identificar las bases genéticas de las diferencias interindividuales en la respuesta a fármacos. Friederich Vogel y Motulsky en 1959, sentaron las bases teóricas de esta nueva disciplina. Posteriormente, en 2003 tras la secuenciación completa del Genoma Humano, se produjo una gran revolución en el campo de la genómica ya que se desarrollaron nuevas tecnologías de genotipado y análisis de expresión de genes relacionados con la respuesta a los fármacos de modo que se impulsó el desarrollo de la farmacogenética. En la actualidad, la farmacogenética es la base de la medicina

personalizada que permite individualizar el tratamiento en base a la carga genética de los pacientes.

Numerosos autores han aplicado la farmacogenética para estudiar la respuesta del paciente al tratamiento inmunosupresor tras el trasplante renal; tacrolimo por ser el inmunosupresor principal de la terapia inmunosupresora es uno de los fármacos más estudiados^{11,12,13,14}. En este sentido, la farmacogenética puede complementar a la farmacocinética, ya que permite individualizar la dosis de tacrolimo en aquellos pacientes que a priori no se benefician de la farmacocinética y con ello reducir la presencia de efectos adversos e incrementar la eficacia. Los polimorfismos más estudiados son los situados en los genes relacionados con la biodisponibilidad y el metabolismo de tacrolimo. En concreto, los localizados en el gen MDR1 que codifica la glicoproteína P, *MDR1 2677* y *MDR1 3435*, provocan una pérdida de la función de la proteína y su presencia se relaciona con un aumento en la biodisponibilidad de tacrolimo y por ello con un incremento en su concentración sanguínea^{15,16,17,18}. Por otra parte se encuentran los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase I, *CYP3A5*3*, cuya presencia provoca una falta de expresión de la enzima CYP3A5 y consecuentemente una reducción en el metabolismo de tacrolimo y un incremento en su concentración sanguínea^{19,20,21}.

El estudio de los polimorfismos genéticos y sus consecuencias farmacocinéticas y clínicas en el paciente tras el trasplante renal permite diseñar e implantar protocolos de individualización posológica de tacrolimo en base a la carga genética del paciente. En este sentido, varios autores han demostrado que la aplicación de protocolos de individualización posológica de tacrolimo en base al genotipo *CYP3A5*3* en los pacientes, reduce el tiempo en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo tras la instauración del tratamiento inmunosupresor e incrementa el tiempo de concentraciones efectivas en los pacientes^{22,23}.

Desde estas premisas se establecen en esta Memoria de tesis doctoral los siguientes objetivos:

1.1. OBJETIVOS

Principal

- Aplicar y validar un protocolo de individualización de la dosis inicial de tacrolimo en función de la carga genética, en los pacientes recién trasplantados de riñón.

Secundarios

- Cuantificar la *frecuencia de aparición* de los distintos polimorfismos en nuestra población de estudio.
- Relacionar los *polimorfismos* identificados en nuestra población de estudio con la respuesta *cinética de los pacientes*.
- Relacionar los *polimorfismos* identificados en nuestra población de estudio con la respuesta *clínica de los pacientes*, a nivel de eficacia (rechazo agudo) y toxicidad (efectos adversos).
- Relacionar los *polimorfismos* identificados con los *indicadores de calidad y seguridad del paciente* establecidos.

CAPÍTULO 2: ANTECEDENTES

2.1. TRASPLANTE RENAL

2.1.1. Actividad del trasplante renal en España.

En 1954, Murray realizó el primer trasplante renal con éxito entre gemelos univitelinos, en el Brigham Hospital de Boston²⁴. Posteriormente, en 1962 tras la introducción de la Azatioprina se realizó el primer trasplante renal en el mundo con un injerto procedente de un donante cadáver²⁵.

En España no fue hasta 1965, cuando los profesores Gil Vernet y Caralps en el Hospital Clínic de Barcelona realizaron el primer trasplante renal procedente de un donante cadáver²⁶, unos meses más tarde se iniciaron los trasplantes renales en la Fundación Jiménez Díaz de Madrid.

Desde entonces el número de trasplantes renales en España ha seguido una evolución creciente, como se representa en la figura 1.

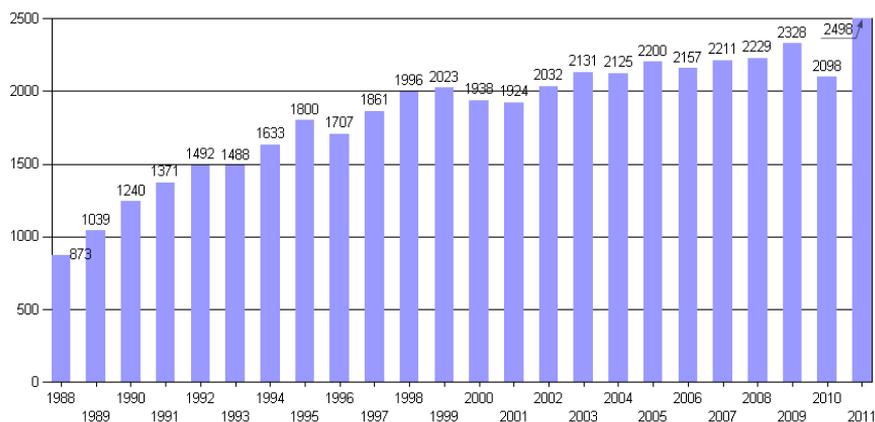


Figura 1. Evolución del trasplante renal en España.

Durante el año 2011, se han realizado 190 trasplantes renales en la Comunidad Valenciana, que supone un 7,6% del total de los trasplantes realizados en España¹.

En concreto, el Hospital Universitario Dr. Peset está autorizado para realizar trasplante renal desde el año 1996. En el periodo 1996-2011 se han realizado 666 trasplantes de donante cadáver con éxito (figura 2).

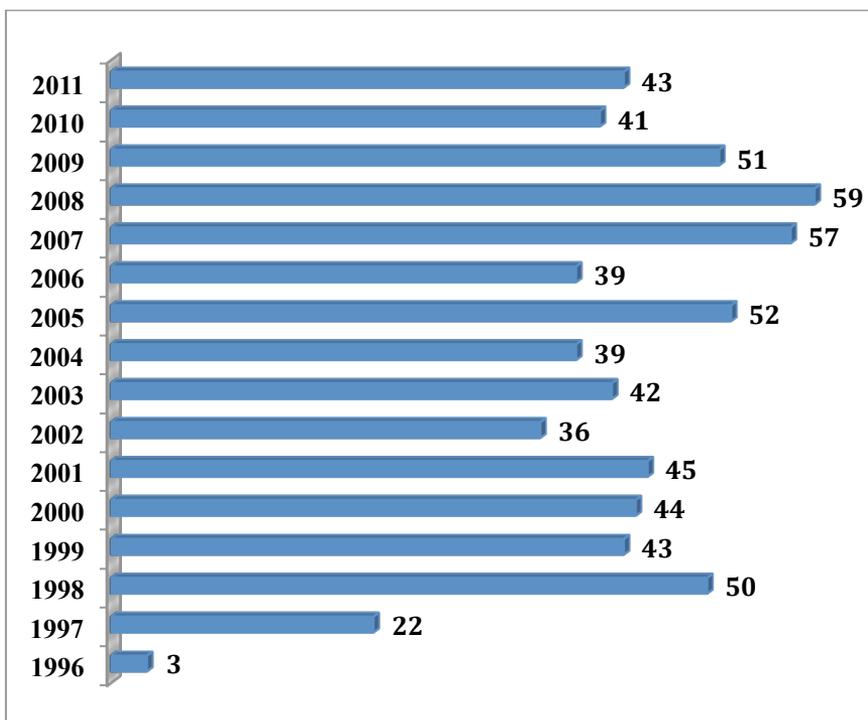


Figura 2. Número de trasplantes renales realizados en el Hospital Universitario Dr. Peset.

La **legislación** en materia de trasplantes a nivel nacional está regulada por la Ley 30/1979 de 27 de octubre²⁷. En el *Real Decreto 2070/1999* de 29 de octubre²⁸ se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y en el *Real Decreto 1301/2006*, de 10 de noviembre²⁹, se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y

tejidos humanos. En 2009, se aprobó el estatuto de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT) con la publicación del *RD 1825/2009* del 28 de noviembre³⁰.

En la Comunidad Valenciana, la autorización de centros sanitarios para la práctica de actividades de extracción y trasplante de órganos y tejidos está regulada por la *Orden de 26 de febrero de 2008 del Conseller de Sanidad*³¹, y el Registro de Trasplantes (RETRACV) por la *Orden de 29 de diciembre de 2000 del Conseller de Sanidad*³². La Orden de 20 de enero de 2003 de la *Conselleria de Sanidad* regula las estructuras que conforman los equipos de extracción y trasplante de órganos y tejidos³³, y las remuneraciones aplicables para determinadas actividades de extracción y trasplante de órganos y tejidos se establecen en el Acuerdo de 17 de diciembre de 2004 y en el de 4 de abril de 2008 del Consell de la Generalitat, negociado en la Mesa Sectorial de Sanidad^{34,35}.

2.1.2. Protocolo de trasplante renal en el Hospital Universitario Dr. Peset.

El trasplante renal es el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedad renal crónica terminal, no obstante, en la actualidad sólo un 20% de los enfermos en programas de diálisis en España está en **lista de espera para recibir un trasplante renal**.

En principio, todo paciente con enfermedad renal crónica terminal que no presente complicaciones o enfermedades graves asociadas que condicionen su supervivencia a corto plazo y tenga juicio suficiente para entender y asumir la terapéutica, sería subsidiario de ser **receptor** de un trasplante renal.

Para incluir a un paciente en lista de espera de trasplante se realiza un examen físico exhaustivo que incluye realización de pruebas analíticas y radiográficas

para asegurar que no cumple una contraindicación absoluta^{36,37,38}. Las contraindicaciones absolutas para el trasplante generalmente aceptadas, son³⁹:

- Neoplasia activa con corta esperanza de vida
- Enfermedad crónica con corta esperanza de vida (inferior a 1 año)
- Consumo activo de drogas o alcohol
- Insuficiencia orgánica grave sin posibilidades de corrección
- Psicosis no controlada

Los pacientes en lista de espera para recibir un trasplante renal están en una lista de espera informatizada, donde se recogen los aspectos más importantes para la selección cuando hay un donante, como son:

- Grupo sanguíneo ABO
- Fenotipos HLA-A, B y DR
- Edad
- Peso
- Grado de sensibilización HLA
- Trasplantes previos
- Comorbilidades con significación pronóstica
- Serología viral
- Centro de diálisis de procedencia
- Fecha de inclusión en lista de espera

En general, cada año se efectúa una reevaluación del paciente en lista de espera que incluye al menos lo siguiente: exploración física, serología viral y estado cardiovascular.

Respecto al **donante**, en España la mayor parte de trasplantes renales se realizan de donante cadáver, según estadísticas de la ONT durante el año 2011 se han realizado 2186 trasplantes de donante cadáver frente a tan solo 312 de donante vivo.

Cualquier sujeto en muerte cerebral que no presente una enfermedad transmisible (infección VIH, sepsis o neoplasia maligna) puede ser evaluado como posible donante de riñón. Con la reducción de los accidentes de tráfico, y consiguiente disminución de la disponibilidad de órganos de donantes considerados óptimos, hay que recurrir a donantes marginales. Se entiende por donante marginal o con criterios expandidos si cumple uno de los siguientes criterios⁴⁰:

- Edad \geq 60 años, ó
- Edad entre 50-59 años con al menos 2 de los siguientes criterios:
 - Causa de muerte: accidente cerebrovascular
 - Historia previa de hipertensión arterial
 - Creatinina sérica $>$ 1,5 mg/dl (valores procedentes de la última creatinina pre-extracción del riñón).
- Donantes a corazón parado

Aunque la respuesta funcional del órgano de un donante marginal no sea óptima, los resultados actuales avalan su idoneidad cuando se trasplantan en el receptor adecuado, por ejemplo buscando la compatibilidad de masa corporal o de edades entre el donante y el receptor^{41,42}.

Una vez extraído el órgano del donante se debe mantener adecuadamente. El **método de preservación renal** mas utilizado es el almacenamiento hipotérmico, consiste en irrigar el órgano extraído con una solución de preservación, alcanzando un enfriamiento total rápido. La temperatura que llega a alcanzar está entre 0 y 5 °C. Existen varias soluciones de preservación que contienen

concentraciones de electrolitos semejantes al líquido extracelular, sustratos para el metabolismo anaeróbico y sustancias pobremente permeables pero activas osmóticamente como la glucosa o el manitol, entre ellas las más utilizadas son la solución de Collins, Euro-Collins y Belzer.

El **receptor** se selecciona de la lista de espera de trasplante renal, para ello la compatibilidad de grupo sanguíneo ABO y la prueba cruzada negativa (anticuerpos IgG contra los linfocitos del donante) son absolutamente necesarios. La mejor compatibilidad HLA-DR, la menor diferencia entre la edad del donante y del receptor y la adecuación de la masa renal entre donante y receptor, son los aspectos más importantes a considerar.

La **cirugía** de implante renal suele ser la anastomosis de la arteria y vena renales a la arteria y vena ilíacas en la fosa ilíaca derecha, con anastomosis de uréter del injerto a la vejiga del receptor. Suele durar unas 2 horas, con un tiempo de sutura vascular de unos 40 minutos. El **tiempo de isquemia** fría suele ser de 18 a 20 horas.

En el momento del trasplante se administran los siguientes fármacos:

- Antibióticos: **profilaxis infecciosa**.
- Inmunosupresores:
 - inducción con **basiliximab o inmunoglobulina antitimocítica de conejo**, en función del riesgo inmunológico del paciente.
 - 1ª dosis de **micofenolato de mofetil**
 - **corticoides**
- Antidiuréticos: **desmopresina**.

En el anexo 1 se detalla el protocolo farmacoterapéutico en el trasplante renal.

2.1.3. Complicaciones en el paciente trasplantado.

En el postrasplante inmediato debe vigilarse el estado hemodinámico y respiratorio, la diuresis y la inmunosupresión administrada, así como detectar problemas quirúrgicos y cardiopulmonares y valorar la necesidad de hemodiálisis. Se deben mantener unas cifras de presión arterial y presión venosa central adecuadas para una buena perfusión del injerto. Hay que evitar hipervolemia excesiva, especialmente en pacientes mayores de 60 años o con disfunción diastólica o coronariopatía. La anuria, especialmente en pacientes en los que se espera una diuresis inmediata (receptor y donante joven con tiempo de isquemia fría corto, etc.), es una urgencia diagnóstica, y requiere pruebas de imagen para comprobar la vascularización del injerto o la presencia de colecciones que compriman la vía urinaria.

En los días siguientes postrasplante el paciente comienza a deambular e inicia la ingesta oral, se inicia el tratamiento inmunosupresor con fármacos anticalcineurínicos y la profilaxis de infecciones oportunistas con cotrimoxazol y valganciclovir.

En el paciente con diuresis inmediata y descenso de creatinina plasmática el seguimiento es sencillo, y salvo otras complicaciones puede retirarse la sonda vesical a los 7 días y darle de alta. El paciente con diuresis escasa y descenso lento de los niveles de creatinina plasmática o con necesidad de diálisis requiere estudios más amplios y estancia hospitalaria más prolongada⁴³.

Entre las **complicaciones médicas más frecuentes a corto plazo** se encuentran la necrosis tubular aguda (NTA) y el rechazo agudo. La **NTA** es la principal causa de disfunción aguda del injerto renal en el postoperatorio inmediato, afectando entre un 15 y un 40% de los trasplantes de donante cadáver y a menos de un 5% de los de donante vivo. La etiología es multifactorial puede ser

causada por el donante (donante a corazón parado o edad avanzada), por el tiempo de isquemia fría prolongado o por la administración precoz de fármacos anticalcineurínicos. La NTA incrementa el potencial inmunógeno del injerto al inducir la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio capilar y de antígenos de clase II en el epitelio tubular e incrementar la expresión de antígenos de clase I, por este motivo se observa un riesgo incrementado de rechazo agudo en estos pacientes⁴⁴.

El **rechazo agudo** es la complicación médica que en mayor medida puede condicionar la supervivencia del injerto a corto y largo plazo. El rechazo agudo celular, es el más frecuente de los distintos tipos de rechazo, su incidencia oscila entre un 15-20% en función del esquema de inmunosupresión, la compatibilidad inmunológica entre el donante y receptor, el tipo de trasplante (donante cadáver o vivo) y que se trate de primer o segundos trasplantes^{45,46}. Suele producirse entre los 5 días y los tres primeros meses postrasplante aunque puede producirse pasado este tiempo.

La presentación clínica del rechazo agudo suele ser un deterioro agudo de la función renal con un descenso de la diuresis, aumento de la creatinina sérica, edemas y un aumento de la presión arterial, la presencia de fiebre o dolor en el injerto es inhabitual con los actuales inmunosupresores. Es importante realizar un diagnóstico diferencial con necrosis tubular aguda, nefrotoxicidad, obstrucción del tracto urinario y trombosis arterio-venosa. La técnica diagnóstica por excelencia es la biopsia del órgano trasplantado, que permite identificar lesiones específicas de rechazo agudo y evaluar su gravedad. Existen diversos criterios de valoración de la lesión histológica del rechazo agudo, uno de los más aceptados es la clasificación de Banff^{47,48} (Anexo 2).

El tratamiento de elección del rechazo agudo es la administración de bolos de esteroides que revierten aproximadamente el 75% de los primeros episodios de

rechazo, en pacientes que no responden a los esteroides se recurre a la administración de anticuerpos mono o policlonales que revierten aproximadamente el 90% de rechazos⁴⁵. Como tratamiento de rescate se puede utilizar tacrolimo, micofenolato de mofetil o sirolimo.

Entre las **complicaciones médicas a medio y largo plazo** se encuentran las **infecciones**. El tratamiento de las infecciones en el receptor de un trasplante se ve dificultado por la toxicidad y las interacciones entre los fármacos antimicrobianos y los inmunosupresores, así como por la escasa tolerancia de estos pacientes a ciertos procedimientos diagnósticos agresivos necesarios para establecer un diagnóstico de certeza.

Todos los pacientes tras el trasplante renal inician profilaxis antifecciosa con *cotrimoxazol 1 comprimido (800mg/160mg) cada 48h* durante los primeros 6 meses postrasplante para prevenir la neumonía por pneumocistis jiroveci y con *valganciclovir 1 comprimido (450mg) cada 24h* durante durante los primeros 3 meses postrasplante para prevenir la infección por citomegalovirus (CMV), en el caso de ser receptores seronegativos del riñón de un donante infectado por CMV⁴⁹.

El tratamiento depende de la etiología de la infección, en la tabla 1 se presentan los principales factores de riesgo y la etiología de las infecciones en función del tiempo postrasplante.

Tabla 1. Etiología de las principales infecciones tras el trasplante renal.

Periodo postrasplante (mes)	Factor de riesgo	Etiología
Inicial (1)	Nosocomial: cirugía, ventilación mecánica, catéteres, sonda vesical.	Bacterianas
Intermedio (2-6)	Infecciones oportunistas: Inmunosupresión	Bacterianas Víricas (CMV)
Tardío (7-12)	Infecciones comunitarias.	Bacterianas Víricas

CMV: citomegalovirus

Las infecciones fúngicas son menos frecuentes en el paciente trasplantado renal. Generalmente se produce afectación de la vía urinaria por *Candida spp*, clínicamente se presenta en forma de candiduria o fungemia asociada a la infección de orina. El tratamiento estándar consiste en la administración de fluconazol, no obstante hay que tener precaución al instaurar un tratamiento antifúngico por las interacciones con los fármacos inmunosupresores.

La **nefropatía crónica del injerto** es una de las primeras causas de pérdida del injerto renal a partir del primer año de seguimiento. La sospecha de nefropatía crónica del injerto se produce cuando existe un deterioro lento y progresivo de la función renal que habitualmente se acompaña de proteinuria e hipertensión. El diagnóstico debe confirmarse mediante la práctica de una biopsia renal, para la valoración de la lesión histológica se utiliza la clasificación de Banff descrita en el anexo 2.

El **resto de complicaciones** que aparecen tras el trasplante renal son causadas, en la mayor parte de los casos, por los fármacos inmunosupresores, de modo que se desarrollan en el apartado correspondiente a la terapia inmunosupresora.

2.1.4. Tratamiento inmunosupresor.

Cuando el paciente se pone en contacto con el órgano trasplantado se activa el sistema inmunitario, que reconoce las células extrañas y las destruye. Los antígenos del complejo mayor de histocompatibilidad (HLA) son los responsables de identificar las células del paciente y diferenciarlas de las extrañas, funcionando como una especie de documento de identidad de cada célula.

En la respuesta inmunológica de rechazo se distinguen tres fases:⁵⁰

- Reconocimiento del antígeno.
- Estimulación y proliferación del sistema inmunitario.
- Fase efectora o de destrucción del injerto.

La activación de la respuesta de rechazo se produce cuando los linfocitos T facilitadores (T-CD4) del receptor reconocen al antígeno extraño (proteínas del sistema HLA) del órgano trasplantado. A continuación para que el linfocito T-CD4 se active y prolifere debe recibir tres señales diferentes:

1. La *primera señal* se produce cuando la estructura de reconocimiento antigénico del linfocito T-CD4 se une al complejo formado por el antígeno extraño y la célula presentadora de antígenos.
2. Como consecuencia de la primera señal los linfocitos T-CD4 segregan una linfocina estimulante de los macrófagos, los cuales se activan y segregan interleucina 1 (IL-1) o factor estimulante de linfocitos, lo que constituye la *segunda señal*.
3. Como consecuencia de las señales 1ª y 2ª, se desencadenan una serie de reacciones cuyo resultado final es la producción y liberación de interleucina 2 (IL2) o factor de crecimiento de linfocitos, que constituye la *tercera señal*. El resultado final es la proliferación del clon activado de linfocitos T-CD4.

Por otra parte la IL-2 segregada por los T-CD4 activados activa a los linfocitos T-CD8 dando lugar a linfocitos T con actividad citotóxica, que infiltran el injerto y desempeñan un papel fundamental en la destrucción del tejido injertado. Otras interleucinas y el interferón- γ activan los linfocitos B, que por su acción se transforman en células plasmáticas productoras de inmunoglobulinas dirigidas contra los antígenos del injerto.

De modo que en la respuesta inmunológica de rechazo se diferencian dos componentes: el celular (mediado por los linfocitos T citotóxicos) y el humoral (mediado por las inmunoglobulinas liberadas por las células plasmáticas).

En figura 3 se representa el mecanismo inmunológico de rechazo.

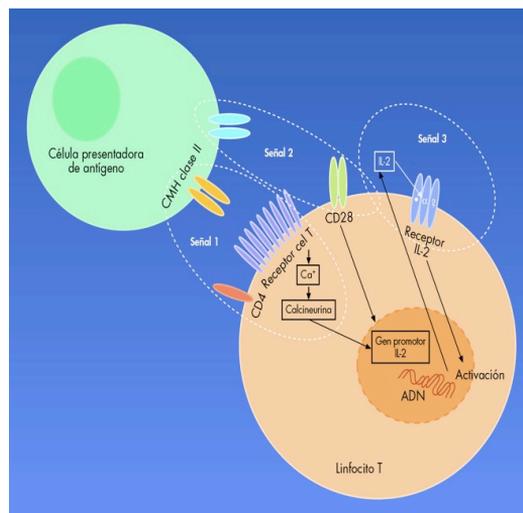


Figura 3. Mecanismo inmunológico de rechazo.

2.1.4.1. Fármacos inmunosupresores.

El objetivo de la terapia inmunosupresora es evitar la respuesta inmunológica de rechazo. Desde que en el año 1960 se introdujo azatioprina, se han producido

muchos avances en la terapia inmunosupresora, mejorando la supervivencia del paciente y del injerto.

Los fármacos inmunosupresores, en base a su origen, se dividen en dos grupos: Inmunosupresores biológicos e inmunosupresores químicos.

Inmunosupresores biológicos

Los inmunosupresores biológicos están dirigidos contra diversas moléculas superficiales de las células del sistema inmunitario, suprimiendo la actividad de los linfocitos T y con ello la proliferación clonal. El modo de acción de estos inmunosupresores es muy variado. Se diferencian dos tipos:

- *Anticuerpos policlonales*: son no selectivos, contienen anticuerpos con múltiples epítomos, por ello reaccionan con múltiples antígenos presentes sobre un amplio margen de células o con un único antígeno ampliamente distribuido. La depleción de las células frente a las que van dirigidos se produce por diversos mecanismos, entre ellos: la lisis mediada por el complemento, la citotoxicidad mediada por células, la inducción de apoptosis y la opsonización.

Se obtienen en diferentes especies animales, generalmente caballo y ratón, previamente inmunizados con antígenos, que son células linfoides humanas como timocitos, linfoblastos o células T periféricas. Las propiedades características de cada anticuerpo policlonal dependen del animal utilizado como fuente de obtención de los anticuerpos, del inmunógeno usado para estimular su producción y del proceso de manufacturación, por este motivo se caracterizan por presentar una elevada variabilidad entre los lotes.

Dentro de los anticuerpos policlonales se incluyen los sueros antilinfocitarios y las fracciones activas de las gammaglobulinas contra los timocitos (ATG) y los linfocitos (ALG).

- Anticuerpos monoclonales: tienen mayor especificidad ya que proceden de un único linfocito B y cada célula plasmática produce y segrega un solo anticuerpo. Se obtienen inmunizando ratones con un antígeno concreto. Entre los principales problemas que presentan los anticuerpos monoclonales cabe citar los siguientes:

1. Posible formación de anticuerpos neutralizantes frente a ellos, lo que limita su efectividad y puede impedir su uso repetido.
2. Necesidad de administración intravenosa al tratarse de proteínas de gran tamaño.
3. Experiencia limitada que dificulta la evaluación de su eficacia y seguridad, sobre todo a largo plazo.

Dentro de los anticuerpos monoclonales se incluyen:

1. Anticuerpos dirigidos contra la proteína de membrana CD3: *muromonab*. Esta proteína se encuentra en la superficie de todos los linfocitos T. En un primer momento destruye a los linfocitos T CD3-positivos, para luego provocar la producción de linfocitos T carentes de CD3 y, por lo tanto, no funcionales. Su acción es reversible al suspender el tratamiento.

2. Anticuerpos dirigidos contra la subunidad alfa del receptor de la IL-2: *daclizumab* y *basiliximab*. Este receptor sólo aparece en los linfocitos T activados, lo que supone una mayor especificidad de acción. Su bloqueo supone la interrupción de todas las cascadas metabólicas que suceden tras su unión a la IL-2 y que tendrán como resultado la proliferación linfocitaria.

En la tabla 2 se presentan las principales características de los inmunosupresores biológicos.

Tabla 2. Características de los inmunosupresores biológicos utilizados en el trasplante renal.

Clasificación	Fármaco	Características	M. Acción	Dosificación
Policlonales	ATGAM	Caballo	Inespecífico	10mg/kg/24h (5-14 días)
	Timoglobulina	Conejo	Inespecífico	1,5 mg/kg/24h (5-10 días)
Monoclonales	Basiliximab	Quimérico	Ac anti-receptor IL-2	20mg cada 4 días (2 dosis)
	Daclizumab	Humanizado	Ac anti-receptor IL-2	1 mg/kg cada 15 días (5 dosis)
	Muromonab	Murino	Ac anti-CD3	5mg/24h (10-14 días)

ATGAM: inmunoglobulina antilinfocitos T; Timoglobulina: inmunoglobulina antitimocitos; IL-2: interleucina 2.

Inmunosupresores químicos

Los inmunosupresores químicos actúan a diferentes niveles de la respuesta inmunológica (figura 4):

- Reconocimiento antígeno-anticuerpo. En este punto se generan una serie de cascadas metabólicas sobre las que van a actuar la gran mayoría de los inmunosupresores:

Los **inhibidores de la calcineurina** (ciclosporina y tacrolimo), se unen a proteínas citoplasmáticas llamadas immunofilinas y forman un complejo que bloquea la actividad fosfatasa de la calcineurina, y por lo tanto la transcripción génica de citoquinas, que se traduce en la inhibición de la respuesta inmune celular y en menor grado de la inmunidad humoral.

Los **corticoides** actúan, entre otros mecanismos de acción, a nivel, de los factores de transcripción impidiendo el transporte de estos factores desde el citoplasma al núcleo celular.

- Trasmisión de la señal al núcleo. En este proceso intervienen los inmunosupresores que actuarán a nivel de la **proteína mTOR** (sirolimus y everolimus), que inhiben la activación de una S6 kinasa, impidiendo el paso de la fase G1 a la fase S del ciclo celular e inhibiendo, por tanto, la proliferación linfocitaria. Dentro de la evolución del ciclo celular se ha de producir la síntesis de bases púricas y pirimidínicas, y es a este nivel es donde actúan los **inmunosupresores antiproliferativos**, que incluyen el ácido micofenólico, que es un inhibidor no competitivo de la inosina monofosfato deshidrogenasa y la azatioprina.

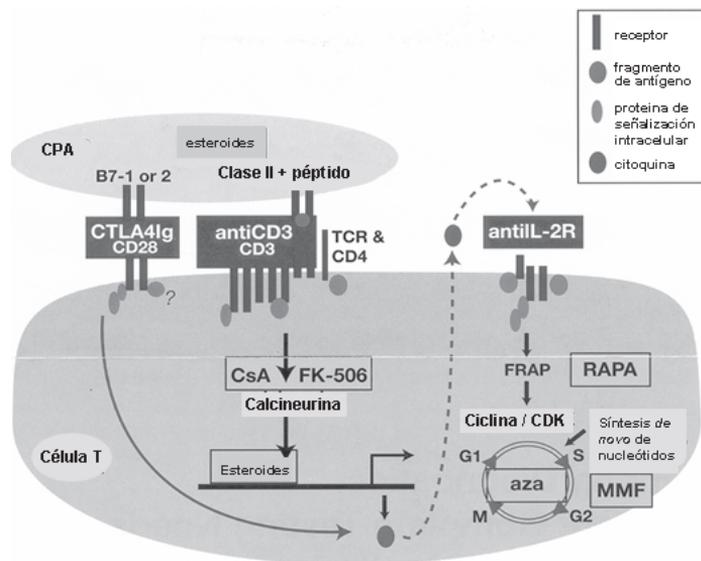


Figura 4. Mecanismo de acción de los inmunosupresores químicos.

Existen varios subgrupos de inmunosupresores químicos que se clasifican por su mecanismo de acción, en la tabla 3 se presentan sus principales características.

Tabla 3. Características de los inmunosupresores químicos utilizados en el trasplante renal.

Clasificación	Fármaco	Dosificación inicial	Cs inicial (ng/ml)	Cs mantenimiento (ng/ml)
Inhibidores de calcineurina	CsA	4-7,5 mg/kg/12h	Cmin: 150-250 C2: 1400-1800	Cmin: 75-150 C2: 400-800
	TAC	0,075-0,15 mg/kg/12h	Cmin: 10-15	Cmin: 5-10
Inhibidores proteína m-TOR	SIR	2-5 mg/24h	Cmin: 8-12 Cmin: 4-8	Cmin: 8-12 ng/ml Cmin: 4-8
	EVER	0,75 mg/12h	Cmin: 3-8	Cmin: 3-8
Antiproliferativos	MMF	1-2 g/12h	Cmin: 1-3,5*	Cmin: 1-3,5*
	NaMF	720mg/12h	Cmin: 1-3,5	Cmin: 1-3,5
Corticoides	PRD	20mg/24h		

CsA: ciclosporina; TAC: tacrolimo; SIR: sirolimo; EVER: everolimo; MMF: micofenolato de mofetil; NaMF: micofenolato sódico; PRD: prednisona; Cs: concentración sanguínea objetivo; Cmin: concentración mínima; C2: concentración a las 2h postadministración.* mcg/ml.

En la tabla 4 se presentan las principales características farmacocinéticas de los inmunosupresores químicos.

Tabla 4. Características farmacocinéticas de los inmunosupresores químicos.

	F (%)	Tmax (horas)	t1/2 (horas)	Tee (días)	UPP (%)	Eliminación
CsA	10-60	1-2	5-18	1-4	90-98	Metabolismo: Fase I (enzimas CYP3A4, CYP3A5) Excreción: Biliar
TAC	20-25	1-3 2 (LP)	4-12 41 (LP)	2-3	98,8	Metabolismo: Fase I (enzimas CYP3A4, CYP3A5) Excreción: Biliar
MMF	94	0,8-1,8	16-18	3-4	97	Metabolismo: Fase II (enzimas UGT1A8,UGT1A9) Excreción: 85-95% en orina, y en bilis (circulación enterohepática)
NaMF	72	1,5-3	8-16	3-4	97	
SIR	14-27	1-3	46-78	10-16	92	Metabolismo: Fase I (enzimas CYP3A4, CYP3A5) Excreción: Biliar
EVER	16	1-2	21-35	4-7	74	Metabolismo: Fase I (enzimas CYP3A4, CYP3A5) Excreción: Biliar

CsA: ciclosporina; TAC: tacrolimo; MMF: micofenolato de mofetil; NaMF: micofenolato sódico; SIR: sirolimo; EVER: everolimo; F: biodisponibilidad oral; Tmax: tiempo en alcanzar la concentración máxima; t1/2: tiempo en eliminar el 50% del fármaco; Tee: tiempo en alcanzar la concentración en estado estacionario; UPP: unión a proteínas plasmáticas; AUC: área bajo la curva Concentración-tiempo, Cmin: concentración mínima; LP: liberación prolongada.

Los efectos adversos de los fármacos inmunosupresores generalmente son característicos del subgrupo y dependen de la dosis del fármaco por lo que se pueden evitar con un ajuste posológico adecuado. Entre los efectos adversos más frecuentes se encuentran los descritos en la tabla 5.

Tabla 5. Incidencia de los principales efectos adversos de los inmunosupresores químicos.

FÁRMACO	EFFECTOS ADVERSOS
INHIBIDORES CALCINEURINA Ciclosporina y Tacrolimo	HTA (13-89%) Dislipemia (50-60%) Insuficiencia renal (25-59%) Toxicidad neurológica (TAC) (15-56%) Hipertricosis (CsA) (21-45%) Hiperglucemia (TAC) (11-22%) Hiperplasia gingival (CsA) (4-16%)
INHIBIDORES PROLIFERACIÓN CELULAR Micofenolato de mofetil y Micofenolato Sódico	Toxicidad digestiva (3-38%) Infecciones (3-30%) Insomnio (3-23%) Leucopenia, neutropenia, anemia (3-22%)
INHIBIDORES m-TOR Sirolimo y everolimo	Edema periférico (54-58%) Dislipemia (45-57%) Hipertensión Arterial (45-49%) Proteinuria (39-40%) Toxicidad digestiva (25-36%) Anemia (20-33%)

2.1.4.2. Protocolos de inmunosupresión.

Actualmente existen dos protocolos de inmunosupresión en función del origen de los fármacos inmunosupresores utilizados y del momento de su utilización, el tratamiento de inducción se administra en el momento del trasplante y el tratamiento de mantenimiento se instaura en el momento del trasplante o en el postrasplante inmediato y se mantiene durante un periodo prolongado o incluso indefinido.

- **Tratamiento de inducción:** consiste en la administración de inmunosupresores biológicos policlonales o monoclonales en el momento del trasplante con el objetivo de alcanzar rápidamente el estado de inmunosupresión.

- **Tratamiento de mantenimiento:** consiste en la asociación de varios fármacos inmunosupresores químicos con diferente mecanismo de acción con el fin de mejorar la eficacia y reducir la toxicidad de la terapia inmunosupresora.

Se utiliza una triple terapia formada por:

- Inhibidor de calcineurina (tacrolimo o ciclosporina)
- Inhibidor de la proliferación celular (micofenolato de mofetil, micofenolato sódico, azatioprina) o un inhibidor de la m-TOR (sirolimus o everolimus)
- Corticoide (prednisona)

La inmunosupresión es especialmente importante durante el período postrasplante inicial en el que hay una elevada incidencia de rechazo precoz del trasplante. En fases postoperatorias más avanzadas se produce una “adaptación al injerto”, lo que origina las tasas de rechazo muy bajas que se observan en los pacientes en mantenimiento. Así pues la terapia inmunosupresora debe reducirse con el tiempo mediante una reducción gradual de los esteroides hasta una supresión total, si es posible, y una disminución gradual del inhibidor de calcineurina, del inhibidor de la proliferación celular y del inhibidor de la m-TOR.

2.2. FARMACOGENÉTICA EN TRASPLANTE RENAL

El objetivo de la farmacoterapia es administrar un fármaco adecuado a un paciente en concreto, a la dosis apropiada para producir la máxima eficacia y la mínima toxicidad. Los fármacos generalmente se dosifican atendiendo a uno de los siguientes criterios:

- Dosis fijas
- Características antropométricas (peso, sc..)
- Características biométricas (Clcr)
- Monitorización farmacocinética

Se observa que a pesar de utilizar los mismos criterios de dosificación en pacientes aparentemente similares, se produce una elevada variabilidad en la respuesta al tratamiento, es decir a igualdad de dosis de un fármaco, nos encontramos pacientes que no responden al tratamiento y pacientes que presentan una mayor incidencia de aparición de efectos adversos.

Las reacciones adversas a fármacos, son responsables de una parte importante de la morbilidad y mortalidad en todos los países, así como de un porcentaje nada despreciable del gasto sanitario. Un estudio en Reino Unido sugiere que 1 de 15 ingresos en hospitales se debe a reacciones adversas a fármacos, mientras que un análisis realizado en Estados Unidos muestra que unos 2,2 millones de norteamericanos hospitalizados cada año tienen reacciones adversas a los fármacos, aun cuando estos han sido prescritos y administrados adecuadamente⁵¹. Si trasladáramos los resultados de este estudio sobre reacciones adversas a fármacos a pacientes hospitalizados en nuestro país, alrededor de 300.000 pacientes hospitalizados sufrirían efectos adversos serios y más de 12.000 de estos morirían a causa de ellos anualmente. Una reducción a la mitad de estas magnitudes sería muy significativa, tanto en términos de calidad de vida como en términos económicos.

La variabilidad interindividual en la respuesta a los fármacos puede estar mediada por factores ambientales (tabaco, alcohol, dieta), por factores fisiológicos (edad, sexo, etnia), por factores patológicos o por interacciones con otros fármacos, entre otros. Sin embargo, actualmente se ha atribuido gran parte de esta variabilidad a las diferencias en la dotación genética de los individuos.

En este entorno surge la **farmacogenética** que es la ciencia que permite identificar las bases genéticas de las diferencias interindividuales en la respuesta a los fármacos. Friederich Vogel en 1959, definió por primera vez el término farmacogenética como “variación hereditaria de importancia clínica en la respuesta a los fármacos”. Ese mismo año, Vogel junto con Motulsky sentaron las bases teóricas de esa nueva disciplina, basándose en la observación de diferencias interindividuales en la actividad de enzimas metabolizadoras de fármacos que explicaban efectos secundarios a los mismos y a su vez variaban en diversas poblaciones humanas. Poco tiempo después en 1962, Werner Kalow sentó las bases de la farmacogenética como ciencia con su monografía “Pharmacogenetics: Heredity and Response to Drugs”.

Tras la secuenciación completa del Genoma Humano, en 2003, se produjo una gran revolución en el campo de la genómica ya que se desarrollaron nuevas tecnologías de genotipado y análisis de expresión de genes relacionados con la respuesta a los fármacos.

La *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) define **Farmacogenómica** como la disciplina que estudia las variaciones en las características del DNA y RNA en relación con la respuesta a fármacos y **Farmacogenética** como un apartado dentro de la farmacogenómica que estudia las variaciones concretas en la secuencia del DNA en relación con la respuesta a los fármacos⁵².

En este trabajo nos centramos en la farmacogenética ya que está considerada como uno de los pilares de la **medicina personalizada**, al permitir en una población específica relacionar aspectos genéticos con la buena o mala respuesta del paciente a un determinado tratamiento.

Los procesos que acontecen desde la molécula de ADN hasta la síntesis de proteínas son la transcripción y la traducción. La **transcripción** genera una molécula de ARN a partir del ADN que posteriormente sufrirá **traducción** en los ribosomas, proceso por el cual se genera una proteína. Muchos genes se encuentran constituidos por regiones codificantes (**exones**) interrumpidas por regiones no codificantes (**intrones**) que son eliminadas en el procesamiento del ARN (**splicing**). La secuencia de bases presente en el ARN determina la secuencia de aminoácidos de la proteína por medio del código genético (figura 5).

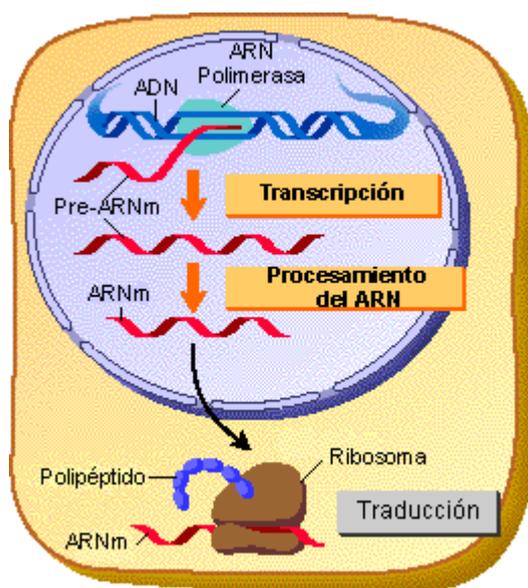


Figura 5. Proceso de síntesis de proteínas.

Las variaciones genéticas más estudiadas son los **polimorfismos genéticos**. Hay varios tipos de polimorfismos que tienen consecuencias de gravedad variable, la forma más común es el **polimorfismo de nucleótido único (SNP)**, que consiste en la variación de un solo nucleótido, existen dos tipos distintos de sustituciones:

-Transiciones: se intercambia una base púrica por una base púrica o una base pirimidínica por una base pirimidínica.

-Transversiones: se intercambia una base púrica por una base pirimidínica o una base pirimidínica por una base púrica.

Los SNPs están presentes en la mayoría de los genes representando el 90% de la variabilidad genética, la frecuencia de aparición en la población es mayor al 1% y es diferente en las poblaciones.

Los SNPs no siempre provocan consecuencias funcionales en la proteína, depende de su localización, si el SNP se localiza en una región intrónica no se espera que desencadene alteraciones funcionales, pero si el SNP se localiza en una región exónica puede tener consecuencias si se modifica el aminoácido codificado. Los polimorfismos de nucleótido único que se producen en las regiones promotoras o reguladoras del gen pueden influir en la expresión de la proteína. La consecuencia más grave que se deriva de un SNP es la formación de un codón de paro, que produce una proteína truncada y normalmente anómala o no funcional.

Cada vez es más frecuente la investigación de combinaciones de SNPs o **haplotipos**, es decir a veces existen alelos de un cromosoma, o parte de ellos, que están próximos y que tienden a heredarse conjuntamente, esto provoca que se combinen varios SNPs formando haplotipos, esta combinación puede explicar el hecho de que a menudo se estudien SNPs que no tienen efectos clínicos por separado pero si en asociación.

Relación entre la dotación genética y la respuesta a los fármacos. Farmacogenes.

La relación entre la dotación genética y la respuesta a los fármacos se produce por la interacción con los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos. La formación de una proteína truncada que participe en uno de estos procesos puede provocar una alteración en la respuesta a los fármacos.

Los genes asociados con la seguridad o eficacia terapéutica pueden clasificarse en tres categorías⁵³:

1. Genes que codifican las proteínas implicadas en los procesos **farmacodinámicos**. Codifican las dianas moleculares implicadas en el mecanismo de acción y efecto de los fármacos en el lugar de acción.
2. Genes que codifican las proteínas **transportadoras de fármacos**.
3. Genes que codifican las proteínas implicadas en los procesos **farmacocinéticos**. Relacionados con la absorción, distribución, metabolismo o excreción de fármacos donde participan las enzimas metabólicas fase I y fase II.

2.2.1. Farmacogenética de las dianas moleculares.

Los genes farmacodinámicos codifican proteínas que forman parte de las **dianas moleculares o terapéuticas**. Los polimorfismos genéticos en las dianas terapéuticas producen una variación en la respuesta terapéutica. No son habitualmente inactivadores sino que provocan efectos más sutiles como cambios de aminoácidos o efectos sobre la expresión de las proteínas, como consecuencia, no producen alteraciones clínicamente tan significativas.

En trasplante renal, la relación entre la presencia de polimorfismos en las dianas terapéuticas (FKBP1A, mTor, calcineurina y ciclofilina B) y la respuesta al

tratamiento inmunosupresor no está bien establecida, no obstante numerosos estudios evalúan la relación entre la respuesta clínica tras el trasplante renal y la presencia de polimorfismos en los genes que codifican las proteínas implicadas en los mecanismos moleculares de rechazo.

Las dianas moleculares implicadas en la respuesta inmunitaria son:

- Citoquinas
- Quimiocinas
- Moléculas de adhesión
- Factores de crecimiento

Citoquinas

Las citoquinas desempeñan un papel esencial como mediadores de la respuesta inmunitaria. Entre las citoquinas de mayor relevancia se encuentran la interleucina 10 (IL-10), la interleucina 6 (IL-6), el interferón alfa ($INF\gamma$), el factor de crecimiento transformante B1 (TGF-B1) y el factor de necrosis tumoral alfa ($TNF\alpha$).

En la tabla 6 se presentan los polimorfismos más frecuentes en las regiones reguladoras de los genes de las citoquinas y sus consecuencias en la producción de citoquinas.

Tabla 6. Polimorfismos más frecuentes en las citoquinas.

Citoquina	Polimorfismo	Consecuencias de la presencia del polimorfismo	Consecuencias clínicas
IL-10	-1082G>A	Menor producción de IL-10	Peor resultado tras el trasplante
	-819C>T		
	-592C>A		
IL-6	-174G>C	Menor producción de IL-6	Peor resultado tras el trasplante
INFγ	+874T>A	Menor producción de INF γ	Mejor resultado tras el trasplante
TGF-B1	10T>G	Menor producción de TGF-B1	Peor resultado tras el trasplante
	25C>G		
TNFα	-308G>A	Mayor producción de TNF α	Peor resultado tras el trasplante

La diferente producción de citoquinas puede interferir en la respuesta clínica del paciente trasplantado, así un metanálisis realizado en 2008 concluye que la presencia de polimorfismos genéticos relacionados con una menor producción de IL-10 conduce a peores resultados clínicos tras el trasplante renal (nefropatía crónica del injerto, rechazo y función retardada del injerto)⁵⁴.

Respecto a los polimorfismos genéticos a nivel de INF γ y TNF α , varios estudios evidencian que los pacientes con genotipo nativo para INF γ y genotipo homocigoto para TNF α , relacionados con una mayor producción de INF γ y TNF α , respectivamente, presentan peores resultados en el trasplante renal. En la misma línea, en una revisión realizada en 2009 se observa un incremento en la incidencia de rechazo agudo en los pacientes con genotipos relacionados con una mayor producción de TNF α y INF γ , así como un incremento en las pérdidas del injerto renal en los pacientes con genotipos relacionados con una mayor producción de TNF α . Además en la misma revisión se evidencia un efecto

protector de la nefropatía crónica del injerto por el genotipo nativo, relacionado con una mayor producción de IL-6 y una elevada pérdida del injerto en los pacientes con baja producción de TGF- β 1 o IL-6⁵⁵.

Otro estudio realizado en 100 pacientes con trasplante renal⁵⁶ concluye que los pacientes con genotipo nativo, relacionado con mayor producción de IL-6 y con genotipo homocigoto, relacionado con menor producción para IFN- γ , presentaron menos episodios de rechazo agudo.

Quimiocinas

Las quimiocinas son los quimioatrayentes que llevan los leucocitos al punto de acción. Existen varios tipos de quimiocinas y su compleja interacción determina la población de leucocitos que es atraída al foco de inflamación.

Varios estudios han evaluado las variantes polimórficas de los receptores de las quimiocinas CCR5, CCR2 y MCP-1 y su relación con el resultado del trasplante renal. Un estudio realizado en 173 pacientes con trasplante renal⁵⁷ analizó la relación entre los polimorfismos genéticos CCR5- Δ 32, CCR5-59029-A/G, CCR2-V64I y MCP-1 G/A (-2518) y el rechazo agudo y concluyó que se observaba una asociación entre el polimorfismo genético CCR2-V64I y la presencia de rechazo agudo. A su vez otro estudio realizado en Turquía sobre 85 pacientes con trasplante renal evaluó la asociación entre los polimorfismos genéticos CCR2-V64I, CCR5-59029-A/G, CCR5- Δ 32 y el rechazo agudo observándose que los pacientes con polimorfismos genéticos CCR5-59029-A/G y CCR2-V64I presentaban una mayor incidencia de rechazo agudo⁵⁸.

Otros estudios han evaluado la contribución de otras quimiocinas a los resultados tras el trasplante renal, así un estudio⁵⁹ realizado sobre 216 parejas donante-receptor evaluó la relación entre polimorfismos genéticos en la

citoquina IL-8, en los receptores de las quimiocinas CXCR1, CXCR2 y en las moléculas de adhesión selectinas, con el rechazo agudo, observándose una asociación entre el genotipo CXCR1-2668 GA/AA en el receptor de quimiocina del donante y el riesgo incrementado de rechazo agudo tras el trasplante renal.

Moléculas de adhesión

Las moléculas de adhesión están implicadas en el movimiento de los leucocitos de la sangre a los tejidos. Intervienen varios tipos de moléculas de adhesión en este proceso, entre las que se engloban *las integrinas*, como el antígeno-1 asociado con la función de leucocitos, *la familia supergénica de inmunoglobulinas*, incluidas la molécula-1 de adhesión endotelio-plaqueta (PECAM) y la molécula-1 de adhesión intercelular (ICAM-1), y *las selectinas*. Se ha demostrado relación entre la presencia de polimorfismos genéticos que provocan un cambio en la expresión y/o la función de las moléculas de adhesión y los resultados del trasplante renal.

En un estudio realizado en 110 pacientes con trasplante renal⁶⁰ se determinó el genotipo de cinco polimorfismos en la ICAM-1, la E-selectina y la L-selectina, observándose que la variante alélica ICAM R241 estaba relacionada con la nefropatía crónica del injerto, además el período transcurrido hasta el fallo del injerto estaba relacionado con la variante ICAM E469. No se observaron asociaciones con los polimorfismos de las selectinas.

Un estudio más reciente en 120 pacientes con trasplante renal⁶¹ no encontró relación entre el rechazo agudo y la presencia de polimorfismos en ICAM, PECAM, L-selectina y E-selectina.

Factores de crecimiento del endotelio vascular (FCEV)

Los macrófagos y los linfocitos producen el factor de crecimiento endotelial vascular, que es un potente estimulador de la angiogénesis. El FCEV también puede activar el factor nuclear del factor de transcripción, el cual activa la producción de citoquinas inflamatorias y de quimiocinas. La región promotora contiene cinco polimorfismos y un estudio ha analizado los polimorfismos de FCEV en 173 pacientes con trasplante renal⁶², observándose que los polimorfismos FCEV (2578C>A, 1154A>G) están relacionados con una mayor síntesis de FCEV y se asocian con mayor riesgo de rechazo agudo.

En un estudio más reciente se evalúa en 200 pacientes con trasplante renal⁶³ la relación entre los polimorfismos genéticos en FCEV (2578C>A, 1154A>G) y IL-18 (607C>A, 137G>C) y el riesgo de rechazo observándose que los haplotipos A-A y A-G (2578-1154) para FCEV se relacionaron con un menor riesgo de rechazo del injerto y los haplotipos IL-18 607A-137G, se relacionaron con un mayor riesgo de rechazo del injerto.

2.2.2. Farmacogenética de los transportadores de fármacos.

Los transportadores de membrana desempeñan un papel relevante en la absorción, la distribución y la eliminación de los fármacos. Existen varios subtipos de transportadores relacionados con los fármacos inmunosupresores:

Transportadores de resistencia a múltiples fármacos:

- *Glicoproteína P*, es codificada por el gen MDR1 y se expresa a nivel del córtex adrenal, túbulos renales, vellosidades intestinales y hepatocitos.

- *Proteínas asociadas con la resistencia a múltiples fármacos* (MRP1 a MRP7), en concreto MRP2 se expresa en el intestino e hígado y está relacionada con el transporte de ácido micofenólico conjugado.

Los transportadores de resistencia a múltiples fármacos desempeñan un papel protector en la eliminación de sustancias tóxicas de los tejidos. Así, en el intestino la glicoproteína P y la MRP2 limitan la biodisponibilidad de los fármacos ya que median su salida hacia la luz; en el hígado la glicoproteína P y la MRP2 median la eliminación de los fármacos hacia la bilis y en el riñón la glicoproteína P media la excreción urinaria de los fármacos. En otras regiones como la barrera hematoencefálica y hematotesticular, la placenta y los ovarios desempeñan un papel protector ya que limitan la entrada de toxinas en estos órganos cruciales.

La **glicoproteína P** es la proteína transportadora más estudiada, se trata de una proteína transportadora de membrana de 170 kD compuesta por más de 1.200 aminoácidos.⁶⁴ Su actividad normal consiste en expulsar el fármaco de la célula mediante un mecanismo de transporte activo dependiente de ATP, desempeñando un papel importante en la absorción, distribución y eliminación de los fármacos que son sustratos de la bomba, entre ellos los fármacos inmunosupresores ciclosporina, tacrolimo, sirolimo y corticosteroides. En la figura 6 se esquematiza la función de la glicoproteína P.

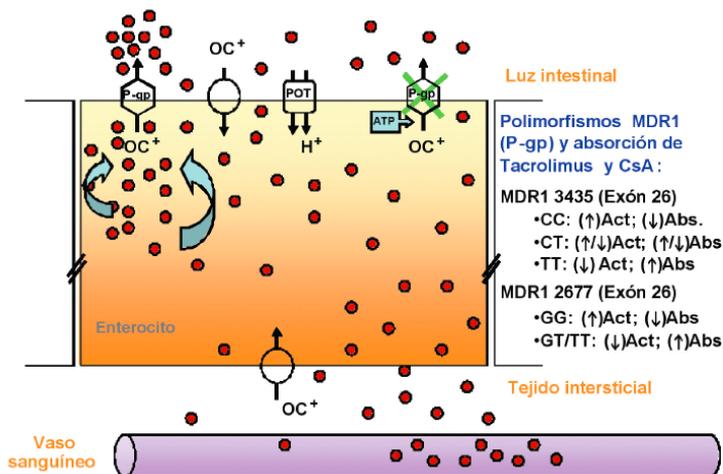


Figura 6. Función de la glicoproteína P.

La glicoproteína P es codificada por el gen MDR1 o ABCB1, se han identificado más de 50 polimorfismos^{65,66,67,68,69} en dicho gen, que presentan una frecuencia de aparición mayor al 5% en la población caucásica⁷⁰ y pueden producir alteraciones tanto en la expresión como en la función de la proteína. En concreto, los SNPs localizados en posición 1236 (exón 12), 2677 (exón 21) y 3435 (exón 26) son los más estudiados y se han relacionado con la concentración de fármacos inmunosupresores.

Varios estudios han evaluado la asociación entre la presencia de polimorfismos en MDR1 y la farmacocinética de los fármacos inmunosupresores en los pacientes con trasplante renal, en general en la mayoría de estudios se observa un incremento en la concentración de ciclosporina, relacionada con la presencia de SNP en el exón 12 y 26, no obstante en los pacientes en tratamiento inmunosupresor con tacrolimo y sirolimo los resultados son contradictorios, en las siguientes tablas se resumen las características más importantes de los estudios realizados (tablas 7, 8 y 9).

Tabla 7. Principales estudios farmacogenéticos de MDR1 y ciclosporina en trasplante renal.

SNP	Pacientes	Resultados	Ref
C3435T	124	No se observó relación entre el genotipo de MDR1 y la D de ciclosporina necesaria para alcanzar la Cs objetivo. Además no se observó relación entre el genotipo y la nefrotoxicidad o el rechazo agudo.	69
C3435T	110	No se observó correlación entre el genotipo de MDR1 y la Cs/D/peso de ciclosporina.	71
C3435T	106	Los pacientes con genotipo nativo presentaron menor relación Cs/D de ciclosporina que los heterocigotos.	72
C3435T	151	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y los parámetros farmacocinéticos de ciclosporina.	73
C1236T	106	Los pacientes con genotipo nativo presentan menor Cmax y AUC (0-4h) que los heterocigotos.	74
C3435T	75	Los pacientes con genotipo nativo presentan menor AUC (0-4 h)/D/kg que los pacientes heterocigotos y éstos que los homocigotos.	75
C3435T	197	Los pacientes con genotipo nativo presentan menor Cs y C2 que los pacientes heterocigotos u homocigotos.	76

D dosis, Cs concentración sanguínea mínima, Cmax concentración sanguínea máxima, AUC área bajo la curva, C2 concentración sanguínea dos horas postdosis, kg peso.

Tabla 8. Principales estudios farmacogenéticos de MDR1 y tacrolimo en trasplante renal.

SNP	Pacientes	Resultados	Ref
C2677A C3435T	30	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la dosis necesaria de tacrolimo para alcanzar el ámbito terapéutico.	77
C1236T C2677A C3435T	24	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la Cs/D de tacrolimo.	78
C3435T	118	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la Cs/D/kg de tacrolimo a la semana, 1 mes y 3 meses postrasplante.	79
C1236T C2677A C3435T	134	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la Cs/D o la AUC (0-12h) de tacrolimo.	80
C1236T C2677A C3435T	206	La Cs/D fue inferior en los pacientes nativos para C3435T y C2677A comparado con los pacientes homocigotos.	81
C1236T C2677A C3435T	87	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y los parámetros farmacocinéticos de tacrolimo.	82
C2677A C3435T	50	Los pacientes heterocigotos para el genotipo MDR1 C2677A requirieron mayor dosis de tacrolimo que los pacientes homocigotos.	15
C1236T C2677A C3435T	63	Los pacientes con genotipo nativo MDR1 C3435T presentaron una relación Cs/dosis de tacrolimo menor que los pacientes heterocigotos.	16
C3435T	209	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la Cs/dosis de tacrolimo	17
C3435T	-	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y los parámetros farmacocinéticos de tacrolimo.	18

D dosis, Cs concentración sanguínea mínima, Cmax concentración sanguínea máxima, AUC área bajo la curva, kg peso.

Tabla 9. Principales estudios farmacogenéticos de MDR1 y sirolimo en trasplante renal.

SNP	Pacientes	Resultados	Ref
C1236T G2677T C3435T	85	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la Cs/D de sirolimo.	78
G2677T C3435T	20	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la Cs/D o la AUC (0-12h) de sirolimo	80
C1236T G2677T	149	No se observó relación entre el genotipo MDR1 y la Cs/D de sirolimo a los 3 meses postrasplante.	83

D dosis, Cs concentración sanguínea mínima, Cmax concentración sanguínea máxima, AUC área bajo la curva.

Respecto a la relación con la toxicidad, la *neurotoxicidad* es uno de los efectos adversos asociados al tratamiento con ciclosporina y tacrolimo. El transporte de ciclosporina y tacrolimo hacia el cerebro depende del transporte activo del fármaco a través de la barrera hematoencefálica que está mediado por la glicoproteína P⁸⁴. En condiciones normales la glicoproteína P bombea el fármaco fuera del cerebro para impedir su acumulación, reduciendo la neurotoxicidad. Un estudio realizado sobre 17 pacientes con trasplante hepático concluyó que la concentración sanguínea elevada de tacrolimo, la disfunción hepática y el polimorfismo G2677T en el gen MDR1 eran variables predictoras de la neurotoxicidad inducida por tacrolimo⁸⁵, no obstante, la reducida muestra de pacientes hizo que las conclusiones del estudio fueran cuestionables.

La *osteonecrosis* es un efectos adverso relacionado con el tratamiento inmunosupresor con corticoides, un estudio sobre 136 pacientes con trasplante renal realizado en Japón identificó que el genotipo MDR1 estaba asociado con la osteonecrosis inducida por corticoides ya que 30 pacientes desarrollaron osteonecrosis y de éstos solo un paciente presentaba genotipo nativo para el MDR1 C3435T y el resto presentaban genotipo heterocigoto y homocigoto.⁸⁶

Las **proteínas de resistencia a múltiples fármacos** no han sido tan estudiadas, no obstante en el caso del micofenolato de mofetil se observa que tanto la circulación enterohepática como la eliminación de su principal metabolito, el 7-O-glucurónido (MPAG), están mediadas por la proteína MRP2⁸⁷. Se han identificado varios SNPs en el gen que codifica la proteína MRP2 relacionados con la eliminación de ácido micofenólico, en un estudio realizado por **Naesens y cols** sobre 95 pacientes en trasplante renal se analizaron los SNPs C-24T y C2972T y se observó que el genotipo homocigoto para MRP2 C-24T estaba asociado con un aclaramiento inferior de ácido micofenólico en condiciones de estado estacionario⁸⁸ no obstante en otros estudios no se ha observado relación entre la presencia de polimorfismos en el gen que codifica la proteína MRP2 y el área bajo la curva de micofenolato de mofetil⁸⁹.

Transportadores de solutos:

- *Transportadores de cationes orgánicos* (TCO1-TCO3, TCON1-TCON2): se localizan en la membrana basolateral de las células epiteliales renales donde median la captación de cationes orgánicos desde la sangre hacia las células de los túbulos, que constituye el primer paso en la secreción renal de fármacos y en los hepatocitos donde median la captación de cationes orgánicos, exponiéndolos a las enzimas encargadas de metabolizar los fármacos.
- *Transportadores de aniones orgánicos* (OAT1-OAT3, OATP1, OATP-B, OATP2, OATP-D, OATP8): se localizan en el intestino, hígado y riñón. Los localizados en la membrana sinusoidal de los hepatocitos median el primer paso en el metabolismo hepático y pueden influir en la biodisponibilidad de primer paso de estos fármacos.

- *Transportadores de nucleósidos* (TNE1-TNE3, TNC1-TNC-3): se localizan en el cerebro, colon, pulmón, placenta, hígado, corazón, bazo y testículos. Median la captación celular de los análogos de nucleósidos y por consiguiente, la respuesta farmacológica o toxicológica de estos agentes.

El estudio farmacogenético de los transportadores de solutos es todavía muy reciente, en el ser humano existen 300 proteínas pertenecientes a 47 familias de transportadores de solutos. La familia de los transportadores de solutos codifica proteínas de membrana que se identifican como transportadores pasivos, transportadores iónicos e intercambiadores. En concreto los transportadores de solutos más ampliamente relacionados con el transporte de fármacos inmunosupresores son los transportadores de aniones orgánicos.

Diversos estudios han encontrado relación entre el OATP1B3 y la concentración de micofenolato en plasma⁹⁰. Entre los polimorfismos que disminuyen la funcionalidad del gen OATP1B3 se encuentran aquellos localizados en las posiciones 334T>G (OATP1B3*2), 439A>G (OATP1B3*3), 699G>A (OATP1B3*4), 767G>C (OATP1B3*5), 1559A>C (OATP 1B3*6), 1679T>C (OATP1B3*7) así como los situados en la región promotora (de -28 a -11 y de -7 a -4). En un estudio realizado sobre 115 pacientes con trasplante renal en tratamiento con micofenolato de mofetil y ciclosporina se observó que los parámetros farmacocinéticos de micofenolato de mofetil dependían de la presencia de polimorfismos genéticos en el transportador OATP1B3⁹¹. No obstante, en un estudio realizado en 72 pacientes con trasplante renal en Japón, no se encontraron diferencias en el AUC (0-12) de micofenolato de mofetil en función del polimorfismo OATP1B1 (1/1, 1/3, 3/3)⁸⁹.

2.2.3. Farmacogenética de las Enzimas metabólicas.

Enzimas metabólicas Fase I

Las reacciones fase I más frecuentes son las reacciones de oxidación que convierten a los fármacos en metabolitos más polares. En el ser humano las reacciones fase I están mediadas por las enzimas de la superfamilia del Citocromo P450 (CYP) que está constituida por 57 genes que presentan un elevado número de polimorfismos. La superfamilia CYP está formada por más de 53 familias génicas, entre ellas las más importantes son CYP1A2, CYP2B6, CYP2C, CYP3A.

En el metabolismo de los fármacos inmunosupresores juega un papel importante la familia **CYP3A**. Las enzimas de la familia CYP3A son las más abundantes de la familia CYP en el hígado humano (representan hasta el 30% del contenido total del CYP). Se han identificado 4 isoformas de la familia CYP3A: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43 que son responsables del metabolismo de más del 50% de los fármacos, en concreto las isoenzimas CYP3A4 y CYP3A5 son las responsables del metabolismo oxidativo de los fármacos inmunosupresores.

El CYP3A4 es predominante en intestino e hígado, existen numerosas variantes alélicas de CYP3A4, en concreto las más estudiadas son la *CYP3A4*1B*, *CYP3A4*18A* y *CYP3A4*18B* que presentan una distribución en la población caucásica inferior al 10%. La repercusión de los SNPs sobre la farmacocinética de los fármacos inmunosupresores es muy poco conocida, esto puede ser debido a la baja frecuencia con que estas variantes alélicas se representan, que no es suficiente para relacionarlas con ningún fenotipo concreto.

La proteína CYP3A5 se expresa en el 10-97% de los hígados humanos en grados sumamente variables, así se observa que en los individuos que expresan la enzima, el contenido de CYP3A5 representa del 15% al 50% de la expresión

total hepática de las enzimas de la subfamilia CYP3A contribuyendo al aclaramiento mayoritario de los fármacos que se metabolizan por esta vía, además CYP3A5 también se encuentra en intestino, glándula adrenal, próstata y riñón. El enzima activo es codificado por el genotipo nativo CYP3A5*1 el cual presenta una baja frecuencia en la población caucásica (del 5-7%). La mayor parte de población caucásica (90%) es portadora del polimorfismo CYP3A5*3 que se traduce a una proteína truncada sin actividad metabólica. Se han identificado otros polimorfismos como CYP3A5*2, CYP3A5*4, CYP3A5*6, CYP3A5*7, CYP3A5*8, y CYP3A5*9 que dan lugar a una falta de expresión del CYP3A5, no obstante presentan baja frecuencia de aparición en la población caucásica.

Se ha observado una clara relación entre la presencia de polimorfismos en CYP3A5 y el metabolismo de los inmunosupresores ciclosporina, tacrolimo y sirolimo, en general la mayoría de estudios concluyen que los pacientes homocigotos para el polimorfismo CYP3A5*3 presentan un descenso en el metabolismo de los fármacos inmunosupresores y consecuentemente un incremento en sus concentraciones sanguíneas (tablas 10, 11 y 12) .

Tabla 10. Estudios farmacogenéticos enzimas metabólicas Fase I con ciclosporina.

Gen	SNP	Pac	Resultados	Ref
CYP3A4 CYP3A5	CYP3A4*18B CYP3A5*3	103	Pacientes con genotipo CYP3A4*1*1 presentaron una Cs/D mayor que los pacientes con genotipo CYP3A4*18B/18B. Pacientes con genotipo CYP3A5*3*3 presentaron una Cs/D mayor que los pacientes con genotipo nativo.	92
CYP3A4 CYP3A5	CYP3A4*18A CYP3A5*3	106	Pacientes con genotipo CYP3A5*3*3 presentaron una Cs/D mayor que los pacientes *1*1 y *3*1.	93
CYP3A5	CYP3A5*1	399	No se observó relación con Cs.	94
CYP3A5	CYP3A5*3	67	Pacientes con genotipo CYP3A5*1*1 requirieron más D que los pacientes con genotipo 1*3 y 3*3.	95
CYP3A5	CYP3A5*3	106	No relación con la Cs.	74

Cs concentración sanguínea mínima, D dosis.

Tabla 11. Estudios farmacogenéticos enzimas metabólicas Fase I con tacrolimo.

Gen	SNP	Pac	Resultados	Ref
CYP3A4 CYP3A5	CYP3A4*1B CYP3A5*3	95	Cs/D mayor en pacientes con genotipos CYP3A4*1B/CYP3A5*3 homocigotos comparado con el genotipo nativo.	96
CYP3A4 CYP3A5	CYP3A4*1B CYP3A5*3	832	Los pacientes homocigotos para el haplotipo CYP3A4*1B/CYP3A5*3 alcanzaron Cs en menor tiempo y obtuvieron mayor Cs/D a la 1ª semana postrasplante	97
CYP3A5	CYP3A5*3	136	Los pacientes con genotipo homocigoto requirieron menos D que los pacientes con genotipo nativo.	98
CYP3A5	CYP3A5*3	118	Cs/D mayor en pacientes homocigotos 3*3 comparado con 1*3 y 1*1.	79
CYP3A5	CYP3A5*3	176	Cs/D mayor en pacientes homocigotos 3*3 comparado con 1*3 y 1*1.	99
CYP3A5	CYP3A5*3	180	Cs/D mayor en pacientes homocigotos 3*3 comparado con 1*3 y 1*1.	100

Gen	SNP	Pac	Resultados	Ref
CYP3A5	CYP3A5*3	73	No relación con la Cs.	101
CYP3A5	CYP3A5*3	80	La D requerida para alcanzar Cs fue significativamente mayor en pacientes nativos (1*1).	102
CYP3A5	CYP3A5*3	40	El genotipo nativo (1*1) se relacionó con una menor Cs/dosis a los 3,6,12 y 32 meses postrasplante.	103
CYP3A4 CYP3A5	CYP3A4*1B CYP3A5*3	87	Los pacientes con el genotipo (1*1) o (1*3) para CYP3A5*3 requirieron mas dosis que los pacientes con genotipo (3*3) para alcanzar la Cs objetivo.	81
CYP3A5	CYP3A5*3	50	Al 1, 3 y 6 meses postrasplante, los pacientes con el genotipo (1*1) o (1*3) presentaron una Cs/dosis significativamente menor a los pacientes con genotipo homocigoto (3*3).	82
CYP3A5	CYP3A5*3	63	La Cs/dosis de tacrolimo fue mayor en los pacientes homocigotos respecto a los heterocigotos o nativos.	15
CYP3A5	CYP3A5*3	209	La dosis, Cs y Cs/dosis se correlacionó con el genotipo CYP3A5*3	16
CYP3A5	CYP3A5*3	96	El genotipo 1*1 se relacionó con mas incrementos de D y mas riesgo de infradosificación.	19
CYP3A5	CYP3A5*3	200	Los pacientes con genotipo 3*3 presentaron una Cs/dosis mayor a la semana, 6 meses y 1 año postrasplante. A la semana postrasplante el 41% de los pacientes con genotipo 3*3 alcanzaron concentraciones óptimas respecto al 26% de los pacientes con genotipo 1*1 o 1*3.	20
CYP3A5	CYP3A5*3	-	Se observaron diferencias estadísticamente significativas en el AUC (0-12) y el Cl renal, entre los pacientes nativos o heterocigotos respecto a los homocigotos.	17
CYP3A5	CYP3A5*3	48	Los pacientes con genotipo 1*3 y 1*1 requirieron mas dosis que los pacientes con genotipo 3*3.	21

Cs concentración sanguínea mínima, D dosis, AUC área bajo la curva

Tabla 12. Estudios farmacogenéticos enzimas metabólicas Fase I con sirolimo.

Gen	SNP	Pac	Resultados	Ref
CYP3A5	CYP3A5*3	50	C/D en pacientes homocigotos (3*3) fue significativamente mayor que en pacientes heterocigotos (1*3) o nativos (1*1).	104
CYP3A5	CYP3A5*3	47	AUC/D, Cmax/D y Cs/D fue significativamente menor en pacientes 1*1 o 1*3. Pacientes con genotipo 1*1 o 1*3 requirieron más D para alcanzar la Cs que 3*3.	105
CYP3A5	CYP3A5*3	22	Pacientes con genotipo 1*1 y 1*3 presentaron un aclaramiento mayor comparado con 3*3	106
CYP3A4 CYP3A5	CYP3A4*1B CYP3A5*3	149	Pacientes con genotipo CYP3A4*1B o CYP3A5*1 nativo requirieron más D para alcanzar Cs.	83

Cs concentración sanguínea mínima, D dosis, AUC área bajo la curva, Cmax concentración máxima.

Enzimas metabólicas fase II

En las reacciones metabólicas de fase II, los procesos de conjugación transforman sustancias de polaridad intermedia en otras de mayor polaridad con el fin de que sean excretadas de forma más sencilla por la orina y heces. Existe un número elevado de enzimas que participan en las reacciones de biotransformación de fase II, sin embargo existe poca evidencia sobre el impacto farmacogenético de las enzimas fase II.

Las enzimas fase II más implicadas en el metabolismo de los fármacos inmunosupresores son las de la familia UGT. La familia UGT se compone por 9 subfamilias codificadas por el locus UGT1 y 15 subfamilias codificadas por el

locus UGT2. La subfamilia UGT1 se divide en las variantes genéticas UGT1A1 a UGT1A9. La subfamilia UGT2 se divide en las variantes UGT2A y UGT2B.

El metabolismo del ácido micofenólico está mediado principalmente por las enzimas UGT1A8 y 1A9. UGT1A9 es el enzima principal y se expresa predominantemente en hígado y riñón y en menor proporción en el tracto gastrointestinal. UGT1A8 se expresa en el tracto gastrointestinal. Estudios in vitro han demostrado que la presencia de polimorfismos en el gen UGT1A9 están relacionados con una alteración significativa en la actividad enzimática de la UGT. Se han identificado dos polimorfismos, ambos en la región promotora del gen UGT1A9 (C-275T>A) y (C-2152C>T) que provocan un incremento en la glucuronidación de ácido micofenólico comparado con el genotipo nativo, en consecuencia tal como se sintetiza en la tabla 13 varios estudios demuestran que los pacientes que presentan polimorfismos en la región promotora del gen UGT1A9 presentan un AUC de ácido micofenólico menor.

Por otra parte se han identificado polimorfismos en el gen UGT1A8, en concreto UGT1A8*3, se ha demostrado que el SNP UGT1A8*3 (277G>A) produce un incremento en la exposición de ácido micofenólico¹⁰⁷ (tabla 13).

Tabla 13. Estudios farmacogenéticos Fase II con micofenolato de mofetil.

Gen	SNP	Pacientes	Resultados	Ref
UGT1A8	-999C>T 255A>G -277G>A	74	Los pacientes con polimorfismos genéticos en UGT1A8 presentaron más efectos adversos (infecciones, diarrea y alteraciones hematológicas).	108
UGT1A9	-275T>A -2152C>T UGT1A9*3	338	Pacientes con genotipo homocigoto -275T>A o -2152C>T presentaron una reducción del 20% en el AUC (0-12). Pacientes con genotipo homocigoto UGT1A9*3 presentaron un incremento del 49% en el AUC (0-12).	109
UGT1A8 UGT1A9	UGT1A8*2 275T>A 2152C>T	93	La Cs/D fue un 60% mayor en pacientes con genotipo heterocigoto u homocigoto para UGT1A8*2 comparada con genotipo nativo. La Cs/D fue un 70% menor en pacientes con polimorfismos UGT1A9275T>A y 2152C>T en tratamiento concomitante con CsA.	110
UGT1A8 UGT2B7	UGT1A8*2 UGT2B7*2	72	No se observó relación con la Cs.	111
UGT1A9	-275T>A -2152C>T	95	Los pacientes homocigotos presentaron un descenso significativo en la exposición a micofenolato de mofetil.	112

Cs concentración sanguínea mínima, D dosis, AUC área bajo la curva

2.3. INDIVIDUALIZACIÓN POSOLÓGICA DE TACROLIMO

El inhibidor de calcineurina es el inmunosupresor principal de la terapia inmunosupresora, en un metaanálisis realizado por Cochrane en 2005 que incluía 30 ensayos clínicos realizados en un total de 4102 pacientes, se concluía que tacrolimo es más eficaz que ciclosporina ya que los pacientes con tacrolimo presentaban menos incidencia de rechazo agudo y mayor supervivencia del injerto respecto a los pacientes en tratamiento con ciclosporina, no obstante se observaban más efectos secundarios, tales como diabetes, neurotoxicidad y alteraciones gastrointestinales, en los pacientes en tratamiento con tacrolimo².

En este sentido, salvo en los primeros años del programa de trasplante renal del hospital Universitario Dr Peset (1996-99) en los que el inhibidor de la calcineurina más comúnmente usado fue la ciclosporina, en la última década prácticamente la totalidad de los pacientes reciben como terapia inmunosupresora inicial tacrolimo asociado a un inhibidor de la proliferación celular (micofenolato de mofetil) y un corticoide (prednisona). La administración, además, de tratamiento de inducción con anticuerpos monoclonales frente al receptor de la interleuquina 2 o globulinas antilinfocitarias dependerá del perfil de riesgo inmunológico del receptor.

2.3.1. Características farmacocinéticas y farmacodinámicas.

Tacrolimo se aisló por primera vez en 1984 a partir del medio de cultivo de un microorganismo, *Streptomyces tsukubaensis*. La estructura del tacrolimo es la de un macrólido lactona de elevado peso molecular (803,5 Da) y naturaleza liposoluble acusada (figura 7).

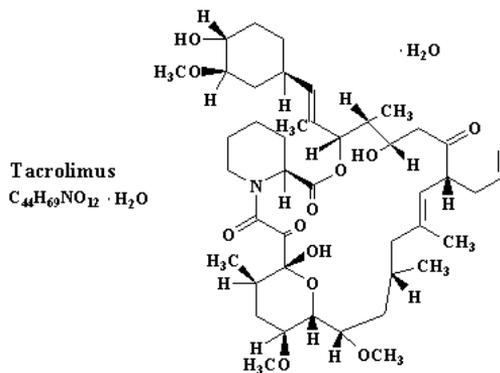


Figura 7. Estructura química de tacrolimo.

El mecanismo de acción de tacrolimo está mediado por su unión a una proteína citosólica “*proteína captadora de tacrolimo (FKBP)*” que es un receptor intracelular del linfocito T. El complejo *FKBP-tacrolimo* se une de forma específica y competitiva a la *calcineurina*, inhibiendo su actividad fosfatasa. Esto provoca una inhibición del mecanismo de acción de los factores de transcripción que precisan la desfosforilación para el transporte al núcleo de la célula, lo que lleva al bloqueo de la proliferación y el funcionamiento de los linfocitos T. En conclusión tacrolimo bloquea el paso de la fase G 0 a G 1 del ciclo celular¹¹³ (figura 8).

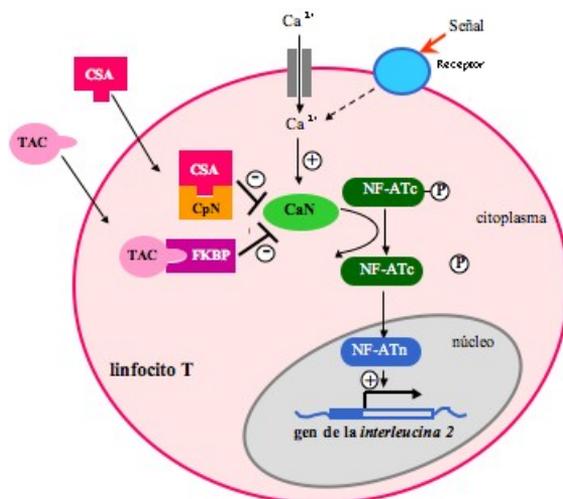


Figura 8. Mecanismo de acción de tacrolimo.

Características Farmacocinéticas

a) *Absorción:* debido a su elevada liposolubilidad tacrolimo se absorbe con dificultad desde el tracto gastrointestinal, su biodisponibilidad oral es del 20-25%. Tras la administración oral de Prograf® la concentración máxima de tacrolimo en sangre se alcanza en aproximadamente 1-3 horas. La velocidad y grado de absorción es superior en ayuno, así pues la presencia de alimentos disminuye tanto la velocidad como el grado de absorción, siendo el efecto más pronunciado después de una comida rica en grasas.

En general la absorción de tacrolimo depende del metabolismo intestinal por CYP3A4 y CYP3A5, de la motilidad gástrica y de la actividad de la glicoproteína P.

b) *Distribución:* En la circulación sistémica, se une de manera importante a los eritrocitos, produciendo un cociente de distribución de concentraciones en sangre/plasma de aproximadamente 10:1, por este motivo es muy importante valorar el hematocrito en los pacientes.

En plasma, se une principalmente (98,8%) a las proteínas plasmáticas, en particular a la albúmina sérica y a la glicoproteína ácida α -1. Se distribuye ampliamente en el organismo, el volumen de distribución en estado estacionario basado en las concentraciones en plasma es de aproximadamente 5-65 litros/kg y basado en concentraciones en sangre total: 0,9 litros/kg.

c) *Eliminación:* El aclaramiento de tacrolimo es bajo, en torno a 6,7 litros/hora. La semivida de eliminación es bifásica y variable, en pacientes adultos con trasplante renal se ha observado una vida media de eliminación de 12 horas (4-41 horas).

Se metaboliza ampliamente en el hígado y en menor medida en la pared intestinal, a través del CYP3A4 y CYP3A5. Se han identificado varios metabolitos, no obstante en circulación sistémica solamente se encuentra

presente uno de los metabolitos inactivos en bajas concentraciones, por tanto los metabolitos no contribuyen a su actividad farmacológica. Tacrolimo se metaboliza casi por completo antes de la excreción, siendo la bilis la vía principal de eliminación. Menos de un 1% se elimina inalterado por orina.

Ciertos factores como valores bajos de hematocrito y proteínas, que producen un aumento en la fracción libre, o los aumentos del metabolismo inducidos por el uso de corticoides, se consideran responsables de las tasas elevadas de aclaramiento observadas después del trasplante.

Efectos adversos

Los efectos adversos más frecuentes asociados al tratamiento tacrolimo son:

- *Nefrotoxicidad aguda*: se presenta en un porcentaje variable de pacientes, esta asociada a la concentración sanguínea elevada de tacrolimo, no obstante puede producirse por otros factores, es reversible y generalmente se normaliza al reducir la concentración sanguínea. A largo plazo se acepta que la nefrotoxicidad crónica puede contribuir a la aparición de daño estructural renal y pérdida de función del injerto¹¹⁴.

- *Hipertensión arterial (HTA)*¹¹⁵: se presenta en el 70-90%¹¹⁶ de los pacientes, no obstante es multifactorial, no solo está provocada por tacrolimo sino que puede atribuirse a otros factores como: los esteroides, alteración de la función renal, estenosis de la arteria renal, factores genéticos en el donante o receptor, obesidad, hipercalcemia. Dentro de los inhibidores de calcineurina, ciclosporina provoca más alteraciones en la presión arterial.

El objetivo terapéutico es mantener una presión arterial $\leq 130/80$ mmHg en pacientes sin proteinuria y $\leq 125/75$ mmHg en pacientes con proteinuria.

El tratamiento de la HTA incluye en primer lugar medidas generales: moderada restricción sódica, pérdida de peso y estímulo de una vida activa con ejercicio razonable. En pacientes seleccionados (sin episodios de rechazo, de bajo riesgo inmunológico y con función renal normal) se puede considerar la retirada de los esteroides o bien la sustitución de tacrolimo por un inhibidor m-Tor¹¹⁷ a partir del sexto mes.

El tratamiento farmacológico de elección depende de las características del paciente. En general, tras el trasplante está activado el sistema renina angiotensina (SRA), por lo que se recomienda iniciar con fármacos que disminuyan la vasoconstricción intraglomerular. En pacientes sin proteinuria se aconseja iniciar con antagonistas del calcio o fármacos que bloquean el SRA como IECA o ARAII. En enfermos con proteinuria se recomienda iniciar con IECA o ARA II, siempre que no exista estenosis de la arteria renal. No obstante, dadas las características de la HTA postrasplante, la mayoría de los pacientes requieren la asociación de mas de un fármaco.

El empleo de IECA se asocia en ocasiones a deterioro funcional, generalmente reversible. Son agentes de elección en pacientes hipertensos con eritrocitosis o intolerantes a bloqueantes de los canales de calcio.

- *Dislipemia*: Presenta una incidencia del 50-60% y es un factor de riesgo de morbimortalidad cardiovascular y de disfunción crónica del injerto.

Los objetivos del tratamiento en pacientes con trasplante renal son: cifras de colesterol LDL < 100mg/dl y triglicéridos < 200mg/dl.

El tratamiento de primera elección es la dieta, en segundo lugar si la dieta no regula el nivel de lípidos se recurre al tratamiento farmacológico, así:

- Si colesterol LDL > 100mg/dl, la elección es una estatina. Son de elección la fluvastatina y pravastatina, la dosis debe reducirse al 50% en pacientes en tratamiento con tacrolimo. Como fármaco de segunda elección ezetimiba ha demostrado reducir los niveles de colesterol LDL.

- Si TG>200mg/dl las opciones son gemfibrocilo, ácido nicotínico o aceites de pescado que contengan ácidos grasos poliinsaturados omega 3. Se debe evitar la combinación de gemfibrocilo con estatinas.

- *Diabetes Mellitus*: La diabetes de novo postrasplante presenta una incidencia en torno al 30%¹¹⁸ y aumenta el riesgo de complicaciones cardiovasculares e infecciosas empeorando la supervivencia del injerto y del paciente. Los factores de riesgo de aparición de diabetes de novo son¹¹⁹:

- No modificables: edad superior a 40 años, sexo varón, etnia afroamericana o hispana, antecedentes familiares de diabetes.
- Modificables: IMC>25 antes y después del trasplante, hipertrigliceridemia antes y después del trasplante, síndrome metabólico y prediabetes antes del trasplante, VHC+, inmunosupresión (corticoides y tacrolimo), rechazo agudo, HTA antes del trasplante y enfermedad por CMV.

Los criterios diagnósticos de diabetes mellitus en la población general, según la American Diabetes Association¹²⁰ (ADA), son extrapolables al paciente con trasplante renal y son:

- Glucemia \geq 200mg/dl en cualquier momento del día
- Glucemia \geq 126mg/dl en ayunas
- Glucemia \geq 200mg/dl a las 2 horas de sobrecarga oral de 75 gramos de glucosa
- HbA1c \geq 6,5%

La primera opción de tratamiento consiste en las medidas higiénico-dietéticas, sobre todo la pérdida de peso, la realización de ejercicio de forma regular y el control de otros factores asociados a un incremento del riesgo cardiovascular como son el hábito tabáquico, la hipertensión, la dislipemia o la proteinuria.

En cuanto al tratamiento inmunosupresor, se intentará reducir la dosis de corticoides al mínimo, siempre valorando el riesgo incrementado de rechazo.

En cuanto al tratamiento farmacológico se hacen las siguientes recomendaciones¹²¹:

- Iniciar tratamiento con insulina en los casos de diabetes mellitus «de novo» postrasplante renal.
- Una vez estabilizado el paciente intentar sustituir progresivamente la insulina por una sulfonilurea (preferiblemente gliburida o glicazida) sin suspender previamente la insulino terapia.
- Asociar una tiazolidiona a la sulfonilurea si no es suficientemente efectiva.

- *Neurotoxicidad*: Presenta una incidencia entre 10-28%¹²². La toxicidad neurológica es en general leve, predominando el temblor. Los síntomas graves como convulsiones, hemiparesias, disfagias, afasias motoras y expresivas, síntomas cerebrales orgánicos y trastornos de la atención, ideación, orientación, memoria reciente y actividad psicomotriz son excepcionales en los pacientes trasplantados renales, siendo dosis dependientes, y mejoran al disminuir la dosis de tacrolimo.

2.3.2. Monitorización farmacocinética.

Para que un fármaco sea candidato a monitorización farmacocinética debe cumplir las siguientes premisas:

- Existencia de una clara relación entre la concentración del fármaco y su efecto terapéutico, superior a la existente entre la dosis y la respuesta.
- La concentración mínima eficaz se encuentra muy cerca de la concentración máxima tolerable (estrecho índice terapéutico).

- La variabilidad inter e intraindividual de los procesos cinéticos y dinámicos es elevada.
- El fármaco se va a administrar en sucesivas ocasiones.
- Disponibilidad de técnicas analíticas con suficiente exactitud, precisión, especificidad y sensibilidad para la determinación de los fármacos y/o sus metabolitos.
- Existe una estrategia de individualización posológica validada sobre la base del incremento de la efectividad del tratamiento, la reducción de la morbimortalidad asociada y la reducción del coste por proceso.

Tacrolimo cumple todas las premisas, por ello es un fármaco candidato a la individualización terapéutica en base a sus niveles sanguíneos.

Medida de la exposición a tacrolimo

La eficacia y los efectos adversos de tacrolimo están fuertemente correlacionados con el **área bajo la curva de concentración en función del tiempo (AUC)**. El valor de AUC de tacrolimo el día 2 después del trasplante se correlaciona con los resultados clínicos, en un estudio llevado a cabo por **Undre y cols**¹²³ se observó que los pacientes con rechazo agudo tenían valores de AUC significativamente inferiores a los pacientes sin rechazo agudo ($p=0,007$).

No obstante, el uso de AUC como método de monitorización de rutina presenta la limitación del elevado número de extracciones necesarias para su cuantificación, por ello resulta incompatible con la práctica clínica habitual. Varios estudios establecen una buena correlación entre el AUC y la concentración mínima de tacrolimo en sangre total (Cmin) ($r^2=0,91$)¹²⁴, por este motivo actualmente se utiliza la Cmin como marcador subrogado de la exposición al fármaco.

A su vez la **Cmin** se correlaciona con la eficacia o toxicidad del fármaco, así en un estudio retrospectivo llevado a cabo para evaluar la relación entre la Cmin de tacrolimo y el rechazo agudo durante el primer mes postrasplante que incluyó 349 concentraciones correspondientes a 29 pacientes se observó que la Cmin media de tacrolimo era inferior en los pacientes con rechazo agudo respecto a los que no presentaron rechazo (5,02 ng/ml vs 9,2 ng/ml), a su vez se observó una incidencia de rechazo del 55% en los pacientes que presentaron Cmin entre 0-10 ng/ml, respecto a 0% en los que presentaron Cmin de 10-15ng/ml⁵.

Un estudio sistemático llevado a cabo por **Kershner y cols** recopiló los resultados obtenidos en cuatro ensayos clínicos y analizó mediante un modelo de regresión logística la relación entre la concentración sanguínea de tacrolimo y la incidencia de rechazo agudo o toxicidad en 92 pacientes con trasplante renal observándose una relación estadísticamente significativa entre el valor de Cmin de tacrolimo alcanzado y la presencia de rechazo agudo (P=0,02) o nefrotoxicidad (P=0,01)⁶.

En otro estudio realizado sobre 120 pacientes con trasplante renal, los pacientes fueron randomizados en 3 grupos en función de la concentración objetivo de tacrolimo: Cmin baja (<5 ng/ml), media (5-15 ng/ml) o alta (>15 ng/ml). Tras realizar un seguimiento de 42 días postrasplante se observó que al aumentar la Cmin aumentaba el riesgo de toxicidad (0% vs 34% vs 54%, P=0,01) y se reducía en riesgo de rechazo agudo (34% vs 17% vs 5%, P=0,0021), además se observó que la Cmin que optimizaba la eficacia y minimizaba la toxicidad era la comprendida entre 5-15 ng/ml⁷.

En el mismo sentido, **Min y cols** realizaron un estudio sobre 184 pacientes en tratamiento con tacrolimo, micofenolato de mofetil y corticoides, donde los pacientes fueron clasificados en 3 grupos en función de su valor de Cmin de tacrolimo el 7º día postrasplante: Cmin de TAC baja (<10 ng/ml) n=85,

intermedia (10-15 ng/ml) n=7,5 o alta (>15 ng/ml) n=24. Tras evaluar la incidencia de rechazo agudo, la función renal y los efectos adversos por tacrolimo durante el primer año postrasplante, se observó que la incidencia de rechazo agudo las 2 primeras semanas postrasplante fue superior en el grupo de Cmin baja (17,4% vs 5,6% vs 4,8%, p=0,037), no obstante no se observaron diferencias en la toxicidad por tacrolimo.

El **intervalo terapéutico** debe considerarse como el ámbito de concentración con menor probabilidad de toxicidad y mayor probabilidad de eficacia terapéutica. En el primer consenso dedicado a la optimización del tratamiento con tacrolimo, efectuado en 1995 y actualizado en 1998, se recomendaba una Cmin entre 5 y 20 ng/ml para todos los pacientes adultos con trasplante renal, renopancreático, hepático, cardíaco o pulmonar. Actualmente, la mayor experiencia clínica y la utilización de micofenolato mofetil y de terapias de inducción han reducido notablemente la incidencia de rechazo agudo al 8-20%, y consecuentemente se ha reducido la Cmin óptima de tacrolimo a valores entre 10 y 15 ng/ml, o incluso entre 8 y 12 ng/ml, con cierta mejoría en algunos aspectos como función del injerto, efectos adversos y calidad de vida⁸. Así, el estudio *Symphony*⁹, se realizó sobre 1.645 pacientes y analizó la eficacia y seguridad de tacrolimo administrado a dosis más bajas, para ello se compararon tres ramas de tratamiento inmunosupresor con inducción con daclizumab (A: dosis baja de ciclosporina, B: dosis baja de tacrolimo y C: dosis baja de sirolimo) y se observó que los pacientes tratados con la rama de tacrolimo a dosis bajas eran los que alcanzaban menor incidencia de rechazo agudo (12,3%).

En la actualidad, la dosis inicial de tacrolimo tras el trasplante renal es de 0,15 a 0,30 mg/kg/día por vía oral, repartidos en dos tomas. La dosis de mantenimiento se establece en base a la monitorización farmacocinética de la concentración sanguínea de tacrolimo. El ámbito terapéutico de tacrolimo depende del periodo postrasplante. A continuación (tabla 14) se describe los intervalos terapéuticos

del tacrolimo (Cmin) en función del período post-trasplante y de la terapia concomitante.

Tabla 14. Concentración sanguínea mínima óptima (ng/ml) en pacientes con trasplante renal en función del fármaco concomitante.

Periodo	Sin inducción	Ac.IL-2	AcPol/HR1	MMF/Corti	Inh mTOR
0-3m	10-15	3-7	5-10/10-15	10-15	3-7
3-12 m	5-15	3-7	5-10/10-15	8-12	3-7
>12 m	5-10	3-7	5-10/10-15	5-10	3-7

Ac.IL-2: anticuerpos monoclonales. AcPol/HR1=anticuerpo policlonal/inmunoglobulina antihumana de conejo. MMF/Corti= Combinación de micofenolato de mofetilo con minimización de esteroides. Inh mTOR: inhibidores de la Molécula Diana de la Rapamicina en mamíferos

Entre los **factores que pueden alterar la concentración sanguínea de tacrolimo** se encuentran:

- *Forma farmacéutica:* la absorción de tacrolimo a través de la membrana intestinal depende de varias propiedades fisicoquímicas incluyendo la velocidad de disolución del fármaco, el tamaño de partícula, polaridad y la emulsión.
- *Situaciones fisiopatológicas:* la eliminación de tacrolimo está influida por situaciones fisiopatológicas como la insuficiencia hepática y la insuficiencia renal. A su vez la diarrea puede incrementar la absorción de tacrolimo, ya que se produce una inhibición de la glicoproteína P intestinal. Estas situaciones provocan un incremento en la concentración sanguínea.
- *Interacciones farmacocinéticas:* tacrolimo se metaboliza por las enzimas del citocromo CYP3A4 y CYP3A5, los pacientes trasplantados reciben un gran número de tratamientos, por tanto los fármacos que se

metabolizan a ese nivel pueden provocar interacciones con tacrolimo. En la tabla 15 se detallan los fármacos que presentan interacciones de mayor gravedad con tacrolimo¹²⁵.

Tabla 15. Principales interacciones farmacocinéticas de tacrolimo.

Aumentan la Cs TAC	Disminuyen la Cs TAC
Cisaprida Mifepristona Antifúngicos azólicos (Itraconazol, Posaconazol, Voriconazol) Inhibidores de la proteasa VIH (Atazanavir, Nelfinavir, Telaprevir, Darunavir) Amiodarona Zumo de pomelo	Fenitoína Fenobarbital Rifampicina Caspofungina Hipérico

- *Otros factores* que pueden alterar las concentraciones sanguíneas de tacrolimo son:
 - o Factores biométricos: Edad, Albúmina y Hematocrito
 - o Polimorfismos genéticos en CYP3A4, CYP3A5 y MDR1
 - o Método analítico, los valores de concentración dependen del método analítico
 - o Tiempo post-trasplante, tacrolimo es un fármaco tiempo dependiente

2.3.3. Monitorización farmacogenética.

Según la evidencia científica disponible para algunos polimorfismos genéticos, se observa que la monitorización farmacogenética de los pacientes que van a recibir un trasplante renal puede contribuir al desarrollo de guías para la dosificación de tacrolimo en función de su genotipo.

Los SNPs a estudiar son aquellos que se presentan en los genes que codifican las proteínas implicadas en la respuesta Pk/Pd del tacrolimo y se clasifican en 3 grandes grupos:

- **Dianas moleculares**
 - o Citoquinas (FNTa, FCNb, IL-10, IL-6, INF)
 - o Receptores de quimiocinas (CCR)
 - o Moléculas de adhesión (integrinas, ICAM-1, selectinas)
 - o Factores de crecimiento del endotelio vascular (FCEV)
- **Transportadores: glicoproteína P**
- **Enzimas metabólicas**

En este trabajo nos centraremos en los genes que codifican la glicoproteína P y las enzimas metabólicas por estar relacionados con la farmacocinética de tacrolimo.

Glicoproteína P

Tal como se observa en la tabla 8 numerosos estudios han evaluado la asociación entre la presencia de polimorfismos en MDR1, en concreto los localizados en posición 1236 (exón 12), 2677 (exón 21) y 3435 (exón 26), y las concentraciones sanguíneas de tacrolimo en los pacientes con trasplante renal, no obstante ninguno ha llegado a establecer una *guía de dosificación*. En algunos estudios se establece una relación estadísticamente significativa entre el genotipo MDR1 de los pacientes con trasplante renal y la concentración sanguínea normalizada por la dosis de tacrolimo^{15,80,82}, por ejemplo **Macphee y cols** observaron que los pacientes homocigotos para el polimorfismo 3435 presentaban un incremento en el valor de las concentraciones sanguíneas ajustadas por la dosis de tacrolimo a los tres meses del trasplante renal. No obstante, a diferencia de estos hallazgos la mayoría de estudios, no constatan

ninguna relación entre la dosis de tacrolimo y los genotipos MDR1 en los pacientes con trasplante renal ^{17,18,77-80,82}

Estos resultados, en principio contradictorios, no implican necesariamente que la relación no exista sino que puede estar enmascarada por la existencia de otros factores como los polimorfismos en el citocromo P450, que interfieran en el metabolismo del fármaco, en este sentido algunos autores han llevado a cabo estudios que relacionan la concentración sanguínea de tacrolimo con la presencia de haplotipos ^{126,127}.

Respecto a los resultados clínicos, hasta la fecha pocos estudios han encontrado relación entre la presencia de polimorfismos en MDR1 y la respuesta clínica tras el trasplante renal, así un estudio llevado a cabo por **Singh y cols** ¹²⁸ sobre 75 pacientes en tratamiento con tacrolimo que se han sometido a un trasplante renal ha demostrado que los pacientes que presentan genotipo nativo para los polimorfismos 2677 y 3435 tardan menos tiempo en desarrollar rechazo agudo que los pacientes con genotipo homocigoto. Por el contrario el resto de estudios no han encontrado ninguna asociación con los resultados clínicos.

Enzimas metabólicas

Los genes que codifican las proteínas que participan en los procesos de absorción, distribución, metabolismo y eliminación (ADME) de los fármacos han sido objeto de numerosos estudios farmacogenéticos, que demuestran que la presencia de polimorfismos pueden alterar la funcionalidad o la expresión de estas proteínas. La metabolización enzimática de tacrolimo se media principalmente por reacciones fase I (oxidativas), aunque en menor medida también pueden realizarse reacciones fase II (conjugación).

En la siguiente figura 9 se esquematizan las proteínas implicadas en el proceso ADME de tacrolimo:

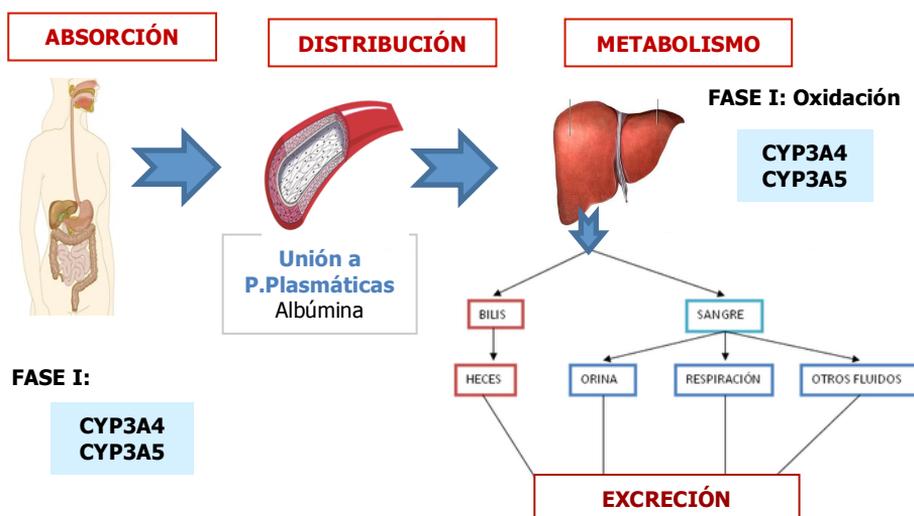


Figura 9. Proceso ADME de tacrolimo.

- **Genes que codifican las enzimas metabólicas fase I.**

Tal como indica el apartado 2.2.3, se han encontrado varios polimorfismos a nivel de CYP3A4 y CYP3A5 que pueden influenciar sobre el metabolismo de tacrolimo. En concreto en la isoforma **CYP3A4**, el SNP más estudiado es el CYP3A4*1B (392A>G)^{96,97}, no obstante la baja frecuencia de aparición de CYP3A4*1B en la población caucásica (3,6% al 9,6%), hace que existan pocos estudios que lo relacionen con la farmacocinética de tacrolimo y consecuentemente hasta la fecha no hay ningún estudio que permita establecer una guía de dosificación de tacrolimo en función del genotipo CYP3A4*1B.

Al contrario de lo que ocurre con la isoforma CYP3A4, se han publicado numerosos estudios que muestran la relación del estado polimórfico de **CYP3A5**

con la farmacocinética de tacrolimo, en concreto el SNP mayoritariamente estudiado es el CYP3A5*3 (6986A>G)

Así pues, tal como indica la tabla 11, se demuestra que los pacientes con genotipo CYP3A5*1/*3 o CYP3A5*1/*1 requieren dosis mayores de tacrolimo para alcanzar concentraciones óptimas que los pacientes con genotipo CYP3A5*3/*3^{15-21,79,81,82,96-103}. En cuanto al impacto del genotipo CYP3A5*3 sobre la respuesta clínica, en la mayoría de estudios la incidencia de rechazo agudo en trasplante renal no se ha podido correlacionar con el genotipo^{17,19,129,130} posiblemente a causa del bajo número de pacientes incluidos en los estudios, no obstante en un estudio realizado por **MacPhee y cols** se observó que el tiempo en que se producía el rechazo agudo era significativamente menor en aquellos pacientes portadores de la variante alélicas CYP3A5*1¹⁰ relacionadas con una menor concentración de tacrolimo.

Consecuentemente, varios autores ponen de manifiesto la utilidad de determinar en genotipo CYP3A5 a los pacientes trasplantados antes del inicio de la terapia con tacrolimo, con el objetivo de establecer la dosis inicial de tacrolimo en base al genotipo y consecuentemente alcanzar en menor tiempo concentraciones sanguíneas óptimas de tacrolimo y realizar un menor número de modificaciones de dosis. **Haufroid y cols** proponen una *guía de dosificación* para individualizar la dosis inicial de tacrolimo en función del genotipo CYP3A5*3, así proponen comenzar con dosis de tacrolimo de 0,15 mg/kg/día en los pacientes con genotipo homocigoto CYP3A5*3*3, e iniciar con dosis más elevadas de 0,30 mg/kg/día en pacientes con genotipo heterocigoto CYP3A5*1*3 o nativo CYP3A5*1*1¹³¹. Mas recientemente, **Zhang y cols** realizan la determinación del genotipo CYP3A5 en una población china y individualizan la dosis inicial de tacrolimo en función del genotipo a 0,08mg/kg/día para pacientes con genotipo CYP3A5*3*3 y a 0,15mg/kg/día en pacientes con genotipo *1*3, observándose que tras el ajuste de dosis incrementa significativamente la proporción de pacientes que alcanzan el ámbito terapéutico óptimo al tercer día de inicio de la

terapia²², en otro estudio realizado por **Thervet y cols** se realiza la determinación del genotipo CYP3A5 antes del trasplante en pacientes caucásicos y se individualiza la dosis inicial de tacrolimo en función del genotipo (0,30 mg/kg/día en portadores CYP3A5*1*1 o CYP3A5*1*3, y 0,15 mg/kg/día en portadores CYP3A5*3*3) observándose que la individualización posológica permite alcanzar concentraciones terapéuticas de forma precoz con menor ajuste de dosis. Sin embargo tal y como sucede en estudios previos no se observa ninguna relación entre genotipo y rechazo agudo o toxicidad asociada a tacrolimo²³.

- **Genes que codifican las enzimas metabólicas fase II.**

La identificación de productos de glucuronidación de tacrolimo ha demostrado que tacrolimo sufre metabolismo fase II^{132,133,134} consecuentemente los polimorfismos en los genes que codifican genes fase II puede estar asociados a la variabilidad interindividual del tacrolimo. A pesar de ello, en la actualidad ningún estudio ha establecido la asociación entre los polimorfismos en genes fase II y la farmacocinética de tacrolimo.

PXR

Las isoformas CYP3A, están controladas por el factor de transcripción PXR, así polimorfismos en PXR pueden relacionarse con una falta de expresión o actividad de las enzimas CYP3A.^{135,136} En concreto, se han identificado dos SNPs a nivel de PXR relacionados con la producción de CYP3A en caucásicos, -25385C>T que provoca un descenso en el mRNA que sintetiza en CYP3A4 hepático y 7635A>G, que provoca un descenso en el mRNA que sintetiza el CYP3A4 intestinal.

Hasta la fecha ningún estudio ha encontrado relación entre la presencia del SNP 7635A>G en la población y la farmacocinética de tacrolimo, no obstante un

estudio reciente realizado en 32 pacientes con trasplante renal analiza el impacto del SNPs -25385C>T en la farmacocinética poblacional de tacrolimo en pacientes con trasplante renal, observándose que al construir un modelo bayesiano los parámetros farmacocinéticos de tacrolimo están influenciados significativamente por las variables antropométricas del paciente (peso y sexo), el hematocrito, la dosis de esteroides y el SNP -25385C>T en PXR¹³⁷.

CAPÍTULO 3: MATERIAL Y MÉTODOS

3.1. PACIENTES Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR

La población de pacientes del estudio está formada por pacientes en tratamiento inmunosupresor que incluye tacrolimo y que han recibido al menos un trasplante renal en el hospital universitario Dr. Peset en el periodo 2009-2012.

3.1.1. Criterios de selección de pacientes.

Los criterios de selección de pacientes en el estudio se describen en la tabla 16 (Criterios de inclusión) y en la tabla 17 (Criterios de exclusión).

Tabla 16. Criterios de inclusión de pacientes en el estudio.

Criterios de inclusión
1. Aceptación de forma voluntaria para participar en el estudio y firma del consentimiento informado.
2. Tratamiento inicial con tacrolimo (Prograf®) y micofenolato de mofetilo (Cellcept®) o micofenolato sódico (Myfortic®).
3. Primer o segundo trasplante renal.
4. No cumplir ningún criterio de exclusión.

Tabla 17. Criterios de exclusión de pacientes en el estudio.

Criterios de exclusión
1. Sospecha de incumplimiento terapéutico (falta de adherencia a la pauta posológica de tacrolimo prescrita).
2. Tratamiento concomitante con fármacos inductores e inhibidores enzimáticos que pueden reducir o incrementar la concentración sanguínea de tacrolimo. Se han tenido en cuenta los fármacos que presentan interacciones de gravedad severa, con alta evidencia científica, descritos previamente en la tabla 15.
3. Insuficiencia hepática, grado B o C en la escala Child-Pugh ^{138,139} .
4. Pacientes hiperinmunizados, con tasas de anticuerpos citotóxicos anti-HLA >50%.
5. Sustitución de tacrolimo Prograf® por tacrolimo genérico.

3.1.2. Tamaño de la muestra de pacientes.

El número elevado de polimorfismos estudiados en la **fase I o fase retrospectiva** del estudio dificultó escoger una variable para el cálculo del tamaño muestral a priori. Es por ello que se incluyeron un total de **50** pacientes en tratamiento con tacrolimo que habían recibido al menos un trasplante renal en el periodo 2009-2010. El planteamiento inicial fue calcular la potencia estadística (1- β) del estudio retrospectivo a partir de los resultados obtenidos con el polimorfismo más significativo.

Para realizar la **fase II o fase prospectiva** del estudio, se esperaba recoger una muestra de 50 pacientes no obstante, puesto que no se puede prever a priori el número de trasplantes renales, se incluyeron todos los pacientes que recibieron un trasplante renal en el Hospital Universitario Dr. Peset entre Enero de 2011 y Febrero de 2012 y posteriormente se calculó la potencia estadística (1- β) del estudio prospectivo a partir de los resultados obtenidos.

Para calcular la **potencia estadística** del estudio, tanto en la fase retrospectiva como en la fase prospectiva, se utilizó el programa *ene 2.0*. Se aplicó la fórmula de cálculo del tamaño muestral (ecuación 1) para comparar la no igualdad entre las medias de dos muestras independientes, que a partir del valor del *tamaño de muestra* y del resultado de la *variable continua* seleccionada, permite calcular el valor de z_{β} y con ello el **riesgo β** .¹⁴⁰

$$n_1 = (r + 1) \times \frac{(z_{\alpha/2} + z_{\beta})^2 \times s^2}{r \times d^2}$$

Ecuación 1

$$n_0 = r \times n_1$$

Donde:

n_1 es la población del grupo de estudio

n_0 es la población del grupo control

r es la razón entre grupo (n_1/n_0)

s^2 es la varianza de la variable continua

d es la diferencia media entre los valores de la variable continua en el grupo de estudio y el grupo control

$z_{\alpha/2}$ valor de la ley normal para el riesgo α deseado. El riesgo α está relacionado con la probabilidad de que se produzca el error tipo I, que es el error que se comete al concluir que hay una asociación que en realidad no existe. Normalmente el riesgo α se fija en un 5%.

z_{β} valor de la ley normal para el riesgo β deseado. El riesgo β está relacionado con la probabilidad de que se produzca el error tipo II, que es el error que se comete cuando se concluye que no hay asociación y ésta existe de verdad. La potencia estadística es su complementario ($1-\beta$): la capacidad de acertar al

concluir que hay una asociación que en realidad existe. Normalmente se exige como mínimo una potencia del 80% o un riesgo β del 20%.

3.1.3. Comité Ético e Información al paciente.

El Comité Ético de Investigación Clínica del centro autorizó la realización del estudio. Todos los pacientes fueron informados verbalmente y por escrito de la finalidad del estudio y firmaron el consentimiento informado para participar (Anexo 3).

3.1.4. Tratamiento inmunosupresor.

En el siguiente apartado se diferencia el tratamiento inmunosupresor que han recibido los pacientes incluidos en el estudio en función del momento en el que se ha instaurado, así denominamos *tratamiento inmunosupresor inicial* al tratamiento que se administra en el momento del trasplante renal, que incluye el tratamiento de inducción, y *tratamiento inmunosupresor de mantenimiento* al tratamiento que se instaura a las 24-72 horas del trasplante renal y se mantiene durante un periodo prolongado o indefinidamente.

Tratamiento inmunosupresor inicial

En el momento del trasplante, todos los pacientes recibieron tratamiento de inducción con anticuerpos policlonales (timoglobulina) o monoclonales (basiliximab), corticoides y micofenolato de mofetil de acuerdo con el protocolo de inmunosupresión del Hospital Universitario Dr. Peset que se detalla en el anexo 1.

Tratamiento de inducción: Los pacientes de mayor riesgo inmunológico recibieron tratamiento de inducción con timoglobulina y los de menor riesgo inmunológico con basiliximab, excepcionalmente los pacientes de muy bajo riesgo inmunológico no recibieron tratamiento de inducción. Se consideraron pacientes de alto riesgo inmunológico los pacientes hiperinmunizados, es decir con tasas de anticuerpos anti-HLA>50%, los pacientes retrasplantados, o los pacientes receptores de un riñón con criterios expandidos, definidos previamente en el apartado 2.1.2 de antecedentes. La pauta posológica de la *timoglobulina* fue de 1,5 mg/kg previo a la cirugía seguido de 1,5 mg/kg/día durante 5 días. El *basiliximab* se administró siguiendo una pauta posológica de 20 mg previo a la cirugía seguido de una segunda dosis de 20 mg el 4º día postrasplante.

Micofenolato de mofetilo (Cellcept®): Se administraron 2 g de *micofenolato de mofetilo* previo a la cirugía por vía iv.

Corticoides: Se administraron 500 mg de 6-metilprednisolona en 20-30 minutos previo a la cirugía. En pacientes con peso inferior a 50kg o edad superior a 60 años, se administró el 50% de la dosis mencionada.

El día 1 postrasplante se administró por vía intravenosa una dosis única de 125 mg de 6-metilprednisolona.

Tratamiento inmunosupresor de mantenimiento

Tras el trasplante todos los pacientes incluidos en el estudio recibieron una *triple terapia* basada en tacrolimo, micofenolato de mofetil o micofenolato sódico y corticoides.

Tacrolimo (Prograf®): se inicio a partir del 2º o 3er día postrasplante, con una pauta posológica inicial de 0,075-0,15 mg/kg cada 12 horas vía oral. Posteriormente, las dosis se individualizó en función de los resultados de

concentración sanguínea, ajustando a niveles óptimos de C_{min} entre 10-15 ng/ml las 6 primeras semanas postrasplante y C_{min} entre 5-10 ng/ml, a partir de la sexta semana postrasplante.

Tal como indica en los criterios de exclusión de pacientes definidos en la tabla 17, no se permitió en ningún paciente incluido en el estudio la sustitución por tacrolimo genérico.

Micofenolato de mofetilo (CellCept®): se inicio a partir de las 24 horas postrasplante con una dosis inicial de 1 g cada 12 horas vía oral, con reducciones progresivas a 500 mg cada 12 horas al mes postrasplante y posteriormente en función de los resultados de concentración plasmática a niveles óptimos de C_{min} entre 1,5-3 mcg/ml.

En los pacientes con intolerancia digestiva a micofenolato de mofetilo, en primer lugar se fraccionó la dosis inicial a 500 mg cada 6 horas vía oral, y si se mantuvo la intolerancia digestiva se modificó el tratamiento por **micofenolato sódico (Myfortic®)** a una dosis inicial de 720 mg cada 12 horas, con reducciones progresivas a 360 mg cada 12 horas al mes postrasplante ajustando posteriormente en función de los resultados de concentración plasmática a niveles óptimos de C_{min} entre 1,5-3 mcg/ml.

Corticoides: a partir del 2º día postrasplante todos los pacientes recibieron prednisona 20 mg cada 24 horas vía oral, con reducciones progresivas a 15 mg cada 24 horas al mes postrasplante, 10 mg cada 24 horas a los dos meses postrasplante y 5 mg cada 24 horas a partir del sexto mes postrasplante. En pacientes que desarrollaron diabetes mellitus postrasplante o presentaban susceptibilidad a complicaciones derivadas de los esteroides (por ejemplo osteoporosis) se tendió a una reducción acelerada de la dosis hasta la completa suspensión.

3.2. DISEÑO DEL ESTUDIO

El estudio se diseñó en dos fases, una primera *fase I o fase retrospectiva* para conocer la distribución de polimorfismos genéticos en nuestra población de estudio y su relación con la respuesta farmacocinética y clínica a tacrolimo, y una segunda *fase II o fase prospectiva* en la que se aplicó y validó un protocolo de personalización terapéutica de tacrolimo en los pacientes recién trasplantados, en función de su carga genética.

3.2.1. Fase I. Estudio retrospectivo.

La primera fase del estudio se diseñó como un *estudio observacional, de cohortes, retrospectivo*.

Tal como se ha detallado en el apartado 3.1 se incluyeron 50 pacientes en tratamiento con tacrolimo que habían recibido al menos un trasplante renal durante los años 2009 y 2010. En el momento de la inclusión a todos los pacientes se les realizó un análisis farmacogenético, para determinar su carga genética y posteriormente se les realizó un seguimiento clínico que incluía el primer año postrasplante.

3.2.2. Fase II. Estudio prospectivo.

La segunda fase del estudio se diseñó como un *estudio cuasi-experimental, de cohortes, prospectivo*.

Se diferenciaron dos grupos de pacientes:

-Grupo de estudio: pacientes en los que se determinó el genotipo previo al inicio de la terapia con tacrolimo, de modo que se individualizó la pauta posológica inicial de tacrolimo en base a su carga genética.

-Grupo control: pacientes en los que no se disponía del resultado genético previo al inicio de la terapia con tacrolimo, de modo que no se individualizó la pauta posológica inicial de tacrolimo en base a su carga genética y se determinó el genotipo a posteriori.

3.2.2.1. Implantación del protocolo de personalización terapéutica.

Actualmente, según se detalla en el apartado 2.3.3 de antecedentes, tan solo existen guías de dosificación inicial de tacrolimo en función del genotipo para el polimorfismo CYP3A5*3^{131,22,23}. Para llevar a cabo el estudio prospectivo se analizaron los resultados obtenidos en el estudio fase I, con el objetivo de identificar el polimorfismo que estaba más estrechamente relacionado con la respuesta farmacocinética y clínica a tacrolimo y *elaborar un protocolo de personalización terapéutica de tacrolimo en base al genotipo de los pacientes.*

El **protocolo de personalización terapéutica** se aplicó para calcular la dosis inicial de tacrolimo en los pacientes recién trasplantados a partir de Enero de 2011, tal como se define en el apartado 3.1.2 de material y métodos. Para poder aplicar el protocolo de personalización terapéutica los pacientes debían tener el resultado de su carga genética previo al inicio de la terapia con tacrolimo, por ello se realizó el análisis farmacogenético cuando los pacientes estaban en lista de espera para recibir un trasplante renal (grupo de estudio).

3.2.2.2. Validación clínica, terapéutica y económica de la personalización del tratamiento.

Para llevar a cabo la validación del protocolo se realizó un seguimiento clínico durante los 6 primeros meses postrasplante y se aplicaron las mismas variables e indicadores que en el estudio retrospectivo a todos los pacientes incluidos en el estudio prospectivo (grupo de estudio y grupo control), con el objetivo de encontrar una mejora en los resultados de los pacientes tras la aplicación del protocolo de personalización terapéutica.

En la figura 10 se detalla el esquema del estudio:

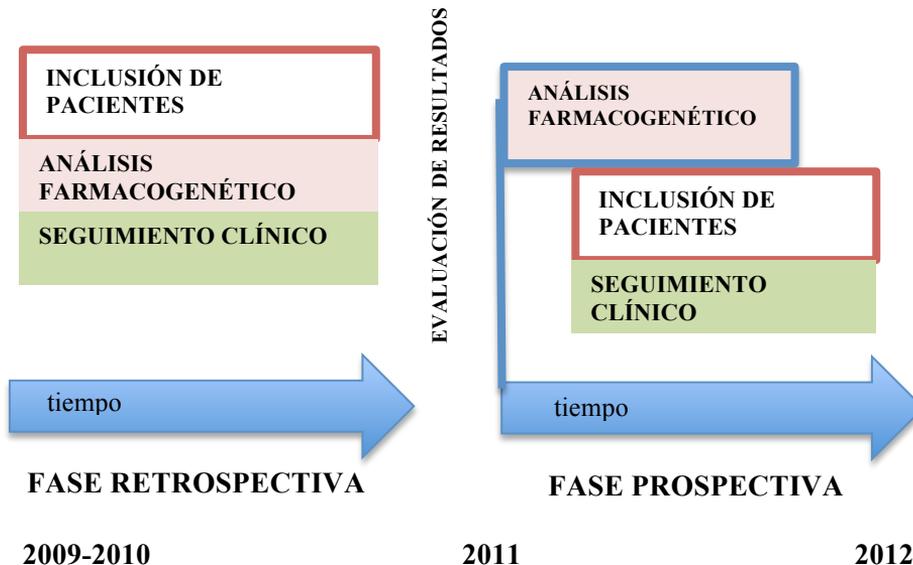


Figura 10: Esquema de diseño global del estudio, incluye la fase retrospectiva y la fase prospectiva.

3.2.3. Seguimiento del paciente trasplantado.

El seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio no difirió de la práctica clínica habitual. El seguimiento que recibe el paciente trasplantado supone la monitorización clínica de constantes (tensión arterial, temperatura corporal), síntomas o signos (temblor, dolor, edema, eritema, tos...) y la realización de exploraciones analíticas que incluyen:

1. **Hemograma** (hematíes, hemoglobina, hematocrito, volumen corpuscular medio, concentración hemoglobina corpuscular media, morfología eritrocitaria, recuento y fórmula linfocitaria, plaquetas, volumen plaquetar medio y velocidad de sedimentación globular).
2. **Bioquímica ordinaria** (glucosa, urea, creatinina, proteínas totales, albumina, calcio, sodio, potasio, cloro y bicarbonato).
3. **Bioquímica completa** (glucosa, urea, creatinina, aclaramiento de creatinina, ácido úrico, colesterol total, triglicéridos, creatin fosfoquinasa, lactato deshidrogenasa, aspartato aminotransferasa, alaninoaminotransferasas, gammaglutamil transferasas, fosfatasa alcalina, bilirrubina total, directa e indirecta, colesterol total, LDL, HDL, VLDL, triglicéridos, amilasa, proteínas totales, albúmina, cociente albúmina/globulina, calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cloro y hierro).
4. **Bioquímica de orina:** anormales, con especial atención a la cuantificación de la proteinuria de manera absoluta en orina de 24 horas o en una muestra mediante el cociente proteínas/creatinina, y sedimento urinario. En el postrasplante inmediato la caracterización de la bioquímica urinaria (urea, creatinina, sodio, potasio, cloro) puede orientar acerca de la recuperación funcional del riñón y la aparición de episodios de disfunción vs rechazo del injerto.
5. **Monitorización de la concentración sanguínea mínima (C_{min})** de tacrolimo y ácido micofenólico.

6. ***Urocultivo.***
7. El segundo y tercer mes son el periodo de máximo riesgo de infección por CMV, y para un diagnóstico y tratamiento precoces se realiza la ***determinación del antígeno pp66.***
8. ***Radiografía de tórax, Ecografía doppler renal y Angiorenograma isotópico*** se realizan en la etapa precoz postrasplante para conocer la evolución del paciente y del injerto. Posteriormente se realiza una ***Ecografía doppler renal*** con una periodicidad anual, incluyendo la evaluación de los riñones nativos.

La periodicidad depende del momento evolutivo postrasplante. Así, en el postrasplante inmediato el seguimiento se realiza durante el ingreso hospitalario e incluye la monitorización clínica y analítica diaria, al alta hospitalaria el seguimiento ambulatorio de los pacientes trasplantados incluye la monitorización clínica y analítica tres veces por semana durante el primer mes, cada 5-7 días el segundo mes, cada 7-10 días el tercer mes, quincenal el cuarto mes, cada tres semanas el quinto mes, y mensual a partir del sexto mes, con espaciamiento progresivo en función de la evolución del injerto.

En la tabla 18 se representa la periodicidad de las exploraciones que se prevé realizar durante el primer año postrasplante, que podrían ser consideradas estándares de práctica asistencial.

Tabla 18. Periodicidad de las exploraciones previstas durante el primer año de seguimiento del paciente trasplantado.

Exploración	1er M		2ºM	3 M	4 M	5 M	6-12 M	n
	1ª -2S	3ª-4 S						
Hemograma	c24h	3vS	c5-7d	c7-10d	c15d	c21d	c30d	38
Bioquímica ordinaria	c24h	3vS	c5-7d					38
Bioquímica completa	c7d	c7d	c7d	c7-10d	c15d	c21d	c30d	
Bioquímica orina	c24h	3vS	c5-7d	c7-10d	c15d	c21d	c30d	38
Urocultivo	2vS	2vS	c5-7d	c7-10d				24
Antígeno pp64 CMV	Basal		c15d	c15d				5
Monitorización de tacrolimo	c48h	2vS	1vS	c7-10d	c15d	c21d	c30d	38
Monitorización de MMF				c60d		c60d		6
Rx torax	Días 1,2,3							3
Ecografía renal	Basal Días 1,3	c15d	-	Día 30				6
Angiorenografía isotópica	Basal Días 1,3	c15d	-	Día 30				6

c24h: diario; c48h: cada 48 horas; 2vS: dos veces por semana; 3vS: tres veces por semana; c5-7d: cada 5 o 7 días; c7-10d: cada 7 o 10 días; c15d: cada 15 días; c21d: cada 21 días; c30d: mensual; c60d: cada dos meses; n: número aproximado de pruebas durante el primer año postrasplante.

3.3. VARIABLES ESTUDIADAS

3.3.1. Variables basales.

Para caracterizar la población de estudio y calcular las variables principales se han definido las siguientes variables relacionadas con el donante, paciente, órgano trasplantado y tratamiento inmunosupresor (tablas 19, 20 y 21).

Entre las **variables predictoras del riesgo inmunológico del paciente** se encuentran variables dependientes del paciente, del donante o del órgano trasplantado. Dichas variables pueden repercutir en la estrategia terapéutica del paciente trasplantado y en la evolución clínica del trasplante.

Tabla 19. Variables demográficas y biométricas del paciente trasplantado.

Variables	Características
Peso (kg)	Continua
Edad (años)	Continua
Sexo	Categórica (0-Hombre, 1-Mujer)
Etnia	Categórica (0-Caucásica, 1-Africana, 2-Hispana, 3-Pacífica)
Creatinina ($\mu\text{mol/l}$)	Continua
Hematocrito (%)	Continua
Hemoglobina (g/dl)	Continua
Genotipo	Categórica (0-nativo, 1-heterocigoto, 2-homocigoto)

Tabla 20. Variables predictoras del riesgo inmunológico del paciente trasplantado.

Variables	Características
Dependientes del donante	
Edad (años)	Continua
Sexo	Categórica (0-Hombre, 1-Mujer)
Cr \geq 1,5g/dl	Categórica (0-No, 1-Si)
Causa de la muerte por ACV	Categórica (0-No, 1-Si)
Donante a corazón parado	Categórica (0-No, 1-Si)
Dependientes del paciente	
Retrasplante	Categórica (0-No, 1-Si)
Nº de Compatibilidades HLA	Continua
Nº de Incompatibilidades HLA	Continua
Presencia de Necrosis tubular aguda	Categórica (0-No, 1-Si)
Dependientes del órgano trasplantado	
Tiempo de isquemia fría (horas)	Continua

Tabla 21. Variables dependientes del tratamiento inmunosupresor.

Variables	Características
Dosis de corticoides (mg/día)	Continua
Tipo de inducción	Categórica (0-No inducción, 1-Basiliximab, 2-Timoglobulina)
Dosis de tacrolimo (mg/día)	Continua
Concentración sanguínea de tacrolimo (ng/ml)	Continua
Dosis de Micofenolato de mofetil (mg/día)	Continua

Las variables basales relacionadas con el *donante*, *paciente* y el *órgano trasplantado* se recogieron de la historia clínica informatizada. (Orion Clinic®)

Las variables basales relacionadas con el *tratamiento inmunosupresor* se recogieron de la historia farmacoterapéutica (Farmasyst®) y del aplicativo informático pkWeb®.

3.3.2. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-farmacocinética.

Para medir la exposición del paciente a tacrolimo se ha calculado la variable farmacocinética **relación Cs/dosis/peso de tacrolimo** en todas las determinaciones farmacocinéticas realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante.

Para su cálculo se ha dividido la concentración sanguínea de tacrolimo, entre la dosis total diaria de tacrolimo y el peso del paciente en el momento de la determinación farmacocinética, tal como se observa en la ecuación 2.

$$\text{Relación Cs/dosis/peso} = \frac{\text{Cs tacrolimo} / \text{Dosis}}{\text{Peso paciente}}$$

Ecuación 2

Donde:

Cs tacrolimo: concentración sanguínea de tacrolimo medida en ng/ml.

Dosis: dosis diaria de tacrolimo medida en mg.

Peso del paciente: peso total del paciente en el momento de la determinación farmacocinética, medido en kg.

3.3.3. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica.

Las variables clínicas se han diferenciado en **variables de eficacia**:

- Presencia de rechazo agudo (confirmado con biopsia).

Y en **variables de toxicidad** atribuible a tacrolimo, en la tabla 22 se definen todas las variables de toxicidad incluidas en el estudio.

Tabla 22. Variables de toxicidad atribuible a tacrolimo.

Variable	Definición
Nefrotoxicidad	Confirmada con biopsia o sospecha si se produce un incremento la Cr sérica en 0,5 mg/dl en relación con niveles sanguíneos de tacrolimo >15 ng/ml
Neurotoxicidad	Presencia de toxicidad neurológica: temblores, confusión, convulsiones
Hipertensión Arterial	Mal control de la Tensión Arterial tras el trasplante que requiere incrementar el número de fármacos antihipertensivos
DM de novo	Aparición de DM de novo tras el trasplante, con niveles glucosa basal >126 mg/dl o HbA1c%>6,5% que requiere tratamiento con antidiabéticos orales o insulina
Dislipemia de novo	Aparición de dislipemia de novo tras el trasplante, con niveles de colesterol LDL>150 mg/dl que requiere tratamiento con hipolipemiantes
Infección	Presencia de infección en cualquier localización de etiología bacteriana o vírica (CMV, Virus BK o Virus de Herpes Simple).

En el estudio de las variables de toxicidad se han descartado los pacientes con comorbilidades previas al trasplante renal, tales como diabetes mellitus y dislipemia.

Las variables *clínicas* se recogieron de la historia clínica informatizada (Orion Clinic®).

Todas las variables se registraron en un Cuaderno de Recogida de Datos y posteriormente en una hoja excel.

3.4. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

3.4.1. Toma de muestras.

Tal como se observa en la tabla 4 la semivida de eliminación de tacrolimo es aproximadamente de 12 h por tanto la primera determinación farmacocinética de tacrolimo se realiza a los 3 días de inicio de tratamiento, momento en el que se alcanza el estado estacionario.

La determinación farmacocinética se realizó de forma rutinaria a todos los pacientes a partir del 3er día de inicio del tratamiento con tacrolimo, con la periodicidad definida en el apartado 3.2.3.

La extracción de la muestra de sangre periférica se realizó en el servicio de análisis clínicos del Hospital Universitario Dr. Peset, previa a la dosis de Prograf® de la mañana, correspondiendo a valores de concentración mínima de tacrolimo en sangre (C_{min}).

3.4.2. Técnica analítica.

El análisis farmacocinético se realizó en la Unidad de Farmacocinética clínica del servicio de farmacia del Hospital Universitario Dr. Peset.

La determinación farmacocinética de tacrolimo se realiza de manera automatizada mediante el sistema ARCHITECT® de Abbot laboratorios, que

realiza un inmunoanálisis de micropartículas quimioluminiscentes (CMIA) para cuantificar la cantidad de tacrolimo en sangre. En la técnica CMIA una marca quimioluminiscente, en concreto un derivado de acridina, se conjuga con el anticuerpo o antígeno, y produce luz cuando se combina con su sustrato. Se produce una reacción tipo sándwich no competitiva, de modo que la concentración de señal medida es directamente proporcional a la concentración de tacrolimo presente en la muestra del paciente (figura 11).

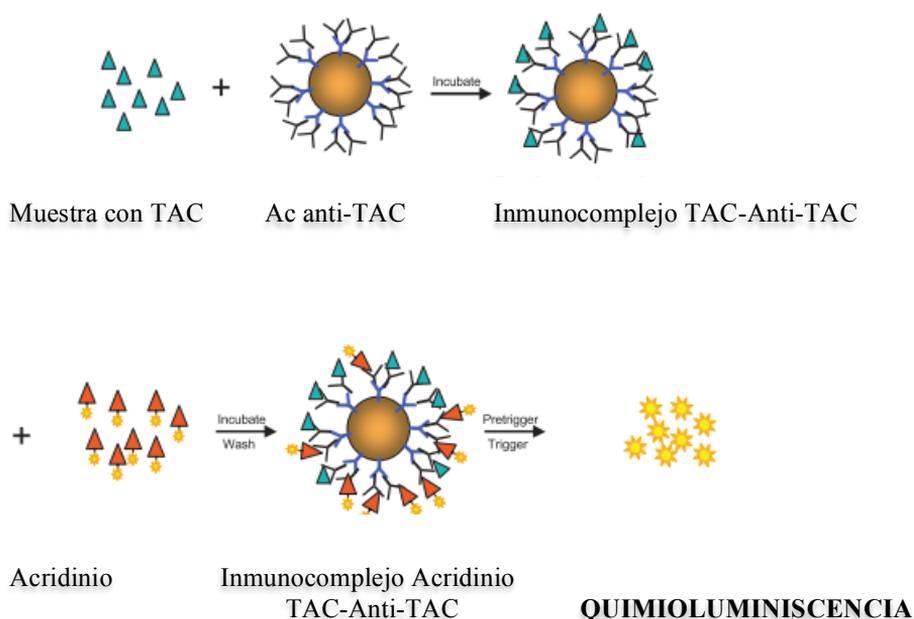


Figura 11. Descripción de la técnica CMIA para tacrolimo.

Reactivos, calibradores y controles

Para el análisis se utilizó el kit de **reactivos** ARCHITECT Tacrolimus que contiene: 1 frasco de micropartículas recubiertas de anticuerpo monoclonal antitacrolimus en tampón EDTA con estabilizante proteínico (bovino), 1 frasco

de conjugado de tacrolimo marcado con acridinio en tampón citrato con estabilizante proteínico (bovino) y 1 frasco de diluyente del ensayo que contiene tampón MES y cloruro de sodio.

Para el pretratamiento de la muestra se utilizó el reactivo de precipitación para sangre ARCHITECT Tacrolimus.

Los **calibradores** ARCHITECT Tacrolimus utilizados corresponden a cantidades exactamente medidas de tacrolimo en componentes de sangre humana de las siguientes concentraciones: A (0 ng/ml), B (3 ng/ml), C (6 ng/ml), D (12 ng/ml), E (20 ng/ml) y F (30 ng/ml).

La técnica analítica dispone de 3 **controles** de tacrolimo en componentes de sangre humana (control 1, control 2 y control 3) el ámbito de concentración aceptado para cada control depende del lote utilizado.

Pretratamiento y análisis de la muestra de sangre, calibradores y controles¹⁴¹

El análisis se realizó en muestras de sangre total extraídas según indica el apartado 3.4.1 en tubos con anticoagulante EDTA, si el análisis farmacocinético no se realizó inmediatamente a la extracción de la muestra de sangre se almacenó refrigerada a 2-8°C.

Antes del análisis farmacocinético de tacrolimo es necesario realizar un **pretratamiento** de la muestra de sangre, calibradores y controles para minimizar la interferencia producida por compuestos fluorescentes endógenos, ligados a las proteínas. El pretratamiento consiste en agregar a las muestras el reactivo de precipitación para sangre ARCHITECT Tacrolimus, con el fin de precipitar las proteínas, el pretratamiento finaliza con la centrifugación hasta

obtener un sobrenadante claro. El ensayo se realizará en el sobrenadante obtenido a partir de la muestra.

En la siguiente figura (figura 12) se describe el proceso de pretratamiento:

1. En primer lugar, inmediatamente después de homogeneizar bien la muestra invirtiéndola suavemente en su recipiente, se pipetea 200 μ l de la muestra en un tubo de centrifuga.
2. Se añaden 200 μ l del reactivo de precipitación para sangre ARCHITECT Tacrolimus al tubo de centrifuga que contiene la muestra. El tubo se cierra inmediatamente y se agita en el vórtex durante 5-10 segundos.
3. Cuando la mezcla es homogénea, se carga en la centrifuga y se centrifuga durante 4 minutos a 13.000 rpm
4. Una vez finalizada la centrifugación se retira el tubo, se destapa y se decanta

Figura 12. Proceso de pretratamiento de la muestra, calibradores y controles previo al análisis farmacocinético.

El tubo de pretratamiento se traslada al portagradillas de muestras ARCHITECT para proceder a su **análisis** en el sistema ARCHITECT. El tiempo de análisis es aproximadamente de 30 minutos y el resultado de concentración sanguínea de tacrolimo viene expresado en ng/ml. El intervalo analítico del ensayo ARCHITECT de tacrolimo es de 2 ng/ml a 30 ng/ml, y el límite de detección de la técnica es $\leq 1,5$ ng/ml, es decir si la concentración de tacrolimo en sangre es menor a 1,5 ng/ml el sistema no la detectará.

3.4.3. Individualización posológica tradicional.

La práctica asistencial del análisis farmacocinético en estos pacientes tiene por objeto ajustar la pauta posológica de tacrolimo para alcanzar y mantener concentraciones óptimas según el momento postrasplante.

El intervalo posológico óptimo de tacrolimo en el trasplante renal está definido entre 10-15 ng/ml las primeras 6 semanas postrasplante y 5-10 ng/ml posteriormente.

Para calcular el ajuste de la dosis de mantenimiento se puede recurrir a la siguiente ecuación (ecuación 3)¹⁴², en la cual en el estado de equilibrio estacionario, en cada intervalo de dosificación la cantidad de fármaco eliminada es igual a la cantidad de fármaco absorbida, es decir las velocidades medias de entrada y salida son iguales.

$$\frac{F \times D}{\tau} = Kel \times Q_{ee\ media} = Kel \times Vd \times C_{ee\ media}$$

$$C_{media\ ee} = \frac{F \times D}{Clp \times \tau}$$

$$D = \frac{F \times C_{media\ ee}}{Clp \times \tau}$$

Ecuación 3

donde:

F: Biodisponibilidad

D: Dosis

Kel: Constante de eliminación

Clp: Aclaramiento plasmático

C_{media ee}: Concentración en estado estacionario

τ: Intervalo posológico

La dosis de tacrolimo es directamente proporcional a la concentración en estado estacionario y depende de la biodisponibilidad y del aclaramiento plasmático del paciente en ese momento en concreto.

Así, generalmente para un mismo paciente si se asume que el intervalo posológico, la biodisponibilidad y el aclaramiento plasmático es constante,

porque no existen factores externos como fármacos que interaccionen, cuando el resultado de concentración sanguínea de tacrolimo se encuentra por debajo o por encima del ámbito terapéutico establecido se realizan reducciones o incrementos de dosis de $\pm 0,5-2$ mg diarios con el objetivo de incrementar o reducir la concentración sanguínea en la misma proporción. No obstante, en ocasiones la reducción o incremento de la concentración sanguínea no provoca un incremento directamente proporcional de la dosis ya que se puede producir una saturación enzimática, por ello a las 48h se repite la monitorización farmacocinética para valorar la concentración sanguínea de tacrolimo alcanzada y si es necesario realizar otro ajuste de dosis de $\pm 0,5-2$ mg diarios.

3.5. ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO

3.5.1. Extracción de la muestra.

Se extrajo a todos los pacientes una muestra de 5ml de sangre periférica para realizar el análisis farmacogenético.

El momento de extracción de la muestra dependió de la fase del estudio. En los pacientes del **estudio retrospectivo** la extracción de la muestra se realizó en el momento de inclusión en el estudio, cuando el paciente ya había recibido el trasplante y tras haber iniciado el tratamiento inmunosupresor, siempre antes del primer año postrasplante. En los pacientes del **estudio prospectivo** la extracción de la muestra se realizó previo al trasplante y al inicio del tratamiento inmunosupresor, cuando el paciente se encontraba en lista de espera para recibir el trasplante renal. Así, en Enero de 2011 se realizó el análisis farmacogenético a todos los pacientes que estaban incluidos en lista de espera y cumplían criterios de inclusión en el estudio, de este modo en el momento del trasplante se disponía

del resultado de carga genética del paciente y se podía aplicar el protocolo de personalización terapéutica.

La muestra de sangre se codificó, para cumplir con la ley orgánica de Protección de Datos de Carácter Personal (LOPD), con el número de registro del paciente, número de registro de la muestra y fecha de extracción.

La muestra de sangre se conservó a -20 grados hasta su determinación.

3.5.2. Genes seleccionados.

A partir de la información descrita en el apartado 2.3.3 de antecedentes, se estudiaron los polimorfismos en los genes que codifican proteínas transportadoras, enzimas metabólicas y factores de transcripción, ya que pueden tener relación con la concentración sanguínea de tacrolimo así como con su respuesta clínica. En las tablas 23 y 24 se detallan los polimorfismos estudiados, la variación en la secuencia que provocan y su consecuencia sobre la concentración sanguínea de tacrolimo.

Tabla 23. Polimorfismos estudiados en proteínas transportadoras y factores de transcripción, y repercusión en la farmacocinética de tacrolimo.

	POLIMORFISMO	SECUENCIA	CONSECUENCIA
PROTEINAS TRANSPORTADORAS • Gen MDR1	MDR1 (3435)	C3435T (rs1045642) Ile1145Ile	<i>Alelo T= falta de expresión E</i> (MAYOR [TAC])
	MDR1 (2677)	G2677T/A (rs2032582) Ala893Ser/Tre	<i>Alelo T= falta de expresión E</i> (MAYOR [TAC])
FACTORES DE TRANSCRIPCIÓN • Gen PXR	PXR	25385C/T (rs3814055)	<i>Alelo T= Menor expresión CYP3A4.</i> (MAYOR [TAC])

E: enzimática; [TAC]: concentración sanguínea de tacrolimo

Tabla 24. Polimorfismos estudiados en enzimas metabólicas fase I y II, y su repercusión en la farmacocinética de tacrolimo.

	POLIMORFISMO	SECUENCIA	CONSECUENCIA
ENZIMAS METABÓLICAS FASE I <ul style="list-style-type: none"> • Gen CYP3A5 	CYP3A5*3	6986A>G (rs776746)	<i>Alelo G= falta de expresión E (MAYOR [TAC])</i>
	CYP3A5*6	14690G>A (rs10264272)	<i>Alelo A= falta de expresión E (MAYOR [TAC])</i>
	CYP3A5*8	3699C>T (rs55817950)	<i>Alelo T= Baja actividad E (MAYOR [TAC])</i>
	CYP3A5*9	19386G>A (rs28383479)	<i>Alelo A= Baja actividad E (MAYOR [TAC])</i>
ENZIMAS METABÓLICAS FASE II <ul style="list-style-type: none"> • Gen UGT1A9 • Gen UGT1A8 • Gen UGT2B7 	UGT1A9: -2152	C/T (rs17868320)	<i>Alelo T= Mayor expresión E (MENOR [TAC])</i>
	UGT1A9: -275	A/T (rs6714486)	<i>Alelo A= Mayor expresión E (MENOR [TAC])</i>
	UGT1A9*3	C/T (rs72551330)	<i>Alelo T= Baja actividad E (MAYOR [TAC])</i>
	UGT1A9*4	726T>G (rs66915469)	<i>Alelo G= Falta actividad E (MAYOR [TAC])</i>
	UGT1A9*5	766G>A (rs58597806)	<i>Alelo A= Baja actividad E (MAYOR [TAC])</i>
	UGT1A8*3	830G>A (rs17863762)	<i>Alelo A= Falta actividad E (MAYOR [TAC])</i>
	UGT2B7*2	802T>C (rs7439366)	<i>Alelo C= No expresión E (MAYOR [TAC])</i>

E: enzimática; [TAC]: concentración sanguínea de tacrolimo

3.5.3. Técnica analítica.

Las muestras congeladas se transportaron al laboratorio de farmacogenética de la Fundación de Investigación del Hospital General donde se procesaron.

En primer lugar se realizó la extracción del ADN de sangre total utilizando el kit comercial QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Madrid). Dicho kit extrae el ADN a partir de los leucocitos presentes en sangre periférica por medio de la lisis celular y captura de DNA en la malla de una columna. Por medio de diversos lavados, y posterior elución en agua desionizada estéril se obtuvo el DNA. El método de extracción se detalla en la figura 13.

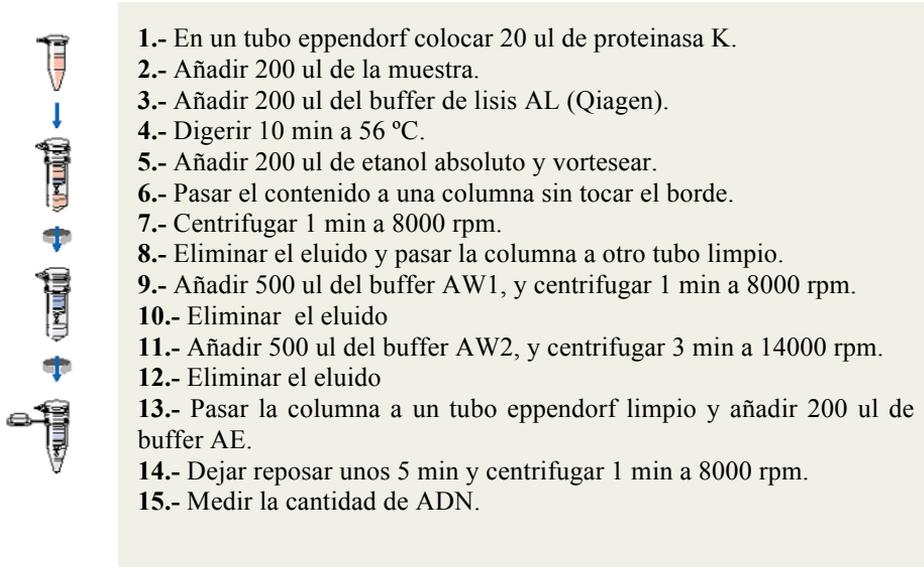


Figura 13. Método de extracción de ADN a partir de sangre periférica con el kit QIAamp DNA Blood Mini.

El contenido de ADN en las muestras se cuantificó mediante un nanoespectrofotómetro de ácidos nucleicos realizando capturas a 230nm, 260nm, y 280nm. Los criterios de calidad de la muestra de ADN se centraron en la pureza (ratio 260/280 $\geq 1,5$) y en la integridad.

La *pureza* se determinó mediante la absorbancia, se obtuvieron bandas de DNA únicas para todas las muestras con una absorbancia mayor a 1,5. La integridad del ADN se analizó mediante gel de agarosa, para ello se preparó un gel de agarosa al 1% en solución Tris acetato EDTA (TAE), tal como especifica la figura 14.

1. En un tubo Erlenmeyer se realizó una solución de agarosa 1% p/v disolviéndola en buffer TAE 1x (1gr de agarosa + 125 ml de buffer). El buffer TAE 1x se obtuvo de una solución stock TAE 50x, que se preparó con 242 g de Tris base, 57,1 ml de ácido acético glacial, 100 ml de EDTA 0,5 M y H₂O hasta llegar a 1 litro.
2. Para disolver esta solución de agarosa en buffer se necesitó calentarla en un horno microondas hasta llevarla a ebullición. Luego se agregó el bromuro de etidio, cuyo mecanismo de acción consiste en intercalarse en el DNA y distorsionar la doble hélice, lo que permite visualizar las bandas de DNA una vez finalizada la migración en un transiluminador ultravioleta.
3. Al estar la solución fundida se volcó en el molde con el peine colocado, para eliminar las burbujas presentes, y se esperó hasta que el gel solidificase completamente antes de ser usado. Luego se retiró el peine y se sacó la cinta de los bordes para que estuviesen en contacto con el buffer. Se colocó el gel en la cuba de electroforesis, y se le agregó suficiente cantidad de TAE 1x para cubrir todo el gel.

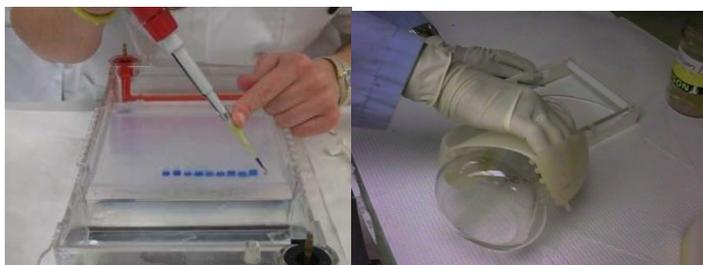


Figura 14. Método de preparación del gel de agarosa al 1% en solución Tris acetato EDTA (TAE).

Una vez extraído el ADN de las muestras se procedió al **Genotipado**. El genotipado de la muestra se llevó a cabo mediante reacción de discriminación alélica en 10 ng de DNA por real time PCR con sondas Taqman. Se utilizaron sondas TaqMan marcadas con los fluoróforos FAM o VIC en el extremo 5' para identificar los polimorfismos indicados en el apartado 3.5.2. Como polimerasa se utilizó **TaqMan Genotyping Master Mix** (Applied biosystems).

En primer lugar se preparó el **mix de reacción para la PCR**, para ello se calculó el volumen necesario de mix de reacción por pocillo. Las reacciones de genotipado se llevaron a cabo en una placa de 384 pocillos, donde se transfirieron 2,75 µl de mix de reacción por pocillo.

Los mix de reacción en cada pocillo se componían de la siguiente mezcla (tabla 25):

Tabla 25. Composición del mix de reacción para PCR

Componente	Volumen (µl/reacción)
TaqMan Genotyping Master Mix	2,5
SNP Genotyping Assay Mix (20X)	0,25
Total	2,75

Posteriormente en cada pocillo se pipetearon 2,25 µl de la **muestra de DNA genómico o el control**. El volumen final por pocillo fue de 5 µl (mix de reacción+muestra DNA).

La reacción de discriminación alélica se llevó a cabo en un **analizador 7900 HT real time PCR system** de Applied biosistem. Las condiciones de temperaturas y ciclos de reacción para la amplificación de DNA y discriminación alélica fueron las descritas en la tabla 26.

Tabla 26. Condiciones de temperatura y ciclos de reacción para llevar a cabo la reacción de discriminación alélica en el analizador *7900 HT RT PCR system*

Paso	Temperatura	Duración	Ciclos
Activación de la DNA polimerasa (AmpliTaq Gold)	95°C	10 minutos	Inicial
Desnaturalización	92°C	15 segundos	40
Emparejamiento/Extensión	60°C	1 minuto	

Una vez acabada la reacción de PCR se analizaron los resultados en el plotter del software del analizador 7900 HT, en la figura 15 se muestra la imagen resultante en función del genotipo del paciente.

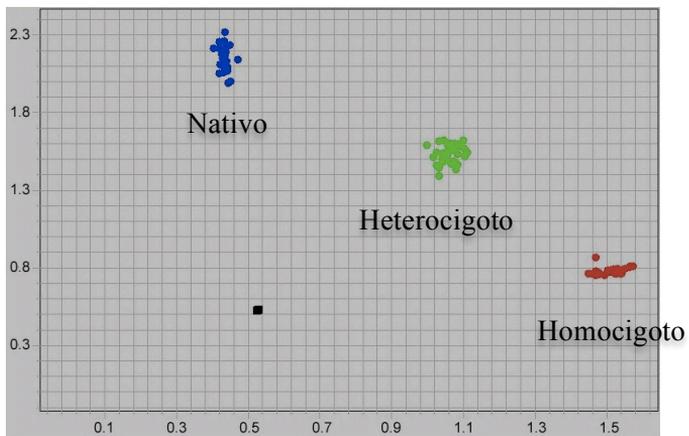


Figura 15. Resultados del genotipo de la muestra en el plotter de software del analizador 7900 HT.

3.5.4. Aplicabilidad en la práctica clínica.

En la práctica clínica habitual no existe un estándar de práctica que permita individualizar la dosis de tacrolimo en base a los resultados del análisis farmacogenético.

Tal como se detalla en el apartado 2.3.3 de antecedentes existen varios estudios publicados al respecto, en los cuales tras individualizar la dosis inicial de tacrolimo en función del genotipo CYP3A5*3 de los pacientes que han recibido un trasplante renal se observa que alcanzan más rápidamente las concentraciones sanguíneas objetivo. El objetivo del presente trabajo es implementar la individualización posológica de tacrolimo en base al genotipo del paciente dentro del estándar de práctica clínica.

3.6. INDICADORES DE CALIDAD ASISTENCIAL Y SEGURIDAD EN EL PACIENTE

Para evaluar la posible relación entre el genotipo y la evolución del paciente trasplantado a todos los niveles, se han definido una serie de indicadores relacionados con la respuesta farmacocinética del paciente a tacrolimo, la respuesta clínica, el proceso asistencial y el coste del paciente.

3.6.1. Indicadores farmacocinéticos.

El seguimiento farmacocinético del paciente durante las 6 primeras semanas postrasplante implica la realización de una serie de monitorizaciones sanguíneas de tacrolimo con la frecuencia establecida en el apartado 3.2.3 con el objetivo de optimizar la dosis diaria de tacrolimo necesaria para alcanzar la concentración sanguínea óptima entre 10-15 ng/ml. Tal como se ha establecido en el apartado 3.4.3 si el resultado de concentración obtenido en la determinación se encuentra

dentro del ámbito terapéutico establecido se recomienda mantener la dosis total diaria de tacrolimo y si el resultado de concentración se encuentra por debajo o por encima de ámbito terapéutico se recomienda aumentar o reducir, respectivamente, la dosis total diaria de tacrolimo.

Según lo descrito en el apartado 2.3.2 de antecedentes la concentración sanguínea de tacrolimo por debajo o por encima de ámbito terapéutico puede repercutir en la eficacia o toxicidad del tratamiento con tacrolimo y consecuentemente en la respuesta del paciente trasplantado. Por ello en la tabla 27 se definen los indicadores farmacocinéticos (IF) de seguridad y efectividad seleccionados que pueden repercutir indirectamente en la respuesta del paciente.

Tabla 27. Indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad por paciente.

Indicadores farmacocinéticos de seguridad	Fórmula de cálculo
IFs1. Porcentaje de determinaciones supratrapéuticas de TAC (>15 ng/mL).	$\frac{\text{n}^\circ \text{ determinaciones} > 15 \text{ ng/ml}}{\text{n}^\circ \text{ determinaciones}} \times 100$
IFs2. Porcentaje de reducciones de dosis.	$\frac{\text{n}^\circ \text{ reducciones dosis}}{\text{n}^\circ \text{ determinaciones}} \times 100$
Indicadores farmacocinéticos de efectividad	Fórmula de cálculo
IFe1. Porcentaje de determinaciones infraterapéuticas de TAC (<10 ng/mL).	$\frac{\text{n}^\circ \text{ determinaciones} < 10 \text{ ng/ml}}{\text{n}^\circ \text{ determinaciones}} \times 100$
IFe2. Porcentaje de incrementos de dosis.	$\frac{\text{n}^\circ \text{ incrementos dosis}}{\text{n}^\circ \text{ determinaciones}} \times 100$
IFe3. Días en alcanzar el IT (10-15 ng/ml) desde el inicio del tratamiento con TAC.	
IFe4. Porcentaje de pacientes con IT 10-15 ng/mL a los 5 días del inicio de tratamiento con TAC.	$\frac{\text{n}^\circ \text{ pacientes con IT } \acute{\text{o}}\text{ptimo}}{\text{n}^\circ \text{ pacientes}} \times 100$

3.6.2. Indicadores clínicos.

Tras el trasplante renal, la evolución clínica del injerto se valora a partir de la función renal del paciente trasplantado. Así, el seguimiento de la función renal del paciente a partir del cálculo del aclaramiento de creatinina se convierte en uno de los indicadores más útiles a corto, medio y largo plazo para evaluar la respuesta del órgano trasplantado.

En la tabla 28 se definen los indicadores clínicos (IC), útiles como indicadores de la evolución del injerto renal, tanto a corto plazo (aparición de necrosis tubular aguda) como a medio-largo (evolución del aclaramiento de creatinina). El aclaramiento de creatinina se ha calculado a partir del valor de creatinina sérica, aplicando la fórmula de Cockcroft – Gault¹⁴³. Se ha establecido el aclaramiento de creatinina superior o igual a 60ml/ml como el aclaramiento objetivo, correspondiendo al segundo grado de insuficiencia renal crónica dentro de la clasificación de la K/DOQI¹⁴⁴.

Tabla 28. Indicadores clínicos por paciente.

Indicadores	Fórmula de cálculo
IC1. Porcentaje de pacientes que presentan función retardada del injerto durante el post-operatorio inmediato.	$\frac{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes con NTA}}{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes}} \times 100$
IC2. Días en alcanzar el Clcr>60ml/min desde el trasplante renal.	
IC3. Porcentaje de pacientes que alcanzan un Clcr≥60ml/min al mes postrasplante.	$\frac{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes con Clcr} \geq 60\text{ml/min}}{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes}} \times 100$
IC4. Porcentaje de pacientes que alcanzan un Clcr≥60ml/min a los 3 meses postrasplante.	$\frac{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes con Clcr} \geq 60\text{ml/min}}{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes}} \times 100$
IC5. Porcentaje de pacientes que alcanzan un Clcr≥60ml/min a los 6 meses postrasplante.	$\frac{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes con Clcr} \geq 60\text{ml/min}}{\text{n}^{\circ} \text{ pacientes}} \times 100$

3.6.3. Indicadores de proceso asistencial.

Tras el trasplante renal el paciente requiere la realización de un seguimiento que incluye la monitorización clínica y la realización de exploraciones analíticas, en el postrasplante inmediato se realiza durante la estancia hospitalaria y a medio-largo plazo se realiza en la consulta de trasplante renal. La periodicidad de las consultas médicas y sus exploraciones asociadas se ha definido en el apartado 3.2.3 y depende del tiempo postrasplante. En la tabla 29 se definen los indicadores de calidad del proceso asistencial (IP), su cálculo permite identificar los pacientes que requieren más o menos demanda asistencial que el estándar de práctica, tanto a corto plazo como a medio plazo.

Tabla 29. Indicadores de calidad del proceso asistencial por paciente.

Indicadores
IP1. Días de estancia hospitalaria tras el trasplante renal.
IP2. Número de monitorizaciones farmacocinéticas realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante.
IP3. Número de consultas de seguimiento en la consulta de trasplante renal realizadas durante el primer año postrasplante.

3.6.4. Indicadores económicos.

Los indicadores económicos (IE) están estrechamente relacionados con los indicadores de calidad del proceso asistencial y representan el coste derivado del seguimiento del paciente trasplantado. Para su cálculo se ha considerado que el coste por un día de estancia en el postrasplante inmediato es de 346 euros, el coste por monitorización farmacocinética es de 56,59 euros y el coste por consulta médica es de 39,3 euros. En la tabla 30 se definen los indicadores económicos utilizados:

Tabla 30: Indicadores económicos por paciente.

Indicadores	Fórmula de cálculo
IE1. Costes derivados de la hospitalización por paciente.	$IP1 \times \text{Coste por día de estancia}$
IE2. Costes derivados de la monitorización farmacocinética.	$IP2 \times \text{Coste por monitorización Fc}$
IE3. Costes derivados del seguimiento del paciente trasplantado en la consulta de tx.	$IP3 \times \text{Coste por Consulta de TX}$

3.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis estadístico se ha utilizado el aplicativo informático SPSS v19.

3.7.1. Descripción de las pruebas estadísticas utilizadas.

Pruebas de normalidad

Un requisito previo a la utilización de pruebas estadísticas paramétricas es la verificación de que las variables cuantitativas siguen una distribución normal.

Para verificar la normalidad de las variables se ha utilizado la prueba de **Kolmogorow-Smirnov** que se basa en comparar la distribución acumulada de los valores de la muestra con la distribución acumulada que se obtendría en el supuesto que siguiera exactamente una ley Normal de media μ y varianza σ^2 .

Se ha asumido que la variable cuantitativa sigue una distribución normal cuando el resultado de la prueba Kolmogorow-Smirnov ha sido $p > 0,05$.

Pruebas de homogeneidad de varianzas

Antes de aplicar las pruebas paramétricas de comparación entre medias (“t” de Student, ANOVA), es necesario comprobar la homogeneidad de las varianzas.

El supuesto de igualdad de varianzas se ha verificado con la **prueba de Levene**. Se ha asumido que las varianzas son homogéneas cuando el resultado de prueba de Levene ha sido $p > 0,05$.

Pruebas de comparación entre medias

Para comparar dos medias que proceden de variables independientes que siguen la ley normal, se ha aplicado la **prueba “t” de Student**, fijando un nivel de confianza del 95%.

El estadístico de contraste es¹⁴⁵:

$$t_0 = \frac{y_1 - y_0}{SE}$$

Ecuación 4

donde:

y_1 = Media en el grupo 1

y_0 = Media en el grupo 0

SE = Desviación estándar

Esta prueba se ha utilizado de forma bilateral para discernir si las medias comparadas son iguales o distintas, sin que importe distinguir si una de las medias es mayor que la otra o viceversa.

Se ha asumido que las diferencias entre medias son estadísticamente significativas cuando el resultado de la prueba ha sido $p \leq 0,05$.

Para comparar más de dos medias que proceden de variables independientes que siguen la ley normal y cumplen el supuesto de homogeneidad de varianzas, se ha aplicado la prueba **Análisis de la Varianza (ANOVA)**, fijando un nivel de confianza del 95%.

Se ha asumido que las diferencias entre medias son estadísticamente

significativas cuando el resultado de la prueba ha sido $p \leq 0,05$.

Pruebas no paramétricas

Las pruebas no paramétricas se utilizan cuando las variables cuantitativas vulneran el supuesto de normalidad. Para comparar dos grupos independientes se ha aplicado la **prueba U de Mann-Whitney**, fijando un nivel de confianza del 95%. Se ha asumido que las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativas cuando el resultado de prueba ha sido $p \leq 0,05$.

Para comparar mas de dos grupos independientes, cuando las variables cuantitativas vulneran el supuesto de normalidad y/o homogeneidad de varianzas se ha aplicado la **prueba de Kruskal-Wallis**, fijando un nivel de confianza del 95%. Se ha asumido que las diferencias entre los grupos son estadísticamente significativos cuando el resultado de prueba ha sido $p \leq 0,05$.

Pruebas de comparación entre proporciones

Para comparar dos o más proporciones en grupos independientes se ha aplicado la prueba **χ^2 de Pearson**, fijando un nivel de confianza del 95%. Se ha asumido que todas las frecuencias esperadas son superiores a 5.

El índice χ^2 , es una prueba de homogeneidad e independencia y mide la discrepancia entre dos proporciones, observadas en grupos independientes. Este estadístico de contraste es¹⁴⁶:

$$\chi^2 = \sum_{j=1}^c \sum_{i=1}^r \frac{(o_{ij} - e_{ij})^2}{e_{ij}}$$

Ecuación 5

Donde:

o_{ij} = proporción observada

e_{ij} = proporción esperada

Cuando la distribución observada y la esperada son idénticas ($o_{ij}=e_{ij}$), el índice χ^2 vale 0, y este valor va aumentando a medida que las diferencias entre las proporciones se hacen más grandes.

Se ha asumido que las diferencias entre proporciones son estadísticamente significativas cuando el resultado de prueba ha sido $p \leq 0,05$.

Medida de asociación: Riesgo relativo

El valor χ^2 no es una medida de la intensidad de la relación entre dos variables categóricas porque aumenta con el número total de casos.

Por tanto se ha utilizado la razón de proporción Riesgo relativo como medida de intensidad de relación entre una exposición y una respuesta binaria.

En el caso de variables exposición de dos categorías se ha calculado el RR e IC95% a partir de la macro **!COR** del aplicativo informático SPSS. Se ha asumido que la relación entre la exposición y la respuesta es estadísticamente significativa cuando el IC95% del RR no ha incluido el 1.

3.7.2. Aplicación de las pruebas estadísticas al estudio.

En primer lugar se realizó un *análisis descriptivo* de la población estudiada presentado la frecuencia en el caso de variables categóricas, la media y desviación estándar en el caso de variables cuantitativas que siguen una distribución normal y la mediana, máximo y mínimo en el caso de variables cuantitativas que no siguen una distribución normal.

En segundo lugar se realizó un *análisis descriptivo de las variables poblacionales agrupadas en subgrupos* en función del genotipo (nativo,

heterocigoto u homocigoto). Para comprobar la homogeneidad de los subgrupos se utilizó la prueba χ^2 de Pearson, en variables categóricas y la t de student, U de Mann-Whitney, ANOVA o Kruskal Wallis en variables cuantitativas. Se consideró diferencia estadística cuando el valor de $P \leq 0,05$.

En tercer lugar se compararon las *variables farmacocinéticas* en los distintos subgrupos en función del genotipo (nativo, heterocigoto u homocigoto), para ello se aplicó la prueba t de student, U de Mann-Whitney, ANOVA o Kruskal Wallis. Se consideró diferencia estadística cuando el valor de $P \leq 0,05$.

Para comparar las *variables clínicas* en los distintos subgrupos se aplicó la prueba χ^2 de Pearson y se calculó el **RR e IC95%** de padecer “el evento” en varias situaciones: en el grupo con genotipo homocigoto respecto al grupo con genotipo heterocigoto, en el grupo con genotipo homocigoto respecto al grupo con genotipo nativo y en el grupo con genotipo heterocigoto respecto al grupo con genotipo nativo, considerándose estadísticamente significativo cuando el IC95% del RR no incluyó el 1.

Por último se compararon los indicadores de calidad en los distintos subgrupos en función del genotipo (nativo, heterocigoto u homocigoto), para ello se aplicó la prueba t de student, U de Mann-Whitney, ANOVA o Kruskal Wallis. Se consideró diferencia estadística cuando el valor de $P \leq 0,05$.

Para **validar el protocolo de ajuste de dosis**, en primer lugar se realizó un análisis comparativo de las variables poblacionales entre ambos subgrupos (grupo control y grupo de estudio) para identificar posibles variables de confusión, así, para comparar las variables categóricas se aplicó la prueba χ^2 de Pearson y para comparar las variables cuantitativas la t de student o U de Mann-Whitney. Se consideró diferencia estadística cuando el valor de $P \leq 0,05$.

Posteriormente, se realizó un análisis comparativo de las variables farmacocinéticas entre los pacientes del grupo control y los pacientes del grupo de estudio mediante la aplicación de la prueba t de Student o la U de Mann-Whitney. Se consideró diferencia estadística cuando el valor de $P \leq 0,05$.

Para comparar las variables clínicas, se aplicó la prueba χ^2 de Pearson y se calculó el **RR e IC95%** de padecer “el evento” en el grupo control respecto al grupo de estudio, considerándose estadísticamente significativo cuando el IC 95% del RR no incluía al 1.

Por último se compararon los indicadores de calidad entre los pacientes del grupo control y los pacientes del grupo de estudio, para ello se aplicó la prueba t de student o U de Mann-Whitney. Se consideró diferencia estadística cuando el valor de $P \leq 0,05$.

CAPÍTULO 4: RESULTADOS

4. 1. PACIENTES Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR

4.1.1. Pacientes y tratamiento inmunosupresor.

La población de pacientes incluidos en el **estudio retrospectivo** ha sido de **50**, tamaño previsto al inicio del estudio. Todos los pacientes del estudio retrospectivo cumplían los criterios de inclusión para participar definidos previamente en la tabla 16 y todos firmaron el consentimiento informado. No se produjo ninguna pérdida ni exclusión de pacientes en el transcurso del estudio.

El estudio retrospectivo fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del hospital Universitario Dr. Peset en Enero de 2010.

Todos los pacientes incluidos en el estudio iniciaron **tratamiento inmunosupresor** con tacrolimo (Prograf®), micofenolato de mofetil (Cellcept®) y prednisona. A su vez el 94% de los pacientes (n=47) recibieron terapia de inducción en el momento del trasplante con basiliximab o timoglobulina. En la tabla 31 se describe la dosis media diaria de tacrolimo, micofenolato de mofetil y corticoides que recibieron los pacientes en el periodo de estudio, así como la distribución de pacientes según el tipo de terapia de inducción recibida. Se ha calculado la media, desviación estándar, máximo y mínimo de las dosis de inmunosupresores ya que tras aplicar la prueba de Kolmogorov-Smirnov se constató que seguían una distribución normal.

Tabla 31. Tratamiento inmunosupresor recibido durante el periodo de estudio.

Variable	N=50 pacientes Media±DE (mínimo-máximo)
Dosis de tacrolimo (mg/día)	11,6±4,1 (4,8-20,4)
Dosis de Micofenolato de Mofetilo (mg/día)	1.518±250,9 (500-2.000)
Dosis de prednisona (mg/día)	15,7±2,6 (0-20)
Variable	N=50 pacientes % (n)
Terapia de Inducción	
Sin inducción	6% (3)
Inducción con Basiliximab	34% (17)
Inducción con Timoglobulina	60% (30)

N= total de pacientes en la población de estudio, DE: desviación estándar;
%:frecuencia; n: número de pacientes.

4.1.2. Potencia del estudio retrospectivo.

Se ha calculado la potencia del estudio para un riesgo alfa del 5% aplicando la ecuación 1 descrita en el apartado 3.1.2 de material y métodos. Para su cálculo se ha utilizado el resultado de la variable de interrelación farmacogenética-farmacocinética “relación Cs/dosis/peso” en función del genotipo CYP3A5*3, así según se observa en la tabla 32, considerando que 41 pacientes (82%) han presentado genotipo CYP3A5*3 homocigoto y 9 pacientes (18%) genotipo CYP3A5*3 heterocigoto, que la diferencia en la relación Cs/dosis/peso entre los pacientes heterocigotos y homocigotos es de 59,5 ng/ml por mg/kg y la varianza conjunta de 40, en el estudio retrospectivo se ha alcanzado una **potencia del 94%**, este resultado nos indica que el estudio presenta la potencia adecuada.

Tabla 32. Datos utilizados para calcular la potencia del estudio retrospectivo.

Variable	Genotipo CYP3A5*3	
	Heterocigoto	Homocigoto
Número de pacientes	9	41
Relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo	105,2	45,7
Diferencia de la relación Cs/dosis/peso media	59,5 (105,2-45,7)	
Varianza conjunta	40	

4.2. VARIABLES ESTUDIADAS

A continuación se presentan las variables estudiadas divididas en 3 grupos: *variables basales*, *variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-farmacocinética* y *variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica*.

4.2.1. Variables basales.

Las variables basales se diferencian en dos grandes grupos: variables demográficas y biométricas de la población estudiada, y variables relacionadas con el riesgo inmunológico del paciente trasplantado.

En la tabla 33 se representan las **características demográficas y biométricas** de la población estudiada, las variables continuas se expresan en forma de media, desviación estándar, máximo y mínimo, ya que la prueba de Kolmogorov-Smirnov constató que seguían una distribución normal, y las variables categóricas se expresan en forma de frecuencias (%).

Tabla 33. Características demográficas y biométricas de la población de estudio.

Variable	N=50 pacientes Media±DE (mínimo-máximo)
Edad (años)	55±11,2 (29-72)
Peso (kg)	72±13,5 (42-117)
Hematocrito (%)	34,2±6,4 (21,7-48,3)
Hemoglobina (g/dl)	11,4±2,1 (6,9-15,5)
Variable	N=50 pacientes % (n)
Sexo (% Mujeres)	34% (17)
Etnia	
Caucásicos	92% (46)
Este-europeos	4% (2)
Africanos	4% (2)

DE: desviación estándar; %: frecuencia; n: número de pacientes.

Dentro de los **variables relacionadas con el riesgo inmunológico del paciente trasplantado** se encuentran el número de retrasplantes, la necrosis tubular aguda, el número de incompatibilidades HLA, el tiempo de isquemia fría y las características del donante.

De los 50 pacientes incluidos en el estudio, el 12% (n=6) recibieron un segundo trasplante y el 34% (n=17) presentaron **necrosis tubular aguda**, es decir un retraso en la función inicial del injerto que requirió varias sesiones de diálisis.

El número medio de **incompatibilidades HLA** entre el injerto y el receptor fue de 3,5 (DE 0,9), observándose un mínimo de 1 incompatibilidad y un máximo de 5. El **tiempo de isquemia fría**, es el tiempo entre la perfusión del órgano en el donante y la perfusión en el receptor, de modo que a mayor tiempo de isquemia fría se relaciona con peor respuesta, en nuestra población de estudio el tiempo medio de isquemia fría fue de 18,3 horas (DE 4,6), con un mínimo en el registro de 9 horas y un máximo de 30 horas.

Respecto a las **características del donante**, la edad, el sexo y la causa de la muerte pueden determinar la calidad del órgano trasplantado, tal como se indica en el apartado 2.1.2 de antecedentes. Así, en nuestro estudio la edad media de los donantes fue de 47,5 años (DE 5,9), siendo la edad mínima de 1 año, correspondiendo a donantes pediátricos y la máxima 73 años; El 33% (n= 16) fueron varones y en un 37% de los casos (n=10) la muerte se produjo por accidente cerebrovascular.

4.2.2. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-farmacocinética.

Tal como se desarrolla en el apartado 3.3.2 de material y métodos se ha establecido la variable farmacocinética *relación entre la Cs de tacrolimo y la dosis normalizada por el peso del paciente (Cs/dosis/peso)* como medida de la exposición a tacrolimo.

El cálculo de la *relación Cs/dosis/peso* se realiza a partir del valor de concentración sanguínea mínima de tacrolimo dividido por la dosis diaria y el peso del paciente en el momento de la determinación.

Para dicha variable se ha estudiado su *relación farmacogenética-farmacocinética*, es decir el resultado de la relación Cs/dosis/peso se ha analizado para cada polimorfismo descrito en el apartado 3.5.2 de material y métodos, con el objetivo de identificar alguna relación entre los resultados farmacocinéticos y el genotipo del paciente.

Además se ha estudiado la relación Cs/dosis/peso para los haplotipos más significativos, que presentan una frecuencia de aparición superior al 2,5% en la población de estudio.

A continuación se describe gráficamente la relación entre el valor de dicha variable y el genotipo de los pacientes, para ello se representa la relación Cs/dosis/peso de los pacientes para cada polimorfismo agrupándolos en subgrupos en función del genotipo que presenten (nativo, heterocigoto u homocigoto).

En primer lugar se representa la relación con los polimorfismos que pueden alterar la biodisponibilidad de tacrolimo (polimorfismos en los genes MDR1 y en los genes que codifican enzimas metabólicas fase I), posteriormente los polimorfismos que pueden alterar exclusivamente el metabolismo hepático (polimorfismos en las enzimas metabólicas fase II) y por último los polimorfismos en los factores de transcripción.

- Respecto a los *polimorfismos a nivel del gen MDR1 que codifica la proteína transportadora glicoproteína P*, descritos previamente en el apartado 3.5.2 de material y métodos:

Se observa que los pacientes homocigotos para el genotipo **MDR1 3435** presentan una relación Cs/dosis/peso media estadísticamente superior a los pacientes nativos, 104 ng/ml por mg/kg (DE 41,9) vs 90,9 ng/ml por mg/kg (DE 64,9), respectivamente. Al contrario de lo que ocurre con el genotipo MDR1 3435, los pacientes homocigotos para el genotipo **MDR1 2677** presentan una relación Cs/dosis/peso media menor que los pacientes con genotipo nativo: 91,17 ng/ml por mg/kg (DE 53,8) vs 106,1 ng/ml por mg/kg (DE 70,3) (figura 16).

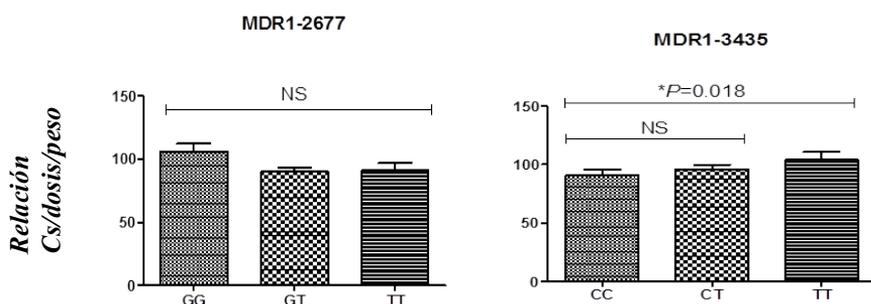


Figura 16. Relación Cs/dosis/peso en función del genotipo (transportadores). En ordenadas se representa la variable media de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: nativo, heterocigoto y homocigoto.

- Respecto a los **Polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase I**, descritos previamente en el apartado 3.5.2 de material y métodos:

Como se observa en la figura 17, los pacientes homocigotos para el polimorfismo **CYP3A5*3** presentan una relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo de 105,2 ng/ml por mg/kg (DE 60,21), superior a los pacientes heterocigotos con una relación media de 45,7 ng/ml por mg/kg (DE 24,27), alcanzándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$). Además se observa que los pacientes heterocigotos para el polimorfismo **CYP3A5*6** también presentan una mayor relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo de 104,3 ng/ml por mg/kg (DE 63,68), respecto a los nativos de 92,69 ng/ml por mg/kg (DE 59,26), no obstante no se llegan a alcanzar diferencias estadísticamente significativas.

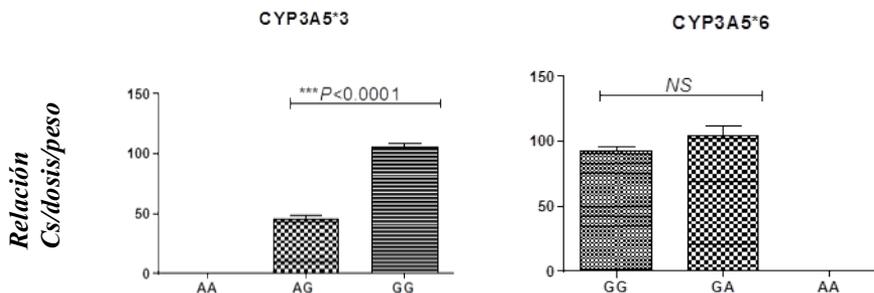


Figura 17. Relación Cs/dosis/peso en función del genotipo de los genes que codifican las enzimas del metabolismo fase I. En ordenadas se representa la variable media de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: nativo, heterocigoto y homocigoto.

- Respecto a los **polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II**, descritos previamente en el apartado 3.5.2 de material y métodos:

Los pacientes con polimorfismos a nivel del promotor **UGT1A9 -275 y -2152** presentan una elevada correlación entre el genotipo y la relación Cs/dosis/peso, así los pacientes homocigotos presentan una relación Cs/dosis/peso media menor que los pacientes heterocigotos y nativos, de 61,28 ng/ml por mg/kg (DE 22,45) respecto a 65,55 ng/ml por mg/kg (DE 38,22) y 102,1 ng/ml por mg/kg (DE 62,81), respectivamente, en el caso del polimorfismo UGT1A9-2152, y de 48,54 ng/ml por mg/kg (DE 12,82) respecto a 90,51 ng/ml por mg/kg (DE 57,22) y 104,5 ng/ml por mg/kg (DE 64,71), respectivamente, en el caso del polimorfismo UGT1A9-275 (figura 18).

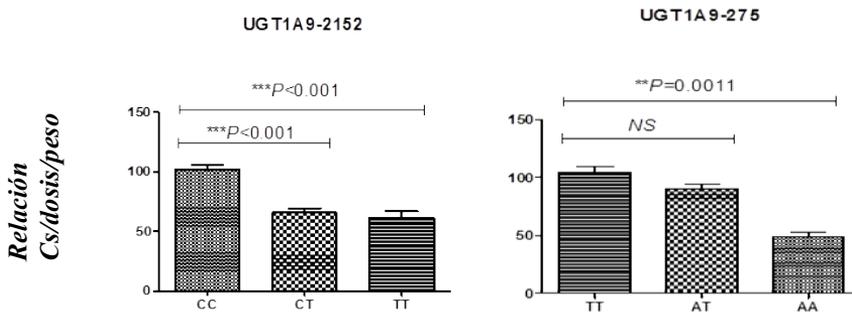


Figura 18. Relación Cs/dosis/peso en función del genotipo de los polimorfismos UGT1A9-2152 y UGT1A9-275 de genes que codifican los enzimas metabólicos fase II. En ordenadas se representa la variable media de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: nativo, heterocigoto y homocigoto.

Los pacientes con genotipo heterocigoto para **UGT1A9*3** presentan una relación Cs/dosis/peso media mayor (124 ng/ml por mg/kg (DE 52,2)) que los pacientes con genotipo nativo (92,4 ng/ml por mg/kg (DE 59,14)) ($p < 0,001$); sin embargo en los pacientes con polimorfismos a nivel de **UGT1A9*4** no se observa relación entre la relación Cs/dosis/peso media y el genotipo del paciente (94,65 ng/ml por mg/kg (DE 60)) vs (92,93 ng/ml por mg/kg (DE 59)) (figura 19).

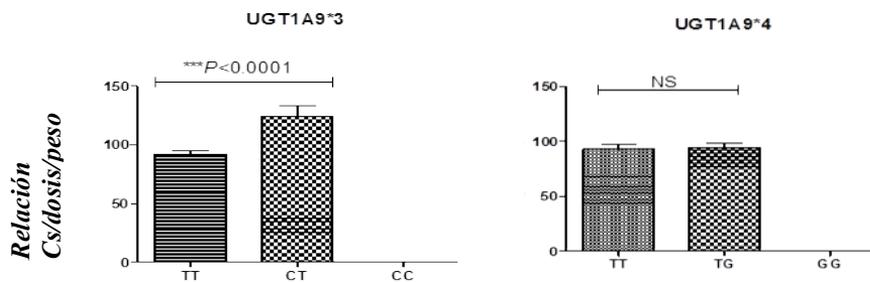


Figura 19. Relación Cs/dosis/peso en función del genotipo los polimorfismos UGT1A9*3 y UGT1A9*4 de genes que codifican los enzimas metabólicos fase II. En ordenadas se representa la variable media de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: nativo, heterocigoto y homocigoto.

Se observa una menor relación Cs/dosis/peso media en los pacientes que presentan genotipo homocigoto para los polimorfismos UGT1A8*3 y UGT2B7*2, respecto a los pacientes con genotipo nativo ($p < 0,005$), la relación es de 73,91 ng/ml por mg/kg (DE 33,64) en los pacientes homocigotos respecto a 101 ng/ml por mg/kg (DE 63,49) en los pacientes con genotipo nativo para el polimorfismo UGT1A8*3, y de 80,38 ng/ml por mg/kg (DE 49) en los pacientes homocigotos respecto a 101,8 ng/ml por mg/kg (DE 68,2) en los pacientes con genotipo nativo para UGT2B7*2 (figura 20).

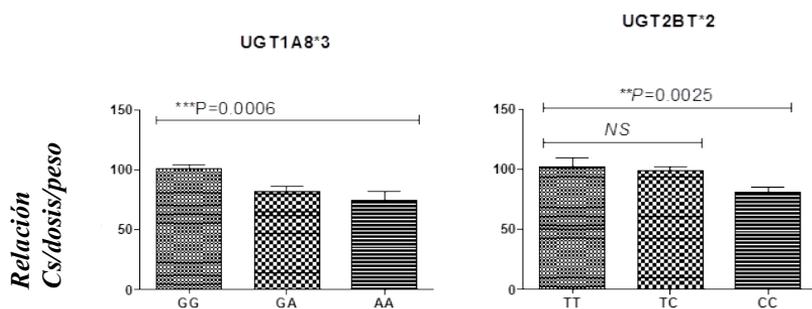


Figura 20. Relación Cs/dosis/peso en función del genotipo del polimorfismo UGT1A8*3 y UGT2B7*2, de los genes que codifican los enzimas metabólicos fase II. En ordenadas se representa la variable media de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: nativo, heterocigoto y homocigoto.

- A nivel de los polimorfismos en el gen **PXR** que codifica para el factor de transcripción PXR, descritos en el apartado 3.5.2 de material y métodos, no existe correlación entre la relación Cs/dosis/peso y en genotipo de los pacientes, tal como se observa en la figura 21 (96,43 ng/ml por mg/kg (DE 44,3)) vs (94,26 ng/ml por mg/kg (DE 63,16)).

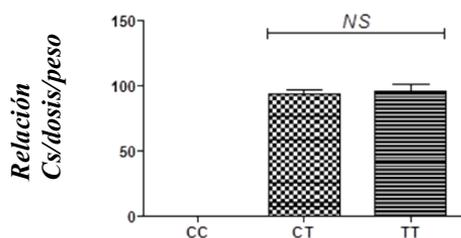


Figura 21. Relación Cs/dosis/peso en función del genotipo (PXR). En ordenadas se representa la variable media de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: nativo, heterocigoto y homocigoto.

- Respecto a los **haplotipos**, se seleccionaron los haplotipos que presentaban una frecuencia de aparición superior al 2,5% en nuestra población de estudio, por una parte se presentan los haplotipos entre los polimorfismos en el gen MDR1 y los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II, y por otra parte los haplotipos entre los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase I y las fase II. Así, en las tablas 34 y 35 se presenta la relación Cs/dosis/peso para los haplotipos identificados. Para evaluar la interrelación farmacogenética-farmacocinética se ha comparado la relación Cs/dosis/peso entre los distintos haplotipos tomando como referencia el haplotipo con mayor frecuencia de aparición.

En la tabla 34 se observa que los pacientes que presentan el haplotipo formado por el alelo nativo para MDR1 3435 y el alelo polimórfico para UGT1A9 -2152 presentan una relación Cs/dosis/peso inferior a los pacientes que presentan el haplotipo formado por el alelo nativo para MDR1 3435 y el alelo nativo para UGT1A9 -2152 (45,74 vs 94,16 ng/ml por mg/kg).

Tabla 34. Frecuencia de aparición y Relación Cs/dosis/peso de los haplotipos entre los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II y MDR1.

H	UGT1A9 (-2152C>T)	MDR1 (3435C>T)	Frecuencia (%)	Relación Cs/dosis/peso (ng/ml)/(mg/kg)		
				M	SD	p
H1	C	C	53	94,16	61,28	
H2	C	T	38	94,39	57,24	ns
H3	T	C	9	45,74	24,27	<0,0001

H: Haplotipo; M: Media; ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

En la tabla 35 se observa que los pacientes que presentan el haplotipo formado por el alelo polimórfico para CYP3A5*3 y UGT2B7*2 y el alelo nativo para UGT1A9*3 y UGT1A8*3 presentan una relación Cs/dosis/peso superior a los pacientes que presentan el haplotipo formado por el alelo polimórfico para CYP3A5*3, UGT2B7*2 y UGT1A9*3 y el alelo nativo para UGT1A8*3 (124 vs 94,71 ng/ml por mg/kg). Por el contrario, la presencia del alelo nativo CYP3A5*3 en los haplotipos provoca un descenso en la relación Cs/dosis/peso de los pacientes (H6, H9 y H10).

Tabla 35. Frecuencia de aparición y Relación Cs/dosis/peso de los haplotipos entre los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II y fase I.

H	CYP3A5*3 (6986A>G)	UGT1A9* 3 (98T>C)	UGT1A8* 3 (830G>A)	UGT2B7* 2 (802T>C)	%	Relación Cs/dosis/peso (ng/ml)/(mg/kg)		
						M	SD	p
H4	G	T	G	C	38	94,71	60,78	
H5	G	T	G	T	33	97,67	62,49	ns
H6	A	T	G	C	7,4	68,91	43,90	<0,01
H7	G	T	A	T	7	84,56	54,00	ns
H8	G	T	A	C	5	82,29	54,13	ns
H9	A	T	A	T	3,5	61,46	28,84	<0,05
H10	A	T	A	C	3	41,64	11,63	<0,01
H11	G	C	G	C	2,5	124,0	52,20	<0,05

H: Haplotipo; M: Media; ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

4.2.3. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica.

En el apartado 3.3.3 de material y métodos se han definido las variables de interés clínico que permiten relacionar el genotipo del paciente con la eficacia o toxicidad del tratamiento con tacrolimo tras el trasplante renal.

Rechazo Agudo

Tal como se describe en el apartado 2.1.3 de antecedentes el rechazo agudo es una de las complicaciones médicas más relevantes en el paciente trasplantado ya que puede condicionar la supervivencia del injerto a corto y largo plazo. Del total de pacientes en seguimiento presentaron **rechazo agudo**, durante el primer año postrasplante, el 12% de los pacientes (n=6). En la tabla 36 se describe el riesgo relativo (RR) de aparición de rechazo agudo que tiene un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo heterocigoto ($RR_{ho/he}$), un paciente con genotipo heterocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{he/n}$) y un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{ho/n}$), en función del polimorfismo. En los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9*3 y heterocigoto para UGT1A9-275 y UGT1A9*4 se observó una tendencia a presentar menor riesgo de rechazo agudo que en los pacientes heterocigotos y nativos, respectivamente, ya que el RR fue inferior a 1. No obstante, en esta subpoblación de pacientes no se observó una relación estadísticamente significativa entre el genotipo de los pacientes y la presencia de rechazo agudo para ningún polimorfismo, ya que en todos los casos el IC95% del RR incluía el 1.

Tabla 36. Riesgo de presentar rechazo agudo en función del genotipo

Polimorfismo	Nativo (n/Total)	Hetero (n/Total)	Homo (n/Total)	RR (IC95%)
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	2/17	4/29	0/4	RR _{he/n} : 1,17 (0,2-5,7)
MDR1 (2677)	1/14	5/32	0/4	RR _{he/n} : 2,2 (0,3-17)
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	1/9	5/41	RR _{ho/he} : 1,1 (0,14-8,29)
CYP3A5*6	4/43	2/7	-	RR _{he/n} : 3,07 (0,7-13,7)
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	5/38	1/10	0/2	RR _{he/n} : 0,76 (0,1-5,8)
UGT1A9-275	1/9	4/32	1/9	RR _{ho/he} : 0,89 (0,1-7) RR _{he/n} : 1,13 (0,14-8,6) RR _{ho/n} : 1
UGT1A9*3	-	1/3	5/47	RR _{ho/he} : 0,3 (0,05-1,9)
UGT1A9*4	4/23	2/27	-	RR _{he/n} : 0,43 (0,09-2,1)
UGT1A8*3	3/33	3/15	0/2	RR _{he/n} : 2,2 (0,5-9,7)
UGT2B7*2	1/7	5/30	0/13	RR _{he/n} : 1,2 (0,16-1,5)
Factores de transcripción				
PXR	-	5/43	1/7	RR _{ho/he} : 1,05 (0,14-7,8)

n= número de pacientes con rechazo agudo, RR: riesgo relativo, IC95%: intervalo de confianza del 95% del riesgo relativo

Nefrotoxicidad

El 44% de los pacientes presentaron *nefrotoxicidad* (n=22), de los cuales en el 8% (n=4) se confirmó mediante biopsia renal y en el 36% (n=18) fue sospecha por presentar un incremento en la Cr sérica asociada a niveles elevados de tacrolimo. En la tabla 37 se describe el riesgo relativo (RR) de aparición de nefrotoxicidad que tiene un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo heterocigoto (RR_{ho/he}), un paciente con genotipo heterocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo (RR_{he/n}) y un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo (RR_{ho/n}), en función del polimorfismo. En los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3, MDR1, 3435, MDR1 2677, UGT1A9-2152, UGT1A9*3, UGT1A8*3, UGT2B7*2 y PXR y en los pacientes con genotipo heterocigoto

CYP3A5*6, UGT2B7*2 y UGT1A8*3 se observó una tendencia a presentar mayor riesgo de nefrotoxicidad ya que el RR fue superior a 1, no obstante tan solo en pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9-2152 y UGT1A8*3 se constató una relación estadísticamente significativa con el riesgo de nefrotoxicidad ya que el IC95% del RR no incluía el 1.

Tabla 37. Riesgo de presentar nefrotoxicidad en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo (n/Total)	Hetero (n/Total)	Homo (n/Total)	RR (IC95%)
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	10/17	10/27	2/4	RR _{ho/he} : 1,35 (0,4-4) RR _{he/n} : 0,63 (0,3-1,2) RR _{ho/n} : 0,85 (0,29-2,44)
MDR1 (2677)	7/13	12/31	3/4	RR _{ho/he} : 1,9 (0,9-3,9) RR _{he/n} : 0,72 (0,4-1,4) RR _{ho/n} : 1,39 (0,65-2,97)
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	3/8	19/40	RR _{ho/he} : 1,3 (0,49-3,3)
CYP3A5*6	18/42	4/6	-	RR _{he/n} : 1,55 (0,8-3)
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	17/37	3/9	2/2	RR _{ho/he} : 3 (1,2-7,6) RR _{he/n} : 0,73 (0,3-1,9) RR _{ho/n} : 2,17 (1,53-3,1)
UGT1A9-275	5/9	15/30	2/9	RR _{ho/he} : 0,44 (0,1-1,6) RR _{he/n} : 0,9 (0,4-1,8) RR _{ho/n} : 0,4 (0,1-1,55)
UGT1A9*3	-	1/2	21/24	RR _{ho/he} : 1,75 (0,43-7,1)
UGT1A9*4	11/21	11/27	-	RR _{he/n} : 0,78 (0,42-1,43)
UGT1A8*3	11/32	9/14	2/2	RR _{ho/he} : 1,5 (1,1-2,3) RR _{he/n} : 1,9 (1-3,5) RR _{ho/n} : 2,9 (1,8-4,69)
UGT2B7*2	1/7	15/28	6/13	RR _{ho/he} : 0,9 (0,4-1,7) RR _{he/n} : 3,7 (0,6-23,8) RR _{ho/n} : 3,2 (0,48-21,76)
Factores de transcripción				
PXR	-	18/41	4/7	RR _{ho/he} : 1,3 (0,63-2,69)

n= número de pacientes con nefrotoxicidad. RR: riesgo relativo, IC95%: intervalo de confianza del 95% del riesgo relativo

Neurotoxicidad

Presentaron *neurotoxicidad* el 66% de los pacientes (n=33).

Tabla 38. Riesgo de presentar neurotoxicidad en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo (n/Total)	Hetero (n/Total)	Homo (n/Total)	RR (IC95%)
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	11/17	19/28	3/4	RR _{ho/he} : 1,1 (0,6-2) RR _{he/n} : 1 (0,7-1,6) RR _{ho/n} : 1,16 (0,59-2,26)
MDR1 (2677)	10/13	21/32	2/4	RR _{ho/he} : 0,8 (0,3-2) RR _{he/n} : 0,9 (0,6-1,3) RR _{ho/n} : 0,65 (0,23-1,8)
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	4/8	29/41	RR _{ho/he} : 1,4 (0,69-2,9)
CYP3A5*6	30/42	3/7	-	RR _{he/n} : 0,6 (0,25-1,44)
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	27/38	5/9	1/2	RR _{ho/he} : 0,9 (0,2-4) RR _{he/n} : 0,8 (0,4-1,5) RR _{ho/n} : 0,7 (0,17-2,86)
UGT1A9-275	6/9	20/31	7/9	RR _{ho/he} : 1,2 (0,8-1,9) RR _{he/n} : 0,9 (0,6-1,6) RR _{ho/n} : 1,17 (0,65-2,08)
UGT1A9*3	-	3/3	30/46	RR _{ho/he} : 0,65 (0,53-0,8)
UGT1A9*4	15/22	18/27	-	RR _{he/n} : 0,98 (0,66-1,45)
UGT1A8*3	22/32	9/15	2/2	RR _{ho/he} : 1,7 (1,1-2,5) RR _{he/n} : 0,9 (0,5-1,4) RR _{ho/n} : 1,45 (1,15-1,84)
UGT2B7*2	5/7	18/29	10/13	RR _{ho/he} : 1,2 (0,8-1,9) RR _{he/n} : 0,9 (0,5-1,5) RR _{ho/n} : 1,08 (0,62-1,87)
Factores de transcripción				
PXR	-	29/41	4/8	RR _{ho/he} : 0,71 (0,34-1,4)

n= número de pacientes con neurotoxicidad. RR: riesgo relativo, IC95%: intervalo de confianza del 95% del riesgo relativo

En la tabla 38 se describe el riesgo relativo (RR) de aparición de neurotoxicidad que tiene un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo heterocigoto (RR_{ho/he}), un paciente con genotipo heterocigoto respecto

a un paciente con genotipo nativo ($RR_{he/n}$) y un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{ho/n}$), en función del polimorfismo. Así, se observa que los pacientes homocigotos para CYP3A5*3, MDR1 3435, UGT1A9-275, UGT1A8*3 y UGT2B7*2 presentaron una tendencia mayor a presentar neurotoxicidad, ya que el RR fue superior a 1, no obstante tan solo los pacientes homocigotos para el polimorfismo UGT1A8*3 presentaron un riesgo incrementado de presentar neurotoxicidad respecto a los pacientes con genotipo nativo.

Dislipemia

En el momento del trasplante, 29 pacientes (58%) presentaban dislipemia por tanto no se tuvieron en cuenta para el análisis, así presentaron *dislipemia de novo* el 66% de los pacientes (n=14). En la tabla 39 se describe el riesgo relativo (RR) de aparición de dislipemia que tiene un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo heterocigoto ($RR_{ho/he}$), un paciente con genotipo heterocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{he/n}$) y un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{ho/n}$), en función del polimorfismo. Los pacientes con genotipo homocigoto para MDR1 3435, MDR1 2677, UGT1A9-275, UGT2B7*2 y PXR y con genotipo heterocigoto para MDR1 3435, MDR1 2677 y UGT1A9*4 presentaron una tendencia a sufrir mayor riesgo de dislipemia ya que el RR fue superior a 1; no obstante tan solo en los pacientes genotipo homocigoto para PXR estuvo relacionada con un mayor riesgo estadístico de presentar dislipemia de novo.

Tabla 39. Riesgo de presentar dislipemia en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo (n/Total)	Hetero (n/Total)	Homo (n/Total)	RR (IC95%)
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	6/10	7/11	1/1	RR _{ho/he} : 1,6 (1-2,5) RR _{he/n} : 1,1 (0,5-2) RR _{ho/n} : 1,67 (1-2,76)
MDR1 (2677)	2/5	11/16	1/1	RR _{ho/he} : 1,5 (1-2) RR _{he/n} : 1,7 (0,6-5,3) RR _{ho/n} : 2,5 (0,85-7,31)
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	3/5	11/17	RR _{ho/he} : 1,08 (0,49-2,4)
CYP3A5*6	13/19	1/3	-	RR _{he/n} : 0,49 (0,09-2,48)
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	13/19	1/3	0	RR _{he/n} : 0,77 (0,19-3,19)
UGT1A9-275	4/6	9/15	1/1	RR _{ho/he} : 1,7 (1-2,5) RR _{he/n} : 0,9 (0,4-1,8) RR _{ho/n} : 1,5 (0,85-2,64)
UGT1A9*3	-	0/0	14/22	0
UGT1A9*4	5/10	9/12	-	RR _{he/n} : 1,5 (0,74-3,02)
UGT1A8*3	12/17	2/5	0	RR _{he/n} : 0,56 (0,19-1,73)
UGT2B7*2	4/4	5/12	5/6	RR _{ho/he} : 2 (0,9-4,3) RR _{he/n} : 0,4 (0,2-0,8) RR _{ho/n} : 2 (0,94-4,27)
Factores de transcripción				
PXR	-	11/19	3/3	RR _{ho/he} : 1,73 (1,18-2,53)

n= número de pacientes con dislipemia. RR: riesgo relativo, IC95%: intervalo de confianza del 95% del riesgo relativo

Diabetes Mellitus

Del total de pacientes incluidos en el estudio, 5 pacientes eran diabéticos antes del trasplante, por tanto se excluyeron del análisis, del resto presentaron *Diabetes Mellitus de novo* el 18% de los pacientes (n=8). En la tabla 40 se describe el riesgo relativo (RR) de aparición de diabetes mellitus que tiene un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo heterocigoto (RR_{ho/he}), un paciente con genotipo heterocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo (RR_{he/n}) y un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo (RR_{ho/n}), en función del

polimorfismo. Así, se observa que los pacientes con genotipo homocigoto para MDR1 2677 y los pacientes con genotipo heterocigoto para MDR1 3435, MDR1 2677 y UGT1A9-2152 presentaron una tendencia a sufrir mayor riesgo de diabetes mellitus, ya que el RR fue superior a 1, no obstante en ningún caso se observó una relación estadísticamente significativa entre la presencia de polimorfismos en los genes estudiados y la presencia de diabetes mellitus de novo.

Tabla 40. Riesgo de presentar Diabetes Mellitus de novo en función del genotipo.

GENOTIPO	Nativo (n/Total)	Hetero (n/Total)	Homo (n/Total)	RR (IC95%)
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	3/16	5/24	0/4	RR _{he/n:} 1,11 (0,31-4,01)
MDR1 (2677)	2/12	5/28	1/4	RR _{ho/he:} 1,4 (0,2-9,1) RR _{he/n:} 1,1 (0,2-4,8) RR _{ho/n:} 1,5 (0,18-12,46)
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	4/8	4/36	RR _{ho/he:} 0,22 (0,07-0,71)
CYP3A5*6	0/37	8/7	-	0
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	6/35	2/7	0/2	RR _{he/n:} 1,67 (0,42-6,62)
UGT1A9-275	2/9	5/29	1/6	RR _{ho/he:} 0,9 (0,14-6,9) RR _{he/n:} 0,8 (0,18-3,3) RR _{ho/n:} 0,75 (0,08-6,55)
UGT1A9*3	-	1/2	7/42	RR _{ho/he:} 0,33 (0,07-1,56)
UGT1A9*4	4/22	4/22	-	RR _{he/n:} 1
UGT1A8*3	6/29	2/13	0/2	RR _{he/n:} 0,74 (0,17-3,2)
UGT2B7*2	2/6	5/27	1/11	RR _{ho/he:} 0,5 (0,06-3,7) RR _{he/n:} 0,6 (1,4-2,2) RR _{ho/n:} 0,27 (0,03-2,43)
Factores de transcripción				
PXR	-	8/37	0/7	0

n= número de pacientes con diabetes mellitus de novo. RR: riesgo relativo, IC95%: intervalo de confianza del 95% del riesgo relativo

Hipertensión arterial

Prácticamente el total de los pacientes incluidos en el estudio eran hipertensos en el momento del trasplante renal (n=48). De éstos el 58% de los pacientes (n=29) presentaron una complicación de la *hipertensión arterial* (HTA) previa. En la tabla 41 se describe el riesgo relativo (RR) de complicación de la hipertensión arterial previa que tiene un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo heterocigoto ($RR_{ho/he}$), un paciente con genotipo heterocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{he/n}$) y un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{ho/n}$), en función del polimorfismo. Así, se observa que los pacientes homocigotos para CYP3A5*3, MDR1 3435, MDR1 2677, UGT1A9-2152, UGT1A8*3 y PXR, y los pacientes heterocigotos para CYP3A5*6, MDR1 3435, MDR1 2677, UGT1A9-2152, UGT1A9-275, UGT1A9*4 y UGT1A8*3 presentaron una tendencia a sufrir mayor riesgo de complicación de su HTA previa, ya que el RR fue superior a 1, no obstante tan solo en los pacientes homocigotos para los polimorfismos MDR1 3435, MDR1 2677 y UGT1A8*3 se observó una relación estadísticamente significativa.

Tabla 41. Riesgo de presentar Hipertensión arterial en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo (n/Total)	Hetero (n/Total)	Homo (n/Total)	RR (IC95%)
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	7/17	18/29	4/4	RR _{ho/he} : 1,6 (1,2-2,14) RR _{he/n} : 1,5 (0,8-2,8) RR _{ho/n} : 2,43 (1,38-4,29)
MDR1 (2677)	6/14	19/32	4/4	RR _{ho/he} : 1,7 (1,3-2,2) RR _{he/n} : 1,4 (0,7-2,7) RR _{ho/n} : 2,33 (1,27-4,27)
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	5/9	24/41	RR _{ho/he} : 1,05 (0,56-1,99)
CYP3A5*6	24/43	5/7	-	RR _{he/n} : 1,28 (0,75-2,19)
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	20/38	7/10	2/2	RR _{ho/he} : 1,4 (0,9-2,1) RR _{he/n} : 1,3 (0,8-2,2) RR _{ho/n} : 1,9 (1,4-2,6)
UGT1A9-275	6/9	17/32	6/9	RR _{ho/he} : 1,3 (0,7-2,2) RR _{he/n} : 0,8 (0,5-1,4) RR _{ho/n} : 1 (0,52-1,9)
UGT1A9*3	-	3/3	26/47	RR _{ho/he} : 0,55 (0,43-0,71)
UGT1A9*4	11/23	18/27	-	RR _{he/n} : 1,39 (0,84-2,3)
UGT1A8*3	16/33	11/15	2/2	RR _{ho/he} : 1,4 (1-1,9) RR _{he/n} : 1,5 (0,9-2,4) RR _{ho/n} : 2 (1,45-2,9)
UGT2B7*2	4/7	18/30	7/13	RR _{ho/he} : 0,9 (0,5-1,6) RR _{he/n} : 1 (0,5-2,1) RR _{ho/n} : 0,94 (0,42-2,13)
Factores de transcripción				
PXR	-	24/42	5/8	RR _{ho/he} : 1,09 (0,6-1,99)

n= número de pacientes con HTA. RR: riesgo relativo, IC95%: intervalo de confianza del 95% del riesgo relativo

Infecciones

Presentaron *infección* el 62% de los pacientes (n=31), la distribución por etiología fue la siguiente:

50% bacterianas (n=25)

14% víricas: 2% por virus BK (n=1) y 10% por CMV (n=5)

Tabla 42. Riesgo de presentar infección en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo (n/Total)	Hetero (n/Total)	Homo (n/Total)	RR (IC95%)
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	10/17	19/28	2/4	RR _{ho/he} : 0,74 (0,3-2) RR _{he/n} : 1,15 (0,7-1,9) RR _{ho/n} : 0,85 (0,29-2,45)
MDR1 (2677)	6/13	22/32	3/4	RR _{ho/he} : 1,1 (0,6-2) RR _{he/n} : 1,5 (0,8-2,8) RR _{ho/n} : 1,63 (0,72-3,67)
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	6/8	25/41	RR _{ho/he} : 0,81 (0,51-1,29)
CYP3A5*6	26/42	5/7	-	RR _{he/n} : 1,15 (0,68-1,95)
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	25/38	5/9	1/2	RR _{ho/he} : 0,9 (0,2-4) RR _{he/n} : 0,8 (0,5-1,6) RR _{ho/n} : 0,76 (0,18-3,1)
UGT1A9-275	9/9	18/31	4/9	RR _{ho/he} : 0,8 (0,3-1,7) RR _{he/n} : 0,6 (0,4-0,8) RR _{ho/n} : 0,44 (0,21-0,93)
UGT1A9*3	-	2/3	29/46	RR _{ho/he} : 0,95 (0,41-2,17)
UGT1A9*4	13/22	18/27	-	RR _{he/n} : 1 (0,63-1,6)
UGT1A8*3	20/32	10/15	1/2	RR _{ho/he} : 0,8 (0,2-3,1) RR _{he/n} : 1 (0,7-1,7) RR _{ho/n} : 0,8 (0,19-3,3)
UGT2B7*2	6/7	17/29	8/13	RR _{ho/he} : 1 (0,6-1,8) RR _{he/n} : 0,7 (0,4-1,1) RR _{ho/n} : 0,72 (0,42-1,21)
Factores de transcripción				
PXR	-	25/41	6/8	RR _{ho/he} : 1,23 (0,76-1,97)

n= número de pacientes con infección. RR: riesgo relativo, IC95%: intervalo de confianza del 95% del riesgo relativo

En la tabla 42 se describe el riesgo relativo (RR) de aparición de infección que tiene un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo heterocigoto ($RR_{ho/he}$), un paciente con genotipo heterocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{he/n}$) y un paciente con genotipo homocigoto respecto a un paciente con genotipo nativo ($RR_{ho/n}$), en función del polimorfismo. Así, se observa que los pacientes homocigotos para MDR1 2677, PXR y los pacientes heterocigotos CYP3A5*6, MDR1 3435 y MDR1 2677 presentaron una tendencia mayor a presentar infecciones por presentar un RR superior a 1. No obstante, en ningún caso se observó una relación estadísticamente significativa entre la presencia de polimorfismos en los genes estudiados y el desarrollo de infección.

4.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

La monitorización farmacocinética de tacrolimo forma parte de la práctica asistencial en el paciente trasplantado, para llevar a cabo el estudio se tuvieron en cuenta las determinaciones realizadas a los pacientes dentro de las 6 primeras semanas postrasplante, periodo en el cual se espera alcanzar concentraciones sanguíneas mínimas de tacrolimo más elevadas en torno a 10-15 ng/ml.

El **número total de determinaciones farmacocinéticas** realizadas a los 50 pacientes durante el periodo de estudio ha sido de 558, correspondiendo a una media de 11 determinaciones por paciente, con un mínimo de 7 y un máximo de 16 determinaciones por paciente.

La **concentración media de tacrolimo** alcanzada en el periodo de estudio ha sido de 12,38 ng/ml, con un mínimo de 6,9 ng/ml y un máximo de 18,4 ng/ml.

En todos los pacientes se ha realizado **individualización posológica tradicional** de la dosis total diaria de tacrolimo en función del valor de concentración sanguínea mínima en alguna ocasión, en la siguiente tabla (tabla 43) se

representa el total de determinaciones realizadas a los 50 pacientes incluidos en el estudio y de éstas las que han requerido individualización posológica de tacrolimo por presentar un valor de concentración sanguínea mínima fuera del ámbito terapéutico establecido en el primer periodo postrasplante (10-15 ng/ml).

Tabla 43. Determinaciones farmacocinéticas e individualizaciones posológicas en los 50 pacientes incluidos en el estudio.

	% (n)	Media	DE	Mínimo	Máximo
Determinaciones	100% (558)	11	2,8	7	16
Determinaciones fuera de ámbito	42% (232)	5	2,3	1	10
Por encima de ámbito	20% (112)	3	2,2	0	8
Por debajo de ámbito	22% (120)	2	2,1	0	8
Individualizaciones posológicas	47% (263)	5	1,9	2	10
Reducciones de dosis	33% (182)	4	1,7	0	7
Incrementos de dosis	14% (80)	2	1,6	0	7

% porcentaje respecto al total de eventos; n: total de eventos; Media; numero de determinaciones medio por paciente; DE: desviación estándar

4.4. ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO

El análisis farmacogenético se realizó a todos los pacientes en el momento de su inclusión en el estudio, se realizaron un total de 50 determinaciones farmacogenéticas, correspondiendo a una determinación farmacogenética por paciente, en la que se determinó el genotipo de los 14 polimorfismos incluidos en el apartado 3.5.2 de material y métodos.

En el Anexo 3 se detallan los resultados del análisis farmacogenético de los 50 pacientes incluidos en el estudio.

En la tabla 44 se presenta la frecuencia de distribución de los 14 polimorfismos en el total de la población de estudio. Puede observarse como ningún paciente del estudio presentó polimorfismos CYP3A5*8, CYP3A5*9 y UGT1A9*5.

Tabla 44. Distribución de polimorfismos en la población de pacientes incluidos.

Enzima/ polimorfismo	Nativo % (n)	Heterocigoto % (n)	Homocigoto % (n)
Gen que codifica proteína transportadora			
MDR1-3435	36% (18)	56% (28)	8% (4)
MDR1-2677	26% (13)	56% (28)	18% (9)
Gen que codifica Enzimas metabólicas Fase I			
CYP3A5*3	0 (0)	18% (9)	82% (41)
CYP3A5*6	86% (43)	14% (7)	0 (0)
CYP3A5*8	100% (50)	0 (0)	0 (0)
CYP3A5*9	100% (50)	0 (0)	0 (0)
Genes que codifican Enzimas metabólicas Fase II			
UGT1A9 -2152	76% (38)	20% (10)	4% (2)
UGT1A9 -275	34% (17)	64% (32)	2% (1)
UGT1A9*3	94% (47)	6% (3)	0 (0)
UGT1A9*4	46% (23)	54% (27)	0 (0)
UGT1A9*5	100% (50)	0 (0)	0 (0)
UGT1A8*3	66% (33)	30% (15)	4% (2)
UGT2B7*2	14% (7)	60% (30)	26% (13)
Factores de transcripción			
PXR	0 (0)	84% (42)	16% (8)

4.5. INDICADORES DE CALIDAD ASISTENCIAL Y SEGURIDAD DEL PACIENTE

4.5.1. Indicadores farmacocinéticos.

En el apartado 3.6.1 de material y métodos se han definido los indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad que pueden implicar la evolución clínica del paciente trasplantado. Se han calculado a partir de las determinaciones farmacocinéticas realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante, periodo en el que la frecuencia de monitorización es mayor y se requieren niveles óptimos más elevados.

Durante el periodo de estudio se han realizado una media de 11 monitorizaciones farmacocinéticas de tacrolimo por paciente y se ha calculado para cada paciente el valor de los indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad. Se ha analizado el resultado de los indicadores para cada polimorfismo descrito en el apartado 3.5.2 de material y métodos, con el objetivo de identificar alguna relación entre los indicadores establecidos y el genotipo del paciente.

Indicador IFs1. Porcentaje de concentraciones supraterapéuticas en función del genotipo del paciente. Del total de monitorizaciones realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante, el 20% (122) fueron concentraciones supraterapéuticas. Los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3 y PXR presentaron un mayor porcentaje de concentraciones supraterapéuticas que los pacientes con genotipo heterocigoto, por el contrario los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9 -2152 y UGT1A9 -275 presentaron menor porcentaje de concentraciones supraterapéuticas que los pacientes con genotipo heterocigoto y que los pacientes con genotipo nativo. En la siguiente tabla (tabla

45) se presenta el resultado del indicador IFs1 en función del genotipo del paciente.

Tabla 45. Indicador IFs1. Porcentaje de concentraciones supraterapéuticas en función del genotipo del paciente (Media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	21,4±4,4	19,8±4,7	25±7,6	ns
MDR1 (2677)	19,1±5,5	22,1±4,2	16,4±4,1	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	8,9±3,9	23,9±3,6	<0,05
CYP3A5*6	21,5±3,4	16,4±8,3	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	22,4±3,7	16,1±6,4	13,6±13,6	<0,05
UGT1A9-275	29±10,3	20,2±3,6	14,9±5,9	<0,05
UGT1A9*3	-	19,1±9,6	20,9±3,3	ns
UGT1A9*4	21,4±5,3	20,3±3,7	-	ns
UGT1A8*3	25,3±4,3	12,2±3,6	12,5±12,5	ns
UGT2B7*2	32,4±4,5	21,3±4,3	13,4±3,9	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	18,9±3,5	30,9±6	<0,05

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IFs2. Porcentaje de reducciones de dosis en función del genotipo del paciente. Del total de monitorizaciones realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante, se realizaron 182 (33%) individualizaciones posológicas correspondientes a reducciones de dosis. Los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3, UGT1A9 -275 y PXR requirieron mas reducciones de dosis que los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo. Además los pacientes con genotipo heterocigoto para CYP3A5*6 requirieron mas reducciones de dosis que los pacientes con genotipo nativo. En la tabla 46 se presenta el porcentaje de reducciones de dosis por paciente, en función del genotipo del paciente.

Tabla 46. Indicador IFs2. Porcentaje de reducciones de dosis en función del genotipo del paciente (Media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	38±4,9	35,9±3,1	33,3±2,4	ns
MDR1 (2677)	32,8±5,3	37,9±3	37,2±6,2	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	21,1±5,5	39,7±2,5	<0,05
CYP3A5*6	35,7±2,5	40,9±8,8	-	<0,05
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	37,2±26	22,7±7,1	32,8±2,9	ns
UGT1A9-275	33,4±5,5	35,9±3,2	41,1±5,4	<0,05
UGT1A9*3	-	40,7±10,9	36,12±2,5	ns
UGT1A9*4	34,9±3,9	37,7±3,2	-	ns
UGT1A8*3	37±3,4	34,6±3,6	39,3±3,6	ns
UGT2B7*2	36,9±8	38,5±3,2	31,2±4,2	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	34±2,6	48,8±5,3	<0,05

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IFe1. Porcentaje de concentraciones infraterapéuticas en función del genotipo del paciente. Del total de monitorizaciones realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante, el 22% (120) fueron **concentraciones infraterapéuticas** de tacrolimo. Los pacientes con genotipo homocigoto para MDR1 3435, MDR1 2677, CYP3A5*3 y PXR presentaron menos concentraciones por debajo de ámbito terapéutico que los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo. En la tabla 47 se presenta el resultado del indicador IFe1 en función del genotipo del paciente.

Tabla 47. Indicador IFe1. Porcentaje de concentraciones infraterapéuticas en función del genotipo del paciente (Media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	22,9±4,5	20,4±3,3	14,1±6	<0,05
MDR1 (2677)	22,1±4,5	20,3±3,3	19,3±6,8	<0,05
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	41,2±6,1	16,3±2,2	<0,05
CYP3A5*6	20,9±2,5	19,9±9,7	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	20,2±2,8	23±6,1	20±20	ns
UGT1A9-275	18,8±5,2	21±3,4	21,8±4,5	ns
UGT1A9*3	-	15,5±10,8	21±2,6	ns
UGT1A9*4	19,5±3,7	21,8±3,4	-	ns
UGT1A8*3	20,9±3	20,4±4,6	20±20	ns
UGT2B7*2	22,2±8,9	18,7±6,5	24,7±2,1	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	23,5±2,7	6,1±2,9	<0,05

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IFe2. Porcentaje de incrementos de dosis en función del genotipo del paciente. Del total de monitorizaciones realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante, se realizaron 80 (14%) individualizaciones posológicas correspondientes a incrementos de dosis. Los pacientes con genotipo homocigoto para MDR1 3435, MDR1 2677, CYP3A5*3 y PXR requirieron menos incrementos de dosis que los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo. En la siguiente tabla (tabla 48) se presenta el porcentaje de incrementos de dosis por paciente en función del genotipo del paciente.

Tabla 48. Indicador IFe2. Porcentaje de incrementos de dosis en función del genotipo del paciente (Media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	17,7±4	14,2±2,5	10,6±4,5	<0,05
MDR1 (2677)	17±4,2	14,4±2,5	13,6±5,4	<0,05
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	29,1±3,6	11,9±2	<0,05
CYP3A5*6	14,9±2,1	15,8±7,1	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	14,4±2,3	16,9±4,2	17,8±17,8	ns
UGT1A9-275	17,3±4,8	15,9±2,6	14,77±4	ns
UGT1A9*3	-	13,7±3,7	15,8±2,1	ns
UGT1A9*4	16,6±2,9	13,8±2,8	-	ns
UGT1A8*3	13,7±2,2	17,7±4,3	17,8±17,8	ns
UGT2B7*2	16,4±4,3	14±2,7	16,7±4,3	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	16,1±2,3	9,5±3,5	<0,05

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IFe3. Días en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo en función del genotipo del paciente. El tiempo medio en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo desde el inicio de la terapia con tacrolimo fue de 4 días, con un mínimo de 2 días y un máximo de 23 días. Los pacientes con genotipo homocigoto para los polimorfismos MDR1 3435, MDR1 2677, CYP3A5*3 y PXR alcanzaron más rápidamente el intervalo terapéutico óptimo que los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo. En la siguiente tabla (tabla 49) se representa el valor del indicador IFe3 en función del genotipo del paciente.

Tabla 49. Indicador IFe3. Días en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo en función del genotipo del paciente (Media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	6,2±1,5	3,8±0,6	2±0,4	<0,05
MDR1 (2677)	5,4±1,6	4,1±0,7	3,5±2,5	<0,05
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	8,7±1,7	3,4±0,6	<0,05
CYP3A5*6	4,3±0,7	5±2,5	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	4,2±0,8	5±1,2	4,5±3,5	ns
UGT1A9-275	5,3±2,4	4,4±0,8	3,1±0,9	ns
UGT1A9*3	-	2,7±1,7	4,5±0,7	ns
UGT1A9*4	4,4±0,7	4,3±1,1	-	ns
UGT1A8*3	3,7±0,5	5,9±1,8	4,5±4,5	ns
UGT2B7*2	3,1±1	3,9±0,8	5±1,8	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	4,6±0,8	3±0,8	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IFe4. Porcentaje (n) de pacientes que alcanzan el intervalo terapéutico óptimo al 5º día de inicio de la terapia en función del genotipo del paciente. El 70% de los pacientes (n=35) alcanzaron el intervalo terapéutico óptimo al 5º día del inicio de la terapia con tacrolimo. El 100% de los pacientes con genotipo homocigoto para MDR1 3435 y MDR1 2677 alcanzaron el intervalo terapéutico óptimo al 5º día de inicio de la terapia con tacrolimo. El 80,5% de los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3 alcanzaron el intervalo terapéutico óptimo al 5º día de inicio de la terapia con tacrolimo frente a un 44,4% de los pacientes con genotipo heterocigoto. En la tabla 50 se representa el valor del indicador IFe4 en función del genotipo del paciente.

Tabla 50. Indicador IFe4. Porcentaje (n) de pacientes que alcanzan el intervalo terapéutico óptimo al 5° día de inicio de la terapia en función del genotipo del paciente.

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	58,8% (10)	65,5%(18)	100%(4)	<0,05
MDR1 (2677)	50%(6)	68,8%(19)	100%(9)	<0,05
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	44,4%(4)	80,5%(33)	<0,05
CYP3A5*6	69,8%(30)	71,4%(5)	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	75,3%(28)	50%(5)	50%(1)	ns
UGT1A9-275	77,8%(13)	75,6%(24)	77,8%(1)	ns
UGT1A9*3	-	66,7%(31)	70,2%(2)	ns
UGT1A9*4	65%(15)	74%(20)	-	ns
UGT1A8*3	72%(23)	66%(10)	50%(1)	ns
UGT2B7*2	71% (5)	63%(24)	61,5%(8)	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	66,7%(28)	72,5%(6)	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

4.5.2. Indicadores clínicos.

Se han establecido los indicadores definidos en el apartado 3.6.2 de material y métodos como factores indicativos de la evolución del injerto renal, tanto a corto plazo (aparición de necrosis tubular aguda), como a medio plazo (evolución del aclaramiento de creatinina durante los 6 primeros meses postrasplante). En la siguientes tablas se presenta el resultado de los indicadores clínicos en función del genotipo para los 14 polimorfismos establecidos en el apartado 3.5.2 de material y métodos.

Indicador IC1. Porcentaje de pacientes con necrosis tubular aguda en función del genotipo. El porcentaje de pacientes que ha desarrollado **necrosis tubular aguda** en el postrasplante inmediato y ha requerido la realización de una o varias sesiones de hemodiálisis ha sido del 34% (n=17), en la siguiente tabla (tabla 51) se presenta la distribución en función del genotipo. No se ha

encontrado una relación estadísticamente significativa entre la presencia de necrosis tubular aguda y el genotipo de los pacientes.

Tabla 51. Indicador IC1. Porcentaje (n) de pacientes con necrosis tubular aguda en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	47,1% (8)	27,6% (8)	25% (1)	ns
MDR1 (2677)	35,7% (5)	34,4% (11)	24% (1)	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	55,6% (5)	29,3% (12)	ns
CYP3A5*6	30,2% (13)	57,1% (4)	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	34,2% (13)	30% (3)	50% (1)	ns
UGT1A9-275	44,4% (4)	34,4% (11)	22,2% (2)	ns
UGT1A9*3	-	66,7% (2)	31,9% (15)	ns
UGT1A9*4	39,1% (9)	29,6% (8)	-	ns
UGT1A8*3	30,3% (10)	40% (6)	50% (1)	ns
UGT2B7*2	0	43,3% (13)	30,8% (4)	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	35,7% (15)	25% (2)	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IC2. Tiempo en alcanzar Clcr mayor o igual a 60 ml/min en función del genotipo. Del total de los pacientes incluidos en el estudio retrospectivo, tan solo el 46% (n=23) alcanzaron el aclaramiento de creatinina óptimo en el periodo de seguimiento. La mediana del tiempo en alcanzar el aclaramiento de óptimo fue de 45 días, con un mínimo de 2 días y un máximo de 270 días. No se ha encontrado una relación estadísticamente significativa para ningún polimorfismo. En la siguiente tabla (tabla 52) se presenta la mediana de tiempo, junto con el valor mínimo y máximo, que tardan los pacientes en alcanzar el ClCr mayor o igual a 60ml/min en función del genotipo.

Tabla 52. Indicador IC2. Tiempo en alcanzar Clcr mayor o igual a 60 ml/min en función del genotipo (Mediana (Mínimo-Máximo)).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	53,5 (2-270)	34 (7-75)	36,7 (14-65)	ns
MDR1 (2677)	67,9 (4-270)	26,5 (2-75)	48 (21-75)	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	32 (2-60)	47,2 (4-270)	ns
CYP3A5*6	47,5 (4-270)	30,5 (2-60)	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	45,2 (2-270)	33,8 (9-75)	75	ns
UGT1A9-275	102 (21-270)	35 (2-120)	12,5 (4-120)	ns
UGT1A9*3	-	45 (2-270)	30 (1-180)	ns
UGT1A9*4	43 (7-120)	45 (2-270)	-	ns
UGT1A8*3	43 (2-270)	43 (21-75)	75	ns
UGT2B7*2	30 (2-75)	36 (4-120)	80 (14-270)	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	31,6 (2-120)	74 (9-270)	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p > 0,05$).

Indicadores IC3, IC4 e IC5. Porcentaje de pacientes que alcanzan el aclaramiento de Cr óptimo (mayor o igual a 60ml/min) al mes, tres y seis meses postrasplante en función del genotipo. El porcentaje de pacientes que ha alcanzado un aclaramiento de creatinina mayor o igual a 60ml/min al mes, tres y seis meses postrasplante ha sido del 24% (n=12), 30% (n=15) y 28% (n=14), respectivamente. En las siguientes tablas (tablas 53 a 55) se presenta el porcentaje de pacientes que alcanzan el aclaramiento de creatinina óptimo al mes, tres meses y seis meses postrasplante en función del genotipo. Al mes postrasplante alcanzan el aclaramiento de creatinina óptimo el 50% de los pacientes homocigotos para el genotipo PXR respecto al 19% de los pacientes heterocigotos. A los tres meses postrasplante alcanzan el aclaramiento de creatinina óptimo el 75% de los pacientes homocigotos para el genotipo MDR1 3435 respecto al 20,7% de los pacientes heterocigotos y el 35,3% de los pacientes nativos. Del mismo modo a los seis meses postrasplante alcanzan el aclaramiento de creatinina óptimo el 75% de los pacientes homocigotos para el

genotipo MDR1 3435 respecto al 17,2% de los pacientes heterocigotos y el 35,3% de los pacientes nativos.

Tabla 53. Indicador IC3. Porcentaje (n) de pacientes que alcanzan el aclaramiento de Cr óptimo al mes postrasplante en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	29,4% (5)	20,7% (6)	25% (1)	ns
MDR1 (2677)	21% (3)	28% (9)	0% (0)	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	11% (1)	26,8%(11)	ns
CYP3A5*6	23,3%(10)	28,6% (2)	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	23,7% (9)	30% (3)	0% (0)	ns
UGT1A9-275	0% (0)	31,3% (10)	22,2% (2)	ns
UGT1A9*3	-	0% (0)	25,5% (12)	ns
UGT1A9*4	21,7% (5)	25,9% (7)	-	ns
UGT1A8*3	23,7% (9)	20% (3)	0% (0)	ns
UGT2B7	28,6% (2)	23% (7)	23% (3)	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	19% (8)	50% (4)	ns (0,06)

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Tabla 54. Indicador IC4. Porcentaje (n) de pacientes que alcanzan el aclaramiento de Cr óptimo a los 3 meses postrasplante en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	35,3% (6)	20,7% (6)	75% (3)	ns (0,071)
MDR1 (2677)	28,6% (4)	28,1% (9)	50% (2)	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	33,3% (3)	29,3% (12)	ns
CYP3A5*6	27,9% (12)	42,9% (3)	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	28,9% (11)	30% (3)	50% (1)	ns
UGT1A9-275	33,3% (3)	31,3% (10)	22,2% (2)	ns
UGT1A9*3	-	0% (0)	31,9% (15)	ns
UGT1A9*4	30,4% (7)	29,6% (8)	-	ns
UGT1A8*3	33,3% (11)	26,7% (4)	0% (0)	ns
UGT2B7*2	14,3% (1)	33,3% (10)	30,8% (4)	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	26,2% (11)	50%(4)	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Tabla 55. Indicador IC5. Porcentaje de pacientes que alcanzan el aclaramiento de Cr óptimo a los 6 meses postrasplante en función del genotipo.

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	35,3% (6)	17,2% (5)	75% (3)	<0,05
MDR1 (2677)	28,6% (4)	25% (8)	50% (2)	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	33,3% (3)	26,8% (11)	ns
CYP3A5*6	25,6% (11)	42,9% (3)	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	26,3% (10)	30% (3)	50% (1)	ns
UGT1A9-275	33,3% (3)	28,1% (9)	22,2% (2)	ns
UGT1A9*3	-	0% (0)	30% (14)	ns
UGT1A9*4	26,1% (6)	30% (8)	-	ns
UGT1A8*3	30% (10)	26,7% (4)	0% (0)	ns
UGT2B7*2	14,3% (1)	30% (9)	30,8% (4)	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	23,8% (10)	50% (4)	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

4.5.3. Indicadores de proceso asistencial.

El cálculo de los indicadores de calidad del proceso asistencial establecidos en el apartado 3.6.3 de material y métodos nos aporta información sobre el cumplimiento de los estándares de práctica establecidos para el cuidado del paciente tras el trasplante, tanto a corto plazo (días de estancia hospitalaria) como a medio largo-plazo (número de consultas médicas y número de monitorizaciones farmacocinéticas). Además permite identificar diferencias en el estándar de práctica en función del genotipo de los pacientes.

Los resultados obtenidos tras el cálculo de los indicadores se presentan a continuación:

Indicador IP1. Días de estancia postrasplante en función del genotipo. La estancia media de los pacientes tras el trasplante fue de 13,8 días, valor que

corresponde al estándar de práctica establecido. Se observó un incremento de 2 días en la estancia hospitalaria media de los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9-2152 y de 9 días en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A8*3, respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo (tabla 56).

Tabla 56. Indicador IP1. Días de estancia postrasplante en función del genotipo (media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	11,5±1,4	14,8±1,8	10±1	ns
MDR1 (2677)	12±2,1	14,3±1,7	11,5±0,5	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	14,2±2	13,5±1,5	ns
CYP3A5*6	13,4±1,4	15,3±2,7	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	13,2±0,7	13,7±1,1	25±14	<0,05
UGT1A9-275	13,5±2	13,5±0,7	15,4±3,2	ns
UGT1A9*3	-	15,3±1,2	13,7±0,9	ns
UGT1A9*4	14,7±1,5	13,1±0,9	-	ns
UGT1A8*3	12,3±0,5	15,9±1,6	24±15	<0,05
UGT2B7*2	12,4±1,1	14,2±1,2	13,8±1,6	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	14±0,9	11,3±1,3	ns

ns: estadísticamente no significativo (p>0,05).

Indicador IP2. n° de monitorizaciones farmacocinéticas en función del genotipo. El número de monitorizaciones farmacocinéticas realizadas en el primer periodo postrasplante fue de 558 correspondiendo a una media de 11 determinaciones por paciente, con un mínimo de 7 y un máximo de 16 determinaciones por paciente. El número de determinaciones durante las 6 primeras semanas postrasplante no difiere del estándar de práctica establecido (12 determinaciones por paciente). Se observó que los pacientes con genotipo nativo para MDR1 3435 requirieron un mayor número de monitorizaciones que los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto. En la tabla 57 se

representa el número de determinaciones farmacocinéticas en función del genotipo de los pacientes durante las seis primeras semanas postrasplante.

Tabla 57. Indicador IP2. nº de monitorizaciones farmacocinéticas en función del genotipo (media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
CYP3A5*3	-	11,3±1,4	11,1±1,7	ns
CYP3A5*6	11,2±1,8	11,1±0,9	-	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
MDR1 (3435)	12±1,8	10,7±1,5	10,8±0,5	<0,05
MDR1 (2677)	11,8±2,2	11±1,4	10,5±0,6	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	11,2±1,6	10,6±1,6	13±2,8	ns
UGT1A9-275	11,3±2,3	11,1±1,5	11,1±1,6	ns
UGT1A9*3	-	10,7±0,6	11,2±1,7	ns
UGT1A9*4	11,2±2,2	11,1±1,2	-	ns
UGT1A8*3	11,1±1,6	11,2±1,4	11,5±4,9	ns
UGT2B7*2	10,9±1,6	11,1±1,8	11,5±1,6	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	11,2±1,7	10,9±1,7	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IP3. nº de consultas médicas en la consulta de trasplante renal en función del genotipo. El número de consultas médicas en la consulta de trasplante renal realizadas por la población de estudio durante el primer año postrasplante ha sido de 994, el valor medio por paciente fue de 20 consultas, correspondiendo con el estándar de práctica establecido, con un mínimo de 15 y un máximo de 20 consultas médicas por paciente. Tal como se observa en la tabla 58, no se observó relación entre el número de consultas médicas y el genotipo de los pacientes.

Tabla 58. Indicador IP3. nº de consultas médicas en la consulta de trasplante renal en función del genotipo (media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	20,5±3,3	20,4±2,7	18,8±2,6	ns
MDR1 (2677)	20±3,4	20,6±2,7	18,8±2,6	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	21±2,9	20,1±8,6	ns
CYP3A5*6	20,3±3	20,1±2,4	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	20,4±3	19,5±2,8	21±2	ns
UGT1A9-275	19,8±2,9	20,6±2,8	19,8±3,4	ns
UGT1A9*3	-	21±2	20,2±2,9	ns
UGT1A9*4	20,8±3,2	19,8±2,6	-	ns
UGT1A8*3	20,3±2,1	20,3±2,6	18±2	ns
UGT2B7*2	19,4±2,3	20,3±3	20,8±3	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	20,4±2,9	19,8±3	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

4.5.4. Indicadores económicos.

Tal como se ha definido en el apartado 3.6.4 de material y métodos, los indicadores económicos (IE) están estrechamente relacionados con los indicadores de calidad del proceso asistencial y representan el coste derivado del seguimiento del paciente trasplantado. A continuación se presentan los resultados obtenidos tras el cálculo de los indicadores:

Indicador IE1. Coste asociado a la estancia hospitalaria del paciente en el postrasplante inmediato. El coste medio asociado a la estancia hospitalaria en el postrasplante inmediato del total de pacientes fue de 239.432 euros, que corresponde a 4.790 euros por paciente trasplantado, con un mínimo de 2.768 y un máximo de 13.494 euros. Tal como se observa en la tabla 59, se produce un

incremento en el coste asociado a la estancia hospitalaria en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9-2152 y UGT1A8*3.

Tabla 59. Indicador IE1. Coste (euros) asociado a la estancia hospitalaria del paciente en el postrasplante inmediato (media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	5.000±2.180	4.808±2.018	3.720±435	ns
MDR1 (2677)	4.770±2.031	4.900±2.120	3.980±200	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	4.613±1.340	4.827±2.130	ns
CYP3A5*6	4.627±1.970	5.783±2.044	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	4.600±1.675	4.740±1.253	8.650±6.850	<0,05 (0,017)
UGT1A9-275	4.690±2.134	4.660±1.483	5.343±3.319	ns
UGT1A9*3	-	5.305±720	4.756±2.055	ns
UGT1A9*4	5.070±2.425	4.550±1.560	-	ns
UGT1A8*3	4.256±1.061	5.490±2.152	8.304±7.339	<0,05 (0,004)
UGT2B7*2	4.300±1.015	4.900±2.218	4.790±1.940	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	4.876±2.100	4.325±1.295	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IE2. Coste asociado a las monitorizaciones farmacocinéticas en función del genotipo. El coste asociado a la monitorización farmacocinética en el total de pacientes ha sido de 31.577 euros, correspondiendo a una media de 630 euros por paciente, con un mínimo de 396 euros y un máximo de 905. Los pacientes con genotipo nativo para MDR1 3435 presentaron un incremento en el coste asociado a la monitorización farmacocinética respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto u homocigoto. En la siguiente tabla (tabla 60) se representa el coste asociado a la monitorización farmacocinética en función del genotipo del paciente.

Tabla 60. Indicador IE2. Coste asociado a las monitorizaciones farmacocinéticas en función del genotipo (media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
MDR1 (3435)	679±102	606±87	608±28	<0,05
MDR1 (2677)	667±126	621±81	594±33	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
CYP3A5*3	-	641±80	629±98	ns
CYP3A5*6	631±100	630±50	-	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	634±91	600±89	736±160	ns
UGT1A9-275	641±130	630±91	629±87	ns
UGT1A9*3	-	603±33	633±97	ns
UGT1A9*4	634±121	628±65	-	ns
UGT1A8*3	629±93	634±78	651±280	ns
UGT2B7*2	614±89	626±99	653±88	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	634±95	615±98	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

Indicador IE3. Coste asociado al seguimiento del paciente trasplantado en la consulta de trasplante renal. El coste medio asociado al seguimiento del paciente en la consulta de trasplante renal fue de 39.064 euros correspondiendo a 800 euros por paciente, con un mínimo de 590 y un máximo de 1.060 euros por paciente. Tal como se observa en la tabla 61, no se encontró relación entre el coste asociado al seguimiento postrasplante y el genotipo de los pacientes.

Tabla 61. Indicador IE3. Coste (euros) asociado al seguimiento del paciente trasplantado en la consulta de trasplante renal (media±DE).

Polimorfismo	Nativo	Heterocigoto	Homocigoto	p
Biodisponibilidad (genes que codifican proteínas transportadoras)				
CYP3A5*3	-	825±116	790±115	ns
CYP3A5*6	798±119	791±95	-	ns
Biodisponibilidad+metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
MDR1 (3435)	807±130	800±109	737±103	ns
MDR1 (2677)	786±135	810±107	737±103	ns
Metabolismo hepático (genes que codifican enzimas metabólicas)				
UGT1A9-2152	805±118	766±108	810±108	ns
UGT1A9-275	777±116	808±112	776±136	ns
UGT1A9*3	-	825±79	795±117	ns
UGT1A9*4	818±129	780±102	-	ns
UGT1A8*3	801±123	794±100	700±100	ns
UGT2B7*2	763±90	797±120	816±119	ns
Factores de transcripción				
PXR	-	800±115	776±122	ns

ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

4.6. FASE II. APLICACIÓN Y VALIDACIÓN DEL PROTOCOLO DE PERSONALIZACIÓN TERAPÉUTICA

4.6.1. Selección del protocolo de personalización terapéutica.

Tal como se detalla en el apartado 2.3.3 de antecedentes, según los estudios publicados por diversos autores en pacientes que reciben un trasplante renal se puede individualizar la dosis inicial de tacrolimo en función del genotipo CYP3A5*3^{22,23,131} con el objetivo de alcanzar más temprano el objetivo terapéutico óptimo e incrementar el número de determinaciones farmacocinéticas dentro de ámbito terapéutico.

En el apartado 4.2.2 se observa que la respuesta farmacocinética a tacrolimo en nuestros pacientes es acorde a la observada en los estudios publicados para el polimorfismo CYP3A5*3, es decir, se observa una diferencia estadísticamente significativa en el valor de la relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo entre los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto para CYP3A*5 (figura 17). Además dicha diferencia es muy marcada para los indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad calculados en el apartado 4.5.1 (tablas 45-50).

La estrecha relación entre el genotipo CYP3A5*3 y la farmacocinética de tacrolimo nos ha permitido desarrollar y aplicar en nuestra población un protocolo de personalización de la dosis inicial de tacrolimo en función del genotipo CYP3A5*3 similar al protocolo aplicado en estudios previos.

Según el protocolo que se describe en la tabla 62, los pacientes con genotipo nativo para CYP3A5*3 recibirían la dosis plena de Prograf® (0,3 mg/kg/día), los pacientes con genotipo heterocigoto recibirían el 66% de la dosis de referencia (0,2 mg/kg/día) y los pacientes con genotipo homocigoto recibirían el 50% de la dosis de referencia (0, 15mg/kg/día).

Tabla 62. Dosis inicial de tacrolimo en función del polimorfismo CYP3A5*3

Polimorfismo CYP3A5*3	Dosis inicial de tacrolimo (mg/kg/12h)	
Nativo (CYP3A5*1/1)	0,15	Dosis plena
Heterocigoto (CYP3A5*3/1)	0,10	66%
Homocigoto(CYP3A5*3/3)	0,075	50%

Para personalizar la dosis inicial de tacrolimo en el postrasplante inmediato fue necesario saber el genotipo del paciente en el momento del trasplante, por ello a todos los pacientes que en Enero de 2011 estaban en lista de espera para recibir

un trasplante renal y que cumplían criterios de inclusión en el estudio se les realizó el análisis farmacogenético establecido en el apartado 3.5 de material y métodos. Tras obtener los resultados y previo al trasplante se elaboró un informe farmacogenético para cada paciente estudiado donde indicaba el genotipo CYP3A5*3 y la recomendación posológica de tacrolimo (Anexo 5).

Desde Enero de 2011 hasta Febrero de 2012, a todos los pacientes trasplantados que cumplían criterios de inclusión y tenían informe farmacogenético se les personalizó la dosis inicial de tacrolimo denominándose a este grupo de pacientes “grupo de estudio”, a los pacientes trasplantados que no tenían informe farmacogenético, por haberse incluido en lista de espera en fecha posterior a Enero de 2011 y no haberse podido realizar la determinación farmacogenética previa al trasplante, no se les personalizó la dosis inicial de tacrolimo denominándose a este grupo de pacientes “grupo control”, a los pacientes del grupo control se les realizó la determinación farmacogenética a posteriori.

Todos los pacientes incluidos en el grupo de estudio iniciaron tratamiento con Prograf® a una dosis de 0,15-0,30 mg/kg/día en función del genotipo CYP3A5*3 (tabla 62). Posteriormente la dosis de mantenimiento de tacrolimo se ajustó por monitorización farmacocinética para alcanzar un C_{min} objetivo entre 10-15ng/ml, según se ha detallado en el apartado 3.4.3 de material y métodos.

4.6.2. Aplicación del protocolo. Pacientes incluidos y tratamiento inmunosupresor.

El estudio prospectivo fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del hospital Universitario Dr. Peset en Enero de 2011.

En el periodo de estudio han recibido un trasplante renal un total de **52 pacientes**, de los cuales **47 pacientes** han cumplido los criterios de inclusión definidos en el apartado 3.1.1 de material y métodos.

Los motivos de no inclusión en el estudio fueron: la pérdida del injerto a los pocos días del trasplante (en 3 pacientes) y el inicio de tratamiento inmunosupresor con ciclosporina (en 2 pacientes).

De los pacientes que cumplían criterios de inclusión en el estudio **22** formaron parte del grupo de estudio, por tener el estudio farmacogenético realizado antes del inicio de la terapia inmunosupresora que permitió individualizar la dosis inicial de tacrolimo, y **25** formaron parte del grupo control, ya que el estudio farmacogenético se realizó con posterioridad y no fue posible personalizar la dosis inicial de tacrolimo en base al genotipo. En la figura 22 se representa la distribución de pacientes en el estudio prospectivo.

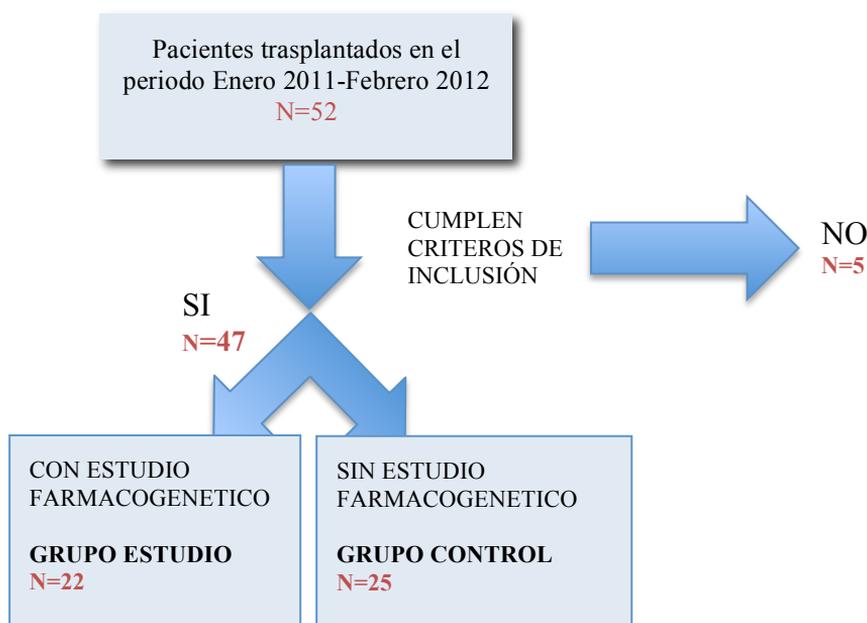


Figura 22. Distribución de pacientes en el estudio prospectivo.

Tratamiento inmunosupresor

Tal como indica el apartado 3.1.4 de material y métodos, todos los pacientes incluidos en el estudio iniciaron **tratamiento inmunosupresor** con tacrolimo (Prograf®), micofenolato de mofetil (Cellcept®) y prednisona. Además recibieron terapia de inducción en el momento del trasplante con basiliximab o timoglobulina, en función del riesgo inmunológico. En la tabla 63 se describe la dosis mediana diaria de tacrolimo, micofenolato de mofetil y prednisona que recibieron los pacientes durante las 6 primeras semanas postrasplante, así como la distribución de pacientes según el tipo de terapia de inducción recibida. Se ha calculado la mediana, máximo y mínimo de las variables continuas ya que tras aplicar la prueba de Kolmogorov-Smirnov se constató que no seguían una distribución normal ($p \leq 0,05$). Para comprobar la homogeneidad de los subgrupos se ha aplicado la prueba no paramétrica U de Mann-Whitney, en el caso de las variables continuas, y la prueba χ^2 en las variables categóricas, se han considerado diferencias estadísticamente significativas cuando $p \leq 0,05$.

Tabla 63. Tratamiento inmunosupresor recibido durante el periodo de estudio

Variable	Población (n=47)	Grupo control (n=25)	Grupo estudio (n=22)	p
Dosis de tacrolimo** (mg/día)	10 (1-23)	10 (1-19)	9 (1-23)	<0,001
Dosis de MMF** (g/día)	2 (1-2)	2 (1-2)	2 (1-2)	ns
Dosis de prednisona** (mg/día)	15 (3,75-20)	15 (3,75-20)	15 (5-20)	ns
Terapia de Inducción*				
Sin inducción	0	0	0	
Inducción con Basiliximab	51% (24)	56% (14)	45,5% (10)	ns
Inducción con Timoglobulina	49% (23)	44% (11)	54,5% (12)	

* %: frecuencia (número de pacientes); **Mediana (mínimo-máximo); n=número de pacientes; MMF: micofenolato de mofetil; ns: estadísticamente no significativo ($p > 0,05$).

Distribución genotípica de la población

A todos los pacientes incluidos en el estudio se les determinó el genotipo CYP3A5*3, el 12,8% de los pacientes fueron heterocigotos (n=6) y el 87,2% homocigotos (n=41).

En la siguiente tabla (tabla 64) se representa la distribución genotípica en la población, en la primera columna se presenta la distribución del genotipo CYP3A*5 en el total de la población y posteriormente en la segunda y tercera columna, se presenta la distribución del genotipo CYP3A*5 en el grupo control y en el grupo de estudio. Para comprobar la homogeneidad de los subgrupos se ha aplicado la prueba χ^2 , se ha considerado que los subgrupos no son homogéneos cuando $p \leq 0,05$.

Tabla 64. Distribución del polimorfismo CYP3A*5 en la población.

Genotipo CYP3A*5	Población (n=47)	Grupo control (n=25)	Grupo estudio (n=22)	p
Nativo	0 (0)	0 (0)	0 (0)	ns
Heterocigoto	12,8% (6)	16% (4)	9,1% (2)	
Homocigoto	87,2% (41)	84% (21)	90,9% (20)	

%.frecuencia (número de pacientes); n= número de pacientes; ns: estadísticamente no significativo ($p > 0,05$).

Potencia del estudio prospectivo

Para el cálculo de la potencia del estudio se ha aplicado la ecuación 1, se ha calculado a partir del resultado de la variable de interrelación farmacogenética-farmacocinética Cs/dosis/peso en ambos subgrupos.

Así, para un nivel de significación alfa del 5%, teniendo en cuenta que se han incluido 22 pacientes en el grupo de estudio y 25 en el grupo control, asumiendo

que la diferencia de la relación Cs/dosis/peso entre ambos subgrupos es de 135 ng/ml por mg/kg, y la desviación típica conjunta es de 150 (tabla 65) , se alcanza una potencia del 83, valor que se considera aceptable por ser superior al 80%.

Tabla 65. Datos utilizados para calcular la potencia del estudio prospectivo.

Variable	Grupo control	Grupo estudio
Número de pacientes	25	22
Relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo	174	309
Diferencia de la relación Cs/dosis/peso media	135 (309-174)	
Desviación típica conjunta	150	

4.6.3. Validación del protocolo.

4.6.3.1. Homogeneidad de los subgrupos.

Previo a la validación del protocolo de personalización terapéutica se ha comprobado la homogeneidad de los subgrupos estudiados, a partir de un análisis comparativo de las **variables basales** en ambos subgrupos.

En la tabla 66 se representan las **características demográficas y biométricas** de los pacientes incluidos en el estudio, las variables continuas se expresan en forma de media, desviación estándar, máximo y mínimo, ya que la prueba de Kolmogorov-Smirnov constató que seguían una distribución normal ($p > 0,05$), y las variables categóricas se expresan en forma de frecuencias (%).

Tabla 66. Características demográficas y biométricas de la población de estudio.

Variable	Población (n=47)	Grupo control (n=25)	Grupo estudio (n=22)	p
Sexo* (%Mujeres)	30% (14)	16% (4)	45,5% (10)	0,029
Peso**	71,8±13,5 (42-104)	73,23±12,4 (43,5-94,8)	70,19±14,7 (42-104)	ns
Edad**	51,7±13 (25-72)	47,8±14,7 (25-72)	56,09±9,5 (34-71)	0,029
Cr (μmol/l)**	6,5±2,2 (2,63-11,47)	6,2±1,9 (3,1-11,3)	6,8±2,5 (2,6-11,5)	ns
Albumina (g/dl)**	3,5±0,5 (1,8-4,5)	3,5±0,4 (2,8-4,5)	3,6±0,5 (1,8-4,2)	ns
Hematocrito (%)**	30,5±4,9 (23,9-44,3)	29,4±4,5 (23,9-44,9)	31,7±5,2 (24,8-40,7)	ns
Hemoglobina (g/dl)**	10,3±1,6 (8,1-14,9)	10,2±1,6 (8,1-14,6)	10,57±1,7 (8,3-13,4)	ns
Etnia*				
Caucásico	91,5% (43)	92% (23)	91% (20)	ns
Africano	8,5% (4)	8% (2)	9% (2)	

* %: frecuencia (número de pacientes); **Media±desviación estándar (mínimo-máximo); n=número de pacientes; Cr: creatinina sérica; ns: estadísticamente no significativo (p>0,05).

En la primera columna de la tabla se presentan las características del total de pacientes de la población estudiada sin diferenciar por subgrupos, en segundo lugar, en la segunda y tercera columna se presentan las características de los pacientes en función del subgrupo al que pertenecen “grupo control o grupo de estudio”. Para comprobar la homogeneidad de los subgrupos se han comparado las características del grupo control y el grupo de estudio aplicando la prueba t de student, en el caso de las variables continuas, y la prueba χ^2 en las variables categóricas, se ha considerado que los subgrupos no son homogéneos cuando $p \leq 0,05$.

Tal como se ha definido en la 3.3.1 de material y métodos entre las **variables relacionadas con el riesgo inmunológico del paciente trasplantado** se encuentran el retrasplante, la necrosis tubular aguda, el número de

incompatibilidades HLA, el tiempo de isquemia fría y las características del donante. Dichos factores pueden influir en la evolución del trasplante, por ello es importante estudiar la distribución de los factores influyentes en ambas subpoblaciones de estudio.

En la tabla 67 se representan la distribución de los factores influyentes en la población de estudio, las variables continuas se expresan en forma de media, desviación estándar, máximo y mínimo, ya que la en la prueba de Kolmogorov-Smirnov se evidenció que seguían una distribución normal ($p>0,05$). Las variables categóricas se expresan en forma de frecuencias (% y número de pacientes).

En la primera columna de la tabla se presenta la distribución de las variables en el total de pacientes de la población estudiada sin diferenciar por subgrupos, en segundo lugar, en la segunda y tercera columna se presentan las características de los pacientes en función del subgrupo al que pertenecen “grupo control o grupo de estudio”.

Para comprobar la homogeneidad de los subgrupos se han comparado las características del grupo control y el grupo de estudio, aplicando la prueba t de student en el caso de las variables continuas y la prueba χ^2 en las variables categóricas, se ha considerado que los subgrupos no son homogéneos cuando $p\leq 0,05$.

Tabla 67. Variables que condicionan el riesgo inmunológico del paciente trasplantado.

Variable	Población (n=47)	Grupo control (n=25)	Grupo estudio (n=22)	p
Retrasplante*	6,4% (3)	8% (2)	4,5% (1)	ns
Necrosis tubular aguda *	38,3% (18)	36% (9)	41% (9)	ns
Nº incompatibilidades HLA**	3,3±0,9 (1-5)	3,35±0,9 (2-5)	3,42±1,03 (1-5)	ns
Tiempo de isquemia fría**	17,87±5,3 (9-30)	17,56±5,8 (9-30)	18,3±4,6 (9-25)	ns
Características del donante				
Edad	51,3±21 (1-79)	45,2±22,5 (1-77)	58,5±16,4 (18-79)	0,039
Sexo* (% Mujeres)	47,6% (20)	47,8% (11)	47,4% (9)	ns
Muerte por ACV*	53,5% (23)	43,5% (10)	65% (13)	ns
Corazón parado*	12,8% (6)	12%(3)	13,6 (3)	ns

* %: frecuencia (número de pacientes); **Media±desviación estándar (mínimo-máximo); n=número de pacientes; ACV: accidente cerebrovascular; ns: estadísticamente no significativo (p>0,05).

4.6.3.2. Validación del protocolo a partir la variable relacionada con la respuesta farmacogenética-farmacocinética.

Para validar el protocolo de personalización terapéutica se ha calculado la variable relacionada con la respuesta farmacogenética-farmacocinética *relación entre la Cs de tacrolimo y la dosis normalizada por el peso del paciente* al igual que en el estudio retrospectivo, con el objetivo de evidenciar diferencias entre los pacientes del grupo control y los pacientes del grupo de estudio.

Tras aplicar la prueba de Kolmogorov-Smirnov se evidenció que la relación Cs/dosis/peso de tacrolimo no seguía una distribución normal (p<0,05). A continuación se representa la mediana de la relación Cs/dosis/peso en el grupo control y en el grupo de estudio, y dentro de cada subgrupo la relación entre el

valor de dicha variable y el genotipo de los pacientes (heterocigoto u homocigoto).

Como se observa en la figura 23, el **grupo control** presentó una relación Cs/dosis/peso mediana de tacrolimo de *160 ng/ml por mg/kg (40-490)*, inferior a los pacientes del grupo de estudio con una relación Cs/dosis/peso mediana de *220 ng/ml por mg/kg (30-2.930)*, alcanzándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$).

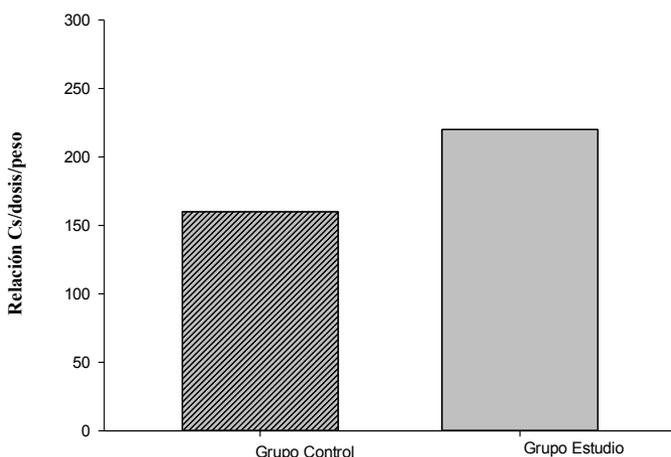


Figura 23. Relación Cs/dosis/peso en función del subgrupo. En ordenadas se representa la variable mediana de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el subgrupo correspondiente, de izquierda a derecha: grupo control y grupo de estudio.

Además en la figura 24, se observa que dentro del **grupo control** los pacientes con **genotipo heterocigoto** presentaron una relación Cs/dosis/peso mediana estadísticamente inferior a los pacientes con **genotipo homocigoto**: *90 ng/ml por mg/kg (60-490)* vs *170 ng/ml por mg/kg (40-4.200)*.

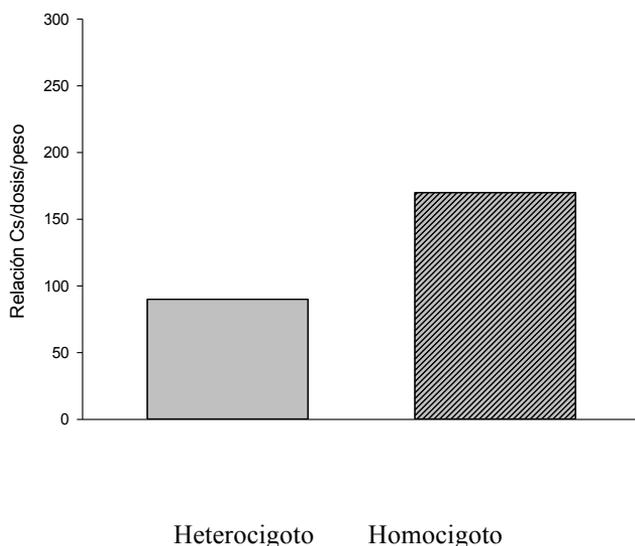


Figura 24. Relación Cs/dosis/peso en el grupo control en función del genotipo CYP3A5*3. En ordenadas se representa la variable mediana de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: heterocigoto y homocigoto.

No obstante, en el grupo de estudio no se observaron dichas diferencias, alcanzándose una relación Cs/dosis/peso de *190 ng/ml por mg/kg (60-440)* en pacientes con **genotipo heterocigoto** similar a la de los pacientes con **genotipo homocigoto** *220 ng/ml por mg/kg (30 a 2.900)* (figura 25).

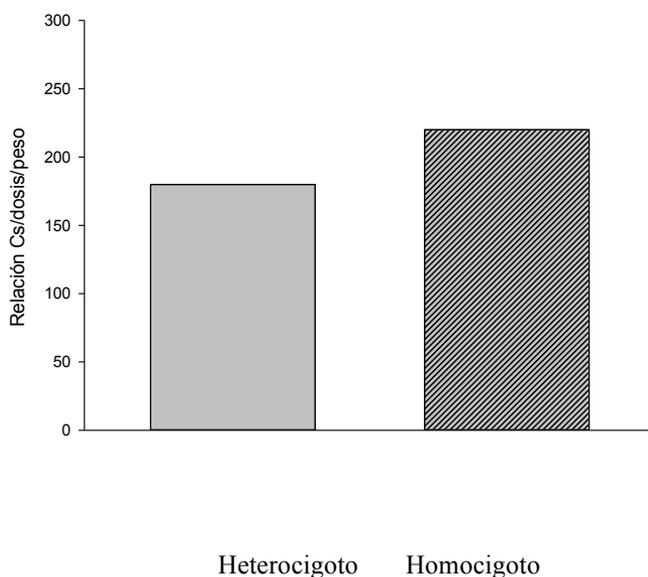


Figura 25. Relación Cs/dosis/peso en el grupo de estudio en función del genotipo CYP3A5*3. En ordenadas se representa la variable mediana de la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso del paciente y en el eje de abscisas se representa el genotipo correspondiente, de izquierda a derecha: heterocigoto y homocigoto.

4.6.3.3. Validación del protocolo a partir de las variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica.

Para validar las repercusiones clínicas de la aplicación del protocolo de personalización terapéutica en el paciente trasplantado se ha estudiado el resultado de las variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica establecidas en el apartado 3.3.3 de material y métodos en los pacientes del grupo de estudio y los pacientes del grupo de control.

La incidencia de **rechazo agudo** en el total de la población estudiada, durante las 6 primeras semanas postrasplante ha sido del 10,6% (n=5), la distribución en los subgrupos estudiados fue de 3 casos en el grupo de estudio y 2 en el grupo

control, no observándose diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 0,391$; $p=0,532$). El Riesgo Relativo de aparición de rechazo agudo en el grupo control respecto al grupo de estudio fue de 0,58 (IC95% 0,1 a 3,2). No obstante, no se observó una relación estadísticamente significativa entre el grupo de estudio y el riesgo de rechazo agudo ya que el IC95% del RR incluía el 1.

La incidencia de **nefrotoxicidad** en el total de la población de estudio ha sido del 19,2% (n=9), en el 6,4% de los casos (n=3) la nefrotoxicidad por anticalcineurínicos se confirmó mediante biopsia renal, no obstante en el 12,8% de los casos (n=6) la nefrotoxicidad se atribuyó a un incremento de la Cr sérica relacionada con niveles sanguíneos elevados de tacrolimo ($C_{min} > 15$ ng/ml). Respecto a la distribución por subgrupos el 24% de los pacientes del grupo control presentaron nefrotoxicidad (n=6), respecto al 13,6% de los pacientes del grupo de estudio (n=3), no observándose diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2 = 2,820$; $p=0,244$). El Riesgo Relativo de desarrollar nefrotoxicidad en el grupo control respecto al grupo de estudio fue de 1,76 (IC95% 0,5 a 6,2). No obstante, no se observó una relación estadísticamente significativa ya que el IC95% del RR incluía el 1.

La incidencia de **neurotoxicidad** en la población estudiada ha sido del 57,4% (n=27), la distribución por subgrupos indica que el 60% de los pacientes del grupo control (n=15) presentaron neurotoxicidad, respecto al 54,5% de los pacientes del grupo de estudio (n=12), no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=0,142$; $p=0,706$). El Riesgo Relativo de desarrollar neurotoxicidad en el grupo de estudio respecto al grupo control fue de 1,1 (IC95% 0,7 a 1,8), no observándose una relación estadísticamente significativa.

El 62% de los pacientes del estudio (n=29) presentaron dislipemia previa al trasplante, 14 en el grupo control y 15 en el grupo de estudio, por tanto se

eliminaron del análisis posterior. La incidencia de **dislipemia de novo**, tras el trasplante renal en el total de la población ha sido del 61% (n=11). Se observa en la tabla 68 que el 54,5% de los pacientes del grupo control desarrollaron dislipemia de novo (n=6), respecto al 71,4% de los pacientes del grupo de estudio (n=5). No obstante, no se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=0,513$; $p=0,474$). El Riesgo Relativo de desarrollar dislipemia de novo tras el trasplante del grupo control respecto al grupo de estudio fue de 0,76 (IC95% 0,4 a 1,6), no observándose una relación estadísticamente significativa (el IC95% del RR incluyó el 1).

El 8,5% de los pacientes del estudio (n=4) presentaron diabetes mellitus previa al trasplante, 3 en el grupo control y 1 en el grupo de estudio, por tanto se eliminaron del análisis posterior. La incidencia de **diabetes mellitus de novo** tras el trasplante renal en la población general ha sido del 14,3% (n=6). Tal como se indica en la tabla 68, la distribución por subgrupos fue de 1 paciente en el grupo control (4,5%) respecto a 5 pacientes en el grupo de estudio (25%). No se observaron diferencias estadísticamente significativas en la aparición de diabetes mellitus de novo entre los subgrupos ($\chi^2= 3,580$; $p=0,06$). El Riesgo Relativo de desarrollar diabetes mellitus de novo tras el trasplante en el grupo control respecto al grupo de estudio fue de 0,18 (IC95% 0,02 a 1,4), no observándose una relación estadísticamente significativa (el IC95% del RR incluyó el 1).

En el 38,3% de los pacientes (n=18) se produjo una **complicación de la hipertensión previa** tras el trasplante. Tal como se representa en la tabla 68, en el 40% de los pacientes del grupo control (n=10) se complicó la hipertensión previa respecto al 36,4% de los pacientes del grupo de estudio (n=8). No se observaron diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=0,065$; $p=0,789$). El Riesgo Relativo de complicación de la hipertensión en el grupo control respecto

al grupo de estudio fue de 1,1 (IC95% 0,5 a 2,3). No obstante, no se observó una relación estadísticamente significativa ya que el IC95% del RR incluía el 1.

El 68% de los pacientes estudiados han presentado **infecciones** (n=32), la tipología de las infecciones fue:

Bacterianas en el 63,8% de los pacientes (n=30)

Víricas en el 31,9% de los pacientes (n=15)

- CMV: 12,8% de los pacientes (n=6)
- Virus Herpes Simple: 2,1% de los pacientes (n=1)
- Virus BK: 17% de los pacientes (8)

Tal como se observa en la tabla 68, el 64% de los pacientes del grupo control desarrollaron algún tipo de infección (n=16), respecto al 72,7% de los pacientes del grupo de estudio (n=16), no alcanzándose diferencias estadísticamente significativas ($\chi^2=0,410$; $p=0,522$). El Riesgo relativo de desarrollar infección en el grupo control respecto al grupo de estudio fue de 0,9 (IC95% 0,6 a 1,3), no observándose diferencias estadísticamente significativas.

En la siguiente tabla (tabla 68) se representa la incidencia de efectos adversos, junto con el Riesgo Relativo e IC95%. En azul destacan los efectos adversos que presentan mayor incidencia en el grupo control.

Tabla 68. Incidencia de efectos adversos, Riesgo Relativo e IC95% en función del subgrupo al que pertenece el paciente.

Efecto Adverso	Control (n/Total)	Estudio (n/Total)	RR (IC95%)
Nefrotoxicidad	6/25	3/22	1,76 (0,5 a 6,2)
Neurotoxicidad	15/25	12/22	1,1 (0,7 a 1,8)
Hipertensión Arterial	10/25	8/22	1,1 (0,5 a 2,3)
Dislipemia	6/11	5/7	0,76 (0,4 a 1,6)
Diabetes Mellitus	1/22	5/21	0,18 (0,02 a 1,4)
Infecciones	16/25	16/22	0,9 (0,6 a 1,3)

n: número de pacientes con el evento; Total: número total de pacientes en el grupo; RR: riesgo relativo; IC95%: intervalo de confianza del 95%.

4.6.3.4. Validación del protocolo a partir de los indicadores de calidad y seguridad en el paciente.

En primer lugar se han calculado los indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad previamente establecidos en el apartado 3.6.1 de material y métodos.

Al igual que en el estudio retrospectivo, el seguimiento farmacocinético del paciente en el estudio prospectivo se ha realizado durante las 6 primeras semanas postrasplante, periodo en el cual se han realizado un total de 496 monitorizaciones farmacocinéticas.

Indicador IFs1. Porcentaje de concentraciones supraterapéuticas. Una media del 14,61% de las monitorizaciones realizadas por paciente se encontraban por *encima de ámbito terapéutico*, con un mínimo de 0 determinaciones y un máximo del 47% de las monitorizaciones por paciente. A

pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, se observó que los pacientes del grupo control presentaron un mayor porcentaje de concentraciones supraterapéuticas que los pacientes del grupo de estudio (18,61% vs 14,49%).

Indicador IFs2. Porcentaje de reducciones de dosis. Se han realizado un porcentaje medio de 34,7% *reducciones de dosis por paciente*, con un mínimo de 0 reducciones de dosis y un máximo del 67% de reducciones de dosis por paciente. El porcentaje de reducciones de dosis en los pacientes del grupo control ha sido ligeramente superior que en los pacientes sobre los que se ha aplicado el protocolo de personalización terapéutica (35,32% vs 33,55%; $p>0,05$).

Indicador IFe1. Porcentaje de concentraciones infraterapéuticas. El 21,7% de las monitorizaciones realizadas por paciente, durante las 6 primeras semanas postrasplante, se encontraban *por debajo de ámbito* terapéutico, con un mínimo de 0 determinaciones y un máximo del 60% de las monitorizaciones por paciente. El porcentaje de monitorizaciones infraterapéuticas ha sido ligeramente superior en los pacientes del grupo control respecto a los pacientes del grupo de estudio (22,36% vs 20,94%; $p>0,05$).

Indicador IFe2. Porcentaje de incrementos de dosis. Del total de monitorizaciones realizadas durante las 6 primeras semanas postrasplante ($n=496$) se han realizado una media de 11,57% ($n=57$) *incrementos de dosis por paciente*, con un mínimo de 0 incrementos de dosis y un máximo del 30% de incrementos de dosis por paciente. El porcentaje de incrementos de dosis en los pacientes del grupo control ha sido ligeramente superior que en los pacientes del grupo de estudio (12% vs 11%; $p>0,05$).

Indicador IFe3. Días en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo. El *tiempo medio en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo* de tacrolimo desde el inicio de la terapia ha sido de 6,34 días (DE 3,7), con un mínimo de 3 días y un máximo de 16 días. Tras la aplicación del protocolo no se han observado diferencias estadísticamente significativas en el tiempo en alcanzar el intervalo terapéutico en ambos grupos de pacientes.

Indicador IFe4. Porcentaje de pacientes que alcanzan el intervalo terapéutico óptimo al 5º día de inicio de la terapia. El porcentaje de pacientes que ha alcanzado el intervalo terapéutico óptimo el 5ª día tras el inicio de la terapia con tacrolimo ha sido del 46,8% (n=22). En la figura 36 se representa el porcentaje de pacientes que alcanzan el intervalo terapéutico óptimo el 5º día desde el inicio de la terapia con tacrolimo en función del grupo al que pertenecen, a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, se observa que un mayor porcentaje de pacientes del grupo control alcanzan el intervalo terapéutico óptimo al 5ª día de inicio de la terapia con tacrolimo (48% vs 45,5%).

En la tabla 69, se resume el resultado de los indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad en función del grupo al que pertenece el paciente, observándose una tendencia a mejorar los indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad en los pacientes del grupo de estudio respecto a los pacientes del grupo control, no obstante no se aprecian diferencias estadísticamente significativas a ningún nivel.

Tabla 69. Validación del protocolo de personalización terapéutica a partir de los indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad.

Indicador	Control (n=25)	Estudio (n=22)	p
Seguridad			
Is1 % monitorizaciones encima IT	18,71±15	14,49±9	ns
Is2 % reducciones de dosis	35,32±16,29	33,55±14,47	ns
Efectividad			
Ie1 % monitorizaciones debajo IT	22,36±19,49	20,94±15,59	ns
Ie2 % incrementos de dosis	12,01±9,1	11,16±8,1	ns
Ie3 Tiempo en alcanzar IT	6,84±3,76	6,68±3,6	ns
Ie4 % pacientes alcanzan IT día 5	48% (12)	45,5% (10)	ns

IT: intervalo terapéutico óptimo de tacrolimo (10-15 ng/ml); ns: estadísticamente no significativo ($p>0,05$).

En segundo lugar se ha estudiado la repercusión del protocolo de personalización terapéutica sobre los **indicadores clínicos**, a continuación se representa el valor de los indicadores clínicos en función del grupo de pacientes.

Indicador IC1. Porcentaje de pacientes con necrosis tubular aguda. El número de pacientes que desarrollaron necrosis tubular aguda durante el postrasplante inmediato fue de 18 (38,3%) no se han observado diferencias estadísticamente significativas entre la incidencia de necrosis tubular aguda en el grupo de estudio respecto a grupo control.

Indicador IC2. Tiempo en alcanzar Clcr mayor o igual a 60 ml/min. El tiempo en alcanzar el valor aclaramiento de creatinina óptimo (mayor o igual a 60 mg/dl) en el total de pacientes estudiados ha sido de 53 días, con un mínimo de 4 días y un máximo de 180 días por paciente. 24 pacientes no han alcanzado el valor de creatinina sérica óptimo durante el período de seguimiento (6 meses).

A pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas en función del grupo de pacientes, se observa que los pacientes del grupo de estudio tardan más tiempo en alcanzar el aclaramiento de creatinina óptimo que los pacientes del grupo control (45 días vs 21 días).

Indicadores IC3, IC4 e IC5. Porcentaje de pacientes que alcanzaron un aclaramiento de creatinina sérica mayor o igual a 60 mg/ml/min al mes, 3 meses y 6 meses postrasplante. El porcentaje de pacientes que alcanzaron un aclaramiento de creatinina sérica mayor o igual a 60 mg/ml/min al mes, 3 meses y 6 meses postrasplante respectivamente, fue de 27,7% (n=13), 38,3% (n=18) y 44,7% (n=21). El porcentaje de pacientes que alcanzan el valor de aclaramiento de creatinina óptimo al mes postrasplante es mayor en el grupo control respecto al grupo con personalización de la dosis inicial de tacrolimo (44% vs 9,1%, p=0,01). A los 3 y 6 meses postrasplante, a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas se observa que un mayor porcentaje de pacientes del grupo control alcanzan el aclaramiento de creatinina óptimo. En la tabla 70 se detallan los resultados de los indicadores en función del subgrupo al que pertenezca el paciente.

Tabla 70. Validación del protocolo de personalización terapéutica a partir de los indicadores clínicos.

Indicador	Control (n=25)	Estudio (n=22)	p
IC1 % Pacientes con NTA	36% (9)	41% (9)	ns
IC2 Tiempo en alcanzar ClCr\geq60 mg/ml/min	21 (4-180)	45 (4-180)	ns
IC3 % Pacientes con ClCr\geq60 mg/ml/min (1 mes PTx)	44% (11)	9,1% (2)	0,01
IC4 % Pacientes con ClCr\geq60 mg/ml/min (3 meses PTx)	48% (12)	27,3% (6)	ns
IC5 % Pacientes con ClCr\geq60 mg/ml/min (6 meses PTx)	66,7% (14)	33,3% (7)	ns

NTA: necrosis tubular aguda; Clcr: aclaramiento de creatinina; PTx: postrasplante; ns: estadísticamente no significativo (p>0,05).

Respecto a los **indicadores de práctica asistencial** definidos en el apartado 3.6.3 de material y métodos, no se observaron diferencias estadísticamente significativas en el resultado de los indicadores entre los pacientes del grupo control y los pacientes del grupo de estudio.

Indicador IP1. Dias de estancia postrasplante. La mediana de la estancia postrasplante en la población total fue de 11 días, con un mínimo de 7 días y un máximo de 24 días. Tal como se observa en la tabla 71, no se observaron diferencias en la estancia médica entre el grupo de estudio y el grupo control.

Indicador IP2. Número de monitorizaciones farmacocinéticas. Durante las 6 primeras semanas postrasplante se han realizado una media de 10 monitorizaciones farmacocinéticas de tacrolimo por paciente, correspondiendo con el estándar de práctica establecido, con un mínimo de 7 y un máximo de 15. Tal como se observa en la tabla 71, no se observaron diferencias en el número de monitorizaciones farmacocinéticas entre el grupo de estudio y el grupo control.

Indicador IP3. Número de consultas médicas. El número medio de consultas médicas realizadas por paciente durante los 6 primeros meses postrasplante fue de 15, coincidiendo con estándar de práctica establecido, con un mínimo de 8 y un máximo de 22. Tal como se observa en la tabla 71, no se observaron diferencias en el número de consultas médicas entre el grupo de estudio y el grupo control.

Tabla 71. Validación del protocolo de personalización terapéutica a partir de los indicadores de práctica asistencial.

Indicador	Control (n=25)	Estudio (n=22)	p
IP1 Días de estancia hospitalaria en el PTx inmediato	11 (7 - 24)	13 (8 -24)	ns
IP2 Número de monitorizaciones Fc	10 (7 -15)	11 (9-15)	ns
IP3 Número de consultas médicas	15 (10-22)	15 (8-22)	ns

PTx: postrasplante; Fc: farmacocinéticas; ns: estadísticamente no significativo (p>0,05).

Por último se han calculado los **indicadores económicos** definidos en el apartado 3.6.4 de material y métodos en función del grupo al que pertenece el paciente, no observándose diferencias estadísticamente significativas en el resultado de los indicadores entre los pacientes del grupo control y los pacientes del grupo de estudio.

Indicador IE1. Coste asociado a la estancia hospitalaria en el postrasplante inmediato. La coste medio por paciente asociado a la estancia postrasplante en la población total fue de 4.785 euros, con un mínimo de 2.422 euros y un máximo de 8.300 euros. Tal como se observa en la tabla 72 no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el coste por estancia en función del grupo de estudio.

Indicador IE2. Coste asociado a las monitorizaciones farmacocinéticas. El coste medio por paciente asociado a las monitorizaciones farmacocinéticas de tacrolimo fue de 597 euros, con un mínimo de 396 euros y un máximo de 848 euros. Tal como se observa en la tabla 72 no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el coste por monitorización farmacocinética en función del grupo de estudio.

Indicador IE3. Coste asociado al seguimiento del paciente trasplantado en la consulta de trasplante renal. El coste medio por paciente asociado a las consultas médicas realizadas durante los 6 primeros meses postrasplante fue de 572,8 euros, con un mínimo de 314 euros y un máximo de 864 euros. Tal como se observa en la tabla 72 no hubo diferencias estadísticamente significativas entre el coste por consulta médica en función del grupo de estudio.

Tabla 72. Validación del protocolo de personalización terapéutica a partir de los indicadores económicos.

Indicador	Control (n=25)	Estudio (n=22)	p
IE1 Coste asociado a la estancia hospitalaria	4.664 (2.422-8.304)	4.922 (2.768-8.304)	ns
IE2 Coste asociado a las monitorizaciones Fc	584 (396-848)	612 (509-848)	ns
IE3 Coste asociado a las CM	570 (393-864)	575 (314-864)	ns

Fc: farmacocinética; CM: consulta médica; ns: estadísticamente no significativo ($p > 0,05$).

Además de los indicadores descritos, para evaluar el impacto económico del protocolo de personalización terapéutica se ha calculado el coste asociado al tratamiento con tacrolimo en los pacientes en función del grupo al que pertenecen. Teniendo en cuenta que un envase de Prograf de 1mg (30 caps) cuesta 75,35 euros, correspondiendo a 2,51 euros por unidad, y que la dosis media de tacrolimo en el periodo de estudio ha sido de 434 mg por paciente del grupo control (mínimo 254 y máximo 742 mg) y de 349 mg por paciente del grupo de estudio (mínimo 115 y máximo 744). El **coste medio del tratamiento con tacrolimo por paciente**, en el periodo de estudio, ha sido de 1.088 euros por paciente del grupo control (mínimo 639 y máximo 1.862 euros por paciente) y de 875 euros por paciente del grupo de estudio (mínimo 288 y máximo 1.867 por paciente), no observándose diferencias estadísticamente significativas.

CAPÍTULO 5: DISCUSIÓN

Los pacientes tras el trasplante renal reciben tratamiento a largo plazo con fármacos inmunosupresores para prevenir la aparición de rechazo del órgano trasplantado. Dentro de los fármacos inmunosupresores se ha estudiado tacrolimo que se caracteriza por presentar un estrecho índice terapéutico y una elevada variabilidad inter e intraindividual, por ello los pacientes en tratamiento con tacrolimo son subsidiarios a la monitorización farmacocinética para individualizar la dosis de mantenimiento. A pesar de la monitorización farmacocinética se observa que no todos los pacientes alcanzan el intervalo terapéutico óptimo tan rápidamente como cabría esperar, comprometiendo así la eficacia del tratamiento inmunosupresor. En este entorno la medicina personalizada como herramienta para individualizar la dosis de tacrolimo en base a la carga genética del paciente puede permitir reducir la variabilidad interindividual y mejorar la respuesta a corto plazo de la terapia inmunosupresora.

En la presente tesis doctoral se han realizado dos estudios, en primer lugar un estudio retrospectivo, para evaluar la relación entre los polimorfismos presentes en los genes implicados en la respuesta farmacocinética a tacrolimo y su repercusión en la respuesta clínica de los pacientes, y en segundo lugar a partir de los resultados del estudio retrospectivo se ha aplicado un protocolo de personalización terapéutica de la dosis inicial de tacrolimo en base a la carga genética de los pacientes con el objetivo de incrementar la eficacia del tratamiento y reducir la toxicidad.

5.1. PACIENTES Y TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR

En el estudio retrospectivo se han incluido un total de 50 pacientes, el **tamaño muestral** es suficiente para observar resultados significativos, así varios estudios recientemente publicados en este entorno con una población similar, encuentran diferencias estadísticamente significativas en las variables de estudio en función del genotipo^{15,21}.

Además para un tamaño de muestra de 50 pacientes, al fijar un riesgo alfa del 5%, según el criterio universal de **Goodman (1993)**¹⁴⁷, se alcanza una **potencia** del 94%. Este resultado indica que la potencia del estudio es adecuada ya que es superior al 80%, y explica que en el 94% de los casos en los que se observan diferencias estadísticamente significativas en el resultado de la variable de estudio en función del genotipo, éstas existen realmente.

En todos los casos el **tratamiento inmunosupresor** ha incluido tacrolimo, micofenolato de mofetil y corticoides. La triple terapia con un inhibidor de calcineurina (tacrolimo o ciclosporina), un inhibidor de la proliferación celular (micofenolato de mofetil o micofenolato sódico) y un corticoide, es la terapia más utilizada de inicio en el postrasplante renal¹⁴⁸. Respecto al inhibidor de calcineurina de elección, ciclosporina y tacrolimo presentan el mismo grado de recomendación, no obstante en un metaanálisis realizado por **Webster y cols**² que incluía 30 ensayos clínicos en un total de 4.102 pacientes, se observó que en los pacientes tratados con tacrolimo se reducía significativamente la pérdida del trasplante a los 6 meses (RR 0,56; IC del 95%: 0,36 a 0,86), y la incidencia de rechazo agudo al año postrasplante (RR 0,69; IC del 95%: 0,60 a 0,79) respecto a los pacientes tratados con ciclosporina, por ello la tendencia actual es a utilizar mayoritariamente tacrolimo.

Las **dosis recibidas** de fármacos inmunosupresores en nuestra población de pacientes (tabla 31) son acordes a las indicadas para el postrasplante renal^{4,149,150}, no obstante se observó una elevada variabilidad en la dosis recibida de tacrolimo durante las seis primeras semanas postrasplante, desde 4,8 mg/día hasta 20 mg/día, para alcanzar el mismo ámbito terapéutico (10-15 ng/ml). Esta variabilidad en parte podría estar justificada porque tacrolimo presenta una cinética tiempo dependiente, de modo que a medida que incrementa el tiempo postrasplante se reduce la relación Cs/dosis y se requieren dosis menores para alcanzar el ámbito terapéutico óptimo, no obstante hay que considerar que pueden influir otros factores como la presencia de polimorfismos genéticos o interacciones farmacológicas que alteran la exposición al fármaco. En el caso de micofenolato de mofetil la dosis inicial para todos los pacientes fue de 2 g al día con reducciones posteriores generalmente a 1g al día al mes postrasplante y a 500 mg al día en el caso de intolerancia digestiva, y la dosis de prednisona fue de 20 mg con reducciones posteriores hasta la completa retirada, salvo en pacientes considerados de alto riesgo inmunológico en los que se dejó la dosis de mantenimiento indefinida de 5 mg diarios. En los pacientes que desarrollaron diabetes mellitus postrasplante se aceleró la retirada de prednisona, según indica en el apartado 3.1.4 de material y métodos.

Respecto a la **terapia de inducción**, la elección del fármaco inmunosupresor depende del riesgo inmunológico del paciente, en un estudio realizado por **Wagner y cols**¹⁵¹ se observó que en los pacientes con elevado riesgo inmunológico el tratamiento de inducción con timoglobulina mejoraba la respuesta clínica del injerto, no obstante se producían mas efectos adversos derivados de la mayor inmunosupresión tales como neoplasias o infecciones. En otros estudios¹⁵², no se han observado diferencias estadísticamente significativas en la presencia de rechazo agudo o necrosis tubular aguda en los pacientes en función del tratamiento de inducción utilizado, por ello el uso de timoglobulina se debe reservar a pacientes con mayor riesgo inmunológico, según los criterios

establecidos en el apartado 3.1.4 de material y métodos. En nuestro estudio, tal como se presenta en la tabla 31, el 60% de los pacientes han recibido terapia de inducción con timoglobulina (n=30) por presentar mayor riesgo inmunológico y el 34% de los pacientes (n=17) han recibido terapia de inducción con basiliximab. Esta estrategia permitió que no hubieran diferencias en la incidencia de rechazo agudo en los pacientes en tratamiento con basiliximab respecto a los pacientes en tratamiento con timoglobulina (17,6% vs 10%) a pesar del mayor riesgo inmunológico de estos últimos.

5.2. VARIABLES ESTUDIADAS

5.2.1. Variables basales.

El análisis de las variables basales permite conocer las características de la población estudiada e identificar posibles factores de confusión, ya que algunas variables influyen en la respuesta clínica del paciente y en la farmacocinética de tacrolimo, por ello pueden sesgar el resultado de las variables de estudio.

En general, la **edad** del paciente en el momento del trasplante esta relacionada con su supervivencia y su calidad de vida tras el trasplante renal, de modo que se observa que cuanto mas joven es el paciente trasplantado mayor es su supervivencia y mejor su calidad de vida; no obstante en la actualidad ha incrementado el número de trasplantes renales en pacientes de edad avanzada (mayor o igual a 65 años), en los cuales a pesar de que existen otros factores concomitantes¹⁵³ que pueden influir en la respuesta clínica se han observado resultados satisfactorios tanto a corto como a largo plazo^{154,155,156}. En la tabla 33 se observa que la edad media de nuestros pacientes es de 55 años, no obstante existen 11 pacientes (22%) con edad avanzada (mayor o igual a 65 años) que podrían presentar una peor respuesta tras el trasplante renal.

El **peso** medio de nuestros pacientes ha sido de 72 kg; en 5 pacientes (10%) se consideró que presentaban obesidad porque su IMC fue mayor o igual a 30 kg/m². En diversos estudios, se observa que los pacientes con sobrepeso presentan mayor incidencia de complicaciones quirúrgicas y no quirúrgicas, tales como las infecciones, diabetes, hipertensión y enfermedad cardiovascular^{157,158} que pueden repercutir en la evolución del trasplante renal. No obstante, la obesidad no constituye un criterio de exclusión para el trasplante renal ya que en otros estudios se concluye que a pesar de las complicaciones, el trasplante renal mejora la supervivencia y la calidad de vida en los pacientes obesos^{159,160}.

Diversos autores concluyen que el **sexo** del receptor^{161,162,163} no influye en la respuesta clínica tras el trasplante renal. No obstante, en otros estudios se observa que los pacientes de sexo masculino presentan cifras de creatinina sérica mas elevadas que las mujeres que se justifica por su mayor masa muscular^{164,165}. En nuestro estudio la proporción de mujeres es similar a la encontrada en otros estudios 33% (n=17), por ello no es de esperar que produzca un sesgo en los resultados (tabla 33).

El estudio de la **etnia** se considera obligatorio en todos los estudios genéticos, ya que el genotipo de los pacientes está relacionado con la etnia. En nuestro estudio el 92% (n=46) de los pacientes son caucásicos, por tanto la etnia no se ha considerado un factor de confusión para la interpretación de los resultados genéticos.

En cuanto a la *relación entre las variables basales y la farmacocinética de tacrolimo*, en primer lugar se ha considerado estudiar el valor de **hematocrito y hemoglobina** de nuestros pacientes, ya que tacrolimo se distribuye en gran medida a los glóbulos rojos, por tanto un descenso en el valor de hemoglobina o hematocrito puede producir un aumento del fármaco libre y una mayor

eliminación, produciendo consecuentemente una reducción en la concentración sanguínea de tacrolimo del paciente. Generalmente, el valor de hematocrito oscila entre el 35-45% y el valor de hemoglobina en torno a 12g/dl, nuestros pacientes presentan un valor de hematocrito y hemoglobina dentro del límite inferior de normalidad (tabla 33). Respecto al resto de variables, numerosos autores^{103,166,167,168,169,170} han evaluado su relación con la farmacocinética de tacrolimo, concluyendo que el sexo, la edad y el peso del paciente pueden influir en la farmacocinética de tacrolimo, según se observa en la tabla 33 el sexo, la edad y el peso de nuestra población de estudio se encuentra dentro de la normalidad por ello no es de esperar que se comporten como variables de confusión en la interpretación de los resultados farmacocinéticos.

Por otra parte dentro de las variables relacionadas con el **riesgo inmunológico del paciente** se encuentran, el número de retrasplantes, la necrosis tubular aguda, el número de incompatibilidades HLA entre el donante y el receptor, el tiempo de isquemia fría del órgano trasplantado y las características del donante. Estas variables pueden influir en la respuesta inmunológica de rechazo del paciente al órgano trasplantado y por ello es importante considerarlas a priori para establecer el tratamiento inmunosupresor.

Los pacientes que se someten a un **retrasplante** presentan mayor riesgo inmunológico a causa del desarrollo de anticuerpos contra el primer trasplante¹⁷¹, en nuestra población hay que considerar que 6 pacientes (12%) se sometieron a un retrasplante, de los cuales en 5 se trataba de un segundo trasplante (10%) y en 1 se trataba de un tercer trasplante (2%), por ello teóricamente presentaban un mayor riesgo de rechazo.

En nuestro estudio el 34% de los pacientes (n=17) presentaron necrosis tubular aguda. La **necrosis tubular aguda** es la principal implicada en la disfunción inicial del injerto y provoca la realización de una o varias sesiones de diálisis hasta la normalización de la función renal. Además, el desarrollo de necrosis

tubular aguda incrementa el potencial inmunógeno del injerto al inducir la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio capilar y de antígenos de clase II en el epitelio tubular e incrementar la expresión de antígenos de clase I, consecuentemente, en diversos estudios se ha concluido que la presencia de necrosis tubular aguda en el paciente trasplantado está relacionada con una mayor incidencia de rechazo agudo^{44,172,173}.

El promedio de **incompatibilidades HLA** entre donante y receptor en nuestro estudio ha sido de 3,5 con un mínimo de 1 y un máximo de 5 incompatibilidades. Se ha demostrado que la supervivencia del injerto es mayor cuanto mayor es la compatibilidad HLA entre el paciente y el donante¹⁷⁴.

El **tiempo de isquemia fría** es el tiempo de conservación del órgano trasplantado fuera del organismo, teóricamente el daño secundario a la isquemia fría favorece el rechazo debido a un incremento en la expresión de moléculas de histocompatibilidad, moléculas de coestimulación, como citoquinas inflamatorias y factores de crecimiento, y óxido nítrico. Consecuentemente, el tiempo de isquemia fría debe ser el mínimo posible, especialmente en los riñones de donantes marginales ya que generalmente presentan peor calidad, pero la propia logística de quirófanos y de preparación del receptor condiciona a menudo este objetivo. En la población de pacientes estudiada el tiempo medio de isquemia fría ha sido de 18,3 horas, similar al encontrado en otros estudios^{175, 176} por ello no es de esperar que influya en el riesgo de rechazo.

Es importante considerar las **características del donante**, para prever la evolución clínica de nuestra población de pacientes, tal como se observa en el apartado 2.1.2 de antecedentes, se entiende por donante marginal o con criterios expandidos si cumple uno de los siguientes criterios⁴⁰:

- Edad \geq 60 años, ó
- Edad entre 50-59 años con al menos 2 de los siguientes criterios:
 1. Causa de muerte: accidente cerebrovascular
 2. Historia previa de hipertensión arterial
 3. Creatinina sérica $>$ 1,5 mg/dl (valores procedentes de la última creatinina pre-extracción del riñón).
- Donantes a corazón parado

La edad media de nuestros donantes ha sido de 47,5 años y en el 37% de los casos (n=10) la muerte se produjo por accidente cardiovascular, por ello del total de donantes incluidos en el estudio, el 26% (n=13) se han considerado donantes marginales, por presentar edad igual o superior a 60 años o edad entre 50-59 años y causa de la muerte por accidente cerebrovascular. No hemos podido estudiar la historia previa de hipertensión arterial y la creatinina superior a 1,5 mg/ml, ya que al tratarse de un estudio retrospectivo en la mayoría de los donantes no estaban registradas, por otra parte en ningún caso se ha realizado un trasplante procedente de donante a corazón parado.

5.2.2. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-farmacocinética.

Como medida de la exposición a tacrolimo en el paciente se ha utilizado el valor de la concentración sanguínea mínima normalizada por la dosis diaria de tacrolimo y el peso de los pacientes, para ello se ha calculado la relación Cs/dosis/peso de los pacientes en cada determinación realizada durante las primeras 6 semanas postrasplante. A pesar de que el seguimiento de los pacientes se ha realizado durante el primer año postrasplante, para el análisis farmacocinético se han tenido en cuenta las 6 primeras semanas postrasplante ya que se considera que es el periodo con mayor riesgo de rechazo agudo y se

requiere una monitorización más exhaustiva, para alcanzar concentraciones sanguíneas mínimas más elevadas de tacrolimo en torno a 10-15 ng/ml.

Con la finalidad de interrelacionar la respuesta cinética con la presencia de polimorfismos genéticos, se ha estudiado la relación entre la variable calculada (relación Cs/dosis/peso) y el genotipo de los pacientes para los 14 polimorfismos definidos en el apartado 3.5.2 de material y métodos.

La normalización de la concentración sanguínea por la dosis diaria de tacrolimo y el peso del paciente se ha utilizado en numerosos estudios de farmacogenética en trasplante renal, por ello su cálculo es de gran interés para comparar nuestros resultados con los hallazgos publicados. No obstante, la mayoría de autores se limitan a estudiar los polimorfismos presentes en los genes que codifican las proteínas transportadoras y las enzimas metabólicas fase I; en este sentido nuestro estudio es más amplio ya que incorpora el análisis de los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II y el factor de transcripción PXR.

En relación al **gen MDR1** que codifica la proteína transportadora glicoproteína P, se ha estudiado la influencia de los polimorfismos en el exón en posición 21 (MDR1 2677) y en el exón en posición 26 (MDR1 3435) sobre la farmacocinética de tacrolimo. Los polimorfismos MDR1 2677 y MDR1 3435 provocan una falta de expresión de la glicoproteína P, por tanto no se realiza la función normal de ésta, consistente en expulsar tacrolimo a nivel intestinal; de este modo los pacientes con uno o dos alelos polimórficos en el gen presentarán una mayor concentración de tacrolimo en sangre que los pacientes con genotipo nativo. Los resultados de nuestro estudio son acordes a lo que cabría esperar para los polimorfismos en el exón en posición 26 (MDR1 3435) ya que según se observa en la figura 16, los pacientes con genotipo heterocigoto presentan una mayor relación Cs/dosis/peso que los pacientes con genotipo nativo, y en mayor

medida los pacientes con genotipo homocigoto presentan una mayor relación Cs/dosis/peso que los pacientes con genotipo heterocigoto y nativo, observándose diferencias estadísticamente significativas entre la relación Cs/dosis/peso en pacientes homocigotos y nativos ($p=0,018$). No obstante, al contrario de lo que cabría esperar, no se observa la misma tendencia para el polimorfismo en el exón en posición 21 (MDR1 2677), ya que la presencia del alelo polimórfico provoca una reducción, no estadísticamente significativa, en la concentración sanguínea de tacrolimo.

En la mayoría de estudios realizados en pacientes con trasplante renal no se observa relación entre la presencia de polimorfismos en los exones en posición 21 y 26 del gen MDR1 y la exposición a tacrolimo^{19,166,167}; no obstante algunos autores encuentran asociaciones. Así un meta-análisis realizado por **Li Y y cols**¹¹, que incluye 13 artículos con un total de 1.327 pacientes en tratamiento con tacrolimo, concluye que existe una correlación entre el genotipo MDR1 3435 y la farmacocinética de tacrolimo, ya que los pacientes con genotipo nativo presentan una menor relación Cs/dosis y requieren dosis mayores de tacrolimo para alcanzar el ámbito terapéutico óptimo, que los pacientes con genotipo heterocigoto u homocigoto. Del mismo modo, **Provenzani A y cols**¹⁵ estudiaron la influencia de los polimorfismos MDR1 2677 y MDR1 3435 sobre la concentración sanguínea mínima de tacrolimo al mes, tres y seis meses postrasplante en 50 pacientes caucásicos que se habían sometido a un trasplante renal, observándose que los pacientes con genotipo MDR1 2677 nativo necesitaban dosis mayores de tacrolimo que los pacientes con genotipo heterocigoto u homocigoto. **Wu P y cols**¹⁶ estudiaron el efecto de los polimorfismos MDR1 1236, 2677 y 3435, sobre la farmacocinética de tacrolimo en 63 pacientes chinos que se habían sometido a un trasplante renal observándose que los pacientes con genotipo nativo para MDR1 3435 alcanzaban una relación Cs/dosis menor comparada con los pacientes heterocigotos. Por último, **Singh R y cols**¹²⁸ en un estudio realizado sobre 75

pacientes indios que habían recibido un trasplante renal, observaron que los pacientes con genotipo nativo para MDR1 2677 y MDR1 3435 presentaban una menor relación Cs/dosis de tacrolimo al mes, tres y seis meses postrasplante que los pacientes con genotipo heterocigoto u homocigoto.

Los resultados encontrados en nuestro estudio a nivel del polimorfismo MDR1 3435 son acordes a los hallazgos encontrados por Li Y, Wu P y Singh R; no obstante hay que destacar que del mismo modo que ocurre con el polimorfismo MDR1 2677 en la mayoría de estudios no se encuentran relaciones entre la presencia de polimorfismos y la exposición a tacrolimo. Estos resultados en principio contradictorios, no implican necesariamente que la relación no exista sino que puede estar enmascarada por la existencia de otros factores como los polimorfismos en las enzimas metabólicas fase I o fase II, que pueden a su vez modificar la concentración de tacrolimo en el organismo. En nuestro caso no hemos incluido los haplotipos formados por el polimorfismo MDR1 2677 por presentar una frecuencia de aparición inferior al 2,5% en nuestros pacientes; no obstante algunos autores han llevado a cabo estudios que relacionan la concentración sanguínea de tacrolimo con la presencia de dichos haplotipos¹²⁷.

Respecto a los polimorfismos en los **genes que codifican las enzimas metabólicas fase I**, a pesar de que inicialmente incluimos en nuestro estudio los polimorfismos CYP3A5*3, CYP3A5*6, CYP3A5*8 y CYP3A5*9, tan solo hemos podido estudiar los polimorfismos CYP3A5*3 y CYP3A5*6, ya que todos los pacientes presentaban genotipo nativo para CYP3A5*8 y CYP3A5*9.

Los polimorfismos CYP3A5*3 y *6 provocan una alteración en el gen, de modo que no se puede expresar la enzima CYP3A5; este hecho condiciona que el metabolismo de tacrolimo se vea reducido en los pacientes con genotipo heterocigoto u homocigoto para estos polimorfismos provocando una reducción

del aclaramiento del fármaco del organismo y un incremento en su concentración sanguínea.

Los resultados que se presentan en la figura 17 son acordes a lo que cabría esperar, de modo que para el polimorfismo CYP3A5*3 a pesar de que ningún paciente presenta genotipo nativo relacionado con la expresión total de la enzima CYP3A5, la presencia del alelo polimórfico reduce considerablemente el metabolismo de tacrolimo. Así se observa que en los pacientes con genotipo homocigoto se duplica la concentración sanguínea de tacrolimo normalizada por la dosis y el peso, respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto, observándose diferencias estadísticamente significativas ($p < 0,0001$).

Existen numerosos estudios que evalúan la influencia del polimorfismo CYP3A5*3 sobre la farmacocinética de tacrolimo y en todos ellos se observa una marcada relación entre el genotipo CYP3A5*3 y la relación Cs/dosis/peso de tacrolimo. Así, en varias revisiones al respecto^{12,13,14} se pone de manifiesto que la presencia de uno o dos alelos polimórficos en el gen provoca un aumento significativo en la concentración sanguínea de tacrolimo y por ello los pacientes heterocigotos u homocigotos para el genotipo CYP3A5*3 requieren menos dosis de tacrolimo para alcanzar la concentración sanguínea objetivo que los pacientes con genotipo nativo. En la misma línea, **Barry y cols**¹⁷⁷ realizan una revisión sistemática que incluye 5 estudios en pacientes con trasplante renal en tratamiento con tacrolimo, con el objetivo de evaluar la asociación entre el polimorfismo CYP3A5*3 y la variable farmacocinética “aclaramiento oral aparente de tacrolimo”. El aclaramiento aparente de un fármaco que se administra por vía oral se define como el aclaramiento sistémico del fármaco dividido por su biodisponibilidad. En los 5 estudios incluidos en dicha revisión se observó que los pacientes con genotipo nativo o heterocigoto presentaban un aclaramiento oral aparente de tacrolimo superior a los pacientes con genotipo

homocigoto; la diferencia en el aclaramiento aparente en función del genotipo oscilo entre el 26% y el 65% dependiendo del estudio.

A raíz de los hallazgos encontrados, tal como se describe en el apartado 2.3.3 de antecedentes, varios autores han elaborado guías de dosificación de tacrolimo en base al genotipo CYP3A5*3^{22,23,131}, que se pueden aplicar en pacientes con trasplante renal bajo estudios controlados.

El polimorfismo CYP3A5*6 presenta una baja prevalencia en la población caucásica^{127,178,179}, por ello hasta la fecha ningún estudio ha demostrado la influencia del genotipo sobre la farmacocinética de tacrolimo. No obstante, en nuestro estudio un 14% de los pacientes (n=7) presentan genotipo heterocigoto para CYP3A5*6 y se observa que en estos pacientes se reduce la relación Cs/dosis/peso de tacrolimo respecto a los pacientes con genotipo nativo y consecuentemente requieren menos dosis para alcanzar la misma concentración sanguínea objetivo, aunque no se alcanza una relación estadísticamente significativa.

Respecto a los polimorfismos en los genes que codifican las **enzimas metabólicas fase II**, hemos estudiado los polimorfismos en los genes UGT1A8, UGT1A9 y UGT2B7. A nivel del gen UGT1A8 se encuentra el polimorfismo UGT1A8*3, en el cual la presencia del alelo polimórfico en el gen se traduce en una falta de actividad enzimática y consecuentemente se reduce la capacidad de metabolizar tacrolimo y se incrementa su concentración sanguínea. En la figura 20, se observa que los resultados hallados en nuestro estudio no son acordes a lo que cabría esperar ya que los pacientes que presentan genotipo homocigoto, relacionado con una reducción en el metabolismo, presentan una concentración sanguínea de tacrolimo menor que los pacientes con genotipo nativo relacionado con un mayor metabolismo de tacrolimo. Estos hallazgos en principio contradictorios se deben a la coexistencia de otros polimorfismos genéticos en el

paciente que se deben evaluar conjuntamente; por ello al analizar la relación de distintos haplotipos con la farmacocinética de tacrolimo (tabla 35) se observa que los haplotipos (GTGC, GTGT y GCGC) formados por los polimorfismos CYP3A5*3, UGT1A9*3, UGT1A8*3 y UGT2B7*2 provocan un incremento significativo en la relación Cs/dosis/peso de tacrolimo.

En relación al gen UGT1A9 se han estudiado los polimorfismos presentes en la región promotora del gen UGT1A9 -2152 y UGT1A9 -275 que provocan una mayor expresión enzimática; en consecuencia los pacientes con genotipo homocigoto presentarán un incremento en el metabolismo de tacrolimo y con ello una menor relación Cs/dosis/peso que los pacientes heterocigotos o nativos.

Además, se han estudiado los polimorfismos UGT1A9*3, UGT1A9*4 y UGT1A9*5, relacionados con una reducción en el metabolismo de tacrolimo y consecuentemente con una incremento en la relación Cs/dosis/peso. En el caso de los polimorfismos UGT1A9*3 y UGT1A9*5 la reducción en la actividad metabólica se debe a una menor actividad enzimática y en el caso del polimorfismo UGT1A9*4 se produce por una falta de actividad enzimática; por tanto es de esperar que las consecuencias del polimorfismo UGT1A9*4 sobre el metabolismo de tacrolimo sean mas marcadas que las producidas por UGT1A9*3 y UGT1A9*5.

En la figura 18 se observa que, según lo esperado tanto para el polimorfismo UGT1A9 -2152 como para UGT1A9-275 la presencia del alelo polimórfico provoca una reducción en la relación Cs/dosis/peso; así, los pacientes homocigotos presentan una menor exposición a tacrolimo que los heterocigotos y estos que los nativos, observándose diferencias estadísticamente significativas.

Hay que destacar que todos los pacientes han presentado genotipo nativo para UGT1A9*5 por tanto no se ha podido incluir en el análisis. En el caso de los

polimorfismos UGT1A9*3 y UGT1A9*4, si observamos la figura 19, en el polimorfismo UGT1A9*3 se cumple la relación esperada ya que los pacientes con genotipo heterocigoto presentan una relación Cs/dosis/peso estadísticamente superior a los pacientes con genotipo nativo, no obstante para el polimorfismo UGT1A9*4 no se observa ninguna relación ya que ambos subgrupos de pacientes presentan una relación Cs/dosis/peso similar. Este hallazgo puede deberse a la coexistencia en un mismo paciente de polimorfismos que incrementan la expresión de la enzima UGT1A9, que pueden neutralizar el efecto del polimorfismo UGT1A9*4, no obstante en este caso no hemos estudiado los haplotipos formados por UGT1A9*4 ya que presentaban una frecuencia de aparición inferior al 2,5% en nuestros pacientes.

En relación al gen UGT2B7, se ha estudiado el polimorfismo UGT2B7*2 que provoca que la enzima no se exprese. En estas circunstancias es de esperar que los pacientes homocigotos y heterocigotos presenten una reducción en el metabolismo de tacrolimo respecto a los pacientes con genotipo nativo y con ello un incremento en la concentración sanguínea. Al contrario de lo que cabe esperar, en la figura 20 se observa que los pacientes con genotipo homocigoto presentan una reducción en la relación Cs/dosis/peso respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto y estos a su vez respecto a los pacientes con genotipo nativo. Este hallazgo nos puede indicar que coexisten otros polimorfismos genéticos en el paciente que se deben evaluar conjuntamente; por ello al analizar la relación de distintos haplotipos con la farmacocinética de tacrolimo se observa que la presencia de los haplotipos (GTGC, GTGT y GCGC) formados por los polimorfismos CYP3A5*3, UGT1A9*3, UGT1A8*3 y UGT2B7*2 provocan un incremento significativo en la relación Cs/dosis/peso de tacrolimo (tabla 35).

Hasta la fecha no se ha publicado ningún estudio que relacione la presencia de polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II y la

farmacocinética de tacrolimo. No obstante algunos autores han puesto de manifiesto que en el metabolismo de tacrolimo también participan las enzimas metabólicas fase II. Así, **Firdaous y cols**¹³³ determinaron productos de glucuronidación de tacrolimo en la bilis humana, sin concretar qué isoenzimas participaban en el metabolismo. Posteriormente, **Strassburt y cols**¹³² realizaron un estudio sobre muestras tisulares para evaluar la metabolización de ciclosporina y tacrolimo mediante 11 UDP-glucuronosiltransferasas recombinantes y se puso de manifiesto que tacrolimo se metabolizaba a nivel hepático mayoritariamente y a nivel intestinal en menor medida, a través de la enzima UGT2B7. Mas recientemente un estudio publicado por **Laverdiere y cols**¹³⁴ realizado in vitro ha encontrado una elevada contribución de la isoforma UGT1A4 a la glucuronidación de tacrolimo, no obstante dicha isoforma no ha sido evaluada en nuestro estudio.

Respecto a los polimorfismos en el **gen PXR** que codifica el factor de transcripción PXR, se ha estudiado el polimorfismo en la secuencia 25385C/T, en el cual se observa que la presencia del alelo polimórfico T está relacionada con una menor producción de la enzima metabólica CYP3A4, ya que reduce la producción de ARNm hepático, y con ello con una mayor concentración de tacrolimo. Según presenta la figura 21 no se observa ninguna relación entre la presencia del polimorfismo PXR y la exposición a tacrolimo ya que los pacientes homocigotos y heterocigotos para el polimorfismo presentan una relación Cs/dosis/peso similar. Puede ser que el efecto de los polimorfismos sobre los factores de transcripción sea más débil por ello es necesario incrementar el tamaño de muestra para observar una relación a este nivel.

Hasta la fecha pocos estudios han evaluado el impacto del polimorfismo PXR - 25385C>T sobre la farmacocinética de tacrolimo. **Benkali y cols**¹³⁷ realizaron un estudio de farmacocinética poblacional en 31 pacientes trasplantados con el objetivo de desarrollar un modelo bayesiano que permitiera estimar los

parámetros farmacocinéticos de tacrolimo, así se tomaron muestras de sangre a las 0,33; 0,66; 1; 1,5; 2; 3; 4; 6 y 9 horas tras la administración de la dosis de tacrolimo para calcular el AUC, en el modelo final se observó que el hematocrito y el polimorfismo PXR -25385C>T eran las covariables más relacionadas con el aclaramiento de tacrolimo, de modo que al incrementar el número de alelos polimórficos en PXR se reducía el aclaramiento y al reducirse el hematocrito aumentaba el aclaramiento. La diferencia de los hallazgos encontrados por los autores y nuestros resultados, puede deberse a que hemos utilizado valores de concentración sanguínea mínima de tacrolimo y no hemos calculado el AUC de tacrolimo en los pacientes, por ello no disponemos de tantos valores de concentración. El cálculo del área bajo la curva es complejo en la práctica clínica habitual ya que requiere la extracción de varias muestras de sangre por paciente por ello no ha sido el objetivo de nuestro estudio.

5.2.3. Variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica.

El **rechazo agudo** es una de las principales complicaciones médicas a corto-medio plazo tras el trasplante renal y puede condicionar la evolución del injerto y del paciente a largo plazo.

En términos generales, el desarrollo de la reacción inmunológica de rechazo agudo está muy relacionado *con el tratamiento inmunosupresor instaurado*, con las actuales pautas de inmunosupresión basadas en la triple terapia inmunosupresora asociada a la terapia de inducción en el momento del trasplante se ha conseguido reducir la incidencia de rechazo agudo en la población hasta un 8-20%³. En nuestra población se observa una incidencia de rechazo agudo del 12%, situada en el ámbito de normalidad^{180, 181}.

Tacrolimo es un fármaco que cumple criterios de dosificación en base a la monitorización farmacocinética, según se observa en el apartado 2.3.2 de antecedentes, por ello para la individualización posológica se dispone de un valor objetivo de concentración sanguínea que permite conocer la exposición real del paciente al fármaco. Según **Staatz**⁵ y **Kershner**⁶ los pacientes con un valor de concentración mínima de tacrolimo por debajo del ámbito terapéutico establecido presentan un riesgo incrementado de rechazo agudo. En este sentido, la presencia de polimorfismos genéticos que alteran la biodisponibilidad o el metabolismo de tacrolimo puede repercutir en la incidencia de rechazo agudo en el paciente.

A excepción de los polimorfismos presentes en las regiones promotoras del gen UGT1A9 (-2152 y -275) que están relacionados con una mayor expresión de la enzima UGT1A9 y con menor exposición del paciente a tacrolimo, en el resto de polimorfismos estudiados la presencia de uno o dos alelos polimórficos en el gen provoca un aumento en la concentración sanguínea del fármaco incrementando la exposición a tacrolimo, por tanto es de esperar que en estos casos se reduzca el riesgo de rechazo agudo. En nuestro estudio, no se observa ninguna relación estadísticamente significativa entre el genotipo de los pacientes y el riesgo de rechazo agudo, no obstante según se detalla en la tabla 36, los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9*3 presentan un riesgo relativo un 70% menor de sufrir rechazo agudo que los pacientes con genotipo heterocigoto (IC95% 0,05-1,9), y en los pacientes con genotipo heterocigoto se observa un riesgo relativo un 57% inferior de presentar rechazo agudo que en los pacientes con genotipo nativo (IC95% 0,09-2,1). Del mismo modo, en el polimorfismo en la región promotora UGT1A9-275, como cabe esperar, se observa que los pacientes con genotipo heterocigoto presentan un riesgo relativo de presentar rechazo agudo un 13% superior que los pacientes con genotipo nativo (IC95% 0,14-8,6).

El hecho de no encontrar diferencias estadísticamente significativas, puede estar justificado por el reducido tamaño de la muestra, ya que al realizar un cálculo aproximado del tamaño muestral necesario para observar una diferencia en el riesgo de presentar rechazo agudo en función del genotipo, se observa que estableciendo un riesgo alfa del 5% y una potencia del 85%, para reducir el riesgo de rechazo agudo un 5% se necesitaría una población de 1.000 pacientes. Por otra parte hay que tener en cuenta que el rechazo agudo no solo está relacionado con el tratamiento inmunosupresor sino que está muy influenciado por las variables relacionadas con el riesgo inmunológico del paciente estudiadas en el apartado 5.2.1 por tanto la presencia de polimorfismos genéticos es un factor más que puede influir en la aparición de rechazo agudo pero no es el factor más influyente.

Diversos autores, han estudiado la asociación entre la presencia de polimorfismos en los genes MDR1 y CYP3A5, y el rechazo agudo, no obstante no se ha encontrado ningún estudio que evalúe la asociación a nivel de los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II o el factor de transcripción PXR. Al igual que ocurre en nuestro estudio la mayoría de autores no encuentran una relación estadísticamente significativa entre la presencia de polimorfismos en el paciente y el rechazo agudo^{17,19,102,129,130,167,182,183}; no obstante en el caso del polimorfismo CYP3A5*3 diferentes autores han obtenido resultados satisfactorios, en primer lugar **Macphee y cols**¹⁰ en un estudio realizado sobre 178 pacientes con trasplante renal a pesar de no encontrar diferencias en la incidencia de rechazo agudo en los pacientes en función del genotipo CYP3A5*3 observaron que en los pacientes con genotipo nativo y heterocigoto (CYP3A5*1*3 y CYP3A5*1*1) el rechazo agudo se producía más rápidamente que en los pacientes con genotipo homocigoto (CYP3A5*3*3), con un tiempo medio de 7 días versus 13 días, respectivamente, $p=0,005$. **Quteineh L y cols**⁹⁸ realizaron un estudio sobre 136 pacientes en tratamiento con tacrolimo que habían recibido un trasplante renal y observaron que los pacientes con genotipo

nativo (CYP3A5*1*1) presentaban una incidencia de rechazo agudo estadísticamente superior a los pacientes con genotipo heterocigoto (CYP3A5*1*3) y homocigoto (CYP3A5*3*3) durante el primer año postrasplante (38% vs 10% vs 9%, respectivamente). En la misma línea **Singh R y cols**¹⁸⁴ observaron en 73 pacientes en tratamiento con tacrolimo que habían recibido un trasplante renal, que los pacientes que no expresaban la enzima CYP3A5 (CYP3A5*3*3) presentaban un riesgo reducido de rechazo agudo respecto a los pacientes que si la expresaban (CYP3A5*1*3 y CYP3A5*1*1) (RR 0,18 IC95% 0,03 a 0,99). Más recientemente, **Min y cols**¹³⁰ en un estudio sobre 62 pacientes con trasplante renal el tratamiento con tacrolimo, y tras realizar una biopsia de control el día 10 postrasplante, observaron que los pacientes con genotipo nativo y heterocigoto para CYP3A5*3 (CYP3A5*1*1 y CYP3A5*1*3) presentaban una mayor incidencia de rechazo agudo grado 1 o superior según la clasificación de Banff que los pacientes con genotipo homocigoto (CYP3A5*3*3) (42% vs 28%; p=0,017).

En el caso de los polimorfismos en el gen MDR1 tan solo dos autores hasta la fecha han encontrado una relación estadísticamente significativa entre la presencia de polimorfismos y la incidencia de rechazo agudo. Así **Singh R y cols**¹²⁸ realizaron un estudio sobre 75 pacientes en tratamiento con tacrolimo que habían recibido un trasplante renal y analizaron la influencia de los polimorfismos en MDR1 en el exón en posición 12, 21 y 26 sobre el rechazo agudo. La incidencia de rechazo agudo en la población de estudio fue del 38% (29/75), los pacientes con genotipos heterocigoto y homocigoto para el polimorfismo en el exón 21 presentaron un riesgo de rechazo agudo menor que los pacientes con genotipo nativo (HR=0,37; p=0,045) y (HR= 0,31; p=0,010), respectivamente. Del mismo modo los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto para el polimorfismo en el exón 26 presentaron un riesgo de rechazo agudo menor que los pacientes con genotipo nativo (HR=0,35; p=0,014) y (HR=0,37; p=0,042), respectivamente. Tras realizar un análisis de Kaplan-Meier

se observó que en los pacientes con genotipo nativo para MDR1 2677 y MDR1 3435 el rechazo agudo se producía más rápidamente que en los pacientes con genotipo heterocigoto (log rank $P = 0,008$ y $0,015$), respectivamente. Por otra parte **Bardur S y cols**⁹⁷ aplicaron un modelo de regresión multivariante sobre 832 pacientes con trasplante renal para evaluar la contribución de los polimorfismos junto con otras variables clínicas al rechazo agudo y a la farmacocinética de tacrolimo y observaron que el rechazo agudo dependía del número de incompatibilidades HLA, la presencia de necrosis tubular aguda, la edad del paciente y los haplotipos en MDR1 (12, 21 y 26).

La **nefrotoxicidad** por tacrolimo es uno de los efectos adversos más importantes a tener en cuenta en los pacientes con trasplante renal ya que puede influir en la evolución del órgano trasplantado. Es importante realizar un diagnóstico diferencial entre la nefrotoxicidad aguda por tacrolimo y otras complicaciones como la necrosis tubular aguda, el rechazo agudo, la obstrucción del tracto urinario o la estenosis de la arteria renal, entre otras. El diagnóstico más preciso de la nefrotoxicidad por anticalcineurínicos se realiza mediante biopsia renal¹⁸⁵ no obstante, al tratarse de una técnica invasiva en ocasiones no es posible realizar la biopsia renal por tanto se recurre a parámetros más subjetivos, como al incremento de creatinina sérica asociado a valores de concentración sanguínea mínima de tacrolimo por encima de ámbito terapéutico^{6,7} que revierte al normalizar la concentración sanguínea.

A excepción de los polimorfismos en la región promotora del gen UGT1A9, los polimorfismos genéticos estudiados incrementan la biodisponibilidad y reducen el metabolismo de tacrolimo, por tanto provocan un incremento en su concentración sanguínea, es de esperar que en los pacientes que presenten uno o dos alelos polimórficos en el gen, el riesgo de nefrotoxicidad este incrementado ya que se trata de un efecto adverso concentración-dependiente.

De los 50 pacientes estudiados, el 44% (n=22) presentaron nefrotoxicidad, no obstante en tan solo 4 pacientes se confirmó la nefrotoxicidad a través de la biopsia renal, en el resto se atribuyó a un incremento de la creatinina sérica asociada a valores de concentración sanguínea de tacrolimo superiores a 15 ng/ml. En cuanto al riesgo de nefrotoxicidad en función del genotipo de los pacientes para los polimorfismos estudiados (tabla 37), se observó que los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3, MDR1 3435, MDR1 2677, UGT1A9*3, UGT1A8*3, UGT2B7*2 y PXR, presentaron mayor riesgo de nefrotoxicidad que los pacientes con genotipo heterocigoto y del mismo modo los pacientes con genotipo heterocigoto para CYP3A5*6, UGT2B7*2 y UGT1A8*3 presentaron mayor riesgo de nefrotoxicidad que los pacientes con genotipo nativo. No obstante, tan solo en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A8*3 se observó una relación estadísticamente significativa entre la presencia del polimorfismo y el riesgo de desarrollar nefrotoxicidad que puede estar relacionada con la presencia de haplotipos que provocan una mayor exposición a tacrolimo en los pacientes.

Varios autores han estudiado la relación entre los polimorfismos genéticos que alteran los parámetros farmacocinéticos de tacrolimo y la nefrotoxicidad, no obstante hasta la fecha en ningún estudio se incluyen los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II, ni el factor de transcripción PXR. En el caso de los polimorfismos en el gen MDR1 **Naesens y cols**¹⁸⁶ llevaron a cabo un estudio prospectivo sobre 252 pacientes que habían recibido un trasplante renal tratados con tacrolimo, micofenolato de mofetil y corticoides, para determinar que variables tenían mayor influencia sobre el daño tubular renal. Para evaluar el daño renal realizaron 744 biopsias renales obtenidas regularmente durante los 3 primeros años postrasplante y lo relacionaron con el genotipo MDR1 de los donantes y pacientes trasplantados, la expresión de la glicoproteína P a nivel renal y la exposición a tacrolimo. Concluyeron que los pacientes homocigotos para el genotipo MDR1 3435, que habían recibido un

trasplante renal de un paciente aioso con genotipo MDR1 3435 homocigoto y no expresaban glicoproteína P en las células renales presentaban un riesgo incrementado de susceptibilidad al daño tubulointersticial crónico en los órganos trasplantados. A pesar de las limitaciones de nuestro estudio, ya que no se han realizado biopsias renales y el seguimiento de los pacientes ha sido inferior, se observa que nuestros resultados son acordes a los obtenidos por **Naesens y cols**, ya que los pacientes homocigotos para el genotipo MDR1 3435 presentan un riesgo incrementado de nefrotoxicidad (RR_{ho/he}: 1,35; IC95%: 0,4-4).

Respecto a los polimorfismos en los genes que codifican la enzima CYP3A5, **Chen JS y cols**¹⁸² en un estudio sobre 67 pacientes que habían recibido un trasplante renal en tratamiento con tacrolimo, micofenolato de mofetil y corticoides analizaron la relación del genotipo CYP3A5 con la nefrotoxicidad por tacrolimo realizando una biopsia al mes postrasplante y observaron que la fibrosis intersticial y la degeneración macular fue mas severa en el grupo de pacientes con genotipo homocigoto CYP3A5*3*3 respecto a los pacientes con genotipo nativo CYP3A5*3*1 (p<0,05). En la misma línea, las revisiones realizadas por **Hesselink y cols**¹⁸⁷ y **Gijzen VM y cols**¹⁸⁸ concluyen que la baja expresión de MDR1 y CYP3A5 esta relacionada con un riesgo incrementado de desarrollar nefrotoxicidad por anticalcineurínicos. Nuestros hallazgos coinciden con los autores estudiados, ya que los pacientes homocigotos para el genotipo CYP3A5*3 presentan mayor riesgo de nefrotoxicidad que los pacientes heterocigotos, no obstante no se llegan a alcanzar diferencias estadísticamente significativas (RR 1,3; IC95% 0,49-3,3). Por otra parte, **Min y cols**¹³⁰ llevaron a cabo un estudio prospectivo sobre 62 pacientes en tratamiento con tacrolimo que habían recibido un trasplante renal y tras realizar una biopsia de control el día 10 postrasplante observaron que la toxicidad renal por tacrolimo era similar en el grupo expresor de CYP3A5 (CYP3A5*1*1, CYP3A5*1*3) y no expresor de CYP3A5 (CYP3A5*1*3) (13,8% vs 12,1%).

La incidencia de **neurotoxicidad** en la población de estudio ha sido del 66% (n=33), superior a la encontrada en la bibliografía^{189,190} además en todos los casos ha aparecido en forma de temblor. La relación entre la presencia de polimorfismos genéticos en el paciente y la aparición de neurotoxicidad puede deberse a dos causas, por una parte se trata de un efecto adverso concentración dependiente; por tanto, los polimorfismos genéticos que incrementen la biodisponibilidad y reduzcan el metabolismo de tacrolimo pueden incrementar el riesgo de sufrir neurotoxicidad; pero por otra parte puede estar directamente relacionado con la función de la glicoproteína P, ya que el transporte de tacrolimo hacia el cerebro depende del transporte activo del fármaco a través de la barrera hematoencefálica que está mediado por la glicoproteína P⁸⁴. En condiciones normales la glicoproteína P bombea el fármaco fuera del cerebro para impedir su acumulación, reduciendo la neurotoxicidad, no obstante ante la presencia de polimorfismos en el gen MDR1 se reduce la función normal de la glicoproteína P, por tanto se incrementa el paso de tacrolimo a través de la barrera hematoencefálica incrementando sus efectos tóxicos. Este efecto se demostró por **Yamauchi y cols**⁸⁵, que a partir de un estudio realizado sobre 17 pacientes con trasplante hepático concluyeron que la concentración sanguínea elevada de tacrolimo, la disfunción hepática y el polimorfismo MDR1 2677 eran variables predictoras de la neurotoxicidad inducida por tacrolimo.

Es de esperar que la suma de los dos efectos provoque un riesgo incrementado de sufrir neurotoxicidad por tacrolimo en los pacientes con genotipo homocigoto para MDR1 2677 y 3435. No obstante, según se describe en la tabla 38 en nuestro estudio se observa una leve tendencia no estadísticamente significativa a incrementarse el riesgo de neurotoxicidad en los pacientes con genotipo homocigoto para MDR1 3435 respecto a los pacientes heterocigotos (RR 1,1; IC95% 0,6-2) y respecto a los pacientes nativos (RR 1,16; IC95% 0,59-2,26) pero ninguna tendencia para el polimorfismo MDR1 2677. Estos resultados son acordes a los observados en la relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo, donde

los pacientes homocigotos para MDR1 3435 presentaban una mayor exposición a tacrolimo que los pacientes heterocigotos y nativos, pero ninguna relación en los pacientes con polimorfismos MDR1 2677. En este caso no se observa ninguna relación con el mecanismo de acción de la glicoproteína P, posiblemente causado porque el efecto del genotipo a nivel de la respuesta dinámica al fármaco es más sutil que a nivel cinético por tanto se requiere mayor tamaño de muestra para demostrarlo.

Respecto a las enzimas implicadas en el metabolismo de tacrolimo fase I y fase II, se observa en nuestra población de estudio una leve asociación entre la presencia de polimorfismos en los genes que codifican CYP3A5 y el riesgo de neurotoxicidad, de modo que los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3 presentan un riesgo relativo un 40% superior de sufrir neurotoxicidad que los pacientes con genotipo heterocigoto (IC95% 0,69-2,9), efecto relacionado con la mayor exposición a tacrolimo que presentan los pacientes homocigotos para CYP3A5*3. Respecto a los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A8*3 y UGT2B7*2 se observa mayor riesgo de sufrir neurotoxicidad que los pacientes con genotipo heterocigoto y nativo, no obstante, tan solo a nivel del polimorfismo UGT1A8*3 se observa una relación estadísticamente significativa entre la presencia de neurotoxicidad y el genotipo de los pacientes, así según se detalla en la tabla 38, los pacientes con genotipo homocigoto presentan un riesgo relativo 1,45 veces superior de sufrir neurotoxicidad que los pacientes con genotipo nativo (IC95% 1,15-1,84). A pesar de que en la figura 20 se observa que los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A8*3 no presentan un incremento en la relación Cs/dosis/peso media, el incremento del riesgo de neurotoxicidad puede estar justificado por la coexistencia de varios polimorfismos.

Pocos autores han evaluado el efecto de la concentración sanguínea de tacrolimo sobre la neurotoxicidad del paciente tras el trasplante renal; no obstante en

ningún caso se ha estudiado la correlación con la presencia de polimorfismos genéticos. **Bottinger y cols**¹²⁴ evaluaron la relación entre la concentración sanguínea de tacrolimo y los efectos adversos en 14 pacientes que habían recibido un trasplante renal a los que se les realizaron un total de 656 determinaciones, observando que la incidencia de neurotoxicidad en los pacientes incrementaba con el valor de concentración, así en el grupo de Cmin entre 5-20 ng/ml la incidencia de neurotoxicidad fue del 2%, en el grupo de Cmin entre 20-30 ng/ml del 10% y el grupo de Cmin >30ng/ml del 25%. En cambio, **Kwun y cols**¹⁹¹, a partir del estudio de un caso clínico de una paciente pediátrica que había recibido un trasplante renal, concluyeron que la neurotoxicidad por tacrolimo era independiente de la concentración sanguínea de tacrolimo, ya que se produjo a pesar de mantener la concentración sanguínea entre 5-10 ng/ml.

La **toxicidad metabólica** asociada a tacrolimo es concentración dependiente y puede aparecer en forma de dislipemia o diabetes mellitus. La dislipemia es más frecuente que la diabetes mellitus observándose en un 60% y 30% de los pacientes, respectivamente. Es difícil determinar el origen de la toxicidad metabólica ya que es multifactorial, por una parte los pacientes tras el trasplante renal inician tratamiento concomitante con corticoides que son fármacos que alteran el metabolismo de la glucosa y en menor proporción el de los lípidos y por otra parte puede atribuirse a muchos factores no farmacológicos como la edad, los antecedentes familiares, la dieta, el sobrepeso u otras alteraciones metabólicas¹¹⁹.

En nuestro estudio el 58% (n=29) de los pacientes presentaban dislipemia previa al trasplante renal y el 10% (n=5) de los pacientes diabetes mellitus previa al trasplante por ello se descartaron del análisis. De los pacientes que no presentaron alteraciones metabólicas antes del trasplante, 14 desarrollaron dislipemia (66%) y 8 desarrollaron diabetes mellitus (18%). Esta incidencia de

diabetes mellitus de novo en nuestra población fue similar a la encontrada por otros autores^{192, 193}.

Respecto a la relación entre el genotipo de los pacientes y la presencia de toxicidad metabólica, para los pacientes con polimorfismos genéticos a nivel del gen MDR1 en el exón 21 y 26, relacionados con una mayor biodisponibilidad de tacrolimo, se observó una tendencia a incrementar el riesgo tanto de diabetes mellitus ($RR_{he/n}$ 1,11; IC95% 0,31-4,01 para MDR1 3435 y $RR_{ho/he}$ 1,4; IC95% 0,2-9,1 para MDR1 2677) como de dislipemia ($RR_{ho/he}$: 1,6 ; IC95% 1-2,5 para MDR1 3435 y $RR_{ho/he}$:1,5; IC95% 1-2 para MDR1 2677), no obstante no se observaron diferencias estadísticamente significativas (tablas 39 y 40).

En el caso de la dislipemia también se observó una relación a nivel de las enzimas metabólicas fase I y II y de los factores de transcripción, aunque la relación con el genotipo CYP3A5 fue muy leve, se observa que en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT2B7*2 se duplica el riesgo de presentar dislipemia respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo, y en los pacientes con genotipo heterocigoto para UGT1A9*4 se incrementa el riesgo un 50% respecto a los pacientes con genotipo nativo. No obstante, tan solo se observa una relación estadísticamente significativa a nivel de los polimorfismos en el factor de transcripción PXR, así los pacientes con genotipo homocigoto presentan un riesgo relativo 1,73 veces superior de presentar dislipemia que los pacientes con genotipo heterocigoto (IC95% 1,18-2,53).

Pocos autores han encontrado una relación estadísticamente significativa entre la presencia de polimorfismos genéticos en el paciente y el riesgo de dislipemia, al igual que en nuestro estudio. **Wang P y cols**¹⁹ realizaron un estudio sobre 96 pacientes con trasplante renal en tratamiento con tacrolimo, con el objetivo de evaluar la influencia de los factores genéticos y clínicos del paciente sobre los requerimientos de dosis de tacrolimo, para ello analizaron 768 polimorfismos en

15 genes candidatos relacionados con el metabolismo, transporte y dianas moleculares de tacrolimo. Se observó que de todos los genotipos estudiados el genotipo CYP3A5*1 fue el que mayor relación tenía con la exposición a tacrolimo, así los pacientes con genotipo CYP3A5*1 nativo requirieron mayor dosis de mantenimiento de tacrolimo, mas incrementos de dosis y consecuentemente tenían mayor riesgo de infradosificación. No obstante, en estos pacientes se observó una menor incidencia de dislipemia postrasplante.

La relación entre la diabetes mellitus postrasplante y la presencia de polimorfismos genéticos ha sido estudiada por varios autores. Así, **Numakura y cols**¹⁹² realizaron un estudio sobre 71 pacientes que habían recibido un trasplante renal en tratamiento con tacrolimo con el objetivo de determinar cuales eran los factores de riesgo relacionados con la aparición de diabetes mellitus de novo postrasplante, para ello analizaron la presencia de polimorfismos en los genes relacionados con la biodisponibilidad de tacrolimo, (CYP3A5 y MDR1), con la secreción de insulina (receptor de la vitamina D “VDR”) y con la sensibilidad a la insulina. Tras realizar un análisis multivariante se observó que las variables que presentaban mayor correlación con la aparición de diabetes mellitus postrasplante eran la edad del paciente (superior a 50 años) y la presencia del alelo VDR TaqI t, no se encontró relación entre los polimorfismos relacionados con la biodisponibilidad de tacrolimo y la aparición de diabetes mellitus postrasplante. Estos resultados son acordes con nuestros resultados y pueden explicarse porque la incidencia de diabetes mellitus postrasplante en la población es baja por tanto se requiere un tamaño de muestra mas elevado para que se observen diferencias estadísticamente significativas para los polimorfismos estudiados. Por otra parte, **Kuypers y cols**⁹⁶ llevaron a cabo un estudio prospectivo observacional sobre 304 pacientes con trasplante renal para evaluar la relación entre la función retardada del injerto, la aparición de diabetes mellitus, la concentración sanguínea de tacrolimo y los polimorfismos en los genes CYP3A4, CYP3A5 y MDR1. Para ello realizaron un modelo de regresión

logística que concluyó que la edad del paciente (OR 1,044 IC95% 1,009-1,080), la C_{min} elevada de tacrolimo el día 1 postrasplante (OR 1,048 IC95% 1,017-1,080) y la función retardada del injerto (OR 2,968 IC95% 1,107-7,959) estaban relacionadas con un riesgo aumentado de diabetes mellitus postrasplante. En el modelo final no se incluyeron los polimorfismos genéticos, no obstante en un análisis paralelo se observó que los pacientes no expresores de CYP3A5 (CYP3A5*3*3) presentaban una mayor C_{min} de tacrolimo el día 1 postrasplante, por tanto indirectamente se relacionó el riesgo de desarrollar diabetes mellitus postrasplante con el genotipo CYP3A5*3*3.

Prácticamente la totalidad de los pacientes en lista de espera para recibir un trasplante renal presentan **hipertensión arterial** debida a la propia enfermedad renal crónica, por tanto en nuestro estudio se ha evaluado la asociación entre la presencia de polimorfismos genéticos asociados con tacrolimo y la complicación de la hipertensión arterial previa como efecto adverso de este fármaco, definiéndola como una alteración en la hipertensión arterial que requiere la administración de 1 o mas fármacos antihipertensivos al tratamiento previo al trasplante.

En nuestros resultados (tabla 41) se observa una elevada relación entre el genotipo de los pacientes y la complicación de la hipertensión arterial previa, tal como cabría esperar los pacientes homocigotos para los polimorfismos CYP3A5*3, MDR1 3435, MDR1 2677, UGT1A8*3 y PXR, relacionados con una mayor exposición a tacrolimo, presentaron mayor riesgo de complicación de la hipertensión arterial previa que los pacientes heterocigotos y del mismo modo los pacientes heterocigotos para CYP3A5*6, MDR1 3435, MDR1 2677, UGT1A9*4 y UGT1A8*3 presentaron un riesgo superior a los pacientes nativos, observándose diferencias estadísticamente significativas en los pacientes con genotipo homocigoto para los polimorfismos MDR1 3435, MDR1 2677 y UGT1A8*3, respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto.

A pesar de que la hipertensión arterial en el enfermo renal es multifactorial y no se puede atribuir únicamente a la concentración sanguínea de tacrolimo, en nuestra población de estudio se ha observado que el riesgo de complicación de la hipertensión arterial es superior en los pacientes con polimorfismos que alteran la función de la glicoproteína P y con ello la biodisponibilidad de tacrolimo. Así en el caso del polimorfismo MDR1 3435 los pacientes con genotipo homocigoto presentan prácticamente el doble de riesgo de complicación de la hipertensión arterial que los pacientes con genotipo heterocigoto y nativo ($RR_{ho/he}$ 1,6; $IC95\%$ 1,2-2,14, y $RR_{ho/n}$ 2,43; $IC95\%$ 1,38-4,29), al igual que los pacientes que presentan el polimorfismo MDR1 2677 ($RR_{ho/he}$ 1,7; $IC95\%$ 1,3-2,2 y $RR_{ho/n}$: 2,33; $IC95\%$ 1,27-4,27).

Estos hallazgos son acordes a los encontrados por **Stratta y cols**¹⁶⁶ los cuales a partir de un análisis de regresión múltiple realizado sobre 450 pacientes con trasplante renal demostraron que los pacientes que requerían una dosis menor de tacrolimo tenían mas riesgo de desarrollar infecciones (OR 1,533; $p=0,008$) y de presentar hipertensión arterial sistólica (OR 1,385; $p=0,022$). A su vez el menor requerimiento de dosis de tacrolimo estaba relacionado con el genotipo homocigoto CYP3A5*3 ajustado por los polimorfismos MDR1 en el exón 12 y 26 (OR 8,104, $p=0,0001$).

Por último, la presencia de **infecciones** en el paciente con trasplante renal esta fuertemente relacionada con su estado de inmunosupresión, por ello la terapia inmunosupresora puede potenciar el desarrollo de infecciones en estos pacientes. El fármaco inmunosupresor más relacionado con el desarrollo de infecciones es el micofenolato de mofetilo ya que entre sus efectos adversos destaca la leucopenia que es un factor de riesgo para el desarrollo de infecciones oportunistas; no obstante, tacrolimo por el hecho de ser un fármaco inmunosupresor puede potenciar su desarrollo.

Del total de pacientes incluidos en el presente estudio el 50% (n=25) presentaron infecciones bacterianas, generalmente infecciones del tracto urinario producidas por microorganismos gram negativos muy frecuentes en el paciente tras el trasplante renal, tan solo el 12% de los pacientes presentaron infecciones víricas, en 6 casos producidas por CMV y en 1 solo caso por el virus BK. Respecto al riesgo de desarrollar infecciones en función del genotipo, tan solo se observó una tendencia a presentar mayor incidencia de infecciones en los pacientes homocigotos para MDR1 2677 y PXR respecto a los pacientes heterocigotos y en los pacientes heterocigotos CYP3A5*6, MDR1 3435 y MDR1 2677 respecto a los pacientes nativos, no obstante en ningún caso se observó una relación estadísticamente significativa (tabla 42).

La relación entre los polimorfismos genéticos que reducen la concentración de tacrolimo y el desarrollo de infecciones ha sido menos estudiada. **Stratta y cols**¹⁶⁶ al realizar un análisis multivariante sobre 450 pacientes con trasplante renal demostraron que los pacientes que requerían una dosis menor de tacrolimo tenían mas riesgo de desarrollar infecciones (OR 1,533; p=0,008) y de presentar hipertensión arterial sistólica (OR 1,385; p=0,022), a su vez el menor requerimiento de dosis de tacrolimo estaba relacionado con el genotipo homocigoto CYP3A5*3 ajustado por los polimorfismos MDR1 en el exón 12 y 26 (OR 8,104, p=0,0001).

En resumen, según se observa en la siguiente tabla (tabla 73), los polimorfismos que reducen la expresión de la glicoproteína P, **MDR1 3435** y **MDR1 2677**, relacionados con una mayor biodisponibilidad de tacrolimo, incrementan el riesgo de sufrir complicación de la hipertensión arterial previa. Respecto a los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II, el polimorfismo **UGT1A8*3**, aumenta el riesgo de sufrir nefrotoxicidad, neurotoxicidad y complicación de la HTA previa en los pacientes, a pesar de no incrementar la relación Cs/dosis/peso. Por otra parte, la presencia del polimorfismo **PXR**, a

causa de provocar un incremento en el porcentaje de monitorizaciones supraterapéuticas de tacrolimo (tabla 45) aumenta el riesgo de desarrollar dislipemia de novo postrasplante.

Tabla 73. Polimorfismos que influyen significativamente en el riesgo de sufrir efectos adversos.

Gen (loc)	Polimorfismo	RR (IC95%)					
		NefroT	DL	DM	HTA	NeuroT	Inf
MDR1 (GI)	MDR1 (3435)				ho/he: 1,6 (1,2-2,1) ho/n: 2,4 (1,4-4,3)		
	MDR1 (2677)				ho/he: 1,7 (1,3-2,2) ho/n: 2,3 (1,3-4,3)		
UGT (Hep)	UGT1A8*3	ho/he: 1,5 (1,1-2,3) ho/n: 2,9 (1,8-4,7)			ho/n: 2 (1,5-2,9)	ho/he: 1,7 (1,1-2,5) ho/n: 1,5 (1,2-1,8)	
PXR (núcleo)	PXR		ho/he 1,7 (1,2-2,5)				

Loc: localización; RR: riesgo relativo; IC95%: intervalo de confianza del 95%; NefroT: nefrotoxicidad; DL: dislipemia de novo; DM: diabetes mellitus de novo; HTA: complicación de la hipertensión arterial previa; NeuroT: neurotoxicidad; Inf: infección.

5.3. ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO

Tal como se desarrolla en el apartado 2.3.2 de antecedentes, tacrolimo es un fármaco con elevada variabilidad intra e interindividual y con un estrecho índice terapéutico, por ello el ajuste de dosis en base a la monitorización farmacocinética permite incrementar la eficacia y seguridad del fármaco en los pacientes trasplantados. La monitorización farmacocinética de tacrolimo ha demostrado su utilidad clínica no solo para prevenir los episodios de rechazo del órgano trasplantado por concentraciones sanguíneas bajas, o minimizar la toxicidad inducida por concentraciones sanguíneas elevadas del fármaco, sino también para controlar las interacciones farmacológicas y la falta de adherencia del paciente al tratamiento.

En la última conferencia de consenso para la optimización de la terapia con tacrolimo en trasplante de órgano sólido³, se puso de manifiesto la importancia de la monitorización farmacocinética para el seguimiento del paciente con tacrolimo, es por ello que actualmente forma parte de la práctica clínica habitual en el seguimiento del paciente trasplantado.

Para llevar a cabo nuestro estudio se han tenido en cuenta las monitorizaciones realizadas durante las seis primeras semanas postrasplante, ya que es el periodo más crítico postrasplante observándose una mayor incidencia de complicaciones, tanto relacionadas con la infradosificación como con la sobredosificación por tacrolimo.

En el Servicio de Farmacia del hospital universitario Dr. Peset se realiza la monitorización farmacocinética de tacrolimo a todos los pacientes tras el trasplante renal, la frecuencia de monitorizaciones durante las seis primeras semanas postrasplante se sintetizan en la tabla 18 del apartado de material y métodos. En términos generales se realizan una media de 12 determinaciones por paciente, con el objetivo de mantener un ámbito de concentración sanguínea mínima entre 10-15 ng/ml.

En los 50 pacientes incluidos en el estudio se han realizado un total de 558 determinaciones, correspondiendo a una media de 11 determinaciones por paciente, similar a la establecida según el calendario de monitorización. Hay que destacar que prácticamente la mitad de las monitorizaciones realizadas (42%) se encontraban fuera de ámbito terapéutico, comprometiendo la eficacia y toxicidad de la terapia con tacrolimo, en estos casos fue necesario realizar una recomendación farmacoterapéutica de individualización de la pauta posológica, para alcanzar una concentración sanguínea dentro del intervalo terapéutico óptimo.

En función de si la determinación farmacocinética se encontrara por encima o por debajo de ámbito terapéutico, se recomendó reducir o incrementar la dosis de tacrolimo. Así se realizaron un total de 182 reducciones de dosis, correspondientes a 122 determinaciones fuera de ámbito y un total de 80 incrementos de dosis correspondientes a 120 determinaciones por debajo de ámbito. Se observa que el número de reducciones de dosis realizadas por el nefrólogo fue mayor al número de determinaciones por encima de ámbito y, por el contrario, el número de aumentos de dosis fue inferior al número de determinaciones por debajo de ámbito, esta situación indica que los facultativos son más conservadores en los incrementos de dosis que en las reducciones. Este hallazgo, en parte puede explicarse porque en nuestro centro se ha establecido un ámbito terapéutico de 10-15 ng/ml las primeras seis semanas postrasplante sin tener en cuenta el resto de la terapia inmunosupresora; no obstante los actuales estudios realizados en inmunosupresión tienden a descender el ámbito terapéutico a 5-10 en los casos de inducción con timoglobulina⁸, tal como se observa en la tabla 31, el 60% de los pacientes recibieron tratamiento de inducción con timoglobulina; por tanto en estos casos aunque no se pretendía alcanzar el ámbito terapéutico de 5-10 ng/ml establecido en la bibliografía se tendió a mantener el valor de concentración sanguínea en el límite inferior a las establecidas en nuestro centro.

5.4. ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO

Puesto que la distribución de los polimorfismos en la población depende de la etnia de los pacientes, se han comparado nuestros resultados con los esperados en la población caucásica¹⁷⁹. En primer lugar hay que destacar que tal como cabe esperar en la población caucásica, el 100% de los pacientes presentaron genotipo nativo para los polimorfismos CYP3A5*8, CYP3A5*9, UGT1A9*5, el 86% de los pacientes presentaron genotipo nativo para CYP3A5*6 y el 94% para UGT1A9*3.

En los polimorfismos presentes en el **gen MDR1**, la mayoría de los pacientes (56%) presentaron genotipo heterocigoto tanto para MDR1 2677 como para MDR1 3433 y a nivel del polimorfismo CYP3A5*3 presente en los genes que codifican las **enzimas metabólicas fase I**, tal como indica en la bibliografía ningún paciente presentó genotipo nativo y la mayoría presentaron genotipo homocigoto (82%).

En los polimorfismos presentes en los **genes que codifican las enzimas metabólicas fase II** se observó que en la mayoría de polimorfismos los resultados eran acordes a los esperados en la población caucásica (tabla 44), así en el caso de UGT1A9 -2152 y UGT1A8*3 la mayoría de pacientes presentaban genotipo nativo, 76% y 66%, respectivamente, y en el caso de UGT2B7*2 el 60% presentaban genotipo heterocigoto. No obstante, se observaron discrepancias a nivel de los polimorfismos UGT1A9 -275 y UGT1A9*4, ya que según la bibliografía prácticamente el 100% de los pacientes caucásicos presentan genotipo nativo, y en nuestro caso la proporción de pacientes heterocigotos y homocigotos fue superior a la esperada, siendo del 64% y 2%, respectivamente para el polimorfismo UGT1A9 -275 y del 46% y 54%, respectivamente para el polimorfismo UGT1A9*4.

Respecto al polimorfismo **PXR**, en la población caucásica se observa una distribución homogénea entre el genotipo nativo, heterocigoto y homocigoto; no obstante en nuestro estudio al contrario de lo que cabría esperar ningún paciente presentó genotipo nativo, y la mayoría de los pacientes presentaron genotipo heterocigoto (84%).

5.5. INDICADORES DE CALIDAD ASISTENCIAL Y SEGURIDAD EN EL PACIENTE

Para mejorar la calidad en la práctica clínica es importante evaluar la misma, la evaluación de la calidad surge como comparación entre situaciones previamente definidas como deseables y la realizada, analizando las discrepancias y aportando sugerencias para evitarlas. Uno de los instrumentos que permite medir y comparar situaciones es la aplicación de indicadores, que son instrumentos de medida cuantitativa que pueden usarse como guía para monitorizar, evaluar y mejorar la calidad de importantes actividades desarrolladas en la asistencia al paciente y de los servicios de apoyo que afectan a los resultados en los pacientes¹⁹⁴.

En este trabajo hemos planteado la utilización de indicadores por una parte para evaluar la situación actual de la práctica farmacocinética, clínica, asistencial y económica sobre nuestros pacientes, y por otra parte para estudiar la influencia de determinados polimorfismos genéticos sobre el resultado de los indicadores.

5.5.1. Indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad.

Las guías de dosificación de tacrolimo, a partir de diversos estudios descritos en el apartado 2.3.2 de antecedentes que relacionan la C_{min} de tacrolimo con la incidencia de rechazo agudo o efectos adversos del fármaco^{22,23,131}, han establecido el ámbito terapéutico óptimo para la profilaxis del rechazo en pacientes con trasplante renal entre 5-15 ng/ml, en función del tratamiento concomitante y el periodo postrasplante, de este modo se ha observado que concentraciones inferiores a 5 ng/ml pueden comprometer la eficacia del tratamiento y concentraciones superiores a 15 ng/ml pueden incrementar la toxicidad. Para calcular los indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad

se ha tenido en cuenta el ámbito terapéutico de tacrolimo de 10-15 ng/ml, por ser el estandarizado en nuestro centro para la individualización posológica de tacrolimo en los pacientes durante las 6 primeras semanas postrasplante, sin tener en cuenta el tratamiento inmunosupresor concomitante.

Se han establecido los indicadores definidos en la tabla 27 como medida indirecta de la eficacia o toxicidad del tratamiento con tacrolimo, de modo que suponemos que los pacientes con mayor porcentaje de determinaciones fuera de ámbito terapéutico están expuestos a un riesgo mayor de fracaso terapéutico o de aparición de efectos adversos. Además se ha evaluado el resultado de los indicadores en función de los 14 polimorfismos genéticos establecidos en el apartado 3.5.2 de material y métodos, para medir si la presencia de alelos polimórficos en el gen influye en los resultados de la monitorización farmacocinética en el paciente.

Si analizamos el resultado de los **indicadores farmacocinéticos de seguridad IFs1 y IFs2** en función del genotipo (tablas 45 y 46) se observa que los pacientes con genotipo homocigoto para el polimorfismo CYP3A5*3 presentan un porcentaje de determinaciones supraterapéuticas muy superior a los pacientes con genotipo heterocigoto (23,9% vs 8,9%, $p < 0,05$), consecuentemente el porcentaje de reducciones de dosis que sufren los pacientes homocigotos respecto a los pacientes heterocigotos también es superior (39,7% vs 21,1%, $p < 0,05$). Estos resultados son acordes a los descritos en la figura 17 donde se observaba que los pacientes con genotipo homocigoto presentaban una relación Cs/dosis/peso muy superior a los pacientes con genotipo heterocigoto ($p < 0,001$), por ello los pacientes homocigotos para el genotipo CYP3A5*3 como cabe esperar alcanzarán un mayor número de concentraciones supraterapéuticas y requerirán más reducciones de dosis de tacrolimo que los pacientes heterocigotos ya que presentan una mayor exposición a tacrolimo.

En el caso del polimorfismo CYP3A5*6, a pesar de que no se encuentran diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de concentraciones supraterapéuticas entre el grupo de pacientes con genotipo heterocigoto y nativo, se observa que los pacientes con genotipo heterocigoto requieren más reducciones de dosis que los pacientes con genotipo nativo (40,9% vs 35,7%, $p < 0,05$), esta discrepancia se debe a la tendencia que presentan los nefrólogos a reducir dosis de tacrolimo cuando el valor de concentración sanguínea se encuentra próximo al límite superior, sin esperar a que se encuentre por encima del mismo.

Respecto a los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II, en concreto en los polimorfismos en la región promotora del gen UGT1A9 -2152 y UGT1A9 -275, al igual que ocurría con la relación Cs/dosis/peso presentada en la figura 18, donde se observaba que la presencia del alelo polimórfico en el gen provocaba un descenso en la exposición a tacrolimo, el resultado de los indicadores nos indica que los pacientes con genotipo homocigoto presentan menos concentraciones supraterapéuticas que los pacientes heterocigotos y éstos que los pacientes nativos tanto en UGT1A9 -2152 (22,4% vs 16,1% vs 13,6%, $p < 0,05$) como en UGT1A9 -275 (29% vs 20,2% vs 14,9% $p < 0,05$). No obstante, para los pacientes con genotipo homocigoto el porcentaje de concentraciones sanguíneas supraterapéuticas no es proporcional al porcentaje de reducciones de dosis. Esta discrepancia, al igual que ocurría en el caso del polimorfismo CYP3A5*6, se debe a que la reducción de dosis se ha realizado cuando el valor de concentración sanguínea se encontraba próximo al límite superior, sin alcanzar concentraciones supraterapéuticas. Por tanto, en este subgrupo, se produce paradójicamente un incremento en el porcentaje de reducciones de dosis a pesar de que el porcentaje de concentraciones supraterapéuticas es menor.

Un hallazgo significativo es el encontrado en el gen PXR, en el cual a pesar de que inicialmente no se evidenciaba una mayor exposición a tacrolimo en los

pacientes homocigotos respecto a los heterocigotos (figura 21), los indicadores nos muestran que el porcentaje de concentraciones supraterapéuticas es superior para los pacientes homocigotos respecto a los heterocigotos (30,9% vs 18,9% $p < 0,05$) y a su vez el porcentaje de reducciones de dosis es superior en los pacientes homocigotos respecto a los heterocigotos (48,8% vs 34%, $p < 0,05$). Este resultado está justificado porque la presencia del alelo polimórfico reduce la síntesis de CYP3A4 y con ello el metabolismo de tacrolimo, incrementando sus valores sanguíneos. No obstante, el hecho de que se modifique el indicador sin repercutir en la relación Cs/dosis/peso puede explicarse porque la exposición a tacrolimo se ha medido a partir del *valor medio* de la relación Cs/dosis/peso. El cálculo del valor medio enmascara la variabilidad de los datos, por tanto en este caso se observa que en los pacientes homocigotos existe una mayor variabilidad farmacocinética ya que aunque no se observan diferencias en el valor medio de la relación Cs/dosis/peso en función del genotipo hay mayor porcentaje de concentraciones supraterapéuticas como resultado de una mayor dispersión en los datos de concentración sanguínea.

Para el resto de polimorfismos no se encuentran diferencias estadísticamente significativas a nivel de los indicadores farmacocinéticos de seguridad.

En los **indicadores farmacocinéticos de eficacia** se ha estudiado no solo el porcentaje de concentraciones infraterapéuticas (IFe1) y las reducciones de dosis (IFe2) por paciente sino también el tiempo que tardan los pacientes en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo de tacrolimo (IFe3, IFe4), ya que la demora en alcanzar niveles terapéuticos en el postrasplante inmediato puede estar relacionada con el desarrollo de rechazo agudo en el paciente.

En los *polimorfismos en los genes que codifican la glicoproteína P*, relacionados directamente con la biodisponibilidad de tacrolimo, se observa que los pacientes con genotipo nativo, al mantener la función normal de la glicoproteína P,

presentan una menor exposición a tacrolimo (figura 16) y consecuentemente el porcentaje de concentraciones infraterapéuticas es mayor y requieren más incrementos de dosis que los pacientes heterocigotos y homocigotos (tablas 47 y 48). Del mismo modo, la biodisponibilidad reducida de tacrolimo en los pacientes con genotipo nativo también influye en el tiempo que alcanzan el porcentaje terapéutico óptimo, así se observa que el tiempo medio en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo de tacrolimo desde el inicio de la terapia es muy superior en los pacientes con genotipo nativo respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto, tanto en el polimorfismo MDR1 3435 (6,2 días vs 3,8 días vs 2 días, $p<0,05$) como para el polimorfismo MDR1 2677 (5,4 días vs 4,1 días vs 3,5 días, $p<0,05$), consecuentemente se observa que en ambos polimorfismos el 100% de los pacientes homocigotos han alcanzado el intervalo terapéutico óptimo el 5^a día de la terapia con tacrolimo, respecto al 50-58% de los pacientes en el caso del genotipo nativo.

En los *polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase I*, al igual que ocurría en los indicadores farmacocinéticos de seguridad, los pacientes con polimorfismos *CYP3A5*3* presentan una elevada correlación entre el genotipo y los indicadores farmacocinéticos de eficacia. Así se observa que los pacientes con genotipo heterocigoto presentan más del doble de concentraciones infraterapéuticas que los pacientes homocigotos (41,2% vs 16,3%, $p<0,05$) y consecuentemente requieren más incrementos de dosis de tacrolimo (29,1% vs 11,9%, $p<0,05$). Este hecho provoca que los pacientes con genotipo homocigoto para *CYP3A5*3* alcancen el intervalo terapéutico óptimo de tacrolimo 5 días antes que los pacientes heterocigotos, observándose que el 5^o día del inicio de la terapia con tacrolimo el 80,5% de los pacientes con genotipo homocigoto han alcanzado el intervalo terapéutico óptimo respecto a tan solo el 44,4% de los pacientes heterocigotos ($p<0,05$).

En el caso de los polimorfismos en los genes que codifican las *enzimas metabólicas fase II*, no se observa ninguna relación estadísticamente significativa entre el genotipo del paciente y los indicadores farmacocinéticos de eficacia (tablas 47 a 50).

Por último respecto al *gen que codifica el factor de transcripción PXR*, al igual que ocurría con el indicador farmacocinético de seguridad, se observa una elevada relación entre el genotipo PXR y los indicadores farmacocinéticos de eficacia, así los pacientes con genotipo heterocigoto para PXR presentan un valor muy superior de concentraciones infraterapéuticas a los pacientes con genotipo homocigoto (23,5% vs 6,1%, $p < 0,05$) y a su vez requieren más incrementos de dosis (16,1% vs 9,5%, $p < 0,05$). Todo ello repercute, aunque más levemente, en el tiempo en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo, observándose que los paciente con genotipo homocigoto para PXR alcanzan el intervalo terapéutico óptimo más rápidamente que los pacientes heterocigotos (3 días vs 4,6 días, $p < 0,05$) así el 72,5% de los pacientes homocigotos han alcanzado el intervalo terapéutico óptimo el 5º día del inicio de la terapia con tacrolimo respecto al 66,7% de los pacientes con genotipo heterocigoto.

Hay que destacar la elevada correlación que existe entre los polimorfismos que influyen directamente sobre la biodisponibilidad de tacrolimo y los indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad, evidenciándose en nuestra población que la presencia de polimorfismos genéticos en los pacientes repercute en el seguimiento farmacocinético del paciente trasplantado y con ello en la práctica clínica asistencial. Hasta la fecha pocos autores han estudiado la asociación entre la presencia de polimorfismos genéticos en los pacientes y sus resultados en la monitorización farmacocinética. Aunque todos ellos se han centrado en el polimorfismo CYP3A5*3 los hallazgos encontrados han sido similares a nuestro estudio; así, **MacPhee y cols**¹⁰ realizaron un estudio sobre 178 pacientes con trasplante renal y observaron que a las dos semanas postrasplante, el porcentaje

de pacientes que presentaban concentraciones infraterapéuticas (<10 ng/ml) fue inferior en el grupo de pacientes con genotipo homocigoto respecto a los heterocigotos o nativos (4% vs 17%, $p=0,0005$), además el porcentaje de pacientes que presentó al menos una concentración sanguínea supraterapéutica (>15 ng/ml) fue del 63,2% en el caso de los pacientes con genotipo homocigoto respecto al 45,3% en los pacientes con genotipo heterocigoto y nativo. Los pacientes con genotipo heterocigoto y nativo tardaron más tiempo en alcanzar el ámbito terapéutico óptimo que los pacientes con genotipo homocigoto y esto repercutió en el tiempo de aparición del rechazo agudo, siendo de 13 días en pacientes con genotipo homocigoto respecto a 7 días en pacientes con genotipo heterocigoto o nativo. **Wang y cols**¹⁹ realizaron un estudio sobre 96 pacientes con trasplante renal donde observaron que el porcentaje de pacientes con concentración sanguínea de tacrolimo dentro del ámbito terapéutico establecido durante las dos primeras semanas postrasplante (8-12 ng/ml) fue de 0% en el grupo de pacientes con genotipo nativo (CYP3A5*1*1), 29% en el grupo de pacientes con genotipo heterocigoto (CYP3A5*3*1) y 41% en el grupo de pacientes con genotipo homocigoto (CYP3A5*3*3). Del mismo modo, en el grupo de pacientes con genotipo nativo se observó un mayor porcentaje con concentraciones de tacrolimo por debajo de ámbito terapéutico que en el grupo de pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto, respectivamente (78% vs 61% vs 43%).

5.5.2. Indicadores clínicos.

La **necrosis tubular aguda** es una complicación muy común en el paciente trasplantado y consiste en una disfunción inicial del injerto renal en el postoperatorio inmediato que requiere la realización de una o varias sesiones de diálisis. Generalmente su incidencia oscila entre un 15-40% en trasplantes de origen cadavérico y depende de factores como el tiempo de isquemia fría, las características del órgano trasplantado o la terapia inmunosupresora. Es

importante aplicar medidas para reducir la necrosis tubular aguda en el paciente trasplantado ya que se ha demostrado que incrementa la incidencia de rechazo agudo y empeora la evolución a corto plazo tanto del trasplante renal como del paciente.

Entre los indicadores clínicos hemos incluido el porcentaje de pacientes con necrosis tubular aguda ya que, aunque no esté directamente relacionada con el tratamiento inmunosupresor, puede afectar al resto de indicadores estudiados tanto clínicos como de práctica asistencial.

El porcentaje de pacientes que ha desarrollado necrosis tubular aguda en nuestra población de estudio ha sido del 34%, situándose dentro de los ámbitos de normalidad. Si analizamos la incidencia de necrosis tubular aguda en función de los polimorfismos genéticos que presenta el paciente, a pesar de no encontrarse una relación estadísticamente significativa con ningún polimorfismo estudiado, se observa una tendencia a que los pacientes con genotipo nativo, relacionados con una menor exposición a tacrolimo, presenten una mayor incidencia de necrosis tubular aguda. Este hallazgo se produce principalmente en los polimorfismos que alteran la biodisponibilidad de tacrolimo MDR1 3435, MDR1 2677 y CYP3A5*3, y en el polimorfismo PXR. Existen controversias en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II, ya que en algunos casos se cumple la misma condición, es decir para UGT1A9-2152, UGT1A9*3, UGT1A9*4 y UGT2B7*2 a menor exposición de tacrolimo mayor incidencia de necrosis tubular aguda, sin embargo en otros casos se produce el efecto contrario para UGT1A9 -275 y UGT1A8*3 a menor exposición de tacrolimo menor incidencia de necrosis tubular aguda (tabla 51).

El hecho de que al reducirse la exposición a tacrolimo en el paciente se incremente la necrosis tubular aguda, nos indica que el desarrollo de la necrosis

tubular aguda es multifactorial y su correlación con la concentración sanguínea de tacrolimo es muy baja.

Varios autores han estudiado la relación entre la necrosis tubular aguda y el genotipo de los pacientes, tanto para los polimorfismos en MDR1 como para los polimorfismos en CYP3A5, en el estudio realizado por **Glowacki y cols**¹⁷ al igual que ocurre en nuestro estudio, los genotipos CYP3A5 y MDR1 no tuvieron relación con la incidencia de función retardada del injerto en los pacientes. No obstante por el contrario, **Kuypers y cols**⁹⁶ si encontraron una asociación entre la presencia de necrosis tubular aguda y la exposición a tacrolimo, así al realizar un estudio prospectivo observacional sobre 304 pacientes con trasplante renal para evaluar la relación entre la función retardada del injerto, la aparición de diabetes mellitus, la concentración sanguínea de tacrolimo y los polimorfismos en los genes CYP3A4, CYP3A5 y MDR1, observaron que la función retardada del injerto se asoció con una Cmin inicial de tacrolimo mayor y una dosis diaria menor, principalmente en pacientes no expresores de CYP3A5.

La administración crónica de corticoides y las alteraciones inmunológicas e inflamatorias que se producen en el postrasplante renal disminuyen la masa muscular y la generación de creatinina del paciente provocando que la relación entre concentración de creatinina sérica y aclaramiento de creatinina sea distinta a la observada en el paciente no trasplantado. Por ello las guías clínicas para el cuidado del paciente con trasplante renal^{195,196}, recomiendan el cálculo del **aclaramiento de creatinina** a partir del valor de creatinina sérica para realizar el seguimiento de la función del trasplante renal. Esta permitido el cálculo con cualquiera de las fórmulas validadas en adultos, no obstante hemos escogido la fórmula de Cockcroft-Gault por estar ampliamente utilizada en nuestro centro.

Un incremento lento o un descenso anormal del aclaramiento de creatinina durante el seguimiento postrasplante es indicativo de una alteración a nivel del injerto renal que debe ser evaluada. La nefrotoxicidad por tacrolimo es

concentración dependiente por ello la concentración sanguínea de tacrolimo puede afectar el aclaramiento de creatinina y la evolución del trasplante renal. Se ha considerado el aclaramiento de **creatinina sérica** superior o igual a 60 mg/ml/min como valor óptimo de función renal (estadio 2 de enfermedad renal crónica según clasificación de la K/DOQI¹⁴⁴).

En cuanto al **tiempo en alcanzar el aclaramiento de creatinina óptimo** tras el trasplante renal, en general, se espera que los pacientes con genotipos no expresores presenten una mayor exposición a tacrolimo y tarden más en normalizar los valores séricos de creatinina. Así, a pesar de no alcanzarse diferencias estadísticamente significativas en función del genotipo, se observó que los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3, UGT2B7*2 y PXR tardaron más tiempo en alcanzar el aclaramiento de creatinina óptimo que los pacientes con genotipo heterocigoto y/o nativo (47,2 vs 32 días, en el caso de CYP3A5*3; 80 vs 36 vs 30 días, en el caso de UGT2B7*2 y 74 vs 31,6 días, en el caso de PXR). A su vez los pacientes con genotipo nativo para UGT1A9-273 tardaron más tiempo en normalizar su valor de creatinina sérica que los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto (102 vs 35 vs 12,5 días) (tabla 52).

En cuanto a la proporción de pacientes que alcanzan el **valor de creatinina óptimo al mes, tres y seis meses postrasplante**, se observó que una mayor proporción de pacientes con genotipo homocigoto para el polimorfismo PXR, alcanzaron el aclaramiento de creatinina óptimo al mes postrasplante, respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto (19% vs 50%; $p=0,06$). Este hallazgo, es contradictorio al observado en el indicador IC2 donde los pacientes con genotipo homocigoto tardaban más tiempo en alcanzar el aclaramiento de creatinina óptimo, no obstante puede explicarse porque aunque el 50% de los pacientes homocigotos para PXR alcancen el intervalo terapéutico óptimo al mes postrasplante, el resto tardan más de seis meses en alcanzarlo; al calcular el

indicador IC2 se utiliza el tiempo medio por ello se enmascaran los valores extremos. En el caso del polimorfismo MDR1 3435 a pesar de que al primer mes postrasplante no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los genotipos, si se ha observado que un mayor porcentaje de pacientes homocigotos alcanzaron el aclaramiento de creatinina óptimo a los 3 (35,3% vs 20,7% vs 75% $p=0,07$) y 6 meses postrasplante (35,3% vs 20,7% vs 75% $p<0,05$) respecto a los pacientes heterocigotos y nativos. Tanto para el polimorfismo PXR como para MDR1, se observa que, al contrario de lo que cabría esperar, en el subgrupo de pacientes con genotipo homocigoto, relacionado con una mayor exposición a tacrolimo y mayor riesgo de nefrotoxicidad, hay mas pacientes que alcanzan el valor de creatinina óptimo al mes, tres y seis meses postrasplante que en el subgrupo de pacientes con genotipo heterocigoto y nativo. Este hallazgo nos indica que en nuestro grupo de pacientes la concentración sanguínea de tacrolimo influye muy levemente en el aclaramiento de creatinina sérica (tablas 53-55).

La mayoría de autores han estudiado la repercusión de los polimorfismos genéticos sobre la toxicidad renal por anticalcineurínicos^{182,186,187,188} y no sobre la normalización de la función renal tras el trasplante, por ello es difícil comparar el resultado de nuestro indicador con otros estudios. No obstante, en el estudio realizado por **Kuypers y cols**⁹⁶ a pesar de centrarse en la nefrotoxicidad por tacrolimo se observan resultados acordes a los nuestros, así al evaluar la relación entre el genotipo CYP3A4, CYP3A5, MDR1 y la nefrotoxicidad por tacrolimo evidenciada por biopsia, en 95 pacientes que habían recibido un trasplante renal se observó que los pacientes con genotipo nativo (CYP3A5*1*1) presentaban más nefrotoxicidad que los pacientes con genotipo homocigoto (CYP3A5*3*3), los autores lo justifican porque los pacientes con genotipo nativo tardan mas tiempo en alcanzar la concentración sanguínea de tacrolimo objetivo y requirieron mas modificaciones de dosis por ello se exponen a concentraciones mayores de metabolitos tóxicos.

5.5.3. Indicadores de proceso asistencial.

El cuidado del paciente trasplantado implica una serie de recursos tanto humanos como económicos que es importante controlar. Distintas asociaciones han determinado los cuidados básicos que conlleva el seguimiento del paciente trasplantado estableciendo un estándar de práctica asistencial, de modo que un paciente en condiciones normales debe de cumplir con dicho estándar.

No obstante, en algunas situaciones determinados pacientes requieren un mayor número de cuidados y con ello un mayor consumo de recursos, por ello es importante conocer a priori que pacientes pueden requerir mas cuidados y diseñar protocolos con el objetivo de normalizar y minimizar el consumo de recursos en dichos pacientes.

Los indicadores de proceso asistencial se han establecido con el fin de conocer si la práctica asistencial de nuestro centro es acorde a los estándares establecidos por las asociaciones y, por otra parte, se ha analizado su correlación con el genotipo para determinar si los polimorfismos genéticos repercuten en el proceso asistencial.

El primer indicador estudiado ha sido la **estancia postrasplante (IP1)**, en general tras el trasplante el tiempo de estancia medio del paciente depende de las complicaciones que se producen en el postrasplante inmediato y está directamente relacionada con la evolución de la función renal. En condiciones normales, en el paciente con diuresis inmediata y descenso de la creatinina plasmática el seguimiento es sencillo, y salvo otras complicaciones puede retirarse la sonda vesical a los 7 días y darle de alta, no obstante si el paciente presenta necrosis tubular aguda o diuresis escasa y descenso lento de los niveles de creatinina plasmática requiere una estancia hospitalaria más prolongada.

Nuestros pacientes presentaron una estancia media de 13,8 días valor que corresponde con el óptimo según la bibliografía^{197,198}. Se observó (tabla 56) un incremento estadísticamente significativo, de 12 días en la estancia hospitalaria media de los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9-2152 y de 9 días en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A8*3, respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo. Según se muestra en las figuras 19 y 23, los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9 -2152 y UGT1A8*3 presentaban una menor relación Cs/dosis/peso que los pacientes con genotipo heterocigoto o nativo, por tanto el incremento en la estancia hospitalaria se podría atribuir a la menor exposición sistémica a tacrolimo en este subgrupo de pacientes durante el período crítico del trasplante renal. En el caso de los polimorfismos en los genes que alteran la biodisponibilidad de tacrolimo o los factores de transcripción no se observó ninguna relación.

Por otra parte se ha estudiado el número de **monitorizaciones farmacocinéticas (IP2)**, tal como hemos visto en el apartado 2.3.2 de antecedentes la monitorización farmacocinética forma parte de la práctica clínica habitual del paciente trasplantado y se ha demostrado su beneficio para el control de la terapia inmunosupresora. Como hemos visto reflejado en el estudio de los indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad, se observa que el genotipo de los pacientes está relacionado con el tiempo en alcanzar el ámbito terapéutico óptimo y con el porcentaje de concentraciones efectivas de los pacientes, de modo que el hecho de que se encuentren pacientes que tarden más en alcanzar el intervalo terapéutico y requieran más ajustes de dosis para mantener niveles sanguíneos óptimos puede repercutir en la práctica clínica asistencial.

En nuestro estudio se han realizado una media de 11 monitorizaciones farmacocinéticas por paciente, correspondiendo con el estándar de práctica establecido en las primeras 6 semanas postrasplante (12 determinaciones). Si observamos la relación entre el genotipo de los pacientes y el número de

monitorizaciones (tabla 57), los pacientes con genotipo nativo para MDR1 3435 requirieron un 20% más de monitorizaciones que los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto (12 monitorizaciones vs 10 monitorizaciones; $p < 0,05$). Para el resto de genotipos no se observaron diferencias estadísticamente significativas, no obstante para los polimorfismos que afectan la biodisponibilidad de tacrolimo (CYP3A5*3, CYP3A5*6, MDR1 2677) y para el polimorfismo en PXR, se observa la misma tendencia, es decir los pacientes con genotipo nativo o heterocigoto requieren un mayor número de monitorizaciones que los pacientes con genotipo homocigoto.

Para los polimorfismos en los genes que codifican los enzimas metabólicos fase II, tan solo se observa dicha tendencia para UGT1A9 -2152, para el resto se observan resultados controvertidos. Estos resultados están relacionados con los observados en los indicadores farmacocinéticos, ya que los pacientes que tardan más en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo de tacrolimo y presentan un mayor porcentaje de monitorizaciones por debajo de ámbito terapéutico requieren un seguimiento farmacocinético más exhaustivo.

El tercer indicador de proceso asistencial estudiado ha sido el **número de consultas médicas (IP3)**, en general el número de consultas está establecido a priori en los estándares de práctica clínica, no obstante puede verse modificado por complicaciones médicas en el paciente relacionadas o no con el tratamiento inmunosupresor. El número de monitorizaciones farmacocinéticas puede estar relacionado indirectamente con el número de consultas médicas, ya que si un paciente presenta menor exposición a tacrolimo y requiere más monitorizaciones para alcanzar el ámbito terapéutico óptimo, se verá comprometida la eficacia del tratamiento y requerirá más consultas médicas hasta que se consiga mantener una adecuada relación concentración/dosis de tacrolimo. En este sentido, resulta de interés estudiar la relación entre el número de consultas médicas y el genotipo de los pacientes.

En el periodo de seguimiento, se han realizado una media de 20 consultas médicas por paciente, coincidiendo con el estándar de práctica establecido. A pesar de que en ningún caso se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el número de consultas y el genotipo, se observa al igual que en el indicador IP2, que para los polimorfismos relacionados con la biodisponibilidad de tacrolimo (MDR1 3435, 2677, CYP3A5*3, CYP3A5*6) y para PXR existe una tendencia a que se incremente el número de consultas en los pacientes con genotipo nativo o heterocigoto, es decir los pacientes que presentan una baja exposición a tacrolimo y tardan más tiempo en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo requieren entre 1 o 2 consultas médicas más que los pacientes con genotipo homocigoto.

En los pacientes con polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II solo se produce dicha tendencia a nivel de UGT1A9*3 y UGT1A9*4. Estos resultados son acordes a los encontrados en los indicadores farmacocinéticos donde se observaba una baja correlación entre los polimorfismos genéticos a este nivel y los indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad.

5.5.4. Indicadores económicos.

El seguimiento del paciente trasplantado supone un elevado coste para el sistema nacional de salud, ya que gracias a la evolución en la inmunosupresión y a las prácticas quirúrgicas, se trata de pacientes crónicos con una elevada esperanza de vida.

El estudio de los indicadores económicos permite no solo conocer si el coste medio de nuestros pacientes se aproxima al estándar de práctica establecido, sino también identificar que polimorfismos genéticos repercuten en mayor medida en el consumo de recursos. El estudio de dichos polimorfismos permitirá elaborar

protocolos aplicables a pacientes en función del genotipo que aporten un beneficio clínico y económico a los pacientes tras el trasplante renal.

El coste medio asociado al primer año de seguimiento de un paciente trasplantado ha sido de 6.220 euros, del cual el coste medio por **estancia hospitalaria** (IE1) representa el 77% (4.790 euros por paciente). En nuestra muestra de pacientes no se ha observado ninguna relación entre el coste asociado a la estancia hospitalaria y el genotipo de los pacientes, tan solo en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9 -2152 y UGT1A8*3 se aprecia un incremento estadísticamente significativo en el coste medio por estancia hospitalaria, relacionado con una menor exposición a tacrolimo en los pacientes. Estos resultados son acordes a los observados en el tiempo de estancia hospitalaria.

Respecto al coste asociado a las **monitorizaciones farmacocinéticas (IE2) y al seguimiento del paciente en la consulta de trasplante renal (IE3)**, el coste medio asociado a la monitorización farmacocinética por paciente ha sido de 630 euros y el coste asociado a la consulta de trasplante renal ha sido de 800 euros. Se ha observado una relación estadísticamente significativa entre el coste asociado a las monitorizaciones farmacocinéticas y el genotipo MDR1 3435, así los pacientes con genotipo nativo, como consecuencia del mayor número de monitorizaciones, consumen 70 euros más que los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto. En el caso de los polimorfismos genéticos que modifican la biodisponibilidad de tacrolimo (MDR1 2677 y enzimas metabólicas fase I) y en el gen PXR, se observa una tendencia a incrementar el coste asociado a la monitorización farmacocinética y al seguimiento en la consulta de trasplante renal en los pacientes con genotipo nativo o heterocigoto, relacionado con una menor exposición a tacrolimo, respecto a los pacientes con genotipo homocigoto, observándose una diferencia que puede variar desde los 10 euros hasta los 100 euros por paciente. Este hecho está relacionado con el incremento

en el número de monitorizaciones farmacocinéticas y de consultas médicas que se produce como consecuencia de la baja exposición de tacrolimo en los pacientes. Al igual que ocurre en los indicadores de proceso asistencial, no se observa ninguna relación entre los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II y los indicadores económicos.

En la tabla 74, se resume el resultado de los indicadores de calidad y seguridad, que presentan relaciones estadísticamente significativas en función del grupo genotípico al que pertenece el paciente. Así, se observa que tanto los polimorfismos relacionados con la biodisponibilidad y el metabolismo fase I de tacrolimo (CYP3A5*3, CYP3A5*6, MDR1 3435 y MDR1 2677) como el polimorfismo en el factor de transcripción PXR, influyen en gran proporción sobre los indicadores farmacocinéticos de eficacia y seguridad. Para el resto de indicadores la relación es más débil, de modo que tan solo a nivel del gen MDR1, se observa que la presencia del polimorfismo MDR1 3435 está correlacionada con la proporción de pacientes que alcanzan el aclaramiento de creatinina óptimo a los 3 y 6 meses postrasplante (IC4 y IC5), con el número de monitorizaciones farmacocinéticas (IP2) y con el coste asociado a ellas (IE2).

Respecto a los polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabólicas fase II, los más influyentes son UGT1A9 -2152, UGT1A9 -275 y UGT1A8*3. UGT1A9 -2152 tiene repercusiones a nivel de los indicadores farmacocinéticos (porcentaje de concentraciones supratrapéuticas), de los indicadores de práctica asistencial (tiempo de estancia postrasplante) y consecuentemente de los indicadores económicos (coste asociado al tiempo de estancia postrasplante). UGT1A9 -275 tiene repercusiones a nivel de los indicadores farmacocinéticos (porcentaje de concentraciones supratrapéuticas y porcentaje de reducciones de dosis) y UGT1A8*3 tiene repercusiones a nivel de los indicadores de práctica asistencial (tiempo de estancia postrasplante) y consecuentemente de los indicadores económicos (coste asociado al tiempo de estancia postrasplante).

Tabla 74. Indicadores correlacionados con el genotipo del paciente (p<0,05)

Gen	Polimorfismo	Ind	Genotipo				
			Nativo	Heterocigoto	Homocigoto		
CYP3A5	CYP3A5*3	IFs1	-	8,9 (3,9)	23,9 (3,6)		
		IFs2	-	21,1 (5,5)	39,7 (2,5)		
		IFe1	-	41,2 (6,1)	16,3 (2,2)		
		IFe2	-	29,1 (3,6)	11,9 (2)		
		IFe3	-	8,7 (1,7)	3,4 (0,6)		
		IFe4	-	44,4%	80,5%		
	CYP3A5*6	IFs2	35,7 (2,5)	40,9 (8,8)	-		
MDR1	MDR1 3435	IFe1	22,9 (4,5)	20,4 (3,3)	14,1 (6)		
		IFe2	17,7 (4,0)	14,2 (2,5)	10,6 (4,5)		
		IFe3	6,2 (1,5)	3,8 (0,6)	2 (0,4)		
		IFe4	58,8%	65,5%	100%		
		IC4	35,3% (6)	20,7% (6)	75% (3)		
		IC5	35,3% (6)	17,2% (5)	75% (3)		
		IP2	12 (1,8)	10,7 (1,5)	10,8 (0,5)		
		IE2	679 (102)	606 (87)	608 (28)		
	MDR1 2677	IFe1	22,1 (4,5)	20,3 (3,3)	19,3 (6,8)		
		IFe2	17 (4,2)	14,4 (2,5)	13,6 (5,4)		
		IFe3	5,4 (1,6)	4,1 (0,7)	3,5 (2,5)		
		IFe4	50%	68,8%	100%		
		UGT 1A9	UGT1A9-2152	IFs1	22,4 (3,7)	16,1 (6,4)	13,6 (13,6)
				IP1	13,2 (0,7)	13,7 (1,1)	25 (14)
IE1	4.600 (1.675)			4.740 (1.253)	8.650 (6.850)		
UGT1A9-275	IFs1		29 (10,3)	20,2 (3,6)	14,9 (5,9)		
	IFs2		33,4 (5,5)	35,9 (3,2)	41,1 (5,4)		
	UGT 1A8		UGT1A8*3	IP1	12,3 (0,5)	15,9 (1,6)	24 (15)
IE1		4.256 (1.061)		5.490 (2.152)	8.304 (7.339)		
PXR	PXR	IFs1	-	18,9 (3,5)	30,9 (6)		
		IFs2	-	34 (2,6)	48,8 (5,3)		
		IFe1	-	23,5 (2,7)	6,1 (2,9)		
		IFe2	-	16,1 (2,3)	9,5 (3,5)		
		IC3	-	19% (8)	50% (4)		

Is1: % de Cs de tacrolimo supraterapéuticas; Is2: % de reducciones de dosis de tacrolimo; Ie1: % de Cs de tacrolimo infraterapéuticas; Ie2: % de aumentos de dosis de tacrolimo; Ie3: Días en alcanzar el intervalo terapéutico, Ie4: % de pacientes que alcanzan el IT el 5º día tras el inicio de la terapia. IC3: % de pacientes que alcanzan $ClCr \geq 60$ ml/min al mes postrasplante, IC4: % de pacientes que alcanzan $ClCr \geq 60$ ml/min a los 3 meses postrasplante, IC5: % de pacientes que alcanzan $ClCr \geq 60$ ml/min a los 6 meses postrasplante. IP1: Días de estancia en el postrasplante inmediato, IP2: nº de monitorizaciones farmacocinéticas. IE1: Coste asociado a la estancia hospitalaria del paciente en el postrasplante inmediato. IE2: Coste asociado a las monitorizaciones farmacocinéticas.

5.6. FASE II. APLICACIÓN Y VALIDACIÓN DEL PROTOCOLO DE PERSONALIZACIÓN TERAPÉUTICA.

5.6.1. Aplicación del protocolo. Pacientes incluidos.

Los resultados obtenidos en el estudio retrospectivo han permitido diseñar y aplicar un **protocolo de personalización** de la dosis inicial de tacrolimo en base al genotipo CYP3A5*3 de los pacientes. El protocolo de personalización terapéutica ha sido similar al planteado por **Haufroid y cols**¹³¹ con una modificación, ya que los autores proponen la misma dosis inicial de tacrolimo para los pacientes con genotipo heterocigoto y nativo (expresores), correspondiendo a 0,3 mg/kg/día, y reducen a la mitad la dosis inicial en pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3 (no expresores), que reciben una dosis de 0,15 mg/kg/día. Para diseñar nuestro protocolo hemos sido más conservadores, ya que el estudio realizado por Haufroid solo incluyó 19 voluntarios sanos en condiciones diferentes a la situación clínica del paciente con trasplante renal, por ello para calcular la dosis inicial de tacrolimo hemos dividido a los pacientes en tres grupos en función del genotipo: pacientes con *genotipo nativo* que recibirán una dosis de 0,3 mg/kg/día, pacientes con *genotipo heterocigoto* que recibirán una dosis de 0,2 mg/kg/día y pacientes con *genotipo homocigoto* que recibirán una dosis de 0,15 mg/kg/día, de modo que entre los pacientes heterocigotos y homocigotos solo existe una diferencia de dosis de tacrolimo del 33%.

En el estudio prospectivo se han incluido un total de 47 **pacientes**, a priori se esperaba incluir 50 pacientes, pero el reducido número de trasplantes realizado en el periodo de estudio y las pérdidas de pacientes antes de iniciar el estudio han impedido una mayor inclusión. En cuanto a la distribución por subgrupos, a

pesar de haber determinado el genotipo de 45 pacientes que estaban en lista de espera para recibir un trasplante renal a fecha 1 de Enero de 2011 y cumplían los criterios de selección, solo 22 pacientes se trasplantaron en el periodo de estudio pasando a formar parte del grupo de estudio. Esto indica que la lista de espera es dinámica de modo que se incluyen pacientes nuevos constantemente. Asimismo, se observa que el tiempo en lista de espera no es el indicador para seleccionar al paciente para el trasplante ya que pacientes nuevos se pueden trasplantar al poco tiempo de entrar en lista de espera mientras que otros pacientes pueden tardar mucho tiempo en recibir un trasplante renal. Para aplicar el protocolo de personalización terapéutica a todos los pacientes trasplantados se tendría que incluir la determinación farmacogenética dentro de las pruebas solicitadas para la inclusión de un paciente en la lista de espera.

Teniendo en cuenta que se han incluido un total de 47 pacientes, 22 en el grupo de estudio y 25 en el grupo control, para un nivel de significación alfa del 5%, establecido según el criterio universal de **Goodman**¹⁴⁷, el estudio prospectivo presenta una **potencia del 83%**. Este valor indica que en un 83% de los casos en los que se observan diferencias estadísticamente significativas entre el grupo control y el grupo de estudio, éstas existen realmente. El estudio presenta una potencia aceptable ya que se sitúa por encima del 80%, no obstante es inferior a la obtenida en el estudio retrospectivo.

La **distribución genotípica** del polimorfismo CYP3A5*3 ha sido similar a la encontrada en la población caucásica. En la tabla 64 se observa que para el total de la población estudiada, ningún paciente ha presentado genotipo nativo, el 12,8% de los pacientes han presentado genotipo heterocigoto y el 87,2% de los pacientes genotipo homocigoto, además no se han observado diferencias estadísticamente significativas en la distribución genotípica entre el grupo control y el grupo de estudio.

Respecto al **tratamiento inmunosupresor** recibido durante las 6 primeras semanas postrasplante, tal como cabe esperar, se observan diferencias estadísticamente significativas entre la dosis de *tacrolimo* que han recibido los pacientes del grupo de estudio, a los que se les ha individualizado la dosis inicial y la dosis de tacrolimo que han recibido los pacientes del grupo control, a los que no se les ha individualizado la dosis inicial, de modo que los pacientes del grupo con individualización posológica han recibido en promedio 1 mg diario menos de tacrolimo que los pacientes sobre los que no se ha individualizado la dosis inicial. Además hay que destacar que al igual que ocurría en el estudio retrospectivo tanto los pacientes del grupo control como los pacientes del grupo de estudio presentan una elevada variabilidad en la dosis de tacrolimo recibida para alcanzar el ámbito terapéutico óptimo (10-15 ng/ml), hay que tener en cuenta que tal como se ha expuesto previamente tacrolimo presenta una cinética tiempo dependiente y por otra parte aunque se ha eliminado el efecto del polimorfismo genético CYP3A5*3 sobre la exposición a tacrolimo en el grupo de estudio, la variabilidad observada se podría atribuir a la presencia de otros polimorfismos no controlados o situaciones fisiológicas que no se han tenido en cuenta al realizar el ajuste de dosis. Respecto a *micofenolato de mofetilo* y *corticoides* se ha cumplido el protocolo establecido, de modo que los pacientes han iniciado con 2 g diarios de MMF y posteriormente se han realizado reducciones de dosis hasta 1 g al día, y en el caso de los corticoides los pacientes han iniciado con 20 mg diarios de prednisona y posteriormente se han realizado reducciones de dosis hasta 3,75-5 mg al día. No se han observado diferencias entre los grupos.

Todos los pacientes han recibido *terapia de inducción*, prácticamente la mitad de los pacientes incluidos han recibido inducción con basiliximab y la otra mitad con timoglobulina, no obstante aunque no existen diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, se observa que en el grupo de estudio han recibido timoglobulina más pacientes que en el grupo control (54,5% vs 44%), a

pesar de que el número de pacientes es bajo esta diferencia nos puede indicar que a priori los pacientes del grupo de estudio presentaban un riesgo inmunológico mayor que los pacientes del grupo control.

5.6.2. Validación del protocolo.

5.6.2.1. Homogeneidad de los grupos.

En primer lugar se ha realizado un análisis de las **variables basales**, por una parte para comparar nuestra población con la de otros estudios similares y por otra parte para explorar la homogeneidad entre el grupo control y el grupo de estudio en nuestro estudio prospectivo.

Las *características demográficas y biométricas* de la población del estudio prospectivo son similares a las de la población del estudio retrospectivo y a las de otros estudios de individualización posológica, como el realizado por **Thervet y cols**²³, no obstante difieren de la población reclutada por **Zhang y cols**²², ya que se observa que en su estudio el 100% de los pacientes son de etnia asiática y además son más jóvenes (edad media 32 años) que nuestros pacientes.

Respecto a la homogeneidad de los grupos dentro de nuestro estudio prospectivo, hay que destacar que existen diferencias estadísticamente significativas en el sexo y la edad, de modo que según se observa en la tabla 64, en el grupo de estudio hay más mujeres que en el grupo control (45,5% vs 16%) y la edad media de los pacientes es mayor (56,1 años vs 47,8 años), estas diferencias pueden repercutir en los resultados finales del estudio prospectivo ya que algunos autores han demostrado que tanto el sexo como la edad pueden afectar a la farmacocinética de tacrolimo^{166,167}; no obstante no presenta una limitación a priori ya que otros autores no han demostrado dicha relación^{103,199} y

en ambos grupos la media de edad es inferior a 65 años, no considerándose pacientes de edad avanzada en ningún caso.

En cuanto a las *variables relacionadas con el riesgo inmunológico del paciente trasplantado*, a priori se observa el mismo riesgo inmunológico que el encontrado en la población de pacientes del estudio retrospectivo. Hay que destacar que aunque el número de pacientes que se han sometido a un trasplante en el estudio prospectivo ha sido inferior que en el estudio retrospectivo (6,4% vs 12%), en el estudio prospectivo se observa un mayor porcentaje de donantes cuya causa de la muerte ha sido el accidente cerebrovascular (53,5% vs 37%), esta tendencia se debe al descenso en el número de accidentes de tráfico y también puede repercutir en la calidad del órgano trasplantado. Si comparamos nuestra población con la de otros estudios de individualización posológica, se observa que en el estudio realizado por **Zhang y cols**²² los pacientes presentaban un menor número de incompatibilidades HLA (2 versus 3,3) y a pesar de que la edad media de los donantes es similar a la del estudio realizado por **Thervet y cols**²³, en nuestro centro se aceptan órganos mas añosos (79 años vs 58 años), por tanto habrá que considerarlo al analizar los resultados clínicos.

Respecto a la homogeneidad de los grupos dentro de nuestro estudio prospectivo, hay que destacar que se observan diferencias estadísticamente significativas entre la edad del donante, así la edad media de los donantes del grupo de estudio es superior a la edad de los donantes del grupo control (58,5 años vs 45,5 años); no obstante en ningún caso se cumplen criterios de donante expandido ya que en ambos grupos la edad media del donante es inferior a 60 años, y además, a pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas, el porcentaje de muertes por accidente cerebrovascular es superior en el grupo de estudio respecto al grupo control (65% vs 43,5%). El incremento en la edad y el mayor porcentaje de muertes por accidente cerebrovascular

observado en los donantes del grupo de estudio, incrementa el riesgo inmunológico y puede repercutir sobre la evolución clínica del órgano trasplantado, por ello está justificado que el uso de timoglobulina haya sido superior en los pacientes del grupo de estudio.

5.6.2.2. Validación del protocolo a partir de la variable relacionada con la respuesta farmacogenética-farmacocinética.

Tras aplicar el protocolo de personalización terapéutica, se observan diferencias estadísticamente significativas en la *relación Cs/dosis/peso de tacrolimo* (figura 23), es decir los pacientes sobre los que se aplica el protocolo, a pesar de recibir 1 mg diario menos de tacrolimo, presentan una mayor exposición que los pacientes del grupo control (220 vs 160 ng/ml por mg/kg). El resultado es acorde a lo esperado ya que en el grupo de estudio se ha individualizado la dosis inicial de tacrolimo en base al genotipo mientras que en el grupo control la individualización posológica no se ha realizado, y nos indica que si los pacientes del grupo de estudio hubiesen recibido la dosis total de tacrolimo se habrían expuesto a una sobredosificación.

Los hallazgos más relevantes se encuentran al realizar el análisis por grupos, así dentro de los pacientes del **grupo de estudio** (figura 25), no se observan diferencias estadísticamente significativas en la relación Cs/dosis/peso entre pacientes heterocigotos y homocigotos para el polimorfismo CYP3A5*3 (190 vs 220 ng/ml por mg/kg). Este efecto se produce porque al individualizar la dosis inicial de tacrolimo en función del genotipo, cada paciente recibe la dosis que le corresponde para alcanzar la concentración sanguínea objetivo y se minimiza el efecto del genotipo sobre la exposición de tacrolimo. No obstante, se observa una tendencia a que la relación Cs/dosis/peso sea inferior en los pacientes heterocigotos respecto a los homocigotos, por tanto es de esperar que si hubiésemos aplicado el protocolo de individualización posológica propuesto por

Haufroid y cols¹³¹ esta diferencia se hubiese minimizado. En cambio, en los pacientes del **grupo control** (figura 24), como no se ha realizado la individualización de la dosis inicial de tacrolimo, se observan diferencias estadísticamente significativas en la exposición al fármaco en función del genotipo, es decir al igual que ocurría en el estudio retrospectivo, para la misma dosis de tacrolimo los pacientes con genotipo homocigoto CYP3A5*3 como presentan una reducción en el metabolismo de tacrolimo alcanzan el doble de concentración sanguínea que los pacientes con genotipo heterocigoto CYP3A5*3 (90 vs 170 ng/ml por mg/kg). Según estos hallazgos, podemos decir que la aplicación del protocolo de personalización terapéutica para individualizar la dosis inicial de tacrolimo en base al genotipo es beneficiosa, ya que reduce el efecto del genotipo sobre la exposición a tacrolimo en el paciente.

Si comparamos nuestros hallazgos con los observados por otros autores, en el estudio realizado por **Zhang y cols**²² al contrario que en nuestro estudio, a pesar de realizar un ajuste de la dosis inicial de tacrolimo en base al genotipo CYP3A5*3 se observa una diferencia estadísticamente significativa en la relación Cs/dosis/peso de tacrolimo entre pacientes homocigotos y heterocigotos a los 3, 5, 7 y 14 días postrasplante. Además hay que destacar que la relación Cs/dosis/peso alcanzada, tanto en pacientes con genotipo homocigoto como heterocigoto, es inferior a la alcanzada en nuestros pacientes ya que Zhang y cols parten de dosis inferiores de tacrolimo (0,08 mg/kg/día en pacientes con genotipo homocigoto y 0,15 mg/kg/día en pacientes con genotipo heterocigoto) y establecen un ámbito terapéutico de tacrolimo inferior (6-12 ng/ml). Por otra parte, en el estudio realizado por **Thervet y cols**²³ no se analiza la variable relación Cs/dosis/peso de tacrolimo, no obstante los autores utilizan la concentración mínima alcanzada el día 10 postrasplante para medir la exposición a tacrolimo. Sus resultados son acordes a los obtenidos en nuestro estudio, así se observan diferencias estadísticamente significativas entre la concentración mínima de los pacientes del grupo de estudio y los del grupo control (12,1 ng/ml

vs 15,4 ng/ml). Además, los autores también estudian el valor de concentración sanguínea en función del genotipo dentro de cada grupo, observándose que en el grupo control, solo en los pacientes con genotipo heterocigoto para CYP3A5*3 el valor de concentración sanguínea de tacrolimo se encuentra dentro del objetivo terapéutico. A su vez la concentración sanguínea de tacrolimo en los pacientes con genotipo nativo es inferior a la de los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto para CYP3A5*3, respectivamente (5,6 ng/ml vs 10,1 ng/ml vs 16,6 ng/ml); en cambio en el grupo de estudio, al individualizar la dosis inicial de tacrolimo se reduce el efecto del genotipo sobre la exposición de tacrolimo, observándose que el valor de concentración sanguínea de tacrolimo se encuentra dentro del objetivo terapéutico en los genotipos nativo, heterocigoto y homocigoto para CYP3A5*3, respectivamente (14 mg/ml vs 12,3 ng/ml vs 12 ng/ml).

5.6.2.3. Validación del protocolo a partir de las variables relacionadas con la respuesta farmacogenética-clínica.

La incidencia de **rechazo agudo** en la población de pacientes del estudio prospectivo ha sido del 10%, similar a la encontrada en la bibliografía. El análisis del riesgo relativo de aparición de rechazo agudo en función del grupo de pacientes, indica que a pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas entre la incidencia de rechazo agudo en los pacientes del grupo de estudio respecto a los del grupo control, se produce una tendencia a que los pacientes sobre los que se ha aplicado el protocolo de personalización terapéutica presenten mayor riesgo de desarrollar rechazo agudo que los pacientes del grupo control (13,5% vs 8%). El rechazo agudo es un proceso multifactorial y no se puede atribuir únicamente a la exposición de tacrolimo en el paciente, por ello este hallazgo puede estar relacionado con la diferencia de riesgo inmunológico entre ambos grupos, producido principalmente por la mayor edad de los donantes (13 años) y en menor medida por el mayor

porcentaje de muertes por accidente cerebrovascular (21,5%) que se observa en los donantes del grupo de estudio respecto a los del grupo control.

En el estudio realizado por **Thervet y cols**²³ a pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de rechazo agudo entre los grupos, se observó que al igual que ocurre en nuestro estudio, la proporción de pacientes con rechazo agudo fue superior en el grupo con adaptación de la dosis inicial de tacrolimo que en el grupo control (8,6% vs 6,7%).

Para realizar la validación del protocolo de personalización terapéutica también se han tenido en cuenta los efectos adversos atribuibles a tacrolimo. En primer lugar se ha estudiado la **nefrotoxicidad**, la incidencia de nefrotoxicidad en la población de pacientes del estudio prospectivo ha sido del 19,2%, no obstante, al igual que ocurría en el estudio retrospectivo la limitación es que no se ha confirmado la nefrotoxicidad mediante biopsia en todos los pacientes, tan solo se ha podido confirmar en 3 pacientes, en el resto de los casos (n=6) se ha atribuido a un incremento en el valor de creatinina sérica asociado a un incremento en la concentración sanguínea de tacrolimo.

En cuanto al riesgo de presentar nefrotoxicidad que tiene un paciente del grupo control respecto a un paciente del grupo de estudio, se observa que a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, los pacientes a los que no se les ha individualizado la dosis inicial de tacrolimo presentan un riesgo de sufrir nefrotoxicidad un 76% mayor que los pacientes sobre los que se ha realizado la individualización posológica (RR 1,76; IC95% 0,5 a 6,2). Este hallazgo nos indica que existe una tendencia a reducirse la incidencia de nefrotoxicidad con la aplicación del protocolo y es acorde a los resultados del estudio retrospectivo, donde se observaba que el riesgo de nefrotoxicidad era un 30% superior en los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3 respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto y se podía reducir con la

individualización posológica de tacrolimo en función del genotipo de los pacientes.

La incidencia de **neurotoxicidad** en los pacientes del estudio prospectivo ha sido del 57,6%. El análisis del riesgo relativo de sufrir neurotoxicidad en función de la aplicación del protocolo de individualización posológica sobre los pacientes del estudio prospectivo, nos indica que a pesar de no observarse diferencias estadísticamente significativas los pacientes a los que no se les ha realizado individualización posológica presentan un riesgo un 10% mayor de sufrir neurotoxicidad que los pacientes a los que se les ha individualizado la dosis inicial de tacrolimo en base al genotipo (RR 1,1; IC95% 0,7 a 1,8). Este beneficio en la aplicación del protocolo de personalización terapéutica sobre los pacientes, a pesar de ser muy leve es acorde a los resultados del estudio retrospectivo donde se observaba que los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3 presentaban un riesgo un 40% mayor de sufrir neurotoxicidad que los pacientes con genotipo heterocigoto, que se podía reducir con la individualización posológica de tacrolimo en función del genotipo de los pacientes.

Respecto a las **complicaciones metabólicas**, 29 pacientes presentaban dislipemia y 4 pacientes presentaron diabetes mellitus antes del trasplante renal, por ello se descartaron del análisis. Del total de pacientes sin complicaciones previas el 61% (n=11) han sufrido dislipemia de novo, mientras que el 13,9% (n=6) han sufrido diabetes mellitus de novo.

El riesgo relativo de sufrir dislipemia que ha presentado un paciente del grupo control respecto a un paciente del grupo de estudio ha sido de 0,76 (IC95% 0,4-1,6), este valor a pesar de no ser estadísticamente significativo, nos indica que los pacientes sobre los que se ha aplicado el protocolo de personalización terapéutica presentan un riesgo de sufrir dislipemia superior a los pacientes sobre los que no se ha individualizado la dosis de tacrolimo. Estos hallazgos son

contradictorios a nuestra hipótesis; no obstante, como el número de pacientes con dislipemia previa al trasplante era muy elevado (n=29), el análisis se ha realizado con tan solo 18 pacientes, considerándose un tamaño de muestra muy reducido para extraer conclusiones al respecto.

En cuanto al desarrollo de diabetes mellitus de novo, se observa una tendencia similar a la encontrada con la dislipemia, es decir los pacientes con individualización de la dosis inicial de tacrolimo tienen un riesgo un 82% superior de sufrir diabetes mellitus que los pacientes sin individualización posológica (RR 0,18; IC95% 0,02 a 1,4). Al igual que ocurría con la dislipemia, al descartar los pacientes con diabetes mellitus previa al trasplante (n=4) se reduce la población efectiva para el análisis a 43 pacientes, por ello la reducción del tamaño de muestra puede repercutir en los resultados. No obstante, hay que considerar que en el estudio retrospectivo se observaba que los pacientes con genotipo homocigoto para CYP3A5*3 que estaban expuestos a una concentración mayor de tacrolimo, presentaban menor riesgo de sufrir diabetes mellitus que los pacientes con genotipo heterocigoto RR 0,22 (IC95% 0,07-0,71), puede ser que la diabetes mellitus al estar causada por múltiples factores, no esté tan relacionada con la exposición a tacrolimo, por ello no resulte tan beneficioso a este nivel la aplicación del protocolo de personalización terapéutica.

Por otra parte, respecto al resto de estudios de individualización de la dosis de tacrolimo, **Thervet y cols**²³ tampoco observaron una reducción en la incidencia de aparición de diabetes mellitus postrasplante en los pacientes del grupo con individualización posológica respecto a los pacientes del grupo control.

La **hipertensión arterial** es una complicación muy común en los pacientes con enfermedad renal crónica, al igual que ocurría en el estudio retrospectivo el 93,6% (n=44) de los pacientes han desarrollado hipertensión arterial antes del trasplante. Al medir el riesgo de complicación de la hipertensión arterial previa

en función de la aplicación del protocolo de personalización terapéutica, se observa que los pacientes sobre los que no se ha realizado individualización de la dosis inicial de tacrolimo presentan un riesgo un 10% superior de presentar complicación de su hipertensión basal que los pacientes sobre los que se ha individualizado la dosis inicial (RR 1,1; IC95% 0,5 a 2,3). Esta diferencia observada, a pesar de ser discreta, indica un beneficio de la aplicación del protocolo de personalización terapéutica sobre los pacientes.

Por último, se ha estudiado el efecto de la aplicación del protocolo sobre el desarrollo de **infecciones** en el paciente. El 68% (n=32) de los pacientes incluidos en el estudio prospectivo ha sufrido infecciones, de las cuales la mayoría han sido infecciones bacterianas.

El riesgo relativo de desarrollar infecciones que presenta un paciente del grupo control respecto a un paciente con individualización posológica de tacrolimo, ha sido de 0,9 (IC95% 0,6-1,3), así en principio se observa que los pacientes sobre los que se ha aplicado el protocolo de personalización terapéutica presentan un 10% mas de riesgo de desarrollar infecciones que los pacientes sin intervención; no obstante el desarrollo de infecciones está fuertemente influenciado por el tratamiento concomitante con fármacos inmunosupresores como el micofenolato de mofetilo o por otras complicaciones en el paciente, por ello no se puede atribuir únicamente al tratamiento con tacrolimo. Al igual que en nuestro estudio, **Thervet y cols**²³ no observaron una reducción en la incidencia de infecciones en los pacientes del grupo con individualización posológica respecto a los pacientes del grupo control.

En resumen, a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de efectos adversos en los pacientes tras la aplicación del protocolo de personalización terapéutica, se observa que el grupo de pacientes con individualización de la dosis inicial de tacrolimo presentan menor riesgo de desarrollar *nefrotoxicidad, neurotoxicidad y complicación de la hipertensión*

arterial previa, que los pacientes del grupo control (tabla 68), por ello aunque hay que tomar con cautela los resultados, el protocolo de personalización terapéutica puede reducir los efectos adversos de tacrolimo en los pacientes.

5.6.2.4. Validación del protocolo a partir de los indicadores de calidad asistencial y seguridad en el paciente.

Para validar el protocolo de personalización terapéutica se han aplicado los **indicadores farmacocinéticos** definidos en la tabla 27 de material y métodos, porque están relacionados indirectamente con la eficacia o toxicidad del tratamiento con tacrolimo, en principio es de esperar que los pacientes sobre los que se aplica el protocolo de personalización terapéutica presenten un menor porcentaje de determinaciones fuera de ámbito terapéutico y consecuentemente estén expuestos a un riesgo menor de fracaso terapéutico o de aparición de efectos adversos.

Si analizamos los indicadores farmacocinéticos **de seguridad**, se observa que los pacientes del estudio prospectivo han presentado un 16,6% de sus determinaciones por encima de ámbito terapéutico, requiriendo un 34,7% de reducciones de dosis. Al igual que ocurría en el estudio retrospectivo, se observa que como el 49% de los pacientes han recibido terapia concomitante con timoglobulina, se ha tendido a realizar más reducciones de dosis a pesar de que, considerando el ámbito terapéutico de 10-15 ng/ml, tan solo se encontraban por encima de ámbito el 16, 61% de las monitorizaciones.

En cuanto al beneficio de la aplicación del protocolo de personalización terapéutica sobre los pacientes, a pesar de que no se encuentren diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos, se observa que en los pacientes en los que se ha individualizado la dosis inicial de tacrolimo el porcentaje de monitorizaciones por encima de ámbito terapéutico ha sido

inferior (14,49% vs 18,71%; $p>0,05$) y consecuentemente se han realizado menos reducciones de dosis (33,55% vs 35,32%; $p>0,05$) que en los pacientes en los que no se ha individualizado la dosis (tabla 69).

Respecto a los indicadores farmacocinéticos **de efectividad**, en el total de la población de pacientes del estudio prospectivo el 21,7% de las determinaciones realizadas por paciente se encontraban por debajo de ámbito terapéutico, situación que ha provocado un 11,52% de incrementos de dosis. De este modo, al igual que ocurría en el estudio retrospectivo se observa una tendencia conservadora a incrementar la dosis de tacrolimo a pesar de encontrarse por debajo de ámbito terapéutico.

Al analizar el resultado de los indicadores de efectividad en función del grupo de estudio, a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, se observa que en los pacientes sobre los que se individualiza la dosis inicial de tacrolimo, el porcentaje de determinaciones por debajo de ámbito terapéutico es inferior (20,94% vs 22,36%; $p>0,05$) y consecuentemente se producen menos incrementos de dosis (11,16% vs 12%; $p>0,05$) que en los pacientes sin individualización de la dosis. Estos resultados, aunque son muy leves, ponen de manifiesto la validez del protocolo de personalización terapéutica.

En cuanto al tiempo en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo y el porcentaje de pacientes que alcanzan concentraciones de tacrolimo óptimas el 5º día tras el inicio de la terapia, no se observa beneficio tras la aplicación del protocolo de personalización terapéutica, ya que los pacientes sobre los que se realiza la individualización de la dosis inicial de tacrolimo alcanzan el ámbito terapéutico en una media de 6,68 días mientras que los pacientes sin individualización de la dosis inicial tardan una media de 6,04 días, observándose una proporción similar de pacientes que alcanzan el ámbito terapéutico el 5º día tras el inicio de la terapia en ambos grupos (48% vs 45,5%) (tabla 69).

Si comparamos nuestros hallazgos con el resto de estudios de individualización posológica de tacrolimo en base al genotipo CYP3A5*3. **Thervet y cols**²³ observaron que los pacientes sobre los que se realizó la individualización posológica alcanzaron el ámbito terapéutico a los 6 días de inicio de la terapia con tacrolimo respecto a 7 días en los pacientes del grupo control, y la proporción de pacientes que alcanzaron el ámbito terapéutico el 3er día tras el inicio de la terapia con tacrolimo fue del 43,2% en los pacientes con individualización de la dosis respecto al 29,1% en los pacientes del grupo control $p=0,030$. En este sentido, los resultados de aplicar el protocolo de individualización posológica son claramente mas beneficiosos que en nuestro estudio, no obstante el tamaño muestral es muy superior al nuestro y los autores solo encuentran una mejoría de 1 día en alcanzar el ámbito terapéutico óptimo tras aplicar el protocolo, además miden la proporción de pacientes que alcanzar el intervalo óptimo el 3er día mientras que en nuestro estudio la medimos el 5º día, no siendo comparables. Por otra parte, **Thervet y cols** observan que en el grupo de pacientes con individualización de la dosis inicial de tacrolimo se realizaron la mitad de modificaciones de dosis que en el grupo control (281 vs 420; $p=0,004$), es decir teniendo en cuenta que se han realizado 5 determinaciones por paciente equivale a un 48% de ajustes de dosis en el grupo con individualización respecto al 70% en el grupo sin individualización. Si comparamos el número de modificaciones de dosis con las realizadas a nuestros pacientes, se observa que en nuestro caso el porcentaje de modificaciones de dosis es similar al encontrado en su grupo de intervención y muy inferior a su grupo control (44% vs 77%), esto puede deberse a que realizan muy pocas monitorizaciones por paciente, por tanto como el seguimiento farmacocinético de los pacientes no es tan exhaustivo, los pacientes del grupo control requieren mas ajustes de dosis. **Zhang J y cols**²² concluyen que la individualización de la dosis inicial de tacrolimo permite incrementar la proporción de pacientes que alcanzan el ámbito terapéutico el 3er día tras el inicio de la terapia de tacrolimo, pasando del 46,7% al 81,8% en el caso de pacientes heterocigotos CYP3A5*1*3

y del 43,2% al 73,1% en el caso de los pacientes homocigotos CYP3A5*3*3, hay que destacar que en su caso el intervalo terapéutico óptimo de tacrolimo es de 6-12ng/ml por ello lo alcanzan una mayor proporción de pacientes. Por otra parte el tercer día tras el inicio de la terapia con tacrolimo el porcentaje de pacientes que presentan un valor de concentración infraterapéutica en el grupo control es el doble que en el grupo con individualización posológica (54,4% vs 24,5%) y a su vez un 52,9% de los pacientes del grupo control presentan un valor de concentración supratrapéutica respecto al 20,6% del grupo con individualización posológica. Estas diferencias tan acusadas con nuestro estudio pueden deberse en parte al mayor tamaño muestral, no obstante hay que considerar que en nuestro estudio hemos incluido todos los valores de concentración sanguínea obtenidos durante las 6 primeras semanas postrasplante, que nos aportan una información más completa sobre la exposición del paciente a tacrolimo, en cambio Zhang y cols solo tienen en cuenta la primera monitorización farmacocinética, por ello los resultados no son del todo comparables.

Respecto a los **indicadores clínicos**, el porcentaje de pacientes que han desarrollado **necrosis tubular aguda durante el postrasplante inmediato (IC1)** en la población de pacientes del estudio prospectivo ha sido muy superior al observado en los pacientes del estudio retrospectivo (38,3% vs 14,7%; $p < 0,05$), a pesar de ser un hallazgo inesperado podría estar justificado porque actualmente se aceptan órganos de peor calidad, ya que ha incrementado el número de donantes cuya causa de la muerte se debe a un accidente cerebrovascular o los donantes a corazón parado.

Al realizar el análisis por grupos para validar el protocolo de personalización terapéutica, se observa que a pesar de no encontrarse diferencias estadísticamente significativas, el porcentaje de pacientes con necrosis tubular aguda tiende a ser superior en el grupo de pacientes con individualización de la

dosis inicial de tacrolimo que en el grupo de pacientes sin individualización (41% vs 36%). La necrosis tubular aguda es un proceso multifactorial relacionado con el tratamiento, el paciente y el órgano trasplantado, de hecho en el análisis de la homogeneidad de los grupos se observaba que los pacientes del grupo de estudio eran más mayores que los pacientes del grupo control y a su vez los órganos trasplantados procedían de pacientes más añosos, con mayor incidencia de muerte por accidente cerebrovascular, por ello hay que tomar con cautela los resultados observados ya que estas diferencias pueden repercutir en el valor del indicador.

Al igual que ocurre en nuestro estudio, **Thervet y cols**²³ no observan diferencias estadísticamente significativas en la incidencia de necrosis tubular aguda en el grupo control respecto al grupo con individualización posológica.

Para evaluar la repercusión del protocolo de personalización terapéutica de tacrolimo sobre la función del injerto renal tras el trasplante, se ha tenido en cuenta el valor del aclaramiento de creatinina, así se ha fijado un valor de aclaramiento de creatinina objetivo mayor o igual a 60 mg/ml/min, por corresponder al estadio 2 de clasificación de la enfermedad renal crónica según las guías K/DOQI. El **tiempo en alcanzar el aclaramiento de creatinina óptimo** en el total de pacientes del estudio prospectivo ha sido de 53 días, se observa que el tiempo en alcanzar el aclaramiento de creatinina óptimo es superior en los pacientes con individualización posológica, respecto a los pacientes sin individualización posológica (45 días vs 21 días), a su vez la proporción de pacientes que alcanzan el valor de aclaramiento de creatinina sérica óptimo al mes, tres y seis meses postrasplante sigue la misma tendencia, siendo superior en el grupo sin individualización posológica respecto al grupo con individualización. El retraso en alcanzar el valor de aclaramiento de creatinina sérica óptimo puede justificarse por el hecho de que los pacientes del grupo con individualización posológica presentaban mayor incidencia de necrosis tubular aguda que los pacientes del grupo control, por ello parten de una

función renal peor que está relacionada con la peor evolución del injerto a corto plazo. Además, hay que considerar que el tamaño muestral es muy reducido ya que solo 21 pacientes alcanzan el aclaramiento de creatinina sérica óptimo en los seis meses de seguimiento (14 grupo control vs 7 grupo de estudio). Por ello no se puede atribuir al protocolo de personalización terapéutica la diferencia en el tiempo en alcanzar la creatinina sérica óptima.

Al igual que ocurre en nuestro estudio, **Thervet y cols**²³ no observan diferencias estadísticamente significativas en el aclaramiento de creatinina a los 14 días y 3 meses postrasplante, en el grupo control respecto al grupo con individualización posológica.

Respecto a los **indicadores de práctica asistencial**, la **estancia** media de los pacientes del estudio prospectivo tras el trasplante renal ha sido de 11 días, algo inferior a la observada en el estudio retrospectivo (13,8 días), no obstante no ha diferido del estándar de práctica establecido¹⁹⁷. Tras la aplicación del protocolo de personalización terapéutica no se observan diferencias estadísticamente significativas entre los días de estancia de los pacientes del grupo con intervención respecto al grupo sin intervención (13 días vs 11 días), no obstante el incremento de 2 días de estancia en los pacientes del grupo de estudio respecto a los del grupo control puede justificarse por la mayor incidencia de necrosis tubular aguda.

La media de **monitorizaciones farmacocinéticas** realizadas a los pacientes del estudio prospectivo ha sido de 11, siendo acorde a la práctica asistencial. A su vez tras aplicar el protocolo de personalización terapéutica no se han observado diferencias en el número de monitorizaciones farmacocinéticas realizadas a los pacientes con individualización de la dosis inicial de tacrolimo respecto al grupo sin individualización (11 días vs 10 días).

Se han realizado una media de 15 **consultas médicas** por paciente del estudio prospectivo durante los 6 primeros meses postrasplante, siendo acorde a lo esperado según la práctica asistencial (14-17). Además se observa que tras aplicar el protocolo de personalización terapéutica no existen diferencias en el número de consultas en función del grupo de estudio, así tanto en los pacientes con individualización de la dosis inicial de tacrolimo como en los pacientes sin individualización el número medio de consultas realizadas ha sido de 15.

La alta estandarización en el seguimiento de los pacientes con trasplante renal en nuestro centro, ha permitido que tras aplicar el protocolo de personalización terapéutica, los pacientes sobre los que se ha realizado una intervención no hayan requerido más monitorizaciones, ni mas consultas médicas que los pacientes del grupo control. Esto pone de manifiesto que la aplicación del protocolo es segura y se puede adaptar a la práctica clínica habitual.

El coste medio asociado al seguimiento de un paciente del estudio prospectivo ha sido de 5.954 euros. Del mismo modo que ocurre con los indicadores de práctica asistencial tampoco se han observado diferencias estadísticamente significativas en los **indicadores económicos** tras la aplicación del protocolo de personalización terapéutica, no obstante se observa una discreta tendencia a incrementar el coste en los pacientes sobre los que se ha aplicado el protocolo (6.109 euros vs 5.818 euros), causada principalmente por la diferencia en 2 días de estancia hospitalaria que se relaciona con la mayor proporción de necrosis tubular aguda en los pacientes del grupo de estudio. A pesar de esta mínima diferencia podemos concluir que la aplicación del protocolo de personalización terapéutica no supone un coste adicional al seguimiento de los pacientes.

CAPÍTULO 6: CONCLUSIONES

De la presente memoria de tesis doctoral se han extraído las siguientes conclusiones:

1. La **exposición a tacrolimo** en los pacientes, expresada por la variable Cs/dosis/peso, está relacionada con la presencia de los polimorfismos genéticos MDR1 3435, CYP3A5*3, UGT1A9-2152 y UGT1A9-275:

- Los pacientes con genotipo homocigoto **MDR1 3435** presentan un incremento del 15% en la exposición a tacrolimo respecto a los pacientes con genotipo nativo (104 ng/ml por mg/kg frente a 90,9 ng/ml por mg/kg).
- Los pacientes con genotipo homocigoto **CYP3A5*3** duplican la relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo respecto a los pacientes con genotipo heterocigoto (105 ng/ml por mg/kg frente a 45,7 ng/ml por mg/kg). Este resultado, acorde a numerosos estudios publicados, permite aplicar el protocolo de individualización de la dosis inicial de tacrolimo.
- Los pacientes con polimorfismos en las regiones promotoras del gen (**UGT1A9 -2152 y UGT1A9 -275**) presentan una menor exposición a tacrolimo; en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9-2152 se observa una reducción del 40% en la relación Cs/dosis/peso media de tacrolimo respecto a los pacientes con genotipo nativo y en los pacientes con genotipo homocigoto para UGT1A9-275 se observa una reducción del 55% en la relación Cs/dosis/peso respecto a los pacientes con genotipo nativo.

2. La incidencia de **efectos adversos** atribuibles a tacrolimo en nuestra población se relaciona con la presencia de los polimorfismos genéticos MDR1 3435, MDR1 2677, UGT1A8*3 y PXR:

- Los pacientes con genotipo homocigoto para los polimorfismos **MDR1 3435** y **MDR1 2677** duplican el riesgo de *complicación de la hipertensión arterial* respecto a los pacientes con genotipo nativo (RR 2,43 IC95% 1,38-4,29, en el caso de MDR1 3435) y (RR 2,33 IC95% 1,27-4,27, en el caso de MDR1 2677).
- Los pacientes con genotipo homocigoto para **UGT1A8*3** presentan mas riesgo de padecer *nefrotoxicidad* que los pacientes con genotipo heterocigoto (RR 1,5 IC95% 1,1-2,3) y dicho riesgo se triplica entre los pacientes homocigotos y nativos (RR 2,9 IC95% 1,8-4,7). Además, los pacientes con genotipo homocigoto presentan un riesgo de sufrir *neurotoxicidad* un 70% superior a los pacientes con genotipo heterocigoto (RR 1,7 IC95% 1,1-2,5) y un 45% superior a los pacientes con genotipo nativo (RR 1,45 IC95% 1,15-1,84). En el caso de la *hipertensión arterial*, los pacientes con genotipo homocigoto presentan el doble de riesgo de complicación de la hipertensión arterial que los pacientes con genotipo nativo (RR 2 IC95% 1,45-2,9).
- Los pacientes con genotipo homocigoto para el polimorfismo **PXR** presentan un incremento en el riesgo de desarrollar *dislipemia* respecto a los pacientes heterocigotos (RR 1,73 IC95% 1,18 a 1,53).

3. Los **indicadores de calidad asistencial y seguridad en el paciente**, se han visto modificados por la presencia de los polimorfismos genéticos MDR1 3435, MDR1 2677, CYP3A5*3 y PXR:

- Los pacientes con genotipo nativo para los polimorfismos **MDR1 3435 y MDR1 2677**, presentan un mayor porcentaje de concentraciones infraterapéuticas y requieren mas incrementos de dosis que los pacientes con genotipo heterocigoto y homocigoto, además los pacientes con genotipo nativo para **MDR1 3435** tardan 6 días más en alcanzar el ámbito terapéutico óptimo que los pacientes con genotipo homocigoto, y el 5^a día tras el inicio de la terapia con tacrolimo solo el 58% de los pacientes con genotipo nativo han alcanzado el ámbito terapéutico óptimo respecto al 100% en el caso de los pacientes con genotipo homocigoto.
- Los pacientes con genotipo heterocigoto para **CYP3A5*3** respecto a los pacientes con genotipo homocigoto presentan un mayor porcentaje de concentraciones infraterapéuticas de tacrolimo (41,2 vs 16,3%), requieren un mayor porcentaje de incrementos de dosis (29,1% vs 11,9%), tardan más tiempo en alcanzar el intervalo terapéutico óptimo (8,7 días vs 3,4 días) y el 5^a día tras el inicio de la terapia tan solo el 44% de los pacientes han alcanzado el intervalo terapéutico óptimo.
- Los pacientes con genotipo heterocigoto para **PXR** presentan cuatro veces más concentraciones infraterapéuticas (23% vs 6,1%) y en consecuencia requieren más incrementos de dosis (16% vs 9,5%) que los pacientes homocigotos.

4. La aplicación prospectiva del protocolo de personalización de tacrolimo en base al genotipo CYP3A5*3 ha permitido reducir la variabilidad en la **exposición a tacrolimo** que existía entre pacientes homocigotos y heterocigotos. En los pacientes del grupo de estudio no se observan diferencias estadísticamente significativas en la relación Cs/dosis/peso mediana entre pacientes homocigotos y heterocigotos (190 ng/ml mg/kg vs 220 ng/ml mg/kg).

5. Los pacientes tratados con el protocolo de personalización terapéutica de tacrolimo presentan menos riesgo de sufrir **nefrotoxicidad, neurotoxicidad y complicación de la hipertensión arterial** que los pacientes del grupo control; no obstante, no se observan diferencias estadísticamente significativas, debido en parte al reducido tamaño de muestra.

6. Los pacientes sobre los que se ha aplicado el protocolo de personalización terapéutica presentan una discreta mejoría, no estadísticamente significativa, en el resultado de los **indicadores farmacocinéticos de seguridad y efectividad**, respecto a los pacientes del grupo control. Así, la individualización de la dosis inicial de tacrolimo reduce en un 4% el porcentaje de concentraciones supraterapéuticas y en un 2% el porcentaje de concentraciones infraterapéuticas por paciente, repercutiendo en el mismo sentido en un menor número de ajustes de dosis (3%).

BIBLIOGRAFÍA

-
- ¹ Organización nacional de trasplantes. En: www.ont.es.
- ² Webster A, Woodroffe RC, Taylor RS, Chapman JR, Craig JC. Tacrolimus versus ciclosporina como inmunosupresión primaria para los receptores de trasplante renal. En: La Biblioteca Cochrane Plus, 2007 Número 4. (Traducida de The Cochrane Library, 2007 Issue 4. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd.).
- ³ Wallemacq P, Armstrong V, Brunet M, Haufroid V, Holt D, Johnston A, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the european consensus conference. *Ther drug monit.* 2009; 31 (2): 139-52.
- ⁴ Ficha técnica Prograf®. Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios. 2010.
- ⁵ Staatz C, Taylor P, Tett S. Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16(9):1905–9.
- ⁶ Kershner RP, Fitzsimmons WE. Relationship of FK506 whole blood concentrations and efficacy and toxicity after liver and kidney transplantation. *Transplantation.* 1996; 15;62(7):920-6.
- ⁷ Laskow DA, Vincenti F, Neylan JF, Mendez R, Matas AJ. An open-label, concentration-ranging trial of FK506 in primary kidney transplantation: a report of the United States Multicenter FK506 Kidney Transplant Group. *Transplantation.* 1996; 62(7):900-5.
- ⁸ Schiff J , Cole E, Cantavorich M. Therapeutic Monitoring of Calcineurin Inhibitors for the Nephrologist . *Clinical Journal of the American Society of nephrology.* 2007; 2(2): 374-84.
- ⁹ Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Naxhan B, Gurkam A, et al. ELITE Symphony Study. *New Eng J Med.* 2007; 357 (25): 3562-75.
- ¹⁰ MacPhee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, Goldberg L, Holt DW. The influence of pharmacogenetics on the time to achieve target

tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2004; 4(6): 914-9.

¹¹ Li Y, Hu X, Cai B, Chen J, Bai Y, Tang J, Liao Y and Wang L. Meta-analysis of the effect of MDR1 C3435 polymorphism on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Transpl Immunol*. 2012; 27 (1): 12-8.

¹² Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, Thervet E. Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. *Pharmacogenomics*. 2007; 8(7):835-49.

¹³ Zaza G, Granata S, Sallustio F, Grandaliano G, and Schena FP. Pharmacogenomics: a new paradigm to personalize treatments in nephrology patients. *Clin Exp Immunol*. 2010; 159(3): 268–80.

¹⁴ Rosso C, de Sandes TV, Sampaio EL, Park SI, Silva HT, Medina JO. Clinical impact of polymorphisms of transport proteins and enzymes involved in the metabolism of immunosuppressive drugs. *Transplant Proc*. 2009; 41(5):1441-55.

¹⁵ Provenzani A, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, Vizzini G, Salis P, Caccamo C, Bertani T, Palazzo U, Polidori P, Gridelli B, D'Alessandro N. Influence of CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms and other factors on tacrolimus dosing in Caucasian liver and kidney transplant patients. *Int J Mol Med*. 2011; 28(6):1093-102.

¹⁶ Wu P, Ni X, Wang M, Xu X, Luo G, Jiang Y. Polymorphisms in CYP3A5*3 and MDR1, and haplotype modulate response to plasma levels of tacrolimus in Chinese renal transplant patients. *Ann Transplant*. 2011; 16(1):54-60.

¹⁷ Glowacki F, 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(9):3046-50.

¹⁸ Rong G, Jing L, Deng-Qing L, Hong-Shan Z, Shai-Hong Z, Xin-Min N. Influence of CYP3A5 and MDR1(ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in Chinese renal transplant recipients. *Transplant*

Proc. 2010; 42(9):3455-8.

¹⁹ Wang P, Mao Y, Razo J, Zhou X, Wong ST, Patel S, Elliott E, Shea E, Wu AH, Gaber AO. Using genetic and clinical factors to predict tacrolimus dose in renal transplant recipients. *Pharmacogenomics*. 2010;11(10):1389-402.

²⁰ Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Ortega F, Arias M, Torres A, Diaz JM, Selgas R, Lopez-Larrea C, Campistol JM, Alvarez V, REDINREN Pharmacogenetics group. Pharmacogenetics of tacrolimus after renal transplantation: analysis of polymorphisms in genes encoding 16 drug metabolizing enzymes. *Clin Chem Lab Med*. 2011; 49(5):825-33.

²¹ De Wildt SN, Van Schaik RH, Soldin OP, Soldin SJ, Brojeni PY, Van der Heiden IP, Parshuram C, Nulman I, Koren G. The interactions of age, genetics, and disease severity on tacrolimus dosing requirements after pediatric kidney and liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011; 67(12):1231-41.

²² Zhang J, Zhang X, Liu L, Tong W. Value of CYP3A5 genotyping on determining initial dosages of tacrolimus for Chinese renal transplant recipients. *Transplant Proc*. 2010; 42(9):3459-64.

²³ Thervet E, Lorient MA, Barbier S, Buchler M, Ficheux M, Choukroun G, Toupance O, Touchard G, Alberti C, Le Pogamp P, Moulin B, Le Meur Y, Heng AE, Subra JF, Beaune P, Legendre C. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clin Pharmacol Ther*. 2010; 87(6): 721-6.

²⁴ Merrill JP, Murray JE, Harrison JH et al. Successful homotransplantations of the human kidney. *JAMA*. 1956; 160:277-82.

²⁵ Murray JE, Merrill JP, Harrison JH et al. Prolonged survival of human kidney homograft by immunosuppressive drug therapy. *N Engl J Med*. 1963; 268: 1315-23.

²⁶ Caralps A, Gil Vermet JM, Vives J et al. *Trasplante Renal*. Barcelona: Toray S.A. 1983; 3-8.

²⁷ Ley 30/1979, de 27 de octubre, de la Jefatura del Estado, sobre extracción y trasplante de órganos. *BOE* 1979; 266: 25742-3.

²⁸ Real Decreto 2070/1999, de 30 de diciembre, por el que se regulan las actividades de obtención y utilización clínica de órganos humanos y la coordinación territorial en materia de donación y trasplante de órganos y tejidos. BOE 2000; 3: 179-90.

²⁹ Real Decreto 1301/2006, de 11 de noviembre, por el que se establecen las normas de calidad y seguridad para la donación, la obtención, la evaluación, el procesamiento, la preservación, el almacenamiento y la distribución de células y tejidos humanos. BOE 2006; 270.

³⁰ Real Decreto 1825/2009, de 28 de noviembre, por el que se aprueba el estatuto de la organización nacional de trasplantes. BOE 2009; 287.

³¹ Orden de 26 de febrero de 2008, del Conseller de Sanidad, sobre autorización sanitaria de centros sanitarios de la Comunidad Valenciana para la práctica de actividades de extracción y trasplante de órganos, tejidos y células. DOGV 2008; 5725: 53583-93.

³² Orden de 29 de diciembre del 2000, del Conseller de Sanidad, por la que se regula el Registro de Trasplantes de la Comunidad Valenciana. DOGV 2001; 3914: 719-20.

³³ Orden de 20 de enero de 2003, de la Conselleria de Sanidad, por la que se regulan las estructuras que conforman los equipos de extracción y trasplante de órganos y tejidos. DOGV 2003; 4454: 7225-6.

³⁴ Acuerdo de 17 de diciembre de 2004, del Consell de la Generalitat, por el que se modifican las remuneraciones aplicables para determinadas actividades de extracción y trasplante de órganos y tejidos. DOGV 2004; 4909: 33137-40.

³⁵ Acuerdo de 4 de abril de 2008, del Consell, por el que se establecen nuevas remuneraciones aplicables para determinadas actividades de extracción y trasplante de órganos y tejidos. DOGV 2008; 4113.

³⁶ Kasiske BL, Cangro CB, Hariharan S, Hricik DE, Kerman RH, Roth D, et al. The evaluation of renal transplant candidates: clinical practice guidelines for The American Society of Transplantation. Am J Transplant Suppl. 2001; 2:5-95.

-
- ³⁷ Ramos EL, Kasiske BL, Alexander SR, Danovitch GM, Harmon WE, Kahana L, et al. The evaluation of candidates for renal transplantation. *Transplantation*. 1994; 57:490-7.
- ³⁸ Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Transplant Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2009; 9 (3):S1-155.
- ³⁹ Kasiske B, Ramos E, Gaston R, et al. The evaluation of renal transplant candidates: Clinical practice guidelines. *J Am Soc Nephrol*. 1995; 6:1-34
- ⁴⁰ Vieira L. Expanded criteria donors offer hope for patients needing kidney transplant. *JAAPA*. 2009; 22(3):33-6.
- ⁴¹ Glyda M, Wlodarczyk Z, Czapiewski W. Results of renal transplantation from expanded criteria deceased donors - a single-center experience. *Ann Transplant*. 2012; 17(1):35-42.
- ⁴² Shaheen FA, Attar B, Hejaili F, Binsalih S, Al Sayyari A. Comparison of expanded criteria kidneys with 2-tier standard criteria kidneys: role of delayed graft function in short-term graft outcome. *Exp Clin Transplant*. 2012; 10(1):18-23.
- ⁴³ Gonzalez JM, Perez L, Marrero D, Rodríguez A, Delgado P, Álvarez A, González A. Capítulo 45: Complicaciones médicas precoces tras el trasplante renal. En: *nefrología al día*. Sociedad Española de Nefrología. 2010.p 769-94.
- ⁴⁴ López-Montenegro MA, Porta B, Jiménez NV, Pallardó L. Predicción del riesgo de rechazo agudo en pacientes con trasplante renal. *Farm Hosp*. 2009; 33 (04) :194-201.
- ⁴⁵ Sánchez A, Prats D. Rechazo y otras complicaciones. *Clínicas urológicas de la comlutense, servicio de publicaciones*. 1999; 7: 438-46.
- ⁴⁶ Pérez A, Mármol A, Pérez J, et al. La biopsia en el trasplante renal. Análisis de los resultados en 5 años de trabajo en el Instituto de Nefrología. *Revista cubana de nefrología*. 2005; 44 (5):1-7.

-
- ⁴⁷ Morales L, Pallardó L, Ruiz J. Complicaciones agudas del trasplante renal. Normas de actuación clínica en nefrología. Guías de la sociedad española de nefrología. 1999; 41-9.
- ⁴⁸ Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M et al. Banff 07 Classification of Renal Allograft Pathology: Updates and Future Directions. American Journal of Transplantation. 2008; 8: 753–60.
- ⁴⁹ Torre-Cisneros J, Fortún J, Aguado JM, de la camara R, Cisneros JM, Gavaldá J y cols. Documento de consenso GESITRA-SEIMC sobre prevención y tratamiento de la infección por citomegalovirus en pacientes trasplantados. Enferm Infecc Microbiol Clin. 2005; 23 (7) :424-37.
- ⁵⁰ Calvo MV, Fernández M. Terapia farmacológica: inmunosupresores químicos. Farmacoterapia del trasplante de órganos. Primera edición. Barcelona: Novartis transplantation and immunology. 2003; 7-10.
- ⁵¹ Lazarou J, Pomeranz BH, Corey PN. Incidence of adverse drug reactions in hospitalized patients: a meta-analysis of prospective studies. JAMA. 1998; 279(15):1200-5.
- ⁵² EMEA/CHMP/ICH/437986/2006. Definitions for genomic biomarkers, pharmacogenomics, pharmacogenetics, genomic data and simple coding categories.
- ⁵³ National Institute of General Medical Sciences (NIGMS). En: www.nigms.nih.gov
- ⁵⁴ Thakkinstian A, Dmitrienko S, Gerbese-DeLima M et al. Association between cytokine gene polymorphisms and outcomes in renal transplantation: a meta-analysis of individual patient data. Nephrol Dial Transplant. 2008; 23:3017-23.
- ⁵⁵ Kocierz M, Kujawa-Szewieczek A, Kolonko A, Chudek J, Wiecek A. The influence of selected cytokine gene polymorphisms on the occurrence of acute and chronic rejection and on kidney graft survival. Postepy Hig Med Dosw (Online). 2009; 63:613-26.

-
- ⁵⁶ Karimi MH, Daneshmandi S, Pourfathollah A, Geramizadeh B, Yaghibi R, Rais-Jalali GA, Roozbeh J and Bolandparvaz S. A study of the impact of cytokine gene polymorphism in acute rejection of renal transplant recipients. *Mol Biol Rep.* 2012; 39(1):509-15.
- ⁵⁷ Gorgi Y, Sfar I, Jendoubi-Ayed S, Makhoul M, Rhomdhane TB, Bardi R, Aouadi H, Abdallah TB, Abderrahim E, Ayed K. Allograft renal rejection and chemokine polymorphism. *Saudi J Kidney Dis Transpl.* 2011; 22(1):18-23.
- ⁵⁸ Yigit B, Bozkurt N, Berber I, Titiz I, Isbir T. Analysis of CC chemokine receptor 5 and 2 polymorphisms and renal transplant survival. *Cell Biochem Funct.* 2007; 25(4):423-6.
- ⁵⁹ Ro H, Hwang YH, Kim H, Jeong JC, Lee H, Doh YS, Park HC, Oh KH, Park MH, Ha J, Yang J, Ahn C. Association of polymorphisms of interleukin-8, CXCR1, CXCR2, and selectin with allograft outcomes in kidney transplantation. *Transplantation.* 2011; 91(1):57-64.
- ⁶⁰ McLaren AJ, Marshall SE, Haldar NA, Mullighan CG, Fuggle SV, Morris PJ, Welsh KI. Adhesion molecule polymorphisms in chronic renal allograft failure. *Kidney Int.* 1999; 55(5):1977-82.
- ⁶¹ Khazen J, Gorgi et al. Adhesión molecule polymorphisms in acute renal allograft rejection. *Transplantation proceedings.* 2007; 39: 2563-4
- ⁶² Shahbazi M, Fryer AA, Pravica V, Brogan IJ, Ramsay HM, Hutchinson IV, Harden PN. Vascular endothelial growth factor gene polymorphisms are associated with acute renal allograft rejection. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13(1):260-4.
- ⁶³ Mittal RD, Srivastava P, Singh V, Jaiswal P, Kapoor R. Association of common variants of vascular endothelial growth factor and interleukin-18 genes with allograft survival in renal transplant recipients of North India *DNA Cell Biol.* 2011; 30(5):309-15.
- ⁶⁴ Van Asperen J, Van Tellingen O, Beijnen JH. The pharmacological role of Pglycoprotein in the intestinal epithelium. *Pharmacol Res.* 1998; 37(6): 429-35.

-
- ⁶⁵ Cascorbi I, Gerloff T, Johne A et al. Frequency of single nucleotide polymorphisms in the P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene in white subjects. *Clin Pharmacol Ther.* 2001; 69 (3): 169.
- ⁶⁶ Hitzl M, Drescher S, Van der Kuip H et al. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD3456+ natural killer cells. *Pharmacogenetics.* 2001; 11(4): 293.
- ⁶⁷ Hoffmeyer S, Burk O, Von Richter O et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2000; 97 (7):3473.
- ⁶⁸ Tanabe M, Leiri I, Nagata N et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance gene. *J pharmacol Exp Ther.* 2001; 297 (3): 1137.
- ⁶⁹ Von Ahsen N, Richter M, Grupp C, Ringe B, Oellerich M, Armstrong VW. No influence of the MDR-1 C3435T polymorphism or a CYP3A4 promoter polymorphism on dose adjusted cyclosporine A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients. *Clin Chem.* 2001; 47(6):1048.
- ⁷⁰ Kroetz DL, Pauli-magnus C, Hodges LM, Hagan CC, Kawamoto M, Johns SJ et al. Sequence diversity and haplotype structure in the human ABCB1 gene. *Pharmacogenetics.* 2003; 13(8):481-94.
- ⁷¹ Hesselink DA, Van Schaik RH, Van der Heiden IP, et al: genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther.* 2003; 74: 245.
- ⁷² Hu YF, Qiu W, Liu ZQ, et al. Effects of genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 on cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2006; 33: 1093.

-
- ⁷³ Hesselink DA, Van gelder T, Van shaik RH, et al. Population pharmacokinetics of cyclosporine in kidney and heart transplant recipients and the influence of ethnicity and genetic polymorphisms in the MDR-1, CYP3A4 and CYP3A5 genes. *Clin Pharmacol Ther.* 2004; 76: 545.
- ⁷⁴ Anglicheau D, Thervet E, Etienne I, et al. CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphism and cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* 2004; 75: 422.
- ⁷⁵ Foote CJ, Greer W, Kiberd BA, et al. MDR1 C3435T polymorphisms correlate with cyclosporine levels in de novo renal recipients. *Transplantation proceedings.* 2006; 38: 2847.
- ⁷⁶ Fredericks S, Jorga A, Macphee IA, et al. Multi-drug resistance gene 1 (MDR1) haplotypes and the CYP3A5*1 genotype have no influence on cyclosporin dose requirements as assessed by cmin or Cs measurements. *Clin Transplant.* 2007; 21:252.
- ⁷⁷ Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2004; 78: 1182.
- ⁷⁸ Mourad M, Mourad G, Wallemacq P, et al. Sirolimus and tacrolimus trough concentrations and dose requirement after kidney transplantation in relation to CYP3A5 and MDR1 polymorphisms and steroids. *Transplantation.* 2005; 80: 977.
- ⁷⁹ Zhang X, Liu ZH, Zheng JM, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on tacrolimus concentrations in the early stage after renal transplantation. *Clin Transplant.* 2005; 19: 638.
- ⁸⁰ Renders L, Frisman M, Ufer M, et al. CYP3A5 genotype markedly influences the pharmacokinetics of tacrolimus and sirolimus in kidney transplant recipients. *Clin pharmacol ther.* 2007; 81: 228.

-
- ⁸¹ Fredericks S, Moreton M, Reboux S et al. Multidrug resistance gene 1 (MDR-1) haplotypes have a minor influence on tacrolimus dose requirements. *Transplantation*. 2006; 82:705-8.
- ⁸² Turolo S, Tirelli AS, Ferraresso M, Ghio L, Belingheri M, Groppali E, Torresani E, Edefonti A. Frequencies and roles of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms in Italian teenagers after kidney transplantation. *Pharmacol Rep*. 2010; 62(6):1159-69.
- ⁸³ Anglicheau D, Le corre D, Lechaton S, et al. Consequences of genetic polymorphisms for sirolimus requirements after renal transplant in patients on primary sirolimus therapy. *Am J transplant in patients on primary sirolimus therapy. Am J Transplant*. 2005; 5: 595.
- ⁸⁴ Backman L, Nicar M, Levy M, et al. FK506 trough levels in whole blood and plasma in liver transplant recipients. Correlation with clinical events and side effects. *Transplantation*. 1994; 57(4):519-25.
- ⁸⁵ Yamauchi A, Leiri I, Kateoka Y et al. Neurotoxicity induced by tacrolimus after liver transplantation: relation to genetic polymorphisms of the ABCB1 gene. *Transplantation* 2002; 74 (4):571-2.
- ⁸⁶ Asano T, Takahashi KA, Fujioka M, et al. ABCB1 C3435T and G2677T/A polymorphism decreased the risk for steroid-induced osteonecrosis of the femoral head after kidney transplantation. *Pharmacogenetics*. 2003; 13:675-82.
- ⁸⁷ Westley IS, Brogan LR, Morris RG, et al. Role of MRP2 in the hepatic disposition of mycophenolic acid and its glucuronide metabolites: Effect of cyclosporine. *Drug Metab Dispos*. 2006; 34:261.
- ⁸⁸ Naesens M, Kuypers DR, Verbeke K, et al. Multidrug resistance protein 2 genetic polymorphisms influence mycophenolic acid exposure in renal allograft recipients. *Transplantation*. 2006; 82(8):1074-84.
- ⁸⁹ Miura M, Satoh S, Inoue K, et al. Influence of SLCO1B1,1B3, 21B and ABCC2 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007; 63:116.

-
- ⁹⁰ Michelon H, König J, Durrbach A, Quteineh L, Verstuyft C, Furlan V, Ferlicot S, Letierce A, Charpentier B, Fromm MF, Becquemont L. SLCO1B1 genetic polymorphism influences mycophenolic acid tolerance in renal transplant recipients. *Pharmacogenomics*. 2010; 11(12):1703-13.
- ⁹¹ Picard N, Wah Yee S, Woillard JB et al. The role of organic anion-transporting polypeptides and their variants in mycophenolic acid pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther*. 2010; 87:100-8.
- ⁹² Quiu XY, Jiao Z, Zhang M et al. Association of MDR1, CYP3A418*B and CYP3A5*3 polymorphisms with cyclosporine pharmacokinetics in Chinese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2008; 64: 1069-84.
- ⁹³ Hu YF, Quiu W, Liu ZQ et al. Effects of genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 on cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Exps Pharmacol Physiol*. 2006; 33: 1093-8.
- ⁹⁴ Kreutz R, Zuecher K, Kain S, Martus P, Offermann G, Beige J. The effect of variable CYP3A5 expression on cyclosporine dosing, blood pressure and long-term graft survival in renal transplant patients. *Pharmacogenetics*. 2004; 14:655-71.
- ⁹⁵ Eng HS, Mohamed Z, Calne R et al. The influence of CYP3A gene polymorphisms on cyclosporine dose requirement in renal allograft recipients. *Kidney Int*. 2006; 69: 1858-64.
- ⁹⁶ Kuypers DR, De Jonge H, Naesens M, Lerut E, Verbeke K, Vanrenterghem Y. CYP3A5 and CYP3A4 but not MDR1 single-nucleotide polymorphisms determine long-term tacrolimus disposition and drug related nephrotoxicity in renal recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2007; 82: 711-25.
- ⁹⁷ Bardur S, Petrasek J, Hribova P, Novotna E, Brabcova I, Viklicky O. Haplotypic structure of ABCB1/MDR1 genes modifies the risk of the acute allograft rejection in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2008; 86:1206-13.

-
- ⁹⁸ Quteineh L, Verstuyjt C, Furlan V et al. Influence of CYP3A5 genetic polymorphisms on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic Clin Pharmacol toxicol.* 2008; 103: 546-52.
- ⁹⁹ Zhao Y, Song M, Guan D et al. Genetic polymorphisms of CYP3A5 genes and concentration of the cyclosporine and tacrolimus. *Transplant Proc.* 2005; 37:178-81.
- ¹⁰⁰ Macphee IA, Fredericks S, Mohamed M et al. Tacrolimus pharmacogenetics: the CYP3A5*1 allele predicts low dose-normalized tacrolimus blood concentrations in whites and souths Asians. *Transplantation.* 2005; 79: 499-502.
- ¹⁰¹ Mai I, Perloff ES, Bauer S et al. MDR1 haplotypes derived from exons 21 and 26 do not affect the steady-state pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2004; 58:548-53.
- ¹⁰² Thervet E, Anglicheau D, King B et al. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphisms on tacrolimus doses and concentration to dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2003; 76: 1233-5.
- ¹⁰³ Katsakiori PF, Papapetrou EP, Sakellaropoulos GC, Goumenos DS, Nikiforidis GC, Flordellis CS. Factors affecting the long-term response to tacrolimus in renal transplant patients: pharmacokinetic and pharmacogenetic approach. *Int J Med Sci.* 2010; 7(2):94-100.
- ¹⁰⁴ Miao LY, Huang CR, Hou JQ, Qian MY. Association study of ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms with sirolimus trough concentration and dose requirements in Chinese renal transplant recipients. *Biopharm Drug Dispos.* 2008; 29: 1-5.
- ¹⁰⁵ Le Meur Y, Djebli N, Szelag JC et al. CYP3A5*3 influences sirolimus oral clearance in de novo and stable renal transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2006; 80:51-60.
- ¹⁰⁶ Djebli N, Rousseau A, Hoizey G et al. Sirolimus population pharmacokinetic/pharmacogenetic analysis and Bayesian modeling in kidney transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2006; 45:1135-48.

-
- ¹⁰⁷ Bernard O, Tojcic J, Journault K, Perusse I, Guillemette C. Influence of nonsynonymous polymorphisms of UGT1A8 y UGT2B7 metabolizing enzymes on the formation of phenolic and acyl glucuronides of mycophenolic acid. *Drug Metab Dispos.* 2006; 34(9):1539-45.
- ¹⁰⁸ Betonico GN, Abbud-Filho M, Goloni-Bertollo EM et al. Influence of UDP-glucuronosyltransferase polymorphisms on mycophenolate mofetil induced side effects in kidney transplant patients. *Transplant Proc.* 2008; 40:708-10.
- ¹⁰⁹ Van Schaik R, Van Agteren M, de Fijter J et al. UGT1A9-275T>/-2152c>t polymorphisms correlate with low MPA exposure and acute rejection in MMF/tacrolimus treated kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther.* 2009; 86:319-27.
- ¹¹⁰ Johnson LA, Oetting WS, Basu S, Prausa S, Matas A, Jacobson PA. Pharmacogenetic effect of the UGT polymorphisms on mycophenolate is modified by calcineurin inhibitors. *Eur J Clin Pharmacol.* 2008; 64: 1047-56.
- ¹¹¹ Kagaya H, Inoue K, Miura M et al. Influence of UGT1A8 and UGT2B7 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplant recipients. *Ur J Clin Pharmacol.* 2007; 63:279-88.
- ¹¹² Kuypers DR, Naesens M, Vermeire S, Vanrenterghem Y. The impact of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) gene promoter region single-nucleotide polymorphisms T-275A and C-2152T on early mycophenolic acid dose interval exposure in de novo renal allograft recipients. *Clin pharmacol Ther.* 2005; 78:351-61.
- ¹¹³McKeon F. When worlds collide: immunosuppressants meet protein phosphatases. *Cell.* 1991; 66: 823-6.
- ¹¹⁴ Brian MD, Alexander SI. Rejection of the Kidney Allograft. *N Engl J Med.* 2010; 363:1451-62.
- ¹¹⁵ Morales JM, Dominguez B. Hipertensión arterial y trasplante. Aula sobre trasplante de órganos. En: www. Roche-trasplantes.com

-
- ¹¹⁶ Campistol JM, Romero R, Paul J, Gutiérrez-Dalmau A. Epidemiology of arterial hypertension in renal transplant patients: changes over the last decade. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19(3):62-6.
- ¹¹⁷ Waichi W, Nina T-R, Francis LD, et al. Analysis of the cardiovascular risk profile in stable kidney transplant recipients after 50% CsA reduction. *Clin transplant*. 2004; 18:341-8.
- ¹¹⁸ Vicenti F, Friman S, Scheuermann E, et al. Results of an international, randomized trial comparing glucose metabolism disorders and outcome with cyclosporine versus tacrolimus. *Am J Transplant*. 2007; 7:1506-14.
- ¹¹⁹ Díaz JM et al. Etiopatogenia y metodología diagnóstica de la diabetes posterior al trasplante renal. *Revista Nefrología*. 2010; 1(2):11-4.
- ¹²⁰ American Diabetes Association. Standards of Medical Care in Diabetes. *Diabetes Care*. 2011; 34 (1): 11-61.
- ¹²¹ Robles NR, Alcázar R, González O, Honorato J, Acha J, Álvaro F. Manejo práctico de antidiabéticos orales en pacientes con enfermedad renal. *Nefrología*. 2006; 26 (5): 539-58.
- ¹²² Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int*. 2000; 13(5):313-26.
- ¹²³ Undre NA, Van Hoof J, Christiaans M et al. Low systemic exposure to tacrolimus correlates with acute rejection. *Transplant proc*. 1999; 31:296-8.
- ¹²⁴ Böttiger Y, Brattström C, Tydén G, Säwe J, Groth CG. Tacrolimus whole blood concentrations correlate closely to side-effects in renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 1999; 48(3):445-8.
- ¹²⁵ Base de datos Micromedex 2.0. En: www.thomsonhc.com.
- ¹²⁶ Wang J, Zeevi A, McCurry K, et al. Impact of ABCB1 haplotypes on tacrolimus dosing in adult lung transplant patients who are CYP3A5*3*3 non-expressors. *Transpl Immunol*. 2006; 15:235.
- ¹²⁷ Haufroid V, Mourad M, Van Kerckhove V, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and

trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics*. 2004; 14; 147.

¹²⁸ Singh, R, Srivastava A, Kapoor R, Mittal RD. Do drug transporter SNP influence cyclosporine and tacrolimus dose requirements and renal allograft outcome in the posttransplantation period? *Journal of clinical pharmacology*. 2011; 51(4):603-15.

¹²⁹ Satoh S, Saito M, Inoue T, Kagaya H, Miura M, Inoue K, et al. CYP3A5*1 allele associated with tacrolimus trough concentrations but not subclinical acute rejection or chronic allograft nephropathy in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009; 65 (5): 473-81.

¹³⁰ Min S, Kim S, Ahn S, Min S, Kim S, Kim Y et al. CYP3A5*1 allele: impacts on early acute rejection and graft function in tacrolimus-based renal transplant recipients. *Transplantation*. 2010; 20 (12): 1394-400.

¹³¹ Haufroid V, Wallemacq P, VanKerckhove V, Elens L, De Meyer M, Eddour DC, Malaise J, Lison D, Mourad M. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *Am J Transplant*. 2006; 6(11): 2706-13.

¹³² Strassburg C, Barut A, Obermayer P, Li Quing, Nguyen N, Tukey R, et al. Identification of cyclosporine A and tacrolimus glucuronidation in human liver and the gastrointestinal tract by a differentially expressed UDP-glucuronosyltransferase: UGT2B7. *Journal of hepatology*. 2001; 34: 865-72.

¹³³ Firdaous I, Verbeeck RK, Hassoun A, Langrehr JM, Wallemacq PE. Excretion of tacrolimus glucuronides in human bile. *European Journal of drug metabolism and pharmacokinetics*. 1997; 22 (3): 217-21.

¹³⁴ Laverdière I, Caron P, Harvey M, Lévesque É, Guillemette C. In vitro investigation of human UDP-glucuronosyltransferase isoforms responsible for tacrolimus glucuronidation: predominant contribution of UGT1A4. *Drug Metab Dispos*. 2011; 39(7):1127-30.

-
- ¹³⁵ Llamba J, Lamba V, Strom S, et al. Novel single nucleotide polymorphisms in the promoter and intron 1 of human pregnane X receptor and their association with CYP3A4 expression. *Drug metab dispos.* 2008; 36 (1): 169-81.
- ¹³⁶ Zhang J, Kuehl P, Green ED et al. The human pregnane X receptor: genomic structure and identification and functional characterization of natural allelic variants. *Pharmacogenetics.* 2001; 11 (7):555-72.
- ¹³⁷ Benkali K, Premaud A, Picard N, Rerolle j, Toupance O, Hoizey G et al. Tacrolimus population pharmacokinetic-pharmacogenetic analysis and Bayesian estimation in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinetic.* 2009; 48 (12): 805-16.
- ¹³⁸ Child, CG, Turcotte, JG. Surgery and portal hypertension. In: *The Liver and Portal Hypertension*, Child, CG (Ed), Saunders, Philadelphia 1964. p.50.
- ¹³⁹ Pugh RN, Murray-Lyon IM, Dawson JL, et al. Transection of the oesophagus for bleeding oesophageal varices. *Br J Surg.* 1973; 60:646.
- ¹⁴⁰ Delgado M, Llorca J, Doménech JM. *Estudios de cohortes.* Barcelona: Signo; 2006.p.19-24.
- ¹⁴¹ *Prospecto Tacrolimus. Architect System.* Abbot laboratorios. 2009.
- ¹⁴² Doménech J, Martínez J, Plá JM. Biodisponibilidad. En: *Biofarmacia y farmacocinética.* Editorial síntesis.
- ¹⁴³ Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976; 16: 31-41.
- ¹⁴⁴ National Kidney Foundation. *K-DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, classification, and stratification.* *Am J Kidney Dis.* 2002;39(1):S1-266.
- ¹⁴⁵ Doménech JM. *Fundamentos de Diseño y estadística. UD 11: comparación de dos medias: pruebas t.* Barcelona: Signo; 2005.
- ¹⁴⁶ Doménech JM. *Fundamentos de Diseño y estadística. UD 10: relación entre dos variables categóricas. Pruebas de χ^2 .* Barcelona: Signo; 2005.

-
- ¹⁴⁷ Goodman SN. P Values, hypothesis tests and likelihood: implications for epidemiology of a neglected historical debate. *American Journal of Epidemiology*. 1993; 137 (5): 485-95.
- ¹⁴⁸ Kälble T, Alcaraz A, Budde K, Humke U, Karam G, Lucan M, et al. Guidelines on renal transplantation. European Association of Urology. 2010.
- ¹⁴⁹ Ficha técnica Cellcept®. Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios. 2006.
- ¹⁵⁰ Ficha técnica Prednisona®. Agencia Española de Medicamentos y Productos sanitarios. 2009.
- ¹⁵¹ Wagner SJ, Brennan DC. Induction therapy in renal transplant recipients: how convincing is the current evidence? *Drugs*. 2012; 72(5):671-83.
- ¹⁵² Foster CE, Weng RR, Piper M, Laugenou K, Ichii H, Lakey J, Malinoski D. Induction therapy by anti-thymocyte globulin (rabbit) versus basiliximab in deceased donor renal transplants and the effect on delayed graft function and outcomes. *Transplant Proc*. 2012; 44(1):164-6.
- ¹⁵³ De Fijter JW. An old virtue to improve senior programs. *Transpl Int*. 2009; 22(3):259-68.
- ¹⁵⁴ Rao PS, Merion RM, Ashby VB, Port FK, Wolfe RA, Kayler LK. Renal transplantation in elderly patients older than 70 years of age: results from the Scientific Registry of Transplant Recipients. *Transplantation*. 2007; 83(8):1069-74.
- ¹⁵⁵ Frei U, Noeldeke J, Machold-Fabrizii V, Arbogast H, Margreiter R, Fricke L, Voiculescu A, Kliem V, Ebel H, Albert U, Lopau K, Schnuelle P, Nonnast-Daniel B, Pietruck F, Offermann R, Persijn G, Bernasconi C. Prospective age-matching in elderly kidney transplant recipients—a 5-year analysis of the Eurotransplant Senior Program. *Am J Transplant*. 2008; 8(1):50-7.
- ¹⁵⁶ Olaverri JG, Mora Christian J, Elorrieta P, Esnaola K, Rodríguez P, Marrón I, Uriarte I, Landa MJ, Zarraga S, Gainza FJ, Aranzabal J, Zabala JA, Pertusa C. Utilization of advanced-age donors in renal transplantation. *Transplant Proc*.

2011; 43(9):3340-3.

¹⁵⁷ Gore JL, Pham PT, Danovitch GM, Wilkinson AH, Rosenthal JT, Lipshutz GS, Singer JS. Obesity and outcome following renal transplantation. *Am J Transplant.* 2006; 6(2):357-63.

¹⁵⁸ Pelletier SJ, Maraschio MA, Schaubel DE, Dykstra DM, Punch JD, Wolfe RA, Port FK, Merion RM. Survival benefit of kidney and liver transplantation for obese patients on the waiting list. *Clin Transpl.* 2003; 77-88.

¹⁵⁹ Schold JD, Srinivas TR, Guerra G, Reed AI, Johnson RJ, Weiner ID, Oberbauer R, Harman JS, Hemming AW, Meier-Kriesche HU. A 'weight-listing' paradox for candidates of renal transplantation? *Am J Transplant.* 2007; 7(3):550-9.

¹⁶⁰ Schnitzler MA, Salvalaggio PR, Axelrod DA, Lentine KL, Takemoto SK. Lack of interventional studies in renal transplant candidates with elevated cardiovascular risk. *Am J Transplant.* 2007; 7(3):493-4.

¹⁶¹ Jiménez del Cerro LA, Franco A, Rivera F y Olivares J. Evolución de la función renal en el trasplante renal. Factores predictivos del deterioro funcional. *Nefrología.* 2001; 21 (3): 295-304.

¹⁶² Datos de OPTN (Organ Procurement and Transplantation Network). 2009. En: www.optn.org.

¹⁶³ Jindal RM, Ryan JJ, Sajjad I, et al. Kidney transplantation and gender disparity. *Am J Nephrol* 2005; 25:474–83.

¹⁶⁴ Collaborative Transplant Study. En: <http://www.ctstransplant.org/>.

¹⁶⁵ Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 1999; 130: 461-70.

¹⁶⁶ Stratta P, Quaglia M, Cena T, Antoniotti R, Fenoglio R, Menegotto A, Ferrante D, Genazzani A, Terrazzino S, Magnani C. The interactions of age, sex, body mass index, genetics, and steroid weight-based doses on tacrolimus dosing

requirement after adult kidney transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68 (5): 671-80.

¹⁶⁷ Kim IW, Moon YJ, Ji E, Kim KI, Han N, Kim SJ, Shin WG, Ha J, Yoon JH, Lee HS, Oh JM. Clinical and genetic factors affecting tacrolimus trough levels and drug-related outcomes in Korean kidney transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012; 68 (5): 657-69.

¹⁶⁸ Li L, Li CJ, Zheng L, Zhang YJ, Jiang HX, Si-Tu B, Li ZH: Tacrolimus dosing in Chinese renal transplant recipients: a population-based pharmacogenetics study. *Eur J Clin Pharmacol.* 2011; 67 (8): 787-95.

¹⁶⁹ Press RR, Ploeger BA, den Hartigh J, van der Straaten T, van Pelt J, Danhof M, de Fijter JW, Guchelaar, HJ. Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients. *Therapeutic Drug Monitoring.* 2009; 31 (2): 187-97.

¹⁷⁰ Miura M, Niioka T, Kagaya H, Saito M, Hayakari M, Habuchi T, Satoh S. Pharmacogenetic determinants for interindividual difference of tacrolimus pharmacokinetics 1 year after renal transplantation. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics.* 2011; 36 (2): 208-16.

¹⁷¹ Arnold ML, Dechant M, Doxiadis II, Spriewald BM. Prevalence and specificity of immunoglobulin G and immunoglobulin A non-complement-binding anti-HLA alloantibodies in retransplant candidates. *Tissue Antigens.* 2008; 72(1):60-6.

¹⁷² Mauiyyedi S, Crespo M, Bernard A et al. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13: 779-87.

¹⁷³ Morelo F, Serón D, Gil-Vernet, et al. Donor age and delayed graft function as predictors of renal allograft survival in rejection-free patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1999; 14:930-5.

¹⁷⁴ Arias M, Cotorruelo JG, Escallada R, de Francisco AL, González M, Morales P, Sanz S, Ruiz JC y Zubimendi JA. Perdida del injerto renal a largo

plazo. *Nefrologia*. 1996; 16 (2): 31-8.

¹⁷⁵ Salahudeen, A; Haiden, N; May, W. Cold ischemia and the reduced long term survival of cadaveric renal allografts. *Kidney international*. 2004; 65 (2): 713-8.

¹⁷⁶ Barba J, Zudaire JJ, Robles JE, Tienza A, Rosell D, Berían JM, Pascual I. ¿Existe un intervalo de tiempo de isquemia fría seguro para el injerto renal? *Actas Urol Esp*. 2011; 35 (8):475-80.

¹⁷⁷ Barry A, Levine M.A systematic review of the effect of CYP3A5 genotype on the apparent oral clearance of tacrolimus in renal transplant recipients. *Ther Drug Monit*. 2010; 32(6):708-14.

¹⁷⁸ Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A4 promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature genetics*. 2001; 27: 383-91.

¹⁷⁹ NCBI (National Center for biotechnology information) En: www.ncbi.nlm.nih.gov.

¹⁸⁰ Guerra G, Ciancio G, Gaynor JJ, Zarak A, Brown R, Hanson L, Sageshima J, Roth D, Chen L, Kupin W, Tueros L, Ruiz P, Livingstone AS. Randomized trial of immunosuppressive regimens in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2011; 22(9):1758-68.

¹⁸¹ Sampaio EL, Pinheiro-Machado PG, Garcia R, Felipe CR, Park SI, Casarini DE, Moreira S, Franco MF, Tedesco-Silva H Jr, Medina-Pestana JO. Mycophenolate mofetil vs. sirolimus in kidney transplant recipients receiving tacrolimus-based immunosuppressive regimen. *Clin Transplant*. 2008; 22 (2):141-9.

¹⁸² Chen JS, Li LS, Cheng DR, Ji SM, Sun QQ, Cheng Z, Wen JQ, Sha GZ, Liu ZH. Effect of CYP3A5 genotype on renal allograft recipients treated with tacrolimus. *Transplant Proc*. 2009; 41(5):1557-61.

¹⁸³ Terrazzino S, Quaglia M, Stratta P, Canonico P, Genazzani A. The effect of CYP3A5 6986A>G and ABCB1 3435C>T on tacrolimus dose-adjusted trough

levels and acute rejection rates in renal transplant patients: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2012; 22 (8):642-5.

¹⁸⁴ Singh R, Srivastava A, Kapoor R, K Sharma R, D Mittal R. Impact of CYP3A5 and CYP3A4 gene polymorphisms on dose requirement of calcineurin inhibitors, cyclosporine and tacrolimus, in renal allograft recipients of North India. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol*. 2009; 380(2):169-77.

¹⁸⁵ Loh H and Cohen A. Drug-induced Kidney Disease. *Ann Acad Med Singapore*. 2009; 38:240-50.

¹⁸⁶ Naesens M, Lerut E, de Jonge H, Van Damme B, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Donor age and renal P-glycoprotein expression associate with chronic histological damage in renal allografts. *J Am Soc Nephrol*. 2009; 20(11):2468-80.

¹⁸⁷ Hesselink DA, Bouamar R and Van Gelder T. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity. *Ther Drug Monit*. 2010; 32(4):387-93.

¹⁸⁸ Gijzen VM. Tacrolimus-induced nephrotoxicity and genetic variability: a review. *Ann Transplant*. 2012; 17(2):111-21.

¹⁸⁹ El Multicentro EE.UU. FK506 Estudio del Hígado. Una comparación de tacrolimus y ciclosporina para la inmunosupresión en el trasplante de hígado *N Engl J Med*. 1994; 331:1110 -5.

¹⁹⁰ Appignani BA, Bhadelia RA, Blacklow SC, Wang AK, Roland SF, Freeman RB Jr. Neuroimaging findings in patients on immunosuppressive therapy: experience with tacrolimus toxicity. *AJR Am J Roentgenol* 1996; 166:683–8.

¹⁹¹ Kwun WH. Tacrolimus related neurologic complication after pediatric kidney transplantation. *J Korean Surg Soc*. 2011; 81(3):225-8.

¹⁹² Numakura K, Satoh S, Tsuchiya N, Horikawa Y, Inoue T, Kakinuma H, Togashi H, Matsuura S, Tada H, Suzuki T, Habuchi T. Incidence and risk factors of clinical characteristics, tacrolimus pharmacokinetics, and related genomic polymorphisms for posttransplant diabetes mellitus in the early stage of renal

transplant recipients. *Transplant Proc.* 2005; 37(4):1865-7.

¹⁹³ Madhav D, Ram R, Dakshinamurthy KV. Posttransplant diabetes mellitus: analysis of risk factors, effects on biochemical parameters and graft function 5 years after renal transplantation. *Transplant Proc.* 2010; 42(10):4069-71.

¹⁹⁴ Albert A, Campos E, Almenar D. Sistemas para la prevención de morbilidad farmacoterapéutica. En: *calidad farmacoterapéutica*. Ed: N Víctor Jiménez Torres. Publicacions de la Universitat de València. 2006; 243-272.

¹⁹⁵ Kasiske BL. Resumen de las Guías de práctica clínica KDIGO sobre el cuidado del receptor de trasplante renal. *Kidney International.* 2010; 1-23.

¹⁹⁶ Abbud-Filho M, Adams PL, Alberu J, Cardella C, Chapman J, Cochat P, et al. A Report of the Lisbon Conference on the Care of the Kidney Transplant Recipient. *Transplantation.* 2007; 83:S1-22.

¹⁹⁷ Martín-Vega A, Jonay A, Maeso S, Pérez V, Jiménez C, García-Caballero J, Selgas R. Evaluación del impacto asistencial de una vía clínica de trasplante renal. *Rev Calidad Asistencial.* 2007; 22:184-90.

¹⁹⁸ Hernández S, García J, Jiménez C, Escuin F, Mahillo B, Herruzo R, Taberner A, Núñez C. Resultados e impacto de una vía clínica para trasplante renal tras un año de desarrollo. *Rev Calidad Asistencial.* 2003; 18:9-19.

¹⁹⁹ Miura M, Satoh S, Kagaya H, Saito M, Inoue T, Tsuchiya N, Suzuki T, Habuchi T. No impact of age on dose-adjusted pharmacokinetics of tacrolimus, mycophenolic acid and prednisolone 1 month after renal transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009; 65(10):1047-53.

ANEXOS

Anexo I. Tratamiento farmacoterapéutico en el trasplante renal.

Servicios de Farmacia y Nefrología

Hora estimada del trasplante ____: ____ h

E.C.¹: No Sí: _____

Peso: _____ kg

Alergias: No Sí: _____

PRIMER COGNOM PRIMER APELLIDO _____
SEGON COGNOM SEGUNDO APELLIDO _____
NOM NOMBRE _____
DATA DE NAIXEMENT FECHA DE NACIMIENTO ____/____/____
SEXE SEXO
VARÓN <input type="checkbox"/>
MUJER <input type="checkbox"/>
SIP <input type="checkbox"/> NHC <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

**HOJA DE PRESCRIPCIÓN MÉDICA Y VALIDACIÓN FARMACÉUTICA
DEL TRATAMIENTO PRE-TRASPLANTE RENAL**

Descripción del tratamiento (dosis únicas)	Dosis	VF
1) Esteroides: 6-Metilprednisolona 250/500 mg/IV en S-100 mL en 30 min.	_____ mg	<input type="checkbox"/>
2) Fármacos antiproliferativos: Se seleccionará una de las siguientes opciones: a. Micofenolato de mofetilo 1 g/IV en G5%-170 mL en 120 min. b. Azatioprina 2,5 mg/kg/ IV en S-100 mL en 30 min.	_____ mg _____ mg	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
3) Mejora de la trombopatía urémica ante cirugía mayor: Desmopresina 0,3 µg/Kg (Dmax= 20 µg) en S-50 mL en 30 min.	_____ mcg	<input type="checkbox"/>
4) Tratamiento antibiótico profiláctico: Se seleccionará una de las siguientes opciones: a. Cefotaxima 2g/IV en S-100 mL en 30 min. b. Alergia a β-lactámicos: Ciprofloxacino 200 mg/IV en S-100 mL en 30 min. c. Otros:	_____ mg _____ mg _____ mg	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>
5) Tratamiento de inducción: Se seleccionará una de las siguientes opciones:		
a. Globulina antitumógena (en pacientes de alto riesgo inmunológico): 1. <i>Premedicación:</i> • Dexclorfeniramina 5mg/IV. • Paracetamol 1 g/IV. 2. <i>Tratamiento:</i> Timoglobulina/IV (1-1,5 mg/kg/24 h, 1-3 sem.) en S-250 mL. Velocidad inicial 12 ml/h e incrementar según tolerancia hasta máximo 42 ml/h.	_____ mg _____ mg _____ mg	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

b.	Anticuerpo monoclonal anti-IL-2: Basiliximab : 20 mg/IV en S-50 mL en 20 min (2ª dosis 4 días post-Tx).	_____ mg	<input type="checkbox"/>
c.	Anticuerpo monoclonal anti-CD3 (sólo en pacientes de alto riesgo inmunológico e hipersensibilidad a Timoglobulina): 1. <i>Premedicación:</i> <ul style="list-style-type: none"> • Dexclorfeniramina 5mg/IV. • Paracetamol 1 g/IV. 2. <i>Tratamiento:</i> Muromonab (OKT3) 5 mg/24 h/IV directa en 5 min (10-14 días). Requiere cumplimentación de la documentación de solicitud de Medicamento Extranjero a la AEMPS. Entregar documentación en S. Farmacia.	_____ mg _____ mg _____ mg	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/>

¹ Ensayo Clínico. ² Validación Farmacéutica

Médico: _____
Firma: _____

Confirmado: <input type="checkbox"/>
Hora: _____
Médico: _____

Farmacéutico: _____
Firma: _____

Fecha y hora: _____

Fecha y hora: _____

Anexo II. Clasificación de Banff.

1. Normal

2. Cambios mediados por anticuerpos. Debe documentarse presencia de anticuerpos contra el donante y C4d o patología del injerto.

-Depósito de C4d sin evidencia de rechazo activo C4d+, presencia de anticuerpos antidonante circulantes, sin signos de rechazo agudo o crónico mediado por células T o por anticuerpos (i.e. g0, cg0, ptc0, no hay multilaminación de capilares peritubulares). Casos con presencia simultánea de cambios "borderline" o necrosis tubular aguda son considerados como indeterminados.

-Rechazo agudo mediado por anticuerpos Sospechoso para rechazo mediado por anticuerpos (AMR) si C4d+ (en presencia de anticuerpos) o si no se demuestran aloanticuerpos (y C4d+) en presencia de evidencia morfológica de daño tisular. **Tipo I.** Lesiones similares a necrosis tubular aguda, inflamación mínima - **Tipo II.** Inflamación capilar o glomerular (antes denominada marginación capilar) (ptc/g > 0) y/o trombosis, c4d+ - **Tipo III.** Lesiones arteriales v3 (necrosis fibrinoide o inflamación transmural)

-Rechazo crónico activo mediado por anticuerpos Sospechoso para rechazo mediado por anticuerpos (AMR) si C4d+ (en presencia de anticuerpos) o si no se demuestran aloanticuerpos (y C4d+) en presencia de evidencia morfológica de lesión tisular crónica tales como doble contornos en paredes de capilares glomerulares (cg1, cg2 ó cg3) y/o multilaminación de las membranas basales de capilares peritubulares y/o fibrosis intersticial/atrofia tubular y/o engrosamiento intimal fibroso en arterias.

3. Cambios limítrofes ("borderline"): "sospechosos" de rechazo agudo mediado por células T

- No hay arteritis intimal pero hay focos de tubulitis (t1, t2, t3) con mínima inflamación intersticial (i0, i1), o hay inflamación intersticial (i2, i3) con tubulitis leve (t1).

4. Rechazo mediado por células T - Rechazo agudo mediado por células T (hasta hace poco llamado: Rechazo celular agudo/activo)

- IA. Inflamación intersticial >25% (i2 ó i3) y focos de tubulitis moderada: t2

- IB. Inflamación intersticial >25% (i2 ó i3) y focos de tubulitis severa: t3

- IIA. Arteritis (endarteritis) intimal leve a moderada: v1

- IIB. Arteritis (endarteritis) intimal severa, obstruyendo más del 25% de su luz: v2

- III. Arteritis transmural o necrosis fibrinoide de la pared arterial acompañada de inflamación linfocítica: v3

Rechazo crónico activo mediado por células T

Arteriopatía crónica del injerto (fibrosis intimal arterial con infiltración de células mononucleares en la fibrosis, formación de neoíntima)

5. Fibrosis intersticial y atrofia tubular, sin evidencia de etiología específica (hasta hace poco llamada:

Nefropatía crónica esclerosante del injerto) Puede incluir esclerosis vascular o glomerular inespecíficas, pero la severidad se gradúa de acuerdo con las lesiones crónicas tubulointersticiales. - **Tipo I** (leve): Fibrosis intersticial y atrofia tubular leves (6-25% de fibrosis intersticial en el área cortical: ci1).

- **Tipo II** (moderado): Fibrosis intersticial y atrofia tubular moderadas (26-50%).

- **Tipo III** (severo): Fibrosis intersticial y atrofia tubular severos (>50%).

6. Otros. Cambios que no se consideran debidos a rechazo.

- Enfermedades linfoproliferativas

- Cambios inespecíficos: Inflamación intersticial sin tubulitis, cambios vasculares reactivos, venulitis

- Necrosis tubular aguda

- Nefritis intersticial aguda

- Toxicidad por medicamentos

- Infecciones

- Enfermedad glomerular recurrente o de novo

- Obstrucción/reflujo

- Lesiones por preservación/reperfusión

Anexo III. Hoja de información al paciente y consentimiento informado del estudio retrospectivo.

Hoja de Información para Estudios Genéticos

Título “Personalización del tratamiento inmunosupresor de Tacrólimus y Micofenolato de Mofetil en los pacientes con trasplante renal”

Objetivo/finalidad del estudio

Se solicita su participación en este Proyecto de Investigación, cuyo objetivo principal pretende profundizar en el conocimiento de factores genéticos (polimorfismos) relacionados con los fármacos Tacrólimus (Prograf®, Advagraf®) y Micofenolato de Mofetil (CellCept®, Myfortic®). Se le pide que otorgue su consentimiento para que done una muestra de sangre.

En este estudio participan los servicios de nefrología y farmacia, del Hospital Universitario Dr. Peset.

Participación voluntaria

Su participación en este estudio es **totalmente voluntaria** y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que usted precise. Su relación con el equipo médico que le atiende no va a verse afectada.

Antes de tomar una decisión, lea atentamente este documento y haga tantas preguntas como desee para asegurarse que lo ha entendido y desea participar.

Procedimientos del estudio

Si usted decide participar, se le extraerá un tubo adicional de sangre de 5 ml para obtener las muestras de ADN. El ADN es un elemento que está presente en todas sus células porque lo ha recibido de sus padres y lleva un código en forma de “genes” que determina sus características físicas personales, como el color de ojos, de piel, etc... Las diferencias entre unas personas y otras nos pueden ayudar a explicar por qué algunas personas presentan efectos adversos o falta de eficacia a su tratamiento inmunosupresor.

Riegos/Incomodidades

La toma de muestras de sangre puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y le puede ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección, que desaparecen en pocos días; más raramente, mareo en el momento de la extracción de sangre.

Beneficios

La identificación de posibles factores genéticos relacionados con la absorción y metabolización de Tacrólimus y Micofenolato de Mofetil puede contribuir a personalizar su tratamiento inmunosupresor.

Compensación

Usted no recibirá ningún tipo de compensación económica o de cualquier otro tipo por su participación.

¿Qué se hará con su muestra?

Se le pedirá su consentimiento para que con su muestra de sangre se haga:

1. Que acepte que en el ADN de su sangre se estudien los genes específicos en el estudio que pueden estar relacionados con el tratamiento inmunosupresor que va a tomar.
2. Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con el tratamiento inmunosupresor por ello se le solicita que autorice al Investigador a almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes relacionados con la terapia inmunosupresora. El investigador garantizará que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más ADN.

Si cambia de opinión después de la extracción de sangre para el estudio genético, usted puede solicitar que se destruya su muestra de ADN, dirigiéndose a su médico.

Los datos que se obtengan del estudio le serán comunicados a su médico y a usted si lo desea, con el fin de personalizar su tratamiento inmunosupresor.

Confidencialidad

Toda la información relacionada con el estudio es estrictamente confidencial y tratada de acuerdo a la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal. Para garantizar el anonimato de su identidad, cada una de las muestras del estudio recibirá un código (nunca su nombre) y nunca el investigador que lleva a cabo el análisis genético conocerá su identidad.

Su muestra será almacenada en el congelador durante 2 años.

Su médico guardará esta hoja de información y la hoja de su consentimiento otorgado con su firma, en su historia clínica. Representantes del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital y las Autoridades Sanitaria Españolas podrán tener acceso a sus registros médicos, con el fin de controlar y garantizar la correcta realización del estudio.

Los resultados médicos podrán ser comunicados en reuniones científicas, congresos médicos o publicaciones científicas. Sin embargo se mantendrá una estricta confidencialidad sobre la identidad de los pacientes.

Información adicional

Si usted precisa mayor información sobre este estudio puede contactar con el Servicio de Nefrología: Dr Pallardó, Dra Beltrán, Dra Kanter, Dr Crespo, Dra Gavela, Dra Sancho en el teléfono: 961622495 de Lunes a Viernes de 8.30 a 15 hs.

CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE PARA ESTUDIOS GENÉTICOS

Título del estudio “Personalización del tratamiento inmunosupresor de Tacrólimus y Micofenolato de Mofetil en los pacientes con trasplante renal”

1. Yo.....
.....declaro bajo mi responsabilidad que he leído la Hoja de Información sobre el estudio y acepto participar en este estudio genético.
2. Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al paciente y una copia del Consentimiento Informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y objetivo del estudio genético y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
3. Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi sangre y mis muestras de ADN con un código numérico.
4. Soy libre de retirarme del estudio genético en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada.
5. Los datos del estudio se comunicarán a mi médico y a mí, si lo deseo, con el objetivo de personalizar mi tratamiento inmunosupresor.

YO DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético relacionado con la identificación de polimorfismos en los genes implicados en el metabolismo de Tacrólimo y Micofenolato de mofetil en mi muestra de ADN, y para futuros estudios genéticos relacionados con mi tratamiento inmunosupresor.

Fecha:

Firma del paciente:

Constato que he explicado las características y el objetivo del estudio genético, sus apartados y los riesgos y beneficios potenciales al sujeto cuyo nombre aparece escrito más arriba. El sujeto consiente participar por medio de su firma fechada en persona.

Firma del Investigador o la persona que proporciona la información y consentimiento:

Anexo IV. Hoja de información al paciente y consentimiento informado del estudio prospectivo.

Hoja de Información para Estudios Genéticos

Título “Personalización del tratamiento inmunosupresor de Tacrólimus en función del genotipo CYP3A5*3 en los pacientes con trasplante renal”

Objetivo/finalidad del estudio

Se solicita su participación en este Proyecto de Investigación, cuyo objetivo principal pretende profundizar en el conocimiento de factores genéticos (polimorfismos) relacionados con los fármacos Tacrólimus (Prograf). Se le pide que otorgue su consentimiento para que done una muestra de sangre.

En este estudio participan los servicios de nefrología y farmacia, del Hospital Universitario Dr. Peset.

Participación voluntaria

Su participación en este estudio es **totalmente voluntaria** y si usted decide no participar recibirá todos los cuidados médicos que usted precise. Su relación con el equipo médico que le atiende no va a verse afectada.

Antes de tomar una decisión, lea atentamente este documento y haga tantas preguntas como desee para asegurarse que lo ha entendido y desea participar.

Procedimientos del estudio

Si usted decide participar, se le extraerá un tubo adicional de sangre de 5 ml para obtener las muestras de ADN. El ADN es un elemento que está presente en todas sus células porque lo ha recibido de sus padres y lleva un código en forma de “genes” que determina sus características físicas personales, como el color de ojos, de piel, etc... Las diferencias entre unas personas y otras nos pueden ayudar a explicar por qué algunas personas presentan efectos adversos o falta de eficacia a su tratamiento inmunosupresor.

Riegos/Incomodidades

La toma de muestras de sangre puede provocar una sensación de ardor en el punto en el que se introduce la aguja en la piel y le puede ocasionar un pequeño hematoma o una leve infección, que desaparecen en pocos días; más raramente, mareo en el momento de la extracción de sangre.

Beneficios

La identificación de posibles factores genéticos relacionados con la metabolización de Tacrólimus puede contribuir a personalizar su tratamiento inmunosupresor tras el trasplante renal.

Compensación

Usted no recibirá ningún tipo de compensación económica o de cualquier otro tipo por su participación.

¿Qué se hará con su muestra?

Se le pedirá su consentimiento para que con su muestra de sangre se haga:

3. Que acepte que en el ADN de su sangre se estudien los genes específicos en el estudio que pueden estar relacionados con el tratamiento inmunosupresor que va a tomar.
4. Es probable que en un futuro se descubran nuevos genes relacionados con el tratamiento inmunosupresor por ello se le solicita que autorice al Investigador a almacenar su muestra para el estudio de otros genes que se puedan descubrir en el futuro. Esta muestra sólo se utilizará para estudiar genes importantes relacionados con la terapia inmunosupresora. El investigador garantizará que guardará y utilizará la muestra hasta que ya no quede más ADN.

Si cambia de opinión después de la extracción de sangre para el estudio genético, usted puede solicitar que se destruya su muestra de ADN, dirigiéndose a su médico.

Los datos que se obtengan del estudio le serán comunicados a su médico y a usted si lo desea, con el fin de personalizar su tratamiento inmunosupresor.

Confidencialidad

Toda la información relacionada con el estudio es estrictamente confidencial y tratada de acuerdo a la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal. Para garantizar el anonimato de su identidad, cada una de las muestras del estudio recibirá un código (nunca su nombre) y nunca el investigador que lleva a cabo el análisis genético conocerá su identidad.

Su muestra será almacenada en el congelador durante 2 años.

Su médico guardará esta hoja de información y la hoja de su consentimiento otorgado con su firma, en su historia clínica. Representantes del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital y las Autoridades Sanitaria Españolas podrán tener acceso a sus registros médicos, con el fin de controlar y garantizar la correcta realización del estudio.

Los resultados médicos podrán ser comunicados en reuniones científicas, congresos médicos o publicaciones científicas. Sin embargo se mantendrá una estricta confidencialidad sobre la identidad de los pacientes.

Información adicional

Si usted precisa mayor información sobre este estudio puede contactar con el Servicio de Nefrología: Dr Pallardó, Dra Beltrán, Dra Kanter, Dr Crespo, Dra Gavela, Dra Sancho en el teléfono: 961622495 de Lunes a Viernes de 8.30 a 15 hs.

CONSENTIMIENTO DEL PACIENTE PARA ESTUDIOS GENÉTICOS

Título del estudio “Personalización del tratamiento inmunosupresor de Tacrólimus en función del genotipo CYP3A5*3 en los pacientes con trasplante renal”

6. Yo.....
.....declaro bajo mi
responsabilidad que he leído la Hoja de Información sobre el estudio y acepto participar en este estudio genético.
7. Se me ha entregado una copia de la Hoja de Información al paciente y una copia del Consentimiento Informado, fechado y firmado. Se me han explicado las características y objetivo del estudio genético y los posibles beneficios y riesgos que puedo esperar. Se me ha dado tiempo y oportunidad para realizar preguntas. Todas las preguntas fueron respondidas a mi entera satisfacción.
8. Sé que se mantendrá en secreto mi identidad y que se identificará mi sangre y mis muestras de ADN con un código numérico.
9. Soy libre de retirarme del estudio genético en cualquier momento por cualquier motivo, sin tener que dar explicaciones y sin que repercuta negativamente sobre mi tratamiento médico futuro. Tras ello se procederá a la destrucción de la muestra codificada.
10. Los datos del estudio se comunicarán a mi médico y a mí, si lo deseo, con el objetivo de personalizar mi tratamiento inmunosupresor.

YO DOY mi consentimiento voluntariamente para que se pueda realizar el estudio genético relacionado con la identificación de polimorfismos en los genes implicados en el metabolismo de Tacrólimo en mi muestra de ADN, y para futuros estudios genéticos relacionados con mi tratamiento inmunosupresor.

Fecha:

Firma del paciente:

Constato que he explicado las características y el objetivo del estudio genético, sus apartados y los riesgos y beneficios potenciales al sujeto cuyo nombre aparece escrito más arriba. El sujeto consiente participar por medio de su firma fechada en persona.

Firma del Investigador o la persona que proporciona la información y consentimiento:

Anexo V. Modelo de informe farmacogenético.

**ESTUDIO: PROTOCOLO DE INDIVIDUALIZACIÓN
POSOLÓGICA DE TACROLIMO EN FUNCIÓN DEL
POLIMORFISMO CYP3A5*3**

Paciente: XXXXX
Núm. Historia Clínica: XXXXXX
Nº paciente: XXXXXXX
Médico responsable:

RESULTADOS DE ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO

	Polimorfismo	Significación Homocigoto	Resultado
1	CYP3A5*3 rs776746 6986A>G	Alelo G= falta de expresión= mayor concentración de tacrolimo. GG: AA: AG:	GG

RECOMENDACIÓN POSOLÓGICA DE TACROLIMO

El paciente presenta genotipo homocigoto para el polimorfismo CYP3A5*3, por tanto se recomienda iniciar el tratamiento con tacrolimo con una dosis de 0,075mg/kg/12h.

Farmacéutico: M^aÁngeles López-Montenegro **Fecha:**

Anexo VI. Resultados del análisis farmacogenético de los 50 pacientes del estudio retrospectivo.

Genotipo de la población (n=50) para los 14 polimorfismos estudiados. Las filas representan los pacientes incluidos en el estudio numerados del 1 al 50. Las columnas representan los polimorfismos estudiados agrupados por gen.

	CYP3A5				MDR1		UGT1A9					UGT1A8	UGT2B7	PXR
	*3	*6	*8	*9	3435	2677	2152	275	*3	*4	*5	*3	*2	PXR
1	He	He	N	N	N	He	N	He	Ho	He	N	He	He	He
2	He	He	N	N	N	He	N	He	Ho	He	N	N	N	He
3	Ho	N	N	N	He	He	N	He	Ho	He	N	N	N	He
4	Ho	He	N	N	He	He	He	He	Ho	N	N	N	He	Ho
5	Ho	N	N	N	N	N	N	Ho	Ho	He	N	N	He	He
6	Ho	N	N	N	He	He	N	Ho	He	He	N	N	Ho	He
7	Ho	N	N	N	Ho	Ho	Ho	He	Ho	He	N	He	Ho	He
8	Ho	N	N	N	He	He	N	He	Ho	He	N	N	He	He
9	Ho	N	N	N	Ho	He	N	He	Ho	He	N	N	Ho	He
10	Ho	N	N	N	He	He	N	He	Ho	He	N	N	N	He
11	Ho	N	N	N	He	He	N	Ho	Ho	He	N	He	He	He
12	Ho	N	N	N	He	He	N	Ho	Ho	He	N	He	He	He
13	He	N	N	N	N	Ho	He	He	Ho	He	N	He	He	He
14	Ho	N	N	N	He	He	N	Ho	Ho	He	N	N	He	He
15	Ho	N	N	N	He	He	N	Ho	He	N	N	N	He	He
16	Ho	N	N	N	He	He	N	Ho	Ho	He	N	N	He	He
17	Ho	N	N	N	N	He	N	Ho	Ho	N	N	N	Ho	He
18	He	N	N	N	He	N	He	He	Ho	N	N	N	He	He
19	Ho	N	N	N	He	N	He	He	Ho	N	N	N	He	He
20	Ho	N	N	N	He	He	N	N	Ho	N	N	N	He	Ho
21	Ho	N	N	N	He	He	Ho	Ho	Ho	N	N	Ho	He	He
22	Ho	N	N	N	He	N	He	He	Ho	N	N	Ho	N	Ho
23	He	N	N	N	He	N	He	He	Ho	He	N	He	Ho	He
24	Ho	N	N	N	He	He	N	He	Ho	He	N	He	Ho	He
25	Ho	N	N	N	N	He	N	He	Ho	He	N	He	N	Ho
26	Ho	N	N	N	He	He	N	He	Ho	He	N	N	Ho	He
20	Ho	N	N	N	N	He	N	He	Ho	He	N	N	He	He
28	He	N	N	N	He	He	N	He	Ho	He	N	He	He	He
29	Ho	He	N	N	He	N	N	He	Ho	He	N	He	He	He
30	Ho	N	N	N	He	He	He	He	Ho	He	N	He	N	He
31	Ho	N	N	N	N	N	N	N	Ho	He	N	He	Ho	He
32	Ho	N	N	N	N	N	N	N	Ho	He	N	N	Ho	Ho
33	Ho	N	N	N	Ho	Ho	N	N	Ho	He	N	N	He	He

	CYP3A5				MDR1		UGT1A9					UGT1A8	UGT2B7	PXR
	*3	*6	*8	*9	3435	2677	2152	275	*3	*4	*5	*3	*2	PXR
34	Ho	N	N	N	He	He	N	N	Ho	He	N	N	N	He
35	Ho	N	N	N	Ho	Ho	N	N	Ho	He	N	N	He	He
36	Ho	He	N	N	He	He	N	He	Ho	N	N	He	He	Ho
37	Ho	He	N	N	N	He	N	He	Ho	N	N	He	He	He
38	Ho	He	N	N	N	He	N	He	He	N	N	He	He	Ho
39	Ho	N	N	N	He	He	He	He	Ho	N	N	N	Ho	He
40	Ho	N	N	N	He	He	N	N	Ho	N	N	N	He	He
41	He	N	N	N	He	He	He	He	Ho	N	N	N	Ho	He
42	Ho	N	N	N	He	He	N	N	Ho	N	N	N	Ho	He
43	He	N	N	N	N	N	N	N	Ho	N	N	N	He	He
44	Ho	N	N	N	He	He	N	He	Ho	N	N	N	He	He
45	Ho	N	N	N	N	N	He	He	Ho	N	N	N	He	Ho
46	Ho	N	N	N	N	N	N	He	Ho	N	N	N	He	He
47	Ho	N	N	N	N	N	N	He	Ho	N	N	N	He	He
48	He	N	N	N	He	He	N	He	Ho	N	N	N	Ho	He
49	Ho	N	N	N	N	N	N	He	Ho	N	N	N	He	He
50	Ho	N	N	N	N	N	N	He	Ho	N	N	N	He	He

N: nativo; He: heterocigoto; Ho: homocigoto