



VNIVERSITAT
DE VALÈNCIA

DOCTORADO EN BIOMEDICINA Y FARMACIA

**IMPACTO DE LA FARMACOGENÉTICA EN LA
INMUNOSUPRESIÓN CON TACRÓLIMUS EN EL
TRASPLANTE HEPÁTICO Y RENAL**

TESIS DOCTORAL

presentada por

Luis Rojas Orellana

Dirigida por

Dra. M^a José Herrero Cervera

Dr. José Luis Poveda Andrés

Dr. Salvador F. Aliño Pellicer

Valencia, Mayo 2017

CERTIFICADO

AGRADECIMIENTOS

Ha llegado el fin de una etapa, una de las más importantes de mi vida, que dejará una huella imborrable, y que hará que España y Valencia nunca más dejen de ser parte de mi historia.

Quisiera dar un profundo agradecimiento para mi familia, en especial a mis padres Luis y Dina, por la educación entregada y por todo el esfuerzo para mi formación como persona y como profesional; gracias por enseñarme a tener espíritu de superación, por valorarme, por quererme y por apoyarme en cada paso que doy en mi vida.

A mis hijas, Ignacia y Trinidad, por su amor incondicional, por regalarme infinitas sonrisas y momentos únicos y especialmente gracias por todas las horas que me regalaron, o tuve que robarles, para poder avanzar y terminar este trabajo. A Daniela, por el apoyo incondicional durante estos años de esfuerzo.

A Claudia, por darme su compañía, paciencia y amor en esta última etapa y por darme la oportunidad de alcanzar el final de etapa.

Al Dr. Salvador F. Aliño , por dejarme ser uno más de su maravilloso equipo y permitirme aportar un grano de arena al desarrollo de la Farmacología de esta Universidad , y por permitirme conocer su nobleza y sabiduría, lo que me ha permitido ser mejor profesional y mejor persona.

Al Dr. José Luis Póveda, por entregarme sus consejos y su apoyo para desarrollar este proyecto de investigación

A M^a José Herrero, por ese apoyo incondicional, ese apoyo que traspasó las barreras del tiempo y de la distancia, por enseñarme una de las cosas más hermosas que aprendí: la pasión y el amor por la investigación y por quienes formamos parte de su grupo. Gracias M^a José , te llevaré siempre en mi corazón.

Finalmente a todos mis amigos valencianos por hacerme la estancia en Valencia más cómoda y llevadera estando tan lejos de casa y por enseñarme “ a disfrutar y conocer” este proceso largo y difícil.

PATROCINIO

La realización de la presente Tesis Doctoral ha sido posible gracias a la Beca del programa de formación para Doctorados concedida por la Fundación Carolina.

PUBLICACIONES

Los trabajos publicados durante el desarrollo de la Tesis Doctoral han sido:

- Meta-analysis and systematic review of the effect of the donor and recipient CYP3A5 6986A>G genotype on tacrolimus dose requirements in liver transplantation. **Rojas L**, Herrero M, Bosó V, García-Eliz M, Poveda J, Librero J, Aliño S. *Pharmacogenet Genomics*. 2013 Oct;23(10):509-17
- Effect of CYP3A5*3 on kidney transplant recipients treated with tacrolimus: a systematic review and meta-analysis of observational studies. **Rojas L**, Neumann I, Herrero M, Boso V, Reig J , Poveda J, Megias J , Bea S, Alino S. *Pharmacogenomics Journal*. 2015;15(1):38-48.

ABREVIATURAS

ABREVIATURAS

A	: Adenina
ABCB1	: ATP-binding cassette sub-family B member 1
ADN	: Ácido desoxirribonucleico
ARN	: Ácido ribonucleico
ARNm	: Ácido ribonucleico mensajero
AZA	: Azatioprina
C	: Citosina
C/D	: Concentración de tacrólimus normalizada por la dosis diaria por kilo de peso.
CaN	: Enzima calcineurina
Cmin	: Concentración mínima o concentración valle
CpN	: Ciclofilina
CsA	: Ciclosporina
CPIC	: The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium
CYP3A4	: Citocromo P450 3A4
CYP3A5	: Citocromo P450 3A5
CYP3A7	: Citocromo P450 3A7
CYP450	: Citocromo P450
D	: Donante
dL	: decilitro
DME	: Diferencia de medias estandarizada
DM	: Diferencias de medias
DE	: Desviación estándar
EDTA	: Ácido etilendiaminotetraacético
ELISA	: Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
exp:	: Expresador

ABREVIATURAS

FKBP	: FK506 binding protein
FKBP-12	: FK506 binding protein 12
G	: Guanina
Gp-P	: glicoproteína de permeabilidad
GRADE	: Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation
HCV	: Virus de Hepatitis C
HLA	: Antígenos leucocitarios humanos (<i>Human leukocyte antigen</i>)
IC	: intervalo de confianza
IL-2	: Interleukina 2
InC	: Inhibidor de calcineurina
IT	: Terapia de inducción
IV	: inverso de la varianza
Kg	: Kilogramo
Log	: logaritmo en base 10
MDR1	: Gen de Resistencia a múltiples fármacos (<i>Multidrog resistance protein</i>)
mg	: Miligramo
ml	: Mililitro
MMF	: Micofenolato de mofetil
mRNA	: Ácido ribonucleico mensajero
mTOR	: Proteína TOR (<i>mammalian Target of Rapamycin</i>)
n	: número
no exp	: no expresador
NF-ATc	: Factor nuclear de Linfocito T activado
NF-ATn	: Factor nuclear de células T activadas
Ng	: nanogramo
OR	: Odds ratio

NR	: No reportado
R	: Receptor
RFLP	: Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción (<i>Restriction Fragment Length Polymorphism</i>)
RNA	: Ácido ribonucleico
SE	: Error estándar
SMD	: Diferencia de medias estandarizada
SNP	: Polimorfismo de un solo nucleótido (<i>Single Nucleotide Polymorphism</i>)
SRL	: Sirolimus
STREGA	: Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies
STROBE	: Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology
T	: Timina
VHC	: Virus de hepatitis C
VNTR	: Polimorfismos en el número de repeticiones en tándem (<i>Variable Number Tandem Repetition</i>)

ÍNDICE

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	23
2. INTRODUCCIÓN.....	29
2.1 Historia de los trasplantes de órganos sólidos.....	29
2.2 Epidemiología	30
2.3 Inmunosupresión.....	31
2.4 Complicaciones de los trasplantes sólidos	35
2.4.1 Rechazo del injerto	35
2.4.2 Complicaciones de la terapia inmunosupresora.....	37
2.5 Prescripción de tacrólimus	39
2.6 Sistema de Citocromo P450 (CYP450)	40
2.7 Glicoproteína P (Gp-P).....	41
2.8 Polimorfismos de CYP3A4, CYP3A5 y ABCB1.....	41
2.8.1 Polimorfismos de CYP3A4.....	43
2.8.2 Polimorfismo de CYP3A5.....	43
2.8.3 Polimorfismo de ABCB1.....	44
2.9 Influencia de los polimorfismos en la farmacocinética de tacrólimus y la incidencia de complicaciones del trasplante.....	46
3. OBJETIVOS.....	55
4. METODOLOGÍA.....	59
4.1 Metodología de las revisiones sistemáticas.....	59
4.1.1 Criterios de elegibilidad de los estudios	59
4.1.2 Métodos de búsqueda para identificar los estudios.....	61
4.1.3 Selección de los estudios.....	62
4.1.4 Obtención de los datos	63

4.1.5 Calidad metodológica	65
4.1.6 Análisis estadístico	66
4.2 Metodología del estudio de cohortes	69
4.2.1 Diseño del estudio	69
4.2.2 Terapia Inmunosupresora	70
4.2.3 Variables a estudiar	71
4.2.4 Desenlaces a evaluar	72
4.2.5 Control del sesgo	74
4.2.6 Cálculo del tamaño muestral.....	75
4.2.7 Análisis estadístico	76
5. RESULTADOS	79
5.1 Resultados para objetivo 1: Revisión Sistemática para trasplante hepático... 79	
5.1.1 Características de los estudios y de los pacientes	80
5.1.2 Riesgo de Sesgo	83
5.1.3 Análisis de los datos de proporción C/D.....	84
5.1.4 Discusión	89
5.1.5 Limitaciones y fortalezas.....	91
5.1.6 Conclusión	92
5.2 Resultados objetivo 2: Revisión Sistemática en trasplante renal	93
5.2.1 Características de los estudios y de los pacientes	95
5.2.2 Riesgo de Sesgo	99
5.2.3 Análisis de los datos	102
5.2.4 Discusión	109
5.2.5 Limitaciones y fortalezas.....	111
5.2.6 Conclusión	112

5.3 Resultados objetivo 3: Estudio de cohortes con pacientes de trasplante hepático	113
5.3.1 Características de los pacientes incluidos en el estudio de cohortes	113
5.3.2 Frecuencia de los genotipos	116
5.3.3 Resultados del efecto de los genotipos.....	117
5.3.4 Discusión	129
5.3.5 Limitaciones y fortalezas.....	134
5.3.6 Conclusiones	135
6. BIBLIOGRAFIA.....	139

RESUMEN

1. RESUMEN

Los trasplantes de órganos sólidos, en especial el trasplante hepático y renal, han permitido aumentar la supervivencia de la población, lo que se ha potenciado con el desarrollo de las técnicas quirúrgicas y de la inmunosupresión farmacológica, dentro de los que destaca la aparición de los inhibidores de la calcineurina (InC), especialmente tacrólimus. A pesar de estos avances, persisten cifras importantes de rechazo agudo y de toxicidad aguda y crónica precisamente por el uso de los InC que pueden dificultar la mejoría de la supervivencia y la calidad de vida de los pacientes trasplantados. Para reducir estos riesgos se han implementado intervenciones para mejorar la dosificación de los InC, pero aún así no se ha logrado soslayar la gran variabilidad de los niveles sanguíneos entre los pacientes y para un mismo paciente a lo largo del tiempo.

Por tal motivo es necesario individualizar la terapia, para lo cual una de las variables a conocer y controlar es la farmacocinética-farmacodinamia de tacrólimus, la cual está influenciada por varios factores, siendo uno de los más relevantes la acción de la enzima metabolizadora CYP3A5 y la proteína transportadora Gp-P. Cambios cualitativos y cuantitativos de éstas pueden llevar a variaciones en la farmacocinética de los InC. Una de las principales causas de estos cambios son los polimorfismos en los genes que la codifican, siendo los más relevantes los SNPs CYP3A5 6986A>G, ABCB1 3435C>T, 1236C>T y 2677G>T/A.

Los estudios que han evaluado la asociación de estos polimorfismos con cambios en la farmacocinética de tacrólimus o con desenlaces clínicos relacionados con la eficacia o toxicidad no han sido concluyentes, ya sea porque los resultados son contradictorios y/o porque los estudios presentan reparos metodológicos.

Por estos motivos, antes de llevar a cabo un estudio clínico realizamos una búsqueda y análisis sistemático de la evidencia disponible acerca del impacto del polimorfismo CYP3A5 6986A>G sobre la farmacocinética de tacrólimus en pacientes con trasplante hepático y acerca del impacto del mismo polimorfismo sobre la farmacocinética de tacrólimus y desenlaces clínicos relacionados con eficacia y toxicidad en pacientes con trasplante renal. La revisión sistemática en trasplante de hígado determinó que el

RESUMEN

polimorfismo CYP3A5 6986A>G de los donantes de hígado, no así del receptor, afecta significativamente la farmacocinética del tacrólimus durante el primer año después del trasplante. A su vez, los resultados en trasplante renal sugieren que el polimorfismo CYP3A5 6986A>G del receptor puede afectar los requerimientos de tacrólimus durante el primer año después del trasplante, así como la eficacia del tratamiento (rechazo agudo). Además, el genotipo expresador también puede estar asociado con un mayor riesgo de nefrotoxicidad crónica, pero no con el riesgo de nefrotoxicidad aguda. Las limitaciones de estas revisiones radican en que se incluyeron únicamente estudios observacionales, ya que existen pocos ensayos clínicos publicados, y la calidad global de la evidencia es baja.

Lo anterior junto con el escaso número de estudios en trasplante hepático, motivó a la realización de un estudio en nuestros pacientes caucásicos, etnia relativamente poco representada en los estudios evaluados, con un diseño que abordase las debilidades metodológicas de la evidencia existente. En este estudio consideramos el impacto de CYP3A5 6986A>G del donante y receptor sobre la farmacocinética, eficacia y nefrotoxicidad de tacrólimus y también evaluamos el rol de los polimorfismos de ABCB1 3435C>T, C1236C>T, y G2677G>T/A del receptor.

Nuestro estudio sugiere que el polimorfismo CYP3A5 6989A>G en receptores y donantes de trasplante hepático afecta la farmacocinética de tacrólimus y que el polimorfismo expresador en donantes aumenta el riesgo de nefropatía crónica. Por otro lado, el genotipo ABCB1 3435C>T, C1236C>T y G2677G>T/A, de los receptores parece no afectar la farmacocinética de tacrólimus ni aumenta la susceptibilidad a desarrollar rechazo agudo o nefropatía aguda, pero si puede favorecer la incidencia de nefropatía crónica cuando se asocia a polimorfismos de CYP3A5 del receptor. Estos hallazgos postulan a la acumulación de metabolitos de tacrólimus en células renales como los causantes de la nefropatía crónica.

Nuestros hallazgos son un argumento para justificar la ejecución de ensayos clínicos rigurosamente diseñados que evalúen regímenes de dosificación individualizados de tacrólimus basados en el polimorfismo CYP3A5 6986A>G y que evalúen la asociación entre los niveles de tacrólimus y de sus metabolitos a nivel tisular y la ocurrencia de nefrotoxicidad crónica, con énfasis en la combinación de polimorfismos

de CYP3A5 6986A>G, ABCB1 3435C>T, C1236C>T y G2677G>T/A del donante y del receptor.

De esta forma podremos avanzar en determinar si el conocimiento de la farmacogenética del metabolismo hepático de tacrólimus podría detectar precozmente los pacientes con alto riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas al tacrólimus y de esta forma prevenir estos efectos adversos.

La farmacogenética podrá convertirse en un instrumento que contribuya a identificar el inmunosupresor adecuado, a las dosis adecuadas, en el individuo adecuado, lo que se irá logrando únicamente en la medida que se comprenda más de qué manera las variaciones genómicas se traducen en variaciones en las respuestas a medicamentos, y éstas, a su vez, tengan impacto clínico.

INTRODUCCIÓN

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Historia de los trasplantes de órganos sólidos

Entre la segunda mitad del siglo XIX y la primera mitad del siglo XX, gracias a la anestesia, los conceptos de asepsia y antisepsia, los antimicrobianos, la correcta comprensión de la fisiología y del metabolismo y muchos otros adelantos, se hizo posible la cirugía de las grandes cavidades corporales brindando así el terreno fértil para el desarrollo de la cirugía de trasplantes.

El avance del conocimiento médico permitió entender que muchas enfermedades se debían a la pérdida irreversible de la función de un órgano (riñones, hígado, pulmones, páncreas y corazón). Esto significaba a quien lo sufría, un deterioro lento, progresivo, invalidante e inevitablemente fatal. Esto llevó a desarrollar la idea de reemplazar dichos órganos en falla por otros funcionantes. En 1902, el cirujano y posterior premio Nobel, Alexis Carrel, publicó su técnica operatoria para anastomosis vasculares y trasplante visceral, generando posibilidades factibles para los trasplantes de órganos (1).

En Ucrania en 1933, después de 6 intentos fallidos, Voronoy realizó el primer aloinjerto en humanos. Transcurrieron más de 20 años para que Murray en 1954 lograra realizar el primer trasplante renal entre gemelos monocigotos que funcionó de manera excelente por largo tiempo. En 1960 se obtuvieron los primeros éxitos de trasplante renal con inmunosupresión, en ausencia de todo parentesco entre donantes y receptores. A estos pacientes se les administraron inmunosupresores como mecaptopurina, cortisona e irradiación, comenzando así la época actual de la inmunosupresión (2).

Paralelamente al desarrollo de los trasplantes renales, varios grupos en Estados Unidos y Europa comenzaron a explorar posibilidades con trasplante de otros órganos. Es así como el primer trasplante hepático en humanos lo realizó en 1963, el Dr. Thomas E. Starzl en la ciudad de Denver, Colorado, Estados Unidos. y el primer trasplante de corazón lo realizó en 1967 en Capetown, Sudáfrica, el Dr. Christian Barnard. Otros hitos históricos fueron el primer trasplante de pulmón por James Hardy

en 1963, el trasplante combinado de páncreas-riñón por William Kelly en 1966 y el trasplante combinado corazón-pulmón en 1968 por Denton (3).

2.2 Epidemiología

En las últimas décadas el trasplante de órganos sólidos ha evolucionado favorablemente, con tasas de supervivencia que han mejorado en un tiempo relativamente corto. Inicialmente sus resultados fueron obstaculizados por el rechazo y múltiples complicaciones agudas, generando supervivencias limitadas. Esto no mejoró hasta el año 1980, después del descubrimiento de la ciclosporina, lográndose tasas de supervivencia del orden del 71% a un año de seguimiento(4). Posteriormente, estas cifras han mejorado con el perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas y el desarrollo de nuevos inmunosupresores (5).

Más de medio siglo ha transcurrido desde el primer trasplante de órganos exitoso en humanos, siendo actualmente un procedimiento probado, en gran medida rutinario y con una relación costo-beneficio muy favorable cuando se compara con otras modalidades terapéuticas para fallos orgánicos terminales (6, 7) .

Los avances con respecto a esta terapéutica han sido posibles gracias al desarrollo de la inmunología, la coordinación de trasplantes, la infectología y de los medicamentos inmunosupresores, entre otros.

Los trasplantes se ejecutan de forma rutinaria en los hospitales de todo el mundo, siendo los más frecuentes los trasplantes de riñón e hígado. En el año 2016 en Estados Unidos se realizaron 19.060 trasplantes de riñón y 7.841 de hígado (8). En España, el mismo año, las cifras alcanzaron a 2.994 y 1.159, respectivamente(9).

El trasplante de riñón se considera hoy en día el tratamiento de elección para pacientes con insuficiencia renal terminal, la que es causada principalmente por la diabetes mellitus, hipertensión arterial, glomerulonefritis y la enfermedad quística renal. El trasplante es más exitoso y ocho veces más económico que el tratamiento con hemodiálisis durante un año, a pesar de las complicaciones relacionadas con la terapia inmunosupresora. En el año 2013 la tasa de supervivencia a 5 años fue de

73% para los trasplantes de órganos provenientes de donantes fallecidos y de 84% para los trasplantes provenientes de donantes vivos (10).

El trasplante de hígado es la única terapia viable existente para los pacientes con enfermedad hepática irreversible. Las causas que lo motivan son principalmente la insuficiencia hepática crónica por uso de alcohol y por infección por virus hepatitis C (VHC). Cerca del 28% es realizada en pacientes con tumores hepáticos y un porcentaje menor en pacientes con falla hepática fulminante y trastornos metabólicos (11). Las tasas actuales de supervivencia son de entre un 80% y 90% al año post trasplante y del 60% al 80% a los 5 años (5).

A pesar de que las tasas de supervivencia han presentado una gran mejoría, sus cifras han detenido su alza, en parte debido a que los pacientes están expuestos a enfermedades crónicas que condicionan su calidad de vida y su supervivencia (11). Muchas de estas enfermedades son causadas o exacerbadas por la inmunosupresión crónica, siendo las más importantes la hipertensión arterial, diabetes, dislipidemia, enfermedad cardiovascular, neoplasias, infecciones e insuficiencia renal (11-13).

Debido a lo anterior, la prevención y tratamiento oportuno de estas enfermedades se ha transformado en un centro de atención de la investigación y desarrollo en los trasplantes de órganos sólidos.

2.3 Inmunosupresión

Después de realizado el trasplante todos los pacientes reciben fármacos inmunosupresores para evitar el rechazo al injerto. Estos medicamentos son iniciados en la sala de operaciones y continuados en forma permanente. Los protocolos de inmunosupresión consisten en una terapia inicial de inducción y otra de mantenimiento. Para la terapia de inducción se utilizan niveles altos de inmunosupresión, iniciados en el período inmediatamente posterior al trasplante cuando el riesgo de rechazo es mayor. Esta etapa incluye la administración de anticuerpos monoclonales o policlonales, corticoides e InC, como ciclosporina y tacrólimus. La terapia de mantenimiento se basa en la combinación de varios fármacos para minimizar los efectos adversos. El protocolo clásico incluye corticoides,

INTRODUCCIÓN

InC y/o agentes antiproliferativo como la azatioprina (AZA) o micofenolato de mofetilo (MMF).

Existen otros inmunosupresores como los inhibidores del receptor de la rapamicina en mamíferos (sirólimus y everólimus), que no se suelen utilizar desde el principio pero permiten realizar distintas combinaciones inmunosupresoras en ciertos pacientes, como por ejemplo, pacientes con insuficiencia renal.

Cada paciente recibe una dosis inicial de estos fármacos en función de variables como el peso y la edad. En caso que los niveles del fármaco se puedan medir en la sangre, la dosis puede ser ajustada para lograr niveles sanguíneos dentro de un rango definido. Una dosis demasiado baja o demasiado alta podría resultar en rechazo del injerto o en toxicidad, respectivamente.

El tacrólimus es un macrólido lactona y la ciclosporina es un péptido de 11 aminoácidos lipofílico, ambos poseen un similar efecto supresor de las respuestas inmunes humoral y celular. Su acción principal es inhibir la activación de los linfocitos T mediante la inhibición de la calcineurina, suprimiendo de esta forma las respuestas citotóxicas mediadas por células, como el rechazo de injertos o reacciones de injertos contra huésped. Para dicho efecto, estos medicamentos deben entrar en contacto precozmente con el linfocito en las fases G0 a G1 de su ciclo celular. Dentro del linfocito se unen a un grupo de proteínas citoplasmáticas denominadas ciclofilina para la ciclosporina y *FK506-binding protein-12* (FKBP-12) para tacrólimus. Este complejo droga-receptor se une y bloquea la acción de la enzima calcineurina, una proteína que al ser activada por el calcio promueve la migración al interior del núcleo del factor nuclear de los linfocitos T activados (NF-ATC), el cual activaría la transcripción del gen de la interleuquina-2. Por tanto, un bloqueo de su acción supone un bloqueo de los mecanismos de transcripción de los genes que han de expresar citoquinas (tales como Interleuquinas-2, interleuquinas-3, interferón gama y factor de necrosis tumoral alfa), inactivando el mecanismo de respuesta inmunitaria (Figura 1) (14).

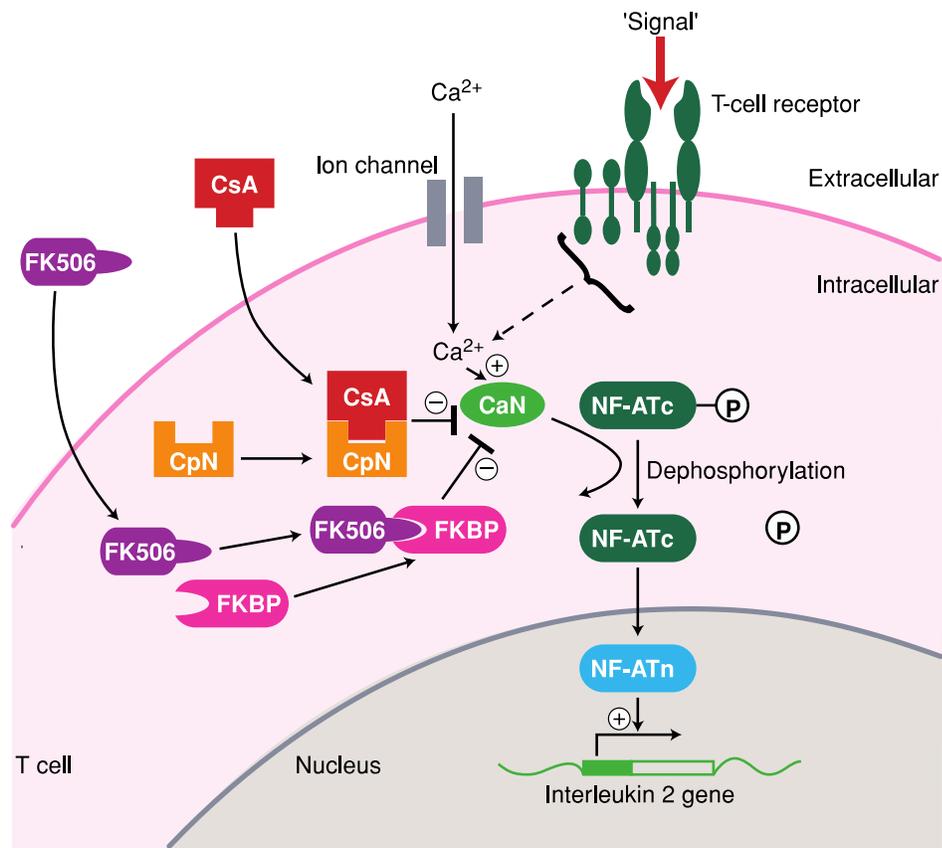


Figura 1. Mecanismo de acción de Ciclosporina (CsA) y tacrólimus (FK506). Ciclofilina (CpN); enzima calcineurina (CaN); factor nuclear de Linfocito T activado (NF-ATc), componente nuclear del NF-ATc (NF-ATn); interleucina 2 (IL-2); FK506-binding protein (FKBP).

La ciclosporina y tacrólimus son rápidamente absorbidos en los segmentos proximales del intestino delgado, logrando un pico en 0.5 a 1 hora tras la ingesta (15). Su absorción es pobre, con una biodisponibilidad baja (alrededor del 25%) y altamente variable (4% a 93%) (16). En general, las dosis orales deben ser 3 a 4 veces más altas que las dosis endovenosas para lograr una exposición semejante de la droga. Una vez dentro del enterocito, su absorción está sujeta a la acción de la Glicoproteína P (Gp-P) (17). Esta proteína está en la membrana de los enterocitos y está encargada de expulsar los xenobióticos fuera de la célula hacia el lumen intestinal.

INTRODUCCIÓN

Una vez absorbidos, se unen fuertemente a proteínas plasmáticas y glóbulos rojos (18), factores que junto a la dosis recibida van a condicionar el equilibrio entre las concentraciones sanguíneas y plasmáticas del medicamento, de tal forma que cuando existe anemia o hipo-proteinemia la concentración plasmática puede aumentar.

El metabolismo de los InC ocurre principalmente en el hígado y, con menos relevancia, en la pared intestinal y riñón. En estos órganos prácticamente la totalidad del InC administrado sufre una O-desmetilación, hidroxilación y/o reacciones metabólicas oxidativas, predominantemente ejecutadas por el citocromo CYP3A4 y CYP3A5. Después de este proceso, sus metabolitos son eliminados por la bilis, la orina o las heces (19-22).

El sirólimus y everólimus se unen con gran afinidad a la misma inmunofilina a la que se une el tacrólimus. El complejo resultante interacciona en los linfocitos T con la proteína mTOR la cual regula la fosforilación de ciertas proteínas, lo que tiene como resultado final la inhibición de la síntesis de Interleuquina-2. Esto suprime la proliferación de los linfocitos-T mediante el bloqueo de la progresión de la fase G1 a la fase S del ciclo celular (23). Se absorben poco en el tracto gastrointestinal y su biodisponibilidad se estima en un 15%. Su absorción está también regulada por la Gp-P intestinal y son mayoritariamente metabolizados por el CYP3A4 (15), que se encuentra en el hígado y en el intestino delgado, al igual que la ciclosporina y el tacrólimus(20).

El inmunosupresor más utilizado en los trasplantes de órganos sólidos es el tacrólimus, ya que ha demostrado superioridad en la mejoría de la supervivencia de los pacientes trasplantados y en la reducción de las tasas de pérdida del injerto, de rechazos agudos y de rechazos resistentes a esteroides en el primer año post trasplante. Sin embargo, se ha asociado a una mayor incidencia de complicaciones metabólicas, no así de enfermedades neoplásicas (24, 25). En vista de lo anterior centraremos nuestra investigación en tacrólimus.

2.4 Complicaciones de los trasplantes sólidos

Las complicaciones son principalmente secundarias al rechazo del injerto y al tratamiento inmunosupresor.

2.4.1 Rechazo del injerto

Rechazo del injerto hepático

El rechazo agudo precoz se presenta generalmente entre el día 5 y 30 post trasplante, y ocurre en el 60% de los casos (26). Su diagnóstico requiere una biopsia y la mayoría de los casos responde a corticoides en altas dosis. No constituye un problema serio, sin embargo, estos pacientes requieren procedimientos diagnósticos invasivos y terapias con potenciales efectos adversos, por lo que una reducción de su incidencia tendría impacto clínico y económico.

En contraste, el rechazo agudo tardío, que ocurre después del primer mes post trasplante, se presentan entre el 15% y 20% de los casos (27), suele responder pobremente a la terapia y se relaciona con una reducida supervivencia (28). Dentro de los factores de riesgo de su ocurrencia destacan una baja edad del receptor, una inadecuada compatibilidad de HLA, una isquemia fría mayor a 15 horas, donantes mayores de 30 años, causas autoinmune del trasplante y especialmente una insuficiente inmunosupresión, ya sea por mala adherencia (28) o por trastornos farmacocinéticos-farmacodinámicos (29).

Por su parte, el rechazo crónico ocurre generalmente después del sexto mes post trasplante y su incidencia es menor al 4% de los casos. Su ocurrencia es responsable del 18.2% del primer retrasplante y del 25.4% del segundo retrasplante (30). Entre los factores de riesgo está la ocurrencia de rechazos agudos (31) y/o la mala respuesta de éstos a la terapia esteroideal (el 22% progresa a rechazo crónico) (32), el rechazo agudo tardío y niveles bajos de inmunosupresores. Es frecuentemente irreversible y lleva al fracaso del injerto. Su baja incidencia se debe los avances en las terapias inmunosupresoras, al uso extenso de las biopsias hepáticas para el diagnóstico de rechazo y al perfeccionamiento de los anátomo-patólogos para el diagnóstico precoz del rechazo.

Rechazo del injerto renal

El rechazo celular agudo usualmente ocurre dentro de los primeros tres meses después del trasplante. Es difícil diferenciarlo de otras causas de disfunción renal a partir de indicadores clínicos (por ejemplo, necrosis tubular aguda o nefrotoxicidad por InC), por lo que requiere una biopsia para su diagnóstico definitivo (33). Suele responder bien al tratamiento con esteroides, pero los casos refractarios pueden afectar la función del injerto a largo plazo y de esta forma reducir la supervivencia. Los factores que condicionan este riesgo son el número de rechazos agudos, la gravedad de éstos y el grado de recuperación de la función renal después del tratamiento (34).

El rechazo crónico es la causa más frecuente de la pérdida del injerto después del primer año. Su incidencia exacta es desconocida puesto que no hay un criterio diagnóstico universal (35). Su presencia se sospecha cuando existe un deterioro gradual de la función renal manifestado como un aumento progresivo de la creatinina plasmática en ausencia de otras causas. Uno de los diagnósticos diferenciales más importantes es la nefrotoxicidad crónica por InC, por lo que se requiere de una biopsia para su diagnóstico. Dentro de sus causas están los episodios de rechazo agudo (36), la calidad de la inmunosupresión, la hipertensión crónica y la diabetes. No existe un tratamiento específico curativo, pero si hay terapias que pueden enlentecer su progresión, como el uso de antihipertensivos (inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina o antagonistas del receptor de la angiotensina II) y antiproteinúricos (37).

Al igual que en el trasplante hepático, existe una reducción dramática en la incidencia de rechazo agudo y sus consecuencias gracias a los avances en la inmunosupresión. Sin embargo, la optimización de la inmunosupresión tanto para prevenir el rechazo como para minimizar sus efectos adversos sigue siendo un reto.

2.4.2 Complicaciones de la terapia inmunosupresora

El uso crónico de InC se asocia a la ocurrencia de efectos adversos, semejantes tanto para ciclosporina como para tacrólimus. Su incidencia en general es dosis dependiente. Frecuentemente se desarrollan infecciones oportunistas bacterianas, virales (más frecuente citomegalovirus) y fúngicas, siendo causa importante de morbimortalidad (38). Ocurren con mayor frecuencia los primeros 3 meses post trasplante, periodo en el cual los pacientes reciben una inmunosupresión más intensa(39, 40).

La hipertensión arterial ocurre en casi el 50% de los pacientes y suele aparecer dentro de las primeras semanas de terapia. Su etiología es multifactorial, pero ha sido atribuida mayormente al uso de InC. Éstos causan una vasoconstricción y aumento de la resistencia periférica y junto con ello retención de sodio. Suele responder a la reducción de las dosis de InC, aunque en ocasiones se requieren antihipertensivos (41).

Los InC, sobretodo tacrólimus, aumentan el riesgo de desarrollar diabetes mellitus (42, 43), lo que probablemente se deba a un efecto tóxico reversible sobre los islotes celulares del páncreas (44). El tratamiento con dieta e hipoglucemiantes suele ser exitoso, siendo la reducción de la dosis de corticoides y/o el cambio de tacrólimus por otro inmunosupresor, alternativas terapéuticas (45).

Entre el 15% y el 40% de los pacientes desarrolla dislipidemia, efecto que es independiente al uso concurrente de los corticoides (46). Rara vez requieren el uso de hipolipemiantes en su terapia puesto que muchos pacientes responden a la reducción de las dosis de InC (47).

Alrededor del 5% de los pacientes desarrollan cáncer, especialmente de piel y linfoproliferativos (48). Se ha visto que puede ocurrir una regresión espontánea de los linfomas si el InC es descontinuado precozmente.

Entre el 35% y el 55% de pacientes pueden presentar síntomas de neurotoxicidad, siendo el temblor de extremidades la manifestación más común (49). Estos efectos también pueden mejorar al reducir las dosis del InC o al suspenderlo (50).

INTRODUCCIÓN

La nefrotoxicidad es uno de los efectos adversos más significativos. Puede manifestarse como un aumento agudo de la creatinina plasmática o como una disfunción crónica progresiva, semejante a lo observado en los rechazos crónicos del trasplante renal. En este cuadro los InC producen vasoconstricción de la arteriola glomerular aferente y eferente y secundariamente una reducción del flujo sanguíneo renal y de la tasa de filtración glomerular. El mecanismo exacto de la vasoconstricción no está claro, se cree que existe un deterioro sustancial de la función de las células endoteliales, lo que conduce a una reducción de la producción de vasodilatadores (prostaglandinas y óxido nítrico) y a una mayor liberación de vasoconstrictores (endotelina y tromboxano).

La presencia de nefrotoxicidad aguda ha sido asociada a una exposición a niveles elevados de InC (51) y suele ser reversible con el ajuste de las dosis. Uno de los principales diagnósticos diferenciales es el rechazo agudo, para lo cual la única prueba diagnóstica definitiva es la biopsia renal. Aunque no hay cambios patológicos específicos, la ausencia de elementos histológicos sugerentes de rechazo celular o vascular, así como la reversibilidad de la disfunción renal con el cese del fármaco sugieren fuertemente la presencia de nefrotoxicidad aguda por InC (52).

La nefropatía crónica es una complicación cada vez más frecuente. Suele ocurrir a partir del tercer mes post trasplante y la incidencia varía entre un 7% y un 21% dentro de los 5 años posteriores al trasplante (53). Su importancia radica en que incrementa el riesgo de mortalidad en 4 a 5 veces (54, 55). El diagnóstico es usualmente sugerido por un deterioro gradual de la función renal en ausencia de otras causas de daño renal como rechazo agudo, toxicidad por drogas, obstrucción de las vías urinarias, entre otras. Dentro de los factores de riesgo figuran la edad, el género femenino, infección por VHC, hipertensión arterial, diabetes y el uso de InC. Los hallazgos histológicos corresponden a fibrosis intersticial y atrofia tubular (56) y han sido atribuidos a un efecto tóxico directo ejercido por la acumulación de InC o sus metabolitos dentro de las células renales (57, 58), cuya concentración puede incluso superar en gran medida a los niveles sanguíneos de InC (59). Dentro de los factores determinantes de la acumulación local de InC se ha postulado la variabilidad en la funcionalidad de sus enzimas metabolizadoras o transportadoras (60, 61).

A pesar de que es imposible que una inmunosupresión prolongada esté libre de los efectos adversos antes descritos, la incidencia de éstos se podría reducir si logramos de la forma más rápida posible y sostenida en el tiempo, niveles sanguíneos del inmunosupresor dentro de un rango terapéutico y seleccionamos esquemas de inmunosupresión acorde a las características de los pacientes (62, 63).

2.5 Prescripción de tacrólimus

La dosis oral inicial de tacrólimus es entre 0.1-0.3 mg/kg/día, la cual se divide en dos dosis, administradas con un intervalo de 12 horas. El estrecho margen terapéutico y la gran variabilidad farmacocinética y farmacodinámica de este medicamento hacen necesario medir sus niveles sanguíneos para ajustar la dosis y así poder alcanzar una concentración circulante adecuada. Una dosis muy alta o muy baja puede asociarse a un riesgo de presentar toxicidad o rechazo, respectivamente. Este procedimiento es especialmente útil después de cada modificación de la dosis, después de la administración de otros fármacos que pudieran interferir con su absorción y/o metabolismo o cuando haya sospecha de complicaciones agudas (63, 64).

El rango terapéutico para tacrólimus varía según el tiempo transcurrido después del trasplante. Para el primer mes el rango es de 10 a 20 ng/ml (65), 5-15 ng/ml para los 2 meses siguientes y 5-10 ng/ml después del tercer mes (66). Cabe destacar que estos rangos pueden variar según los centros clínicos, el tipo de órgano trasplantado y la respuesta clínica.

Para alcanzar dichos rangos hoy en día se llevan a cabo dos intervenciones:

Dosificación inicial de los InC por kilo de peso. El inconveniente es que no se correlaciona bien con los niveles sanguíneos, probablemente porque existe una gran variabilidad farmacocinética interindividual (67-69) e intraindividual (65).

Monitorización de las concentraciones sanguíneas, en concreto para tacrólimus, de la concentración mínima (C_{min} o concentración valle). Debe ser medida 12 horas después de la administración de la dosis y se correlaciona bien con el área bajo la curva de concentración-tiempo (16, 68). Existen diferentes técnicas de medición, siendo la más recomendada y utilizada la técnica de ELISA (70).

A pesar de estas intervenciones, existe una gran variabilidad de los niveles sanguíneos entre los pacientes y para un mismo paciente a lo largo del tiempo, con el consecuente riesgo de tener niveles fuera de rango terapéutico y sufrir complicaciones por ineficacia y sobre todo toxicidad. Para reducir estos riesgos sería de utilidad determinar *a priori* qué pacientes necesitarán mayores dosis iniciales, quiénes requerirán una monitorización más estricta y ajustes más agresivos de la dosis, o quienes se beneficiarán de esquemas de inmunosupresión diferentes. Es necesario entonces individualizar la terapia, para lo cual una de las variables a conocer y controlar es la farmacocinética y farmacodinamia de los InC, las cuales están determinadas por factores tales como el tipo de trasplante, la función hepática y renal, el uso concomitante de algunos medicamentos, el tiempo transcurrido post trasplante, la etnia del donante y receptor, el nivel de hematocrito y albúmina y el grado de acción de enzimas metabolizadoras y proteínas transportadoras, tales como CYP450 y Gp-P, respectivamente (71).

2.6 Sistema de Citocromo P450 (CYP450)

El sistema de CYP450 está constituido por una superfamilia de enzimas dentro de las cuales está el CYP3A que constituye el 30% del total de enzimas CYP450 presente en el hígado y responsable del metabolismo de más del 50% de los medicamentos de uso común (72). Hay 3 tipos de enzimas funcionales: CYP3A7, CYP3A4 y CYP3A5. El CYP3A7 es expresado en hígado fetal y probablemente no tiene rol en el adulto. CYP3A4 se expresa en el hígado, yeyuno, riñón y páncreas (73). El CYP3A5 también está presente en el hígado, riñón e intestino delgado (73), en pacientes caucásicos el CYP3A5 ha sido detectado solamente en el 10% a 40% de los hígados estudiados, pero puede constituir hasta el 50% de las enzimas CYP3A hepáticas (74).

Los CYP3A4/5 son responsables de metabolizar los InC. El CYP3A5 tiene un rol más dominante que el CYP3A4 para el metabolismo de tacrólimus, ocurriendo lo inverso para ciclosporina (75). En el intestino metaboliza el tacrólimus que no ha sido expulsado por la Gp-P y por tanto reduce su absorción (76, 77). A nivel hepático y renal metaboliza el tacrólimus formando 4 metabolitos diferentes que son eliminados por la bilis, la orina y las heces (75).

2.7 Glicoproteína P (Gp-P)

La Gp-P (glicoproteína de permeabilidad), también conocida como *multidrug resistance protein 1* (MDR1) o *ATP-binding cassette sub-family B member 1* (ABCB1) es una importante proteína de la membrana celular (78). Se expresa en la membrana de las células de los órganos donde cumple una función de excreción o de barrera a los xenobióticos (entre ellos los InC). En las células del epitelio intestinal se ubica en el polo apical y se encarga de expulsar una gran cantidad de xenobióticos hacia el lumen intestinal; en las células del hígado secreta estas sustancias hacia los conductos biliares; en las células del riñón las secreta hacia los túbulos urinarios, y en las células del endotelio capilar de la barrera hematoencefálica evita que entren al sistema nervioso central (79). El aumento de la función de Gp-P puede reducir la biodisponibilidad de varios medicamentos y limitar su acumulación dentro de los tejidos. Por el contrario, cuando su función está reducida se pueden alcanzar concentraciones plasmáticas y tisulares supra-terapéuticas con el consiguiente riesgo de toxicidad (77).

2.8 Polimorfismos de CYP3A4, CYP3A5 y ABCB1

Los cambios cualitativos y cuantitativos de CYP3A5 y Gp-P pueden llevar a variaciones en la farmacocinética de los InC. Unas de las principales causas de estos cambios son ciertas modificaciones de sus genes codificadores, llamadas polimorfismos (75, 80).

Los polimorfismos son variaciones en la secuencia de nucleótidos del ADN que aparecen entre los individuos de una población, de forma natural, como parte de la variabilidad genética normal entre individuos. Si afectan a la secuencia codificante o reguladora y producen cambios importantes en la estructura de la proteína o en el mecanismo de regulación de la expresión pueden traducirse en diferentes fenotipos. Para que verdaderamente pueda considerarse un polimorfismo, la variación debe aparecer en al menos el 1% de la población, de lo contrario se considera una mutación puntual.

INTRODUCCIÓN

Hay 3 principales tipos de polimorfismos:

- a. Polimorfismo de un solo nucleótido o SNP (*Single Nucleotide Polymorphism*). Es la sustitución de una sola base nitrogenada por otra adenina (A), timina (T), citosina (C) o guanina (G) en una zona concreta del genoma. Los SNPs constituyen hasta el 90% de todas las variaciones genómicas humanas.

Los SNPs se pueden localizar dentro de una secuencia codificante o no codificante. Cuando está en una zona codificante y modifica la cadena de aminoácidos de la proteína resultante, se llama SNP “no sinónimo”. Si no se modifica el aminoácido entre las dos variantes alélicas se denomina “sinónimo”. Los SNP que se encuentren en regiones no codificantes pueden tener consecuencias en el proceso de traducción, la unión de factores de transcripción o modificar la secuencia de ARN no codificante (81).

- b. Polimorfismos en la longitud de los fragmentos de restricción o RFLP (del inglés *Restriction Fragment Length Polymorphism*). Corresponde a secuencias específicas de nucleótidos en el ADN que son reconocidas y cortadas por las enzimas de restricción.
- c. Polimorfismos en el número de repetición en tándem o VNTR (*Variable Number Tandem Repetition*). Son secuencias cortas de ADN, normalmente con una longitud de 2 a 5 pares de bases, que se repiten de forma consecutiva.

2.8.1 Polimorfismos de CYP3A4.

Se han reportado al menos 42 SNPs, siendo los más conocidos el CYP3A4*1B (A392G), CYP3A4*2 (Ser222Pro) y el CYP3A4*3 (Met 445 Thr) (82, 83). Los estudios que han evaluado la funcionalidad de estos SNPs sobre el metabolismo de los medicamentos han fallado (84, 85), siendo esta una de las razones por las que estos SNPs no han sido más profundamente investigados. Sin embargo, recientes estudios han demostrado un efecto importante del polimorfismo CYP3A4*22 sobre la farmacocinética de tacrólimus y ciclosporina, convirtiéndose en un promisorio marcador genético pero de poca relevancia en población caucásica debido a su baja frecuencia (5% a 7%)

2.8.2 Polimorfismo de CYP3A5

El gen que codifica para CYP3A5 tiene al menos 500 SNPs identificados (86). El principal polimorfismo determinante de la variabilidad interindividual en las dosis de tacrólimus es el SNP involucrado en la sustitución de A por una G en la posición 6986 dentro del intrón 3 del gen CYP3A5 (rs776746) (74). Nos referiremos a este SNP como CYP3A5 6986A>G. Sus alelos se identifican con asterisco continuando con un dígito. Se reserva el número 1 para los alelos nativos o “*wild-type*” (CYP3A5*1) y el número 3 para su variante (CYP3A5 *3).

Su frecuencia de presentación en la población es muy dependiente de la etnia. El CYP3A5 *1 está presente entre el 5% y el 15% de los caucásicos, entre el 45% y el 73% de los afro-americanos, entre el 15% y el 35% de los asiáticos y en el 25% de los Mexicanos (87).

El CYP3A5 6986A>G afecta al procesamiento del pre-ARNm, de forma que no tiene lugar una unión perfecta entre los exones 3 y 4. El ARNm resultante tendrá una secuencia anómala, por lo que es inestable y será eliminado por la célula, de forma que no se llegará a sintetizar la enzima metabolizadora (88). Los portadores heterocigoto u homocigoto de CYP3A5*1 (CYP3A5*1/*1 o AA y CYP3A5*1/*3 o AG) expresan altos niveles de la enzima CYP3A5 (son los llamados “CYP3A5 expresadores”), por lo que pueden determinar que exista un elevado aclaramiento y

baja biodisponibilidad de los medicamentos que metabolizan (88, 89). En cambio, los portadores de dos copias del alelo *CYP3A5*3* (*CYP3A5*3/*3* o GG, “*CYP3A5* no expresadores”) producen muy bajos o indetectables niveles de la proteína funcional *CYP3A5* y por tanto no metabolizarán a sus sustratos (74, 88, 89).

2.8.3 Polimorfismo de *ABCB1*

Posee al menos 50 SNPs identificados a la fecha (90), de los cuales 3 han sido los más asociados con cambios en la función de Gp-P (91). Estos son:

ABCB1 3435C>T (rs1045642), que presenta un cambio en la posición 3435 en el exón 26, su alelo nativo es *ABCB1 3435C* y la variante es *ABCB1 3435T*. La presencia de ambos alelos es muy diferenciada entre los grupos étnicos: el genotipo 3435CC se presenta entre el 50% y el 80% de los individuos de raza negra, mientras que en otros grupos étnicos la prevalencia es inferior al 30% (91, 92). El alelo 3435T está prácticamente ausente de forma homocigótica en la población africana, aunque aparece de forma heterocigótica en la población no negra entre el 20% y el 40% de los casos (93).

ABCB1 1236T>C (rs1128503) es un SNP del tipo sinónimo. La transición de C a T en la posición 1236 del exón 12 no altera la secuencia aminoacídica (97). La frecuencia del alelo 1236CC es baja en la población asiática y la del alelo 1236TT es baja en la población africana.

ABCB1 2677G>T/A (rs 2032582) presenta un cambio de G a T o A en la posición 2677 dentro del exón 21. Es un SNP no sinónimo, que resulta en alteraciones de uno o dos aminoácidos. Su alelo nativo se denomina 2677G (97). El Alelo 2677T es más común en la población asiática que en la población africana. El Alelo A es muy raro, con una prevalencia de 0.0% a 0.17%.

Los alelos variantes de los SNPs de *ABCB1* antes descritos se han asociado con una reducción significativa de la actividad de la Gp-P cuando los comparamos con los alelos nativos (94) (98), pero estos resultados no han sido reproducidos en otros estudios (95, 96).

Estos SNPs usualmente se presentan juntos, en una frecuencia superior a la esperada por azar, y pueden ejercer su efecto en forma individual o interactuando entre sí, lo que ocurre debido al fenómeno llamado Desequilibrio de Ligamento.

2.9 Influencia de los polimorfismos en la farmacocinética de tacrólimus y la incidencia de complicaciones del trasplante

Una fuerte relación entre el SNP CYP3A5 6986A>G y la farmacocinética de tacrólimus ha sido demostrada en voluntarios sanos y en pacientes trasplantados (74). Dicha asociación se sustenta en que la cantidad de enzima sintetizada va a influir en el grado de absorción, metabolización y excreción de tacrólimus y por tanto en las concentraciones sanguíneas. De esta forma los pacientes con genotipo CYP3A5 expresador tendrán concentraciones bajas, tardarán más tiempo y necesitarán más dosis para alcanzar los rangos terapéuticos. Lo opuesto ocurrirá en los portadores de un genotipo no expresador (93, 99-101).

En trasplante renal varios estudios han reportado que pacientes con CYP3A5 expresador requieren dosis más bajas de tacrólimus para alcanzar rangos terapéuticos respecto a pacientes CYP3A5 no expresadores (93, 101, 102), pero estos hallazgos no han sido reportados en otros estudios (103). Estas discrepancias, más el bajo número de pacientes incluidos en los estudios, la heterogeneidad en la metodología de éstos y la disparidad en la medición de los desenlaces, motivó la realización de revisiones sistemáticas. Una de ellas fue realizada por *Terrazzino et al.* (104) quienes concluyeron que los receptores del injerto renal con polimorfismo CYP3A5 no expresador presentaron significativamente mayor concentración plasmática de tacrólimus normalizada por la dosis diaria por peso corporal (C/D) que los pacientes CYP3A5 expresador al mes 1, 3, 6, 12 y 24 después del trasplante, no encontrando diferencias en el riesgo de rechazo agudo. La aplicabilidad de los resultados de esta revisión se ve afectada por reparos metodológicos y a una elevada variabilidad no justificada entre los estudios analizados. Otra revisión sistemática que esta vez incluyó estudios realizados en trasplante renal y hepático (105), reportó nuevamente una asociación entre la variante CYP3A5*3 con la dosis de tacrólimus requerida, pero no evaluó la dosis de tacrólimus acorde a los niveles sanguíneos logrados y, al igual que la revisión sistemática anterior, presentó muchas debilidades en su metodología. En suma, la calidad de la evidencia disponible no permite obtener conclusiones sólidas respecto al impacto de CYP3A5 6986A>G sobre la farmacocinética de tacrólimus.

Aun así, otros investigadores han usado esta información para diseñar estudios para determinar si el conocer el genotipo de CYP3A5 6986A>G de los pacientes puede ayudar a individualizar la dosificación de tacrólimus. *Haufraid et al.* determinaron que voluntarios sanos con polimorfismo CYP3A5 expresador requirieron el doble de la dosis inicial de tacrólimus (106). *Thervet et al.* utilizaron estas conclusiones y llevaron a cabo un estudio aleatorizado controlado en pacientes trasplantados de riñón y concluyeron que la administración de dosis iniciales más elevadas a pacientes CYP3A5 expresadores lograba una mayor proporción de mediciones de niveles sanguíneos dentro del rango objetivo, de manera más precoz y con menos modificaciones de las dosis administradas (107). Sin embargo, otros estudios relativos a esta intervención no son tan categóricos. *Kuypers et al.* demostraron que la dosificación guiada por una monitorización sanguínea estricta de tacrólimus sin usar la información del tipo de CYP3A5 6986A>G alcanzaba niveles terapéuticos en igual proporción entre CYP3A5 expresadores y no expresadores, pero en este estudio hay dos situaciones que pueden afectar su aplicabilidad: una proporción significativa de pacientes CYP3A5 no expresadores presentaron niveles sobre el rango (por tanto, con riesgo de toxicidad) y se realizaron mediciones de niveles sanguíneos diariamente, lo cual es realmente impracticable y de alto coste (108).

En el escenario del trasplante de hígado importa conocer el rol del genotipo de los receptores y de los donantes del injerto, ya que el metabolismo de tacrólimus ocurre principalmente en este órgano. Los estudios publicados son escasos, con resultados poco consistentes y en ocasiones contradictorios. Algunos de ellos han encontrado que receptores CYP3A5 no expresadores presentan concentraciones de tacrólimus más elevada (93, 101, 102, 109) y requieren menos tiempo para alcanzar los rangos terapéuticos (99, 110). Otros autores han demostrado que el polimorfismo de CYP3A5 del receptor no influye en la variabilidad de los niveles sanguíneos de tacrólimus y si lo hace el polimorfismo del donante (111, 112). Sólo existe un metanálisis (105) que demostró que CYP3A5 expresadores requirieron dosis más elevadas de tacrólimus que los pacientes CYP3A5 no expresadores, sin embargo, este análisis incluyó pocos estudios, no evaluó la dosis de tacrólimus ajustada por los niveles sanguíneos y, una vez más, hubo una significativa heterogeneidad entre los

INTRODUCCIÓN

estudios. Todas estas características cualitativas de la evidencia disponible no permiten aplicar sus resultados.

Los datos reportados acerca de la asociación de los polimorfismos de ABCB1 del receptor y la farmacocinética del tacrólimus también han sido inconsistentes, pero con una tendencia más clara hacia el no efecto. La mayoría de los estudios acerca del polimorfismo ABCB1 3435C>T no han reportado un efecto sobre C/D, ni en trasplante de hígado ni de riñón (109, 113-115). Algunos estudios han demostrado que pacientes con ABCB1 3435TT presentaron una C/D más alta que pacientes con ABCB1 3435CC (116-118), sin embargo, otro estudio demostró lo contrario (119).

Respecto a ABCB1 1236C>T, se ha reportado C/D altas en pacientes con ABCB1 1236 CT o TT comparado con ABCB1 1236 CC (120), pero otros reportes han fallado en demostrar los mismos resultados (119, 121, 122).

Se repite el mismo escenario de incertidumbre para la evidencia disponible respecto a ABCB1 2677G>T/A, donde algunos estudios no reportan una asociación con la farmacocinética de tacrólimus (121, 123) y otros si (119, 124).

Los estudios referenciados se caracterizan por presentar en su metodología sesgos importantes y no considerar intervenciones que permitan el control de los factores de confusión.

El impacto de estos polimorfismos podría ser diferente en las primeras semanas post trasplante debido a que la función del injerto hepático irá mejorando con el pasar de los días. En vista de ello se ha estudiado si el efecto del polimorfismo de CYP3A5 varía en el tiempo y se ha visto que después del primer mes el efecto sobre C/D del polimorfismo del receptor se pierde, primando sólo el del donante (125, 126).

El efecto combinado de los polimorfismos antes descritos ha sido un área de investigación de varios autores pero existen pocos estudios al respecto. La evaluación en trasplante hepático ha determinado que existe una influencia significativa de la combinación del polimorfismo CYP3A5 del donante y receptor sobre la farmacocinética de tacrólimus (112, 125, 126). Pero otros autores han encontrado un efecto sólo del polimorfismo del donante (111, 118).

Los estudios en trasplante renal que han evaluado ABCB1 y CYP3A5 han demostraron un efecto significativo de ABCB1 3435C>T sobre C/D, pero dicho efecto se pierde cuando los resultados son ajustados por el polimorfismo CYP3A5 6986A>G, lo que sugiere que un desequilibrio de ligamento entre ambos SNPs podría influir en los resultados de ABCB1 3435C>T (119).

En pacientes trasplantados de hígado se ha visto que la combinación de los efectos de los polimorfismos de ABCB1 del receptor y CYP3A5 se pueden potenciar. Se detectaron C/D más altos en receptores con el alelo ABCB1 3435T que recibieron injertos hepáticos homocigotos para CYP3A5*3, en comparación con donantes heterocigotos para CYP3A5*1. En este mismo estudio no se encontró un efecto del ABCB1 34345 A>G del donante (118).

A pesar de la asociación sugerida entre CYP3A5 6986A> G y la farmacocinética de tacrólimus, no hay evidencia consistente respecto a su impacto sobre desenlaces clínicos. Un estudio demostró una baja incidencia de rechazo agudo en receptores de injerto renal con la variante CYP3A5 no expresador, pero se trató de pacientes pediátricos (127). En pacientes asiáticos sometidos a trasplante hepático se reportó una mayor incidencia de nefrotoxicidad en CYP3A5 no expresadores (109, 125), sin embargo, estos resultados no fueron reproducidos en pacientes caucásicos (115, 128). Respecto a ABCB1, estudios en trasplante renal (61) y hepático (128) para ABCB1 3435C>T y 2677G>T/A no reportaron una asociación con rechazo agudo ni nefrotoxicidad tras 5 años de seguimiento. El único estudio existente en trasplante hepático evaluó, en pacientes caucásicos, durante 3 meses de seguimiento el efecto combinado de CYP3A5 y ABCB1 y encontró una menor incidencia de fallo renal, pero no de rechazo agudo (129). Por otro lado, *Gijzen et al.* (130) reportaron en su revisión sistemática una asociación positiva entre el polimorfismo de CYP3A5 y el riesgo de nefrotoxicidad, pero los resultados no fueron estadísticamente significativos e incluyeron estudios con claras deficiencias en términos de diseño y en el reporte de los resultados. A modo de ejemplo, no todos los estudios utilizaron las biopsias como método diagnóstico, no hubo control de las otras causas posibles de fallo renal y pocos estudios reportaron los métodos de genotipado.

INTRODUCCIÓN

En cuanto a la nefrotoxicidad crónica por InC, los pocos estudios existentes evidencian que los SNPs podrían condicionar su incidencia. En trasplante renal se ha publicado que existe una asociación entre la variante de CYP3A5*1 y el desarrollo de nefrotoxicidad crónica en pacientes sometidos a trasplante renal (61, 108, 125), lo cual apoya la hipótesis que dicho daño se debería a una mayor producción y concentración de metabolitos dentro de las células renales (131), sin embargo, como ha sido la tendencia en los otros escenarios antes descritos, estos resultados son débiles porque otros estudios han reportado resultados discordantes (114, 125, 132). Lo mismo ha sucedido entre los estudios para ABCB1 en lo que respecta a esta complicación (60, 133).

En resumen, existe evidencia que apunta a un efecto de los polimorfismos de CYP3A5 sobre la farmacocinética de tacrólimus, siendo menos probable esta asociación para ABCB1. A su vez, no ha sido posible hasta ahora relacionar, con cierto nivel de certeza, estos polimorfismos con desenlaces clínicos relacionados con la eficacia y la toxicidad. Esto lleva a una falta de consenso respecto al real impacto farmacocinético y clínico de estos polimorfismos, lo que obstaculiza la realización de ensayos clínicos.

Por tal motivo, para definir la consistencia de la evidencia y la direccionalidad del efecto global es necesario recopilar y analizar los estudios existentes que evalúan el impacto de los polimorfismos CYP3A5 y ABCB1 de donante y receptor sobre la farmacocinética, eficacia y toxicidad de tacrólimus en el trasplante hepático y renal. Para ello se debe llevar a cabo una revisión sistemática cuantitativa que considere en su ejecución el abordaje de las limitaciones propias de este tipo de estudios.

Las revisiones sistemáticas son la mejor forma de resumir y analizar la evidencia respecto de un tema específico, en forma estructurada, explícita y sistemática. Deben considerar criterios de inclusión bien justificados, realizar una búsqueda exhaustiva de la literatura y realizar un análisis crítico de estudios incluidos. Las revisiones sistemáticas deben explicitar el método usado para encontrar, seleccionar y sintetizar la evidencia disponible, y se llamarán cuantitativas cuando consideren la combinación de los resultados de cada estudio mediante técnicas estadísticas, permitiendo así obtener estimaciones más precisas y objetivar su consistencia.

Adicionalmente, es necesario conocer el comportamiento de estos genotipos en población caucásica española, poco representada en los estudios existentes. Este aspecto es relevante ya que la etnia de los pacientes tiene impacto en la frecuencia de presentación de los genotipos y en los resultados clínicos. Este estudio debe considerar un diseño que aborde las debilidades metodológicas de la evidencia hasta ahora disponible.

De esta forma, podremos contrastar los resultados obtenidos en nuestro grupo de pacientes con los hallazgos de las revisiones sistemáticas, obtener conclusiones más robustas y así justificar la realización de nuevos ensayos prospectivos.

OBJETIVOS

3. OBJETIVOS

1. Evaluar de forma sistemática (metanálisis) la evidencia disponible acerca de la asociación entre los polimorfismos de CYP3A5 6986 A>G de donantes y receptores de trasplante hepático y la farmacocinética de tacrólimus.
2. Evaluar en forma sistemática (metanálisis) la evidencia disponible acerca del impacto de los polimorfismos de CYP3A5 6986 A>G de receptores de trasplante renal sobre la farmacocinética de tacrólimus, la incidencia de rechazo agudo y nefrotoxicidad.
3. Evaluar el impacto en pacientes trasplantados hepáticos de los polimorfismos CYP3A5 6895A>G de donante y receptor, y ABCB1 3435C>T, 1236C>T y 2677G>T/A de receptores sobre los requerimientos de dosis de tacrólimus, tasas de rechazo agudo y nefropatía crónica.
 - a. Develar la importancia del polimorfismo genético del huésped versus el donante en relación con la farmacocinética, eficacia y seguridad del tratamiento con inmunosupresores.
 - b. Contrastar nuestros resultados con los obtenidos en el metanálisis previo.

METODOLOGÍA

4. METODOLOGÍA

Para abordar cada uno de los objetivos antes expuestos, se ejecutaron dos tipos de diseños metodológicos: revisión sistemática y estudio de cohortes

Para facilitar la comprensión de este trabajo, a continuación se detallarán los aspectos generales de cada diseño y los tópicos más específicos a cada objetivo se explicarán en la sección de resultados.

4.1 Metodología de las revisiones sistemáticas.

Se llevaron a cabo 2 metanálisis en conformidad a las recomendaciones del *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0 (updated March 2011)* (134) y *The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta analyses* (135).

4.1.1 Criterios de elegibilidad de los estudios

Los criterios de elegibilidad de los estudios incluidos en las revisiones sistemáticas fueron los siguientes:

Según el tipo de diseño: Se incluyeron estudios observacionales del tipo cohortes prospectivas y retrospectivas en los que se evaluó la presencia de los polimorfismos de CYP3A5 6986A>G. No se incluyeron ensayos clínicos aleatorizados porque no existían estudios publicados al momento de realizar esta revisión. No se aplicaron restricción por idiomas ni por el estado de la publicación.

Se excluyeron los estudios que sólo aportaban datos para haplotipos de los polimorfismos.

Según el tipo de participantes: Se incluyeron los pacientes receptores de un trasplante de donante vivo o cadáver por primera vez o subsiguiente, de cualquier edad, sin restricción por tipo de género ni etnia, y donde se hubiese realizado una medición del polimorfismo de CYP3A5 en donante y/o receptor. Se excluyeron pacientes que recibieron trasplante de dos órganos sólidos simultáneos.

METODOLOGÍA

Según el tipo de intervención: Se incluyeron los estudios que administraron a sus pacientes tacrólimus dos veces al día por vía oral y que ajustaron las dosis en base a un rango de niveles sanguíneos predefinido.

Se excluyeron los estudios que ajustaron las dosis según el tipo de polimorfismo de CYP3A5.

Según el tipo de medidas de resultado: Se incluyeron los estudios que evaluaron la farmacocinética de tacrólimus reportada como concentración sanguínea de tacrólimus en función de la dosis administrada por kilo de peso (C/D) (o algún dato que permitiera inferirlo) o desenlaces clínicos de interés, tales como rechazo agudo y nefrotoxicidad, expresados como “*odds ratio*” (OR) u otros datos equivalentes.

Los reportes debieron estar estratificados según el polimorfismo del gen CYP3A5 6985A>G y debieron incluir alguna medida de tendencia central y de dispersión.

4.1.2 Métodos de búsqueda para identificar los estudios

Se realizó una búsqueda de los artículos publicados hasta la fecha de ejecución de este estudio (año 2013) en las siguientes bases de datos electrónicas: MEDLINE (desde 1966), Cochrane Central Register (desde 1983), EMBASE (desde 1980), LILACS (desde 1980), CINAHL (desde 1980), *ProQuest Medical Library* (desde 1980) y *Science Citation Index Expanded* (1981 hasta el presente). Además, fueron indagadas manualmente las tablas de contenido de las siguientes revistas que se publicaron en el período comprendido entre el año 1993 y el año 2013: *Pharmacogenetics and Genomics*, *Pharmacogenomics*, *Liver Transplantation*, *American Journal of Transplantation*, *Transplantation*, *European Journal of Pharmacology and Therapeutics* and *Therapeutics* y *Drug Monitoring*. También se identificaron estudios mediante consultas con expertos y compañías farmacéuticas, mediante exploraciones de listas de referencias de artículos seleccionados, mediante búsquedas en bases de datos de tesis doctorales, actas de conferencias, *International Pharmaceutical Abstracts* y resúmenes de los congresos (entre 1981 y Diciembre de 2013) de la *International Liver Transplantation Society*, *European Society of Organ Transplantation*, *Transplantation society*, Sociedad Española de Diálisis y Trasplante y Sociedad Española de Trasplante de Hígado

Para la estrategia de búsqueda se utilizaron términos en base a la pregunta a investigar usando también sinónimos y relacionados. La estrategia fue similar para buscar en todos los registros y bases de datos y se detallarán en los resultados.

4.1.3 Selección de los estudios

El proceso para seleccionar los estudios a incluir fue el siguiente:

- a. Se integraron los resultados de la búsqueda mediante el programa informático de gestión de referencias bibliográficas *Refwork* versión 2.0 y se eliminaron los registros duplicados de un mismo informe.
- b. Se examinaron los títulos y resúmenes para eliminar los informes claramente irrelevantes.
- c. Se recuperó el texto completo de los informes potencialmente relevantes.
- d. En caso de sospecha de la existencia de más de un artículo para un mismo estudio, se consideraron los siguientes aspectos para definirlo: nombre de los autores, lugar; detalles específicos de las intervenciones, número de participantes y datos basales, fecha y duración del estudio (para aclarar si los tamaños de muestra diferentes se deben a diferentes períodos de reclutamiento). Si se confirmaba la duplicación, se seleccionaba la primera publicación completa (la publicación "índice"), pero incluyendo los datos adicionales de los artículos duplicados que contribuyeran al metanálisis.
- e. Se examinó el texto completo de los informes para verificar el grado de cumplimiento de los criterios de elegibilidad.
- f. Para casos que se consideró relevante, se estableció correspondencia con los investigadores para aclarar la elegibilidad del estudio.

La decisión definitiva sobre la inclusión del estudio se realizó por 2 investigadores en forma independiente. La decisión final de inclusión fue tomada por consenso entre los revisores. Los desacuerdos se resolvieron mediante la participación de un tercero.

Los estudios excluidos y las razones de exclusión fueron registrados durante el proceso de selección.

4.1.4 Obtención de los datos

Extracción de los datos

Dos investigadores extrajeron, en forma independiente, los datos de los estudios incluidos usando una hoja de registro de datos que fue probada previamente.

Los datos fueron obtenidos desde los textos completos, resúmenes de congresos y mediante correspondencia con los autores. Se consideraron las siguientes dimensiones: características del diseño del estudio (calidad metodológica, estado de publicación, idioma), características basales de los pacientes incluidos, características de las intervenciones (dosis inicial de tacrólimus, rangos de dosificación utilizados, uso de otros inmunosupresores y medicamentos con potencial para interactuar en el metabolismo de tacrólimus), tiempo de seguimiento y los resultados para C/D y desenlaces clínicos, según corresponda. Cabe destacar que si esta información no estaba presente se obtuvieron datos que permitieran inferirlos.

Cuando fue necesario combinar las medidas de tendencia central y de dispersión de los resultados o cuando éstas no fueron reportadas y fue necesario derivarlas desde la información existente se utilizaron las recomendaciones y fórmulas matemáticas presentes en *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions Version 5.1.0* (136) y en el artículo de *Hozo et al* (137). Se decidió no estimar la DE a partir de percentiles por tratarse de datos muy inestables que no permiten asumir una distribución normal.

Se utilizó el software sugerido por *The Cochrane Collaboration, Reference Manager 5* y *Stata/IC versión 12.1* para Mac (64-bit Intel) para el tratamiento y combinación de los datos.

Manejo de los datos ausentes

Para obtener la información faltante o adicional relevante del diseño se contactaron a los autores de los estudios. En caso de no recibir una respuesta, se utilizaron modelos estadísticos para obtener los datos faltantes a partir de los datos disponibles o para imputarlos, en base a estudios realizados en el mismo centro de investigación o grupo étnico y cercano al mismo periodo de tiempo de ejecución, y tratarlos como si fueran

METODOLOGÍA

datos observados, siempre y cuando se trataran de datos aislados. El impacto potencial de tales medidas en los resultados finales se determinó mediante un análisis de sensibilidad.

Se decidió retirar un estudio cuando el número de datos faltantes era muy alto o la imputación de éstos generaba cambios muy significativos en los resultados.

4.1.5 Calidad metodológica

La calidad metodológica de los estudios individuales fue evaluada por dos autores de manera independiente, utilizando la escala de evaluación de *Newcastle-Ottawa* para estudios de cohorte (138). Esta escala evalúa la calidad de los estudios en base a la calidad de la selección de los pacientes del estudio, a la comparabilidad de las cohortes y de qué forma se determinó la ocurrencia de los resultados (tabla 1) y dependiendo del número de criterios presentes se determinó si la calidad del estudio es baja, intermedia o alta, respectivamente.

Dimensiones	Ítems
Selección de los pacientes	Representatividad de los individuos expuestos en la comunidad
	Cohortes provenientes de la misma comunidad
	Determinación de la exposición (*)
	Biopsia de rutina para el diagnóstico de rechazo agudo o nefrotoxicidad (**)
	Demostración que el resultado a evaluar no está presente al inicio del estudio
Comparabilidad	Comparabilidad de las cohortes
	Control de factores de confusión
Resultados	Evaluación de los resultados
	Duración apropiada del seguimiento (*)
	Adecuado seguimiento de las cohortes

Tabla 1. Escala de evaluación *The Newcastle-Ottawa Assessment*. A cada ítem se le asigna un punto.

(*) Sólo se utiliza en revisión sistemática de trasplante hepático

(**) Sólo se utiliza en revisión sistemática de trasplante renal

Se evaluó la confianza en la estimación del efecto de la intervención de acuerdo con el *Grading of Recommendations Assessment, Development, and Evaluation* (GRADE) (139), el cual considera las características del diseño de los estudios, la calidad metodológica, el tamaño del efecto y si la evidencia se obtuvo de forma directa o indirecta.

4.1.6 Análisis estadístico

Análisis de los datos

Para llevar a cabo el metanálisis de los resultados reportados por cada estudio se realizó una combinación de las medidas y sus respectivas medidas de dispersión, reportados para cada tipo de polimorfismo de CYP3A5 6986A>G. El metanálisis se realizó utilizando el modelo de la varianza inversa para los desenlaces continuos y de *Mantel-Haenszel* para los desenlaces dicotómicos. Ambos fueron del tipo efectos aleatorios, ya que es más conservador en presencia de heterogeneidad (140). Se realizó el mismo análisis pero utilizando un modelo de efectos fijos con la finalidad de comprobar que la conclusión no fue sensible a la elección del tipo de análisis, y sus resultados se reportaron sólo si difirieron de los resultados obtenidos con el modelo de efectos aleatorios.

La influencia del genotipo CYP3A5 6986A>G fue evaluado contrastando los polimorfismo de CYP3A5: no expresadores (CYP3A5 *3/*3) versus expresadores (CYP3A5 *1/*1 + 1/*3*).

Los resultados se presentaron como la diferencia de medias (DM) de C/D para cada medición después del trasplante y como OR y el efecto absoluto para los desenlaces clínicos, todos se acompañaron de su correspondiente intervalo de confianza del 95% (IC95%).

Se realizó un metanálisis cuando contabamos con al menos tres estudios.

Los estudios con resultados atípicos (*outlier*) se detectaron mediante el análisis de influencia y se evaluó no incluirlos en el análisis si su eliminación generaba cambios significativos en el resultado global.

Debido a que los estudios incluidos suelen presentar diferencias entre sí, ya sea por factores clínicos o metodológicos (llamada heterogeneidad) y que pueden afectar el efecto de la intervención, se cuantificó la magnitud de ésta utilizando los test estadístico ch^2 y el I^2 . Se consideró una heterogeneidad estadísticamente significativa con al menos uno de los test significativos (con una $p < 0.05$ para Chi^2 o con un valor mayor a 50% para I^2). En los casos que se detectó la presencia de heterogeneidad significativa, se exploró la causa de las diferencias entre los estudios mediante dos

análisis:

Análisis de subgrupos: donde los estudios se agruparon según ciertas características y se determinó si existía diferencia entre sus resultados mediante un test de interacción (test χ^2) (141) .

Metaregresión: donde se evaluó el impacto de varias variables en el resultado global, mediante un procedimiento semejante a las regresiones múltiples.

Las variables consideradas para cada uno de estos análisis están detalladas en la sección resultados.

Los test de interacción y análisis de metaregresión fueron realizados con *Stata 12.0* para Mac (*StataCorp LP, College Station, TX, USA*).

Sesgo de publicación

Con el fin de determinar si la búsqueda de los estudios a incluir fue exhaustiva o no se determinó la presencia de sesgo de publicación, uno de los más importantes en las revisiones sistemáticas. Fue detectado mediante la elaboración de un gráfico que ilustra la dispersión de las estimaciones del efecto de la intervención de cada estudio incluido contra la precisión de cada estudio, este gráfico es llamado diagrama de embudo o *funnel plot*. Un gráfico asimétrico habla de la presencia de sesgo de publicación. Se complementó este análisis con el test de *Egger*, que consiste en un análisis de regresión lineal de la estimación del efecto de la intervención contra su error estándar ponderado por la inversa de la varianza de la estimación del efecto de la intervención. Se definió la presencia de sesgo de publicación evaluando visualmente la simetría del diagrama de embudo y con un valor p menor de 0.1 para el test de *Egger*.

Análisis de sensibilidad

Se realizó con el fin de evaluar la robustez de los resultados después de las decisiones tomadas durante el desarrollo del metanálisis. Se llevó a cabo evaluando la existencia de diferencias entre los resultados con y sin el factor a analizar. Los factores que motivaron realizar este análisis fueron: imputación de datos faltantes, la exclusión de estudios que causaron heterogeneidad y la elección de un modelo de efectos fijos o de efectos aleatorios.

Este metanálisis se realizó utilizando *RevMan 5.1* (Cochrane Collaboration, Nordic Cochrane Centre, Copenhagen, Denmark) y *Stata 12.0* para Mac (Stata-Corp LP, College Station, Texas, USA).

4.2 Metodología del estudio de cohortes

4.2.1 Diseño del estudio

De acuerdo con la Declaración de Helsinki, se realizó un estudio de cohortes retrospectivo que contó con la aprobación por el Comité de Ética Institucional del Hospital Universitari i Politècnic, La Fe, Valencia, España (nº de registro 2010/0171, comunicado por fundación con fecha de salida 27/7/2010, nº449). Se obtuvo un consentimiento informado de todos los sujetos incluidos en el estudio.

Criterios de inclusión

Se evaluaron para su inclusión a todos los adultos, mayores de 18 años, que recibieron un trasplante de hígado y que fueron tratados con tacrólimus, entre los años 2008 y 2009. Solamente se reclutaron aquellos pacientes de los que contábamos con muestra sanguínea del donante y con un tiempo de seguimiento de al menos 6 meses después del trasplante.

Criterios de exclusión

Se excluyeron los pacientes con insuficiencia renal preexistente (con aclaramiento de creatinina menor al 30ml/min) o que fueron sometidos a trasplante hepático-renal. El uso concomitante de inductores o inhibidores potentes de CYP3A5 y Gp-P no fue un criterio de exclusión, pero fue considerado en el análisis estadístico.

4.2.2 Terapia Inmunosupresora

Los pacientes recibieron el protocolo de inmunosupresión del Hospital Universitari i Politècnic, La Fe. Éste consideró la administración de tacrólimus (Prograf, Astellas Pharma Inc, Valencia, España) dentro de las 24 horas posteriores a la cirugía, a menos que existieran complicaciones clínicas. Se administró por vía oral una dosis inicial de 0.1 mg/kg/día, dividida en dos tomas. La dosificación se ajustó para alcanzar el nivel mínimo objetivo, que estaba fijado entre 10 a 15 ng/ml durante los primeros 3 meses, entre 5 a 15 ng/ml hasta las 12 meses y entre 5 a 10 ng/ml posteriormente. Se administró metilprednisolona (10 mg/kg) endovenosa al momento de la cirugía, y después la dosis se redujo gradualmente y tras una semana después de la cirugía fue reemplazado prednisona. La dosis de prednisona se disminuyó gradualmente y se interrumpió cuando fue clínicamente posible. También se administró MMF por vía oral a una dosis de 1 a 1.5 gr/día a pacientes diabéticos (a quienes se les administró bajas dosis de esteroides), a pacientes con infección por VHC y a aquellos que desarrollaron fallo renal precoz durante la terapia con tacrólimus. Se utilizó AZA (1.2 mg/kg/día) en pacientes con hepatitis autoinmune o cirrosis biliar primaria. Los receptores que presentaron fallo renal agudo precoz recibieron además dos dosis endovenosas (20 mg cada una) de Basiliximab (Novartis, East Hanover, NJ, USA) dentro de las 6 horas posteriores al trasplante y al día 4 después del trasplante.

4.2.3 Variables a estudiar

Para analizar los genotipos en función de la farmacocinética de tacrólimus y los resultados clínicos de los pacientes, se agruparon las variantes según la capacidad de sintetizar proteínas funcionales de Gp-P y CYP3A5. Se compararon los pacientes portadores de un alelo CYP3A5 6895A>G *1 (CYP3A5 expresadores) con los pacientes portadores de CYP3A5 6895A>G *3/*3 (CYP3A5 no expresadores). Mientras que pacientes portadores de ABCB1 3435 CC/CT, ABCB1 1236 CC/CT, o ABCB1 2677 GG/AG/AT/GT (ABCB1 expresadores) se compararon con genotipos ABCB1 3435TT, ABCB1 1236TT, o ABCB1 2677TT, respectivamente (ABCB1 no expresadores). Hemos de remarcar que denominar a los genotipos de ABCB1 “expresadores” o “no expresadores” es una licencia que nos tomamos para tratar de hacer más comprensible la lectura y seguimiento del trabajo, ya que no hay “no expresadores” en función de las variantes de estos SNPs, aunque si variantes con niveles menores de expresión del gen, y por tanto menor cantidad de moléculas de Gp-P activas, según se ha explicado en apartados anteriores.

Identificación de los SNPs

El genotipo de los SNPs se realizó utilizando la plataforma de MassArray de Sequenom, en el SCSIE (Servicio Central Soporte Investigación Experimental) en la Facultad de Medicina, Universidad de Valencia, siguiendo las instrucciones del fabricante. Se recogió el ADN genómico de sangre entera anticoagulada con EDTA de los receptores trasplantados y de los donantes. Se extrajo el ADN de 200 µL de sangre utilizando un equipo disponible comercialmente basado en la centrifugación de microcolumnas (UltraCleanBloodSpin DNA Isolation Kit; MoBio Laboratories Inc., Carlsbad, California). Después se evaluó la calidad y cantidad del ADN utilizando un espectrofotómetro (NanoDrop Technologies Inc., Wilmington, Delaware), y posteriormente se almacenó el ADN a -20°C hasta su uso. Todas las muestras fueron genotipadas por triplicado para evaluar la calidad de la técnica. Los investigadores que recolectaron fueron ciegos a las variantes genéticas de los pacientes.

4.2.4 Desenlaces a evaluar

Farmacocinética de tacrólimus

Con el fin de valorar de mejor forma la farmacocinética de tacrólimus se determinó la proporción C/D. Este parámetro se calculó dividiendo las concentraciones de tacrólimus por la correspondiente dosis de 24 horas en mg/kg (ng/ml/mg/kg/día). Se evaluó este parámetro en diferentes momentos posterior al trasplante: a la semana 1 y 2, y al mes 1, 3, 6, 12, 24 y 36.

Las concentraciones sanguíneas de tacrólimus se determinaron con el método de Inmunoensayo ACMA (Dimension; Siemens Healthcare, Deeffield, Illinois), en muestras de sangre recogidas 12 horas después de la administración de las dosis de tacrólimus (Cmin, ng/ml), justo antes de la siguiente administración.

Rechazo agudo

El diagnóstico de rechazo agudo fue definido en base a biopsia hepática, y el diagnóstico histológico fue realizado según los criterios histológicos de *Banff* (142).

Nefrotoxicidad aguda

La nefrotoxicidad aguda fue definida como un aumento en los niveles de creatinina sérica mayores a 0.3 mg/dl sobre los valores basales obtenidos antes del trasplante (143) de tacrólimus sobre el rango y mejorar luego de disminuir estos niveles. Junto con ello no debió existir otra condición capaz de causar daño renal como fiebre, infección, sangrado, deshidratación, aumento en el índice resistivo en la ecografía *doppler* renal u obstrucción uretral.

Nefropatía crónica

La presencia de nefropatía crónica se diagnosticó en base a la presencia de un aclaramiento de creatinina <60 ml/min por al menos tres meses (144). Se atribuyó causalidad a tacrólimus con estudio histológico o en caso que se cumplieran los siguientes criterios: ausencia concomitante de fiebre, obstrucción uretral, enfermedad vascular, sangrado, deshidratación o uso de otro fármaco nefrotóxico (como Inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina, bloqueadores del receptor de

angiotensina II, antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la ciclo-oxigenasa 2, diuréticos, y dosis bajas de Ácido Acetilsalicílico por al menos 6 meses). El aclaramiento de creatinina se calculó con la ecuación *Modification of Diet in Renal Disease Study Group 4* (145).

Para las patologías mencionadas con anterioridad se registró la presencia de variables de confusión que se detallarán en los resultados para cada desenlace.

La información demográfica, clínica y de laboratorio fue obtenida de la historia clínica de los pacientes en papel y electrónica.

4.2.5 Control del sesgo

Los sesgos más importantes que pueden presentar este tipo de estudios son los sesgos de selección y de información. Para reducir el riesgo de sesgo de selección se registraron tanto las pérdidas de pacientes durante el seguimiento como las causas que la generaron. A su vez, la selección de las cohortes de los pacientes se hizo sobre la totalidad de pacientes que fueron sometidos a trasplante en el periodo que duró el estudio. En cuanto al sesgo de información, se planificó que los investigadores que recogían los datos clínicos fueran ciegos al tipo de polimorfismos de los pacientes. Cabe destacar que los clínicos tampoco conocieron los genotipos de los pacientes que atendieron.

4.2.6 Cálculo del tamaño muestral

El número de pacientes requerido fue calculado en base al desenlace de nefropatía crónica. Para obtener diferencias significativas, con un nivel de significancia de 0.05 y un poder del 80%, considerando una relación de no expuestos/expuestos de 3, el número de pacientes a incluir fue de 89 (21 para expuestos y 68 para no expuestos).

4.2.7 Análisis estadístico

Los análisis estadísticos fueron realizados utilizando R (versión 3.2.2). Se resumió la información por promedio, desviación estándar, mediana, y primer y tercer cuartil para las variables continuas, y con frecuencias absolutas y relativas para las variables categóricas. Se evaluó la evolución de los valores C/D de tacrólimus para cada paciente a los 7 días, 15 días, 1 mes, 3 meses, 6 meses, 12 meses, 24 meses y 36 meses. Cuando se realizaron varias mediciones por paciente durante cada periodo de tiempo se utilizó el valor promedio de C/D. Se evaluó la asociación de los polimorfismos ABCB1 3435C>T, 1236C>T y 2677G>T en receptores y CYP3A5 6986A>G en donantes y receptores con los valores de C/D de tacrólimus mediante un modelo lineal de efectos mixtos para mediciones repetidas usando el logaritmo en base 10 (log) de valores de C/D como la variable respuesta y como predictores log de tiempo, estado expresador del donante, estado expresador del receptor y los factores de confusión (edad del donante, uso de MMF y uso de antagonistas de calcio). El modelo también incluyó una interacción entre la variable tiempo y el tipo de polimorfismo tanto para donante como para receptor. Para corregir el sobreajuste (*overfitting*) se aplicó a los modelos el método de regresión penalizada *ridge* (146).

Se calcularon los OR y sus IC95% para los resultados clínicos en sujetos con cada tipo de variante. Se realizó una regresión univariable (lineal o logística) para evaluar la contribución de las variables de confusión en los resultados. Las covariables con un valor- $p < 0.2$ fueron retenidas e ingresadas al modelo multivariable. Para prevenir desviaciones en los supuestos distribucionales y de varianza, se utilizaron las estimaciones del error estándar (147). Se examinó el equilibrio de *Hardy-Weinberg* para la frecuencia del genotipo mediante la prueba de χ^2 . Se consideró para todos los análisis un valor $p < 0.05$ para definir la significancia estadística.

El estudio fue realizado en conformidad con los protocolos *Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies* (STREGA) para estudios (148) y *Strengthening the Reporting of Observational Studies in Epidemiology* (STROBE) para estudios observacionales (149).

RESULTADOS

5. RESULTADOS

5.1 Resultados para objetivo 1: Revisión Sistemática para trasplante hepático

Se incluyeron estudios que evaluaron la C/D de tacrólimus acorde al polimorfismos de CYP3A5 6986 A>G de receptores y/o donantes de trasplante hepático. Se registraron los datos reportados hasta después de un año del trasplante

Se utilizó una estrategia de búsqueda semejante en todas las bases de datos. Los terminos utilizados fueron: *hepatic transplant* (or liver transplant* or liver graft or liver allograft), tacrólimus (or FK506 or calcineurin inhibitor or immunosuppress* or immunosuppress* drugs), CYP3A5 (or CYP3A or polymorphism or CYP3A5 gene or CYP3A5 protein human), and through blood level (or dosage or therapeutic drug monitoring or pharmacokinetics or blood concentration)*. Usamos el término "*not animal*" como límite de búsqueda

La búsqueda identificó 284 citas en bases de datos electrónicas y 11 en otras fuentes. De los 36 registros seleccionados para la evaluación del texto completo, sólo siete cumplieron los criterios de inclusión. El proceso de identificación y exclusión del estudio se presenta en la Figura 2. Hubo un alto grado de acuerdo entre los revisores para la selección de los estudios ($\kappa= 0.87$).

5.1.1 Características de los estudios y de los pacientes

Seis estudios analizaron el C/D de tacrólimus en relación al genotipo del donante (118, 125, 126, 150-152), mientras que 4 estudios analizaron el mismo parámetro en relación al genotipo del receptor (125, 126, 150, 153).

El grupo etario y la etnia más representativa fueron adultos y asiáticos, respectivamente. Seis estudios están publicaron en inglés y uno en chino. La mayoría de los estudios midieron la relación C/D en más de un punto de tiempo posterior al trasplante.

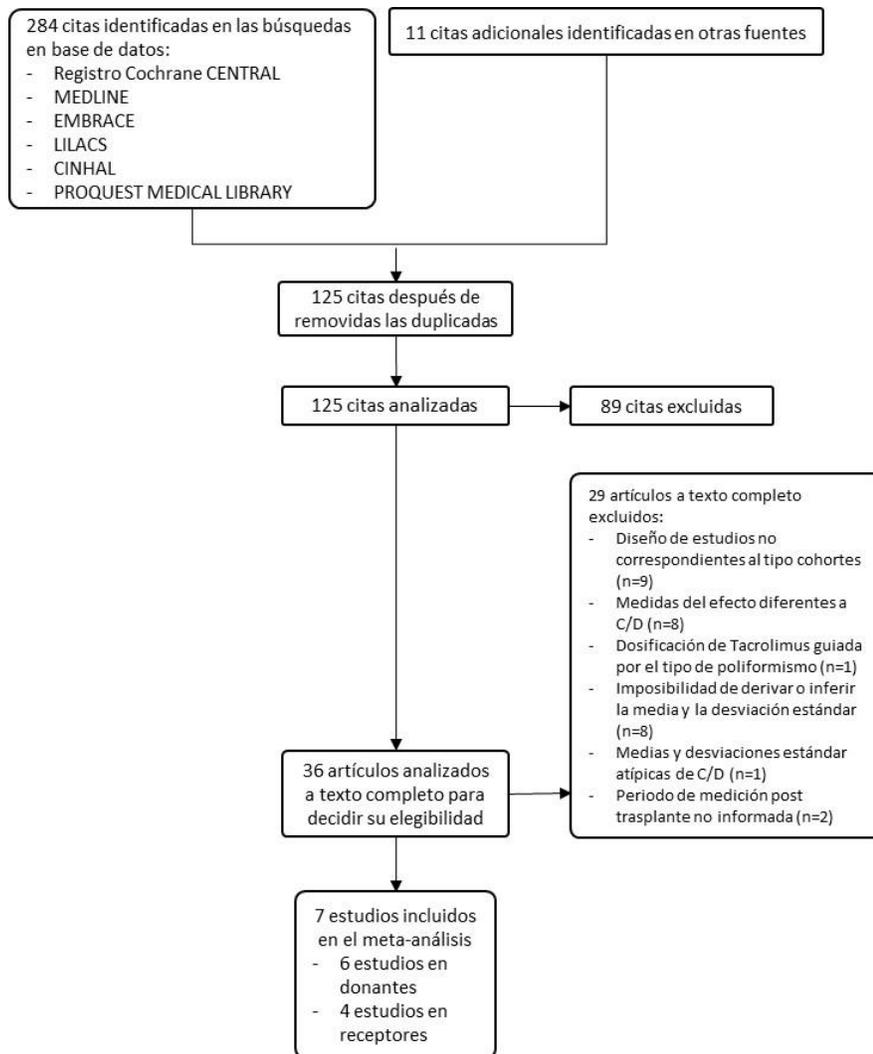


Figura 2. Resumen de la búsqueda y selección de los estudios.

Los pacientes fueron seguidos durante 1 semana en cinco estudios (118, 125, 126, 151, 152), 2 semanas en cinco estudios (118, 125, 126, 152, 153), un mes en cinco estudios (118, 125, 126, 150, 152), 6 meses en dos estudios (125, 150), y 9 y 12 meses en un estudio (125). El tacrólimus se administró dos veces al día, y las mediciones de nivel en sangre se hicieron antes de la dosis de la mañana. En todos los estudios los pacientes recibieron corticosteroides concomitantes. El rango objetivo de tacrólimus más frecuentemente utilizado fue de 7-10 ng/ml. Sólo tres estudios informaron el uso de diferentes rangos después del primer mes de terapia. Las características de los estudios que analizan el genotipo del donante se muestran en la tabla 2, mientras que las características de los estudios que analizan el genotipo receptor se muestran en la tabla 3.

Estudio	N	Edad; rango (años)	Dosis Inicial (mg/kg/día)	Rango de Ajuste (ng/ml)	Tipo de Donante	Etnia	Frecuencias de Polimorfismo (%)			Periodos
							1*1	1*3	3*3	
Fukudo et al.(125)	60	55; 29 a 70	0.1	10 a 15	Vivo	Asiático	1.7	23	60	Semanas 1,2. Meses 1,3,6,9,12
Provenzaniet al (150)	32	39.2; 15 a 82	0.03	5 a 12	NR	Caucásico	0	15.6	84.4	Meses 1, 3, 6
Wei-Lin et al.(118)	50	44.4; 36 a 52	0.08	7 a 10	Cadáver	Asiático	12	48	40	Semanas 1, 2. Mes 1
Yu et al.(126)	53	45; 29 a 75	0.05	7 a 10	Cadáver	Asiático	9.4	47.2	43.4	Semanas 1,2. Mes 1
Yee et al.(151)	15	NR	NR	7 a 10	Vivo	Asiático	13	33	53	Semana 1
Yu et al.(152)	44	45; 29 a 75	0.05	7 a 10	Cadáver	Asiático	9.1	47.7	43.2	Semanas 1,2. Mes 1

Tabla 2. Características de los estudios incluidos en el metanálisis que evaluaron C/D en donantes.

Estudio	N	Edad; rango (años)	Dosis Inicial (mg/kg/día)	Rango de Ajuste (ng/ml)	Tipo de Donante	Etnia	Frecuencias de Polimorfismo (%)			Periodos
							1*1	1*3	3*3	
De Wildt et al.(153)	35	1.5; 0.05 a 14.8	0.1	10 a 15	Cadáver	Caucásico	3	34	63	Semana 2
Fukudo et al.(125)	60	55; 29 a 70	0.1	10 a 15	Vivo	Asiático	5.7	34.7	59.6	Semanas 1,2. Meses 1,3,6,9,12
Provenzani et al(150)	32	53.5; 5 a 66	0.03	5 a 12	NR	Caucásico	3.1	6.2	90.7	Semanas 1, 2. Mes 1
Yu et al.(126)	53	45; 29 a 75	0.05	7 a 10	Cadáver	Asiático	11	51.2	37.8	Semanas 1,2. Mes 1

Tabla 3. Características de los estudios incluidos en el metanálisis que evaluaron C/D en receptores

RESULTADOS

En dos estudios, el promedio y DE de C/D se infirió utilizando fórmulas matemáticas propuestas en la literatura (137, 154). Otros dos estudios omitieron información sobre algunos resultados y métodos, en uno de ellos se obtuvieron poniéndose en contacto con el autor (153) y en el otro los datos fueron imputados (rango de ajuste de tacrólimus) ya que el autor no proporcionó esos datos (151).

5.1.2 Riesgo de Sesgo

Los revisores definieron el riesgo de sesgo en base a la escala de Newcastle –Ottawa para estudios de cohortes (tabla 1). Las puntuaciones de la escala oscilaron entre 5 y 9 (con mediana de 7). La información necesaria para la aplicación de esta escala se logró obtener en la mayoría de los estudios. Solamente en un estudio (151) no fue posible determinar si las cohortes eran representativas y seleccionadas de la misma comunidad.

La información sobre la dosis y los niveles sanguíneos provino de fuentes confiables en todos los estudios. La comparabilidad de las cohortes en relación a las variables demográficas fue apropiada sólo en un estudio (126) y en tres lo fue en relación al control de los factores de confusión (125, 126, 150). En todos los estudios, las evaluaciones de los resultados se obtuvieron de la vinculación de registros y el seguimiento fue completo. Las características metodológicas y la categorización del riesgo de sesgo de cada estudio se describen en la tabla 4.

Estudios	Selección				Comparabilidad		Resultado		
	Representatividad de las cohortes	Cohortes provenientes de la misma comunidad	Determinación de la exposición	Demostración que el resultado no estaba presente al inicio del estudio	Comparabilidad de los cohortes	Control de los factores de confusión	Evaluación del resultado	Duración apropiada del seguimiento	Adecuado seguimiento de las cohortes
Calidad Deficiente									
Yee et al.(151)	No	No	Si	Si	No	No	Si	Si	Si
Calidad Intermedia									
De Wildt et al.(153)	Si	Si	Si	Si	No	No	Si	Si	Si
Yu et al.(152)	Si	Si	Si	Si	No	No	Si	Si	Si
Wei-Li et al.(153)	Si	Si	Si	Si	No	No	Si	Si	Si
Provenzani et al.(150)	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si
Fukudo et al.(125)	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si
Alta Calidad									
Yu et al.(126)	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si

Tabla 4. Calidad Metodológica de los estudios de acuerdo a la escala *The Newcastle-Ottawa Assessment*.

Puntaje ≤ 6: Calidad Deficiente; 7-8: Calidad Intermedia; 9 Alta Calidad

5.1.3 Análisis de los datos de proporción C/D

Donantes

En el grupo de estudios que analizó el genotipo del donante, la estimación del efecto combinado mostró que la DM de los pacientes que recibieron un injerto hepático con el alelo de la variante no expresadora fue significativamente más alta: 54.76 (IC 95%, 17.08-92.43, $p=0.004$), 46.58 (IC95% 25.64-67.53, $p<0.0001$) y 45.6 (IC 95%, 27.55-63.58, $p<0.00001$) ng/ml /mg /kg /día a las semanas 1 y 2 y al mes 1, respectivamente (Figura 3). No se observó asimetría en el diagrama de embudo y el valor-p para el test de *Egger* no fue significativo ($p= 0.36$).

Los resultados a los meses 3, 6, 9 y 12 no se agruparon ni fueron sometidos a otros análisis posteriores porque incluyeron pocos estudios. Sus resultados se muestran en la tabla 5.

Tiempo post trasplante	Estudio	CYP3A5 no expresador			CYP3A5 expresador			Estimación para C/D (ng / ml / mg / kg)	
		Media	DE	n	Media	DE	n	DM	IC95%
Mes 3	Fukudo et al.(125)	227	131	36	145	99	24	82	23.69 a 140.31
	Provenzani et al.(150)	196.15	176.39	27	88.46	38.25	5	107.69	33.19 a 182.19
Mes 6	Fukudo et al.(125)	248	132	36	135	110	24	113	51.39 a 174.61
	Provenzani et al.(150)	251.1	233.9	27	95.44	37.47	5	155.66	61.52 a 249.80
Mes 9	Fukudo et al.(125)	246	178	36	157	124	24	89	12.57 a 165.43
Mes 12	Fukudo et al.(125)	216	162	36	139	116	24	77	6.61 a 147.39

Tabla 5. Resultados en donantes de los estudios incluidos para los meses 3, 6, 9 y 12.

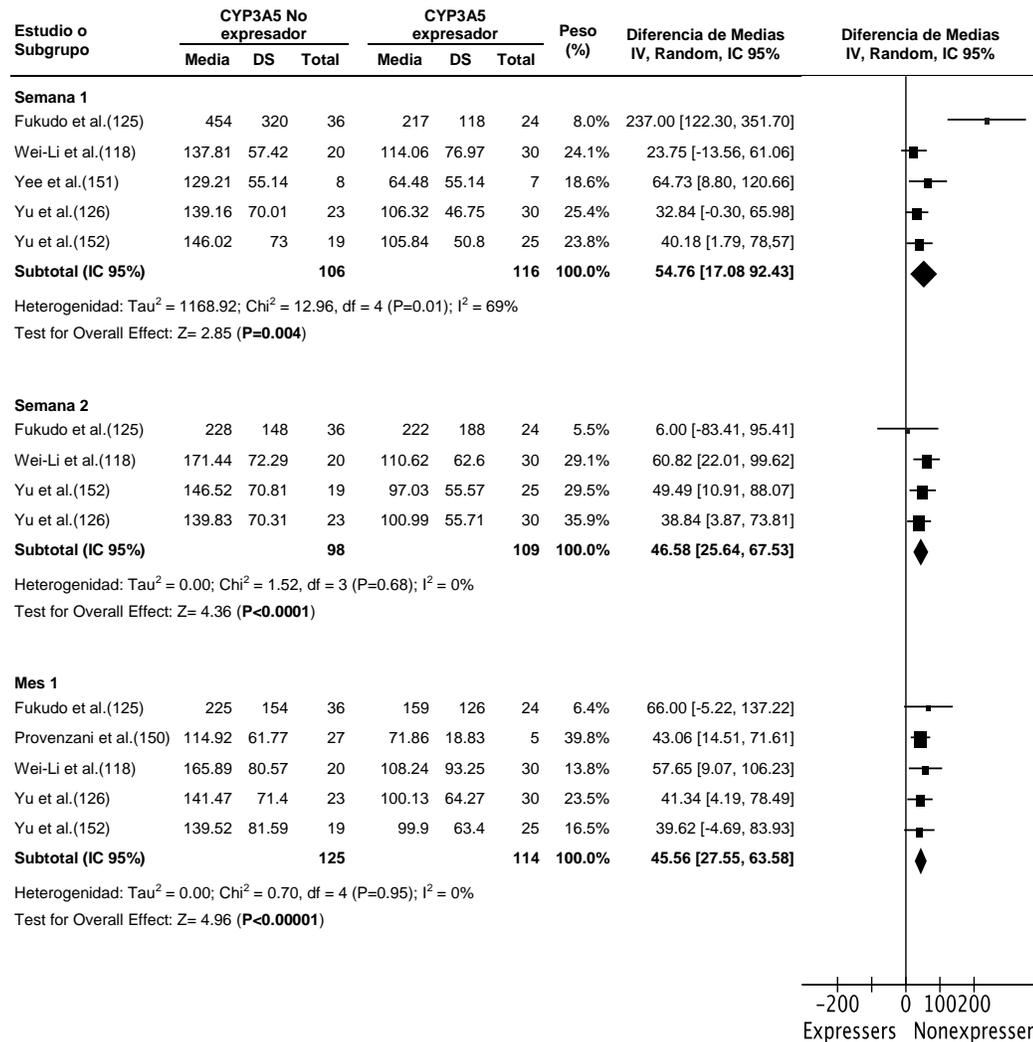


Figura 3. Forest plot que muestra el efecto del polimorfismo de CYP3A5 en donantes sobre C/D en diferentes tiempos post trasplante (determinado con un modelo de efectos aleatorios). La DM fue calculada usando el modelo de efectos aleatorios. Los cuadrados representan los efectos de los estudios y los diamantes la suma del efecto del metanálisis. Las barras horizontales representan el IC95% y la línea vertical sobre el valor 0 corresponde a la hipótesis nula del no efecto del genotipo.

RESULTADOS

Receptores

En el grupo de estudios que analizaron el genotipo del receptor, la relación C/D fue mayor en los pacientes con CYP3A5*3/*3 en todas las mediciones post trasplante. Se alcanzó los umbrales de significación estadística en la semana 2 (DM=49.25 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 16.13-82.36, $p=0.004$), no así en el mes 1 (DM=14.66 ng/ml/mg/kg/día, IC95% -16.72-46.05, $p=0.36$) (Figura 4). No se observó asimetría en el diagrama de embudo y el valor- p para el test de *Egger* no fue significativo ($p= 0.25$).

Los resultados a la semana 1 y en los meses 3, 6, 9 y 12 no se agruparon ni se sometieron a otro análisis porque incluían pocos estudios. Sus resultados se muestran en la tabla 6.

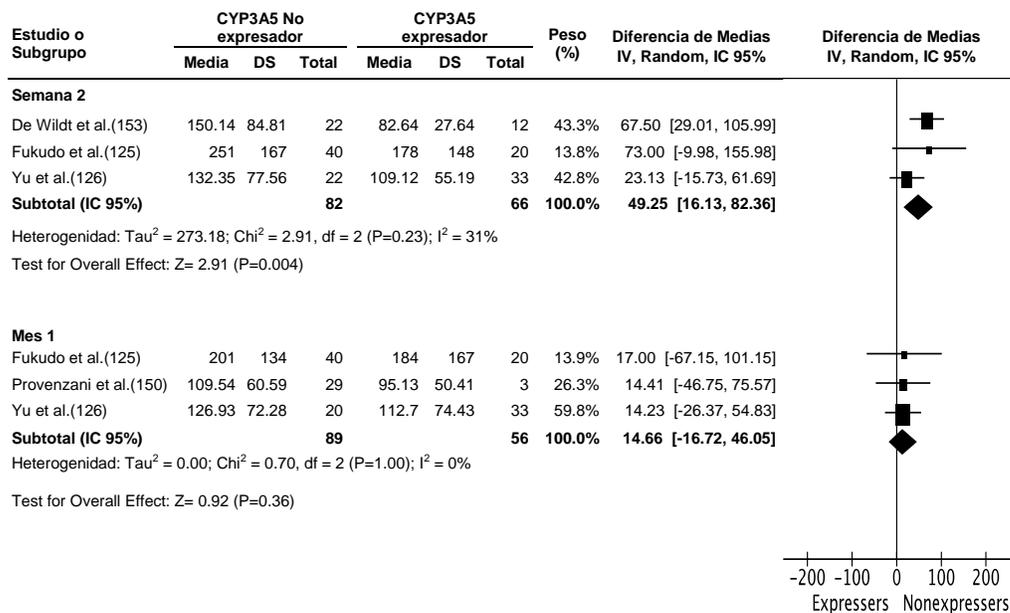


Figura 4. Forest plot que muestra el efecto del polimorfismo de CYP3A5 en receptores sobre C/D en diferentes tiempos post trasplante (determinado con un modelo de efectos aleatorios). La DM fue calculada usando el modelo de efectos aleatorios. Los cuadrados representan los efectos de los estudios y los diamantes la suma del efecto del metanálisis. Las barras horizontales representan el IC95% y la línea vertical sobre el valor 0 corresponde a la hipótesis nula del no efecto del genotipo.

Tiempo post trasplante	Estudio	CYP3A5 No expresador			CYP3A5 expresador			Estimación para C/D (ng / ml / mg / kg)	
		Media	DE	n	Media	DE	n	DM	IC95%
Semana 1	Fukudo et al.(125)	414	324	40	256	137	20	158	41.01 a 274.99
	Yu et al.(126)	133.31	70.03	20	112.85	52.1	33	20.46	-15.01 a 55.93
Mes 3	Fukudo et al.(125)	209	122	40	162	127	20	47	-20.29 a 114.29
	Provenzani et al.(150)	186.61	171.82	29	108.87	101.54	3	77.74	-53.08 a 208.56
Mes 6	Fukudo et al.(125)	216	124	40	182	157	216	34	-44.81 a 112.81
	Provenzani et al.(150)	232.31	228.74	29	173.23	167.04	3	59.08	-147.46 a 265.62
Mes 9	Fukudo et al.(125)	191	109	40	178	154	24	13	-62.47 a 88.47
Mes 12	Fukudo et al.(125)	239	174	40	183	149	24	56	-28.69 a 140.69

Tabla 6. Resultados en receptores de los estudios incluidos para la semana 1 y en los Meses 3, 6, 9 y 12.

Análisis de la heterogeneidad

En los resultados de donantes, se detectó heterogeneidad significativa sólo entre los estudios agrupados para los resultados de la primera semana ($I^2 = 69\%$, $X^2 = 12,96$, $df = 4$, $p=0.01$), la cual desapareció después de eliminar un estudio que presentó resultados atípicos (125) ($I^2=0\%$, $X^2=1.51$, $df=3$, $P=0.68$). Este último estudio se caracterizó por usar un mayor valor de ajuste de la dosis de tacrólimus, lo que dio como resultado un DM mayor al de otras publicaciones (118, 126, 150, 151) (DM=237.0 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 122.3-351.7 vs. DM=36.13 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 16.62-55.64). El análisis de subgrupos y metaregresión no evidenció diferencias en los resultados.

En los resultados globales de los estudios para receptores, se exploró la heterogeneidad a la semana 2 a pesar de un valor estadístico I^2 de 31%, debido a que este test puede tener poco poder cuando hay pocos estudios involucrados. Este análisis no mostró resultados significativos. El análisis de metaregresión no evidenció un impacto significativo de las variables evaluadas sobre los resultados.

RESULTADOS

Análisis de sensibilidad

No se observaron cambios importantes entre los resultados globales del metanálisis de C/D de donantes después de excluir el estudio atípico en la semana 1 (116) (DM=54.76 ng/ml/mg/kg/día, IC 95% 17.08-92.43, $p=0.004$ versus DM=39.7 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 10.6-81, $p=0.03$).

Lo mismo ocurrió en todos los resultados cuando se incluyó el estudio con datos imputados y cuando las estimaciones de los efectos agrupados se obtuvieron por modelos de efectos fijos o aleatorios.

5.1.4 Discusión

Los hallazgos del metanálisis indican que el polimorfismo CYP3A5 6986A>G en donantes de trasplante hepático influye en la relación C/D de tacrólimus. Los pacientes con el genotipo CYP3A5 no expresador (GG, *3/*3) tuvieron una relación C/D 1.3 a 2 veces superior a la de los CYP3A5 expresador (AA, *1/*1, AG, *1/*3) durante el primer mes después del trasplante, lo que sugiere que el hígado donado participa sustancialmente en el metabolismo de tacrólimus los días posteriores al trasplante.

Cuando se analizó la relación C/D con respecto al genotipo receptor, esta variante de polimorfismo (expresada principalmente en el intestino) también afectó a la farmacocinética, aunque su efecto fue menos pronunciado. Los pacientes con el genotipo CYP3A5 no expresador presentaron un C/D 1.1 a 1.4 veces mayor que los pacientes con el genotipo expresador. Este efecto fue significativo sólo a la semana 2. Se observó una tendencia hacia los pacientes no expresadores en la semana 1 y en el mes 1, pero se necesitan más estudios para confirmar o refutar estos efectos.

Se observó heterogeneidad sólo en el análisis de la semana 1 en los donantes, la cual pudo deberse a una variabilidad en los valores inferiores del rango usado para la dosificación de tacrólimus. El estudio que utilizó un rango de ajuste de dosis más bajo (125) presentó un mayor C/D. Sin embargo, esta asociación puede reflejar la presencia de algún otro factor de heterogeneidad no identificado, por lo tanto, estas observaciones deben ser vistas con cautela.

Debido al número de estudios incluidos, la calidad global de la evidencia obtenida sólo pudo evaluarse con el sistema GRADE en las semanas 1 y 2 y al mes 1 en los donantes y en la semana 2 y en el mes 1 en los receptores. La calidad de los estudios que analizaron el genotipo del donante fue moderada porque los resultados fueron consistentes y de magnitud significativa. Además, en estos estudios no existió heterogeneidad inexplicada. La evidencia presentada en los estudios que analizaron el genotipo receptor fue de baja calidad debido a que los datos fueron escasos, imprecisos y no demostraron un gran efecto. Por lo tanto, se requieren más estudios para determinar el verdadero efecto del genotipo receptor.

RESULTADOS

Los resultados del único metanálisis existente sobre el trasplante hepático (105) y de un metanálisis sobre los trasplantes de riñón (104) fueron similares a los nuestros. A pesar de que ambos estudios mostraron diferencias metodológicas con respecto a nuestro estudio, sus resultados refuerzan la idea que la terapia inmunosupresora está afectada por los polimorfismos del alelo CYP3A5.

5.1.5 Limitaciones y fortalezas

Aunque el diseño de los estudios incluidos fue de tipo observacional y que la mayoría incluyó adultos de etnia asiática, creemos que los hallazgos sobre el efecto del genotipo del donante durante el primer mes después del trasplante se pueden extrapolar a la población general, debido a que realizamos búsquedas exhaustivas de toda la literatura con criterios ampliamente inclusivos y que los resultados de los estudios analizados son robustos. Sin embargo, esta generalidad no es válida para el efecto del genotipo receptor o para el efecto del genotipo donante después del primer mes del trasplante, ya que la evidencia disponible es imprecisa y limitada. Actualizar este metanálisis con nuevos estudios en curso podría ampliar o sustentar las conclusiones de esta revisión.

El conocimiento sobre el efecto combinado del genotipo CYP3A5, tanto de los donantes como de los receptores, es un área de interés que pocos estudios han abordado a la fecha, por lo que no es posible realizar un metanálisis, aunque tanto nosotros como otros autores estamos trabajando en este tema (102, 129, 155).

El tipo de intervención analizada no permite la aplicación clínica de los resultados, pero dada la importancia clínica del problema y las razones explicadas anteriormente, los resultados de este metanálisis constituyen un fuerte argumento a favor de la realización de ensayos clínicos que evalúen el impacto de los polimorfismos de CYP3A5 de donantes y receptores en la determinación de la dosis inicial y de mantención de tacrólimus, tal como lo han evaluado otros autores en el escenario del trasplante renal (114, 156-159).

A pesar que nuestra revisión sistemática no abordó desenlaces clínicos relevantes, creemos que la relación entre el CYP3A5 y la farmacocinética del tacrólimus sustenta la realización de ensayos clínicos que consideren consecuencias clínicas de interés, como el rechazo del injerto o las complicaciones de la inmunosupresión.

5.1.6 Conclusión

El polimorfismo CYP3A5 6986A>G en los donantes de hígado afecta significativamente la farmacocinética del tacrólimus durante el primer año después del trasplante, siendo la evidencia más potente durante las primeras cuatro semanas.

La presencia de este polimorfismo en el receptor del injerto no parece influir en la farmacocinética del tacrólimus, aunque la evidencia disponible no es concluyente.

Se necesitan nuevos estudios con diseños metodológicos rigurosos que controlen los factores de confusión, que consideren resultados clínicos (como el rechazo agudo y la toxicidad) y que sean realizados en pacientes de diversas etnias y grupos de edad.

5.2 Resultados objetivo 2: Revisión Sistemática en trasplante renal

Para esta revisión sistemática se incluyeron estudios que reportaron las siguientes medidas

- i. Incidencia de rechazo agudo y/o nefrotoxicidad aguda relacionada a tacrólimus , diagnosticado en base a criterios clínicos o histológicos, reportados como tasas, OR, riesgo relativo u otros datos que permitan calcular dichos parámetros.
- ii. Incidencia de nefrotoxicidad crónica por tacrólimus diagnosticada con biopsia, reportados como tasas, *odds ratio*, riesgo relativo u otros datos que permitan calcular dichos parámetros.
- iii. C/D de tacrólimus (u otras unidades que puedan convertirse en dichos valores) que se reportaron durante un año post trasplante.

Esta información debió estar estratificada según el polimorfismo del gen CYP3A5 del receptor.

Se utilizó una estrategia de búsqueda semejante en todas las bases de datos. Los términos utilizados fueron: *renal transplant** (o *kidney transplant** o *kidney graft* o *renal allograft*), *tacrólimus* (o *FK506* o *calcineurin inhibitor* or *immunosuppress** o *immunosuppress* drugs*), *CYP3A5* (o *CYP3A* o *polymorphism* o *CYP3A5 gene* o *CYP3A5 protein human*), *trough blood levels* (o *dosage* o *therapeutic drug monitoring* o *pharmacokinetics* o *blood concentration*), *nephrotoxicity* (o *toxicity*, o *renal toxicity* o *renal injury**) y *rejection* (o *graft rejection* o *transplant rejection*).

La búsqueda exhaustiva identificó 737 citas en bases de datos electrónicas y 56 en otras fuentes. De ellas, 74 registros fueron seleccionados para la evaluación de texto completo, de las cuales sólo 37 cumplieron los criterios de inclusión (figura 5). Todos los estudios incluidos fueron publicados en inglés y existió un alto grado de acuerdo entre los revisores para la selección de los estudios ($\kappa = 0.81$).

RESULTADOS

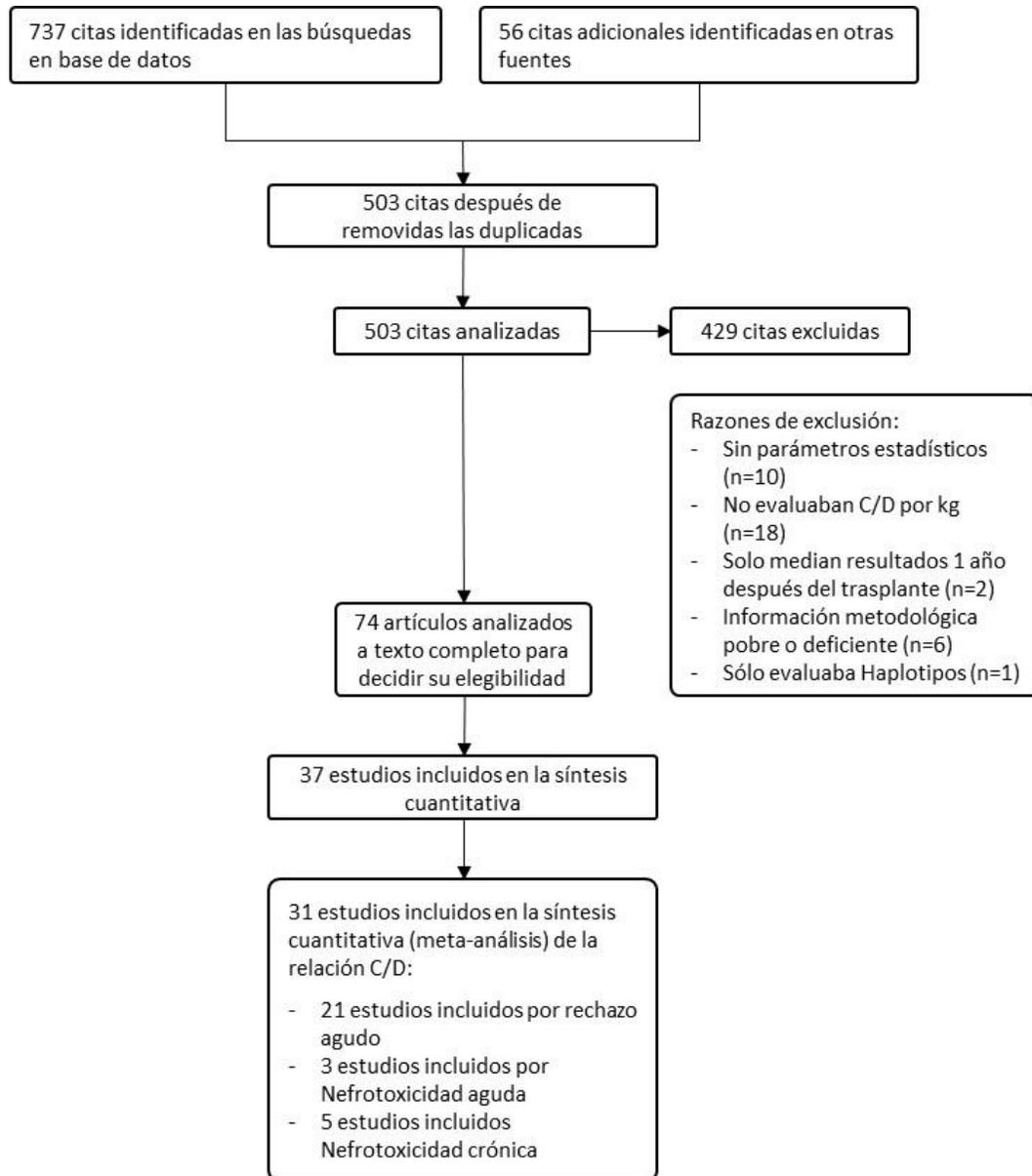


Figura 5. Resumen de la búsqueda y selección de los estudios

5.2.1 Características de los estudios y de los pacientes

En 10 estudios la media y la DE de C/D se obtuvieron a partir de la mediana y rango (93, 122, 124, 127, 153, 160-164), y en dos estudios la DE se obtuvo del valor-p (165, 166). En 7 estudios se imputaron los datos de resultados faltantes (61, 93, 114, 122, 124, 167, 168).

Se incluyeron 32 estudios de cohortes y 5 estudios transversales (122, 169-172). La edad de los pacientes incluidos varió de 11 a 55 años, donde la mayoría fueron varones (56%). Los grupos étnicos más representados fueron caucásicos y asiáticos y los principales donantes fueron fallecidos. La mayoría de los estudios mostraron una distribución del genotipo acorde al equilibrio de *Hardy-Weinberg*.

En todos los estudios las mediciones del nivel sanguíneo se realizaron antes de la dosis de la mañana. Los principales inmunosupresores asociados a tacrólimus fueron corticosteroides y MMF. En 13 estudios los pacientes también recibieron terapia de inducción biológica. Las características de todos los estudios que evaluaron C/D y los desenlaces clínicos se describen en las tablas 7 y 8, respectivamente.

Se contactaron 12 autores para obtener información adicional relevante del diseño del estudio y 16 autores para obtener información faltante acerca de los resultados.

RESULTADOS

Estudio	Diseño del Estudio	n	Edad ±DE (años)	Dosis Inicial (mg/kg/día)	Rango de Ajuste (ng/ml)	Tipo de Donante	Etnia	Equilibrio Genético	Frecuencias de Polimorfismo (n)				Periodos
									1*1	1*3	*1/*1 + 1/3	3*3	
Chandel et al.(183)	Cohortes	79	39.2 ± 11.8	0.2 to 0.25	10 to 15	Vivo	Indio	Si	2	30	32	47	Mes 1
Chen J et al.(176)	Cohortes	67	39.3 ± 12.5	0.15	6 to 10	Cadáver	Asiático	Si	16	22	38	29	Semana 1 Meses 1, 3, 6, 12
Cho et al.(114)	Cohortes	70	42.1 ± 11.7	0.2	8 to 12	Cadáver (25%) Vivo (75%)	Asiático	No	NR	NR	26	44	Meses 1, 3, 6, 12
De Wildt et al.(153)	Cohortes	44	11.5 ± 1.5	0.1	10 to 15	Cadáver	Caucásico	Si	1	15	16	28	Semana 2
Ferraris et al.(177)	Cohortes	48	12 ± 1.2	0.15	5 to 10	Cadáver (13%) Vivo (87%)	Caucásico	Si	0	10	10	38	Mes 12
Ferraresso et al.(171)	Transversal	30	14 ± 5.3	0.3	10 to 20	Cadáver	Caucásico	Si	1	7	8	22	Semana 1
Galiana et al.(182)	Cohortes	63	48.4 ± 13.9	0.2 to 0.3	15 to 20	Cadáver	Caucásico	Si	0	31	31	136	Semana 1
Glowacki et al.(173)	Cohortes	203	48.5 ± 13.1	0.15	10 to 20	Cadáver	Caucásico (85%) Africano (15%)	Si	4	33	37	166	Semana 1 Meses 3, 12
Gervasini et al.(157)	Cohortes	103	48.7 ± 16.9	0.2	10 to 15	Vivo	Caucásico	Si	1	9	10	93	Semana 1 Meses 1, 6, 12.
Hesselink et al.(174)	Cohortes	62	NR (adults)	NR	NR	NR	Caucásico (76%) Asiático (10%) Africano (14%)	Si	2	15	17	45	Meses 3, 12
Hirano et al.(162)	Cohortes	50	47 ± 5.7	NR	< 5	Cadáver (44%) Vivo (56%)	Asiático	Si	4	32	36	64	Mes 6
Jun et al.(115)	Cohortes	170	55.4 ± 11.9	NR	NR	NR	Asiático	Si	12	57	69	101	Mes 6
Kim et al.(158)	Cohortes	129	38 ± 8.5	NR	6 to 8	Cadáver (26.4%) Vivo (73.6%)	Asiático	Si	8	44	52	77	Mes 12
Li, L et al.(172)	Transversal	142	42.6 ± 12.5	0.2	10 to 12	NR	Asiático	Si	11	65	76	66	Semana 2
Li J-L et al.(170)	Transversal	36	37 ± 11	0.1 to 0.15	5 to 10	NR	Asiático	Si	NR	NR	21	15	Semana 1
Loh et al.(169)	Transversal	18	38.8 ± 9	NR	NR	Cadáver (45%) Vivo (56%)	Asiático (78%) Malayo (16%) Indio(3%)	Si	3	5	8	10	Mes 3
Mourad et al.(122)	Transversal	59	34 ± 13.2	0.2	5 to 15	NR	Caucásico (98%) Africano (2%)	Si	NR	NR	10	49	Semana 1
Min et al.(181)	Cohortes	62	40.2 ± 17.7	0.16	15 to 20	NR	Asiático	Si	10	19	29	33	Semana 1
Miura et al.(179)	Cohortes	98	41.9 ± 12.3	NR	15 to 20	Vivo	Asiático	No	NR	NR	58	45	Meses 1,3,6
Op den Buijsch et al.(124)	Cohortes	26	43 ± 13.2	NR	NR	NR	Caucásico	Si	1	9	10	16	Semana 2
Provenzani et al.(113)	Cohortes	50	42.9 ± 13.6	0.1	8 to 12	NR	Caucásico	Si	0	5	5	45	Meses 1, 3, 6
Quteineh et al.(160)	Cohortes	136	44.8 ± 8.5	0.15	10 to 15	Cadáver (90%) Vivo (10%)	Caucásico (94%) Asiático (2%) Africano (4%)	No	13	21	34	102	Semana 1 Meses 1, 6, 12
Ro et al.(178)	Cohortes	240	40.5 ± 12.3	NR	5 to 10	Cadáver (28%) Vivo (72%)	Asiático	Si	20	91	111	138	Meses 6, 12
Satoh et al.(164)	Cohortes	50	43.8 ± 12.3	0.15	15 to 20	Vivo	Asiático	Si	3	23	26	24	Meses 1,12
Singh et al.(180)	Cohortes	73	35.6 ± 10.5	0.16	10 to 12	Vivo	Indian	Si	NR	NR	31	42	Meses 1, 3
Tavira et al.(161)	Cohortes	400	48 ± 13.3	0.2	10 o 15	Cadáver	Caucásico	Si	1	79	80	120	Semana 1 Meses 6,12
Thervet et al.(165)	Cohortes	80	40.9 ± 11.3	0.2	10 to 15	NR	Caucásico (90%) Asiático (8%)	No	4	9	13	67	Mes 1
Tirelli et al.(175)	Cohortes	26	13.7 ± 10.1	0.3	10 to 20	NR	Caucásico	Si	0	7	7	19	Semanas 1,2 Meses 2 1, 3, 6, 12.
Turolo et al.(167)	Cohortes	26	11.6 ± 4.8	0.3	10 to 20	NR	Caucásico	Si	NR	NR	6	20	Semana 1 Meses 1,2
Zhang et al.(166)	Cohortes	28	33.5 ± 5.6	0.1	6 to 12	Cadáver	Asiático	No	0	15	15	13	Semanas 1, 2
Zhang et al.(101)	Cohortes	118	44.3 ± 15	0.15	6 to 10	NR	Asiático	Si	12	36	48	70	Semana1 Meses 1, 3.
Zhao et al.(168)	Cohortes	30	NR	NR	NR	NR	NR	Si	1	10	11	19	Meses 3,6,12

Tabla 7. Características de los estudios incluidos en el metanálisis para investigar la influencia sobre C/D. NR: No reportado

Estudio	Diseño de Estudio	n	Edad ±DE (años)	Dosis Inicial (mg/kg/da)	Rango de Ajuste (ng/ml)	Tipo de Donante	Etnia	Equilibrio Genético	Frecuencias de Polimorfismo (n)				Co-terapia	Resultado Clínico	Método de Diagnóstico	Periodo
									*1*1	*1*3	*1/*1 + 1/3	*3*3				
Chen et al.(176)	Cohortes	67	39.3±12.5	0.15	6 a 10	Cadáver	Asiático	Si	16	22	38	29	MMF IT	Rechazo Agudo	Biopsia de Rutina	1 Mes
Ferraresso et al.(127)	Cohortes	30	15.8±7	0.3	10 a 12	NR	Caucásico	Si	1	8	9	21	MMF(100%) IT(60%)	Rechazo Agudo	Motivos Clínicos	12 Meses
Gervasini et al.(157)	Cohortes	103	48.7±16.9	0.2	10 a 15	Vivo	Caucásico	Si	1	9	10	93	MMF(100%) IT(30%)	Rechazo Agudo Nefrotoxicidad aguda	Biopsia no de Rutina + Motivos Clínicos Biopsia no de Rutina + Motivos Clínicos	12 Meses 12 Meses
Hesselink et al.(174)	Cohortes	62	NR (adultos)	NR	NR	NR	Caucásico (76%) Asiático (10%) Africano (14%)	Si	2	15	17	45	NR	Rechazo Agudo	Biopsia de Rutina	12 Meses
Hesselink et al.(99)	Cohortes	136	48.8±13.8	NR	NR	Cadáver (50%) Vivo(50%)	Caucásico (88%) Asiático (6%) Africano (5%)	No	5	21	26	110	MMF(100%) IT(25%)	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina + Motivos Clínicos	4,7 Meses
Li J-L et al.(170)	Transversal	36	37±11	0.1 a 0.15	5 a 10	NR	Asiático	Si	NR	NR	8	8	MMF	Rechazo Agudo	Motivos Clínicos.	2 Semanas
MacPhee et al.(93)	Cohortes	178	46±10.2	0.2	10 a 15	NR	Caucásico (66%) Africano (12.8%) Sur Asiático (14.4%) Medio Este (6.7%)	NR	NR	NR	56	122	MMF (15%) AZT (25%)	Rechazo Agudo	Biopsia de Rutina	3 Meses
Min et al.(181)	Cohortes	62	40.2±17.7	0.16	15 a 20	NR	Asiático	Si	10	19	29	33	MMF(100%) IT (73%)	Rechazo Agudo Nefrotoxicidad aguda	Biopsia de Rutina Biopsia de Rutina	12 Meses 10 días
Ro et al.(178)	Cohortes	240	40.5±12.3	NR	5 a 10	Cadáver (28%) Vivo (72%)	Asiático	Si	20	91	111	138	MMF IT (58%)	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina	12 Meses
Roy et al.(185)	Cohortes	43	47.4±15.3	NR	10 a 12	NR	Caucásico (86%) Asiático (5%) Africano (9%)	Si	NR	NR	9	35	MMF	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina	3 Meses.
Santoro et al.(186)	Cohortes	153	39±9	0.2 a 0.3	12 a 15	Cadáver (12%) Vivo (82%)	Caucásico (38%) Asiático (1.3%) Africano (13%) Intermedio (34%)	Si	5	57	62	91	AZA (68%) SRL (37%)	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina	3 Meses
Satoh et al.(164)	Cohortes	41	43±11.5	0.15	20 a 25	NR	Asiático	Si	1	18	19	22	MFN	Rechazo Agudo	Biopsia de Rutina	1 Mes
Singh et al.(180)	Cohortes	73	35.6 ±10.5	0.16	10 a 12	Vivo	Indio	Si	NR	NR	36	37	MMF(100%) IT(10%)	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina	48 Meses
Tirelli et al.(175)	Cohortes	26	13.7±10.1	0.3	10 a 20	NR	Caucásico	Si	1	7	8	19	MMF(100%) IT(57%)	Rechazo Agudo	Motivos Clínicos	12 Meses
Wang et al.(184)	Cohortes	108	50±9.5	0.05	8 a 12	NR	Caucásico (46%) Hispanico(30%) Africano (14%) Asiático (6%) Otros(4%)	Si	NR	NR	39	69	MMF IT	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina	9 Meses.
Zhang et al.(166)	Cohortes	28	33.5±5.6	0.1	6 a 12	Cadáver	Asiático	No	0	15	15	13	MMF	Rechazo Agudo	Biopsy or Motivos Clínicos	2 Semanas.
Cho et al.(114)	Cohortes	70	42.1±11.7	0.2	8 a 12	Cadáver (25%) Vivo (75%)	Asiático	No	NR	NR	26	44	MMF	Rechazo Agudo	Biopsia de Rutina	10 días

Tabla 8. Características de los estudios incluidos en el metanálisis para investigar la influencia sobre el rechazo agudo y la nefrotoxicidad crónica relacionada con tacrólimus. NR: No reportado

RESULTADOS

Estudio	Diseño de Estudio	n	Edad ±DE (años)	Dosis Inicial (mg/kg/da)	Rango de Ajuste (ng/ml)	Tipo de Donante	Etnia	Equilibrio Genético	Frecuencias de Polimorfismo (n)				Co-terapia	Resultado Clínico	Método de Diagnóstico	Periodo
									*1*1	*1*3	*1/*1 + 1/3	*3*3				
Glowacki et al.(173)	Cohortes	203	48.5±13.1	0.15	10 a 20	Cadáver	Caucásico (85%) Africano (15%)	Si	4	33	37	166	MMF; TI	Rechazo Agudo	Biopsia de Rutina	3 Meses
														Nefrotoxicidad aguda	Biopsia de Rutina	3 Meses
														Nefrotoxicidad Crónica	Biopsia de Rutina	3 Meses
Kuypers et al.(108)	Cohortes	304	52.9±14.1	0.2	6 a 8	NR	Caucásico (90%) Asiático(0.5%) Africano(7.9%) Hispanic(1%)	SI	0	52	52	252	MMF(100%) TI (34.2%)	Rechazo Agudo	Biopsia de Rutina + Motivos Clínicos	55 Meses
														Nefrotoxicidad Crónica	Biopsia de Rutina + Motivos Clínicos	55 Meses
Kuypers et al.(166)	Cohortes	95	51.3±14.1	0.2	8 a 15	NR	Caucásico	NR	NR	NR	15	80	MMF	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina	60 Meses
														Nefrotoxicidad Crónica	Biopsia no de Rutina	60 Meses
Quteineh et al.(160)	Cohortes	136	44.8±8.5	0.15	10 a 15	Cadáver (90%) Vivo (10%)	Caucásico(94%) Asiático (2%) Africano (4%)	No	13	21	34	102	MMF (89%) AZA (11%) TI (55%)	Rechazo Agudo	Biopsia no de Rutina	36 Meses
														Nefrotoxicidad Crónica	Biopsia no de Rutina	12 Meses
Kim et al.(158)	Cohortes	129	38± 8.5	NR	6 a 8	Cadáver(26.4%) Vivo(73.6%)	Asiático	Si	8	44	52	77	MMF	Nefrotoxicidad Crónica	Biopsia no de Rutina	60 Meses

Tabla 8 (Continuación). Características de los estudios incluidos en el metanálisis para investigar la influencia sobre el rechazo agudo y la nefrotoxicidad crónica relacionada con tacrólimus. NR: No reportado

5.2.2 Riesgo de Sesgo

Los revisores definieron el riesgo de sesgo utilizando la tabla 1. Se definió como bajo riesgo de sesgo si se cumplían todos los criterios; como riesgo moderado de sesgo si un criterio no se cumplió; y alto riesgo de sesgo si dos o más criterios no se cumplieron.

Entre los estudios que evaluaron la C/D, 10 cumplieron con los 6 criterios de calidad metodológica antes definidos y, por consiguiente, se clasificaron como de bajo riesgo de sesgo. Los otros estudios informaron cohortes no comparables en relación a las características demográficas y no controlaron las variables de confusión. En total, 11 estudios cumplieron 5 criterios (riesgo moderado de sesgo) y 11 cumplieron 4 criterios (riesgo alto de sesgo) (tabla 9).

La mayoría de los estudios que evaluaron los resultados clínicos mostraron sesgos de selección y/o cohortes no comparables. Sólo dos estudios que evaluaron resultados clínicos cumplieron con los 8 criterios (riesgo bajo de sesgo), mientras que 5 estudios cumplieron 7 criterios (riesgo moderado de sesgo) y 5 cumplieron 6 criterios (riesgo alto de sesgo) (tabla 10).

Se evaluó para este punto la concordancia entre los dos revisores mediante el uso del índice estadístico de *Kappa*, y se observó un alto grado de acuerdo ($\kappa = 0.83$).

RESULTADOS

Estudio	Selección			Comparabilidad		Resultados
	Representatividad de los individuos expuestos en la comunidad	Cohortes provenientes de la misma comunidad	Demostración que el resultado no estaba presente al inicio del estudio	Comparabilidad de las Cohortes (edad y genero)	Control de los factores de confusión	Adecuado seguimiento de las cohortes
ALTA CALIDAD						
Cho et al.(114)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Ferraris et al.(177)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Li, J-L et al.(170)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Min et al.(181)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Mourad et al.(122)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Ro et al.(178)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Singh et al.(180)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Tavira et al.(161)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Zhang et al.(166)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Zhang et al.(101)	Si	Si	Si	Si	Si	Si
CALIDAD INTERMEDIA						
Chandel et al.(183)	Si	Si	Si	No	Si	Si
Chen et al.(176)	Si	Si	Si	Si	No	Si
Galiana et al.(182)	Si	Si	Si	Si	No	Si
Gervasini et al.(157)	Si	Si	Si	No	Si	Si
Glowacki et al.(173)	Si	Si	Si	Si	No	Si
Hirano et al.(162)	Si	Si	Si	No	Si	Si
Li, L et al.(172)						
Miura et al.(179)	Si	Si	Si	No	Si	Si
Provenzani et al.(113)	Si	Si	Si	Si	No	Si
Satoh et al.(164)	Si	Si	Si	Si	No	Si
Tirelli et al.(175)	Si	Si	Si	Si	No	Si
CALIDAD DEFICIENTE						
De Wildt et al.(153)	Si	Si	Si	No	No	Si
Ferraresso et al.(171)	Si	Si	Si	No	No	Si
Hesselink et al.(174)	Si	Si	Si	No	No	Si
Jun et al.(115)	Si	Si	Si	No	No	Si
Kim et al.(157)	Si	Si	Si	No	No	Si
Loh et al.(169)	Si	Si	Si	No	No	Si
Op den Buijsch et al.(124)	Si	Si	Si	No	No	Si
Quteineh et al.(160)	No	Si	Si	No	No	No
Thervet et al.(165)	Si	Si	Si	No	No	Si
Turolo et al.(167)	Si	Si	Si	No	No	Si
Zhao et al.(168)	Si	Si	Si	No	No	Si

Tabla 9. Calidad Metodológica de los estudios que evalúan la influencia de C/D

Estudios	Selección				Comparabilidad		Resultado	
	Representatividad de los individuos expuestos en la comunidad	Cohortes provenientes de la misma comunidad	Biopsia de rutina para el diagnóstico de rechazo agudo o nefrotoxicidad	Demostración que el resultado no estaba presente al inicio del estudio	Comparabilidad de las Cohortes	Control de los factores de confusión	Evaluación del resultado con biopsia	Adecuado seguimiento de las cohortes
ALTA CALIDAD								
Min et al. (181)	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
Satoh et al. (164)	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si	Si
CALIDAD INTERMEDIA								
Chen et al. (176)	Si	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si
Cho et al. (114)	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si	Si
Kuypers et al. (61)	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si	Si
Ro et al. (178)	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si	Si
Singh et al. (180)	Si	Si	No	Si	Si	Si	Si	Si
CALIDAD DEFICIENTE								
Ferraresso et al. (127)	Si	Si	No	Si	No	No	No	Si
Gervasini et al. (157)	Si	Si	Si	Si	No	Si	No	Si
Glowacki et al. (173)	Si	No (Rechazo Agudo); Si (Nefrotoxicidad)	Si	Si	Si	No	Si	Si
Hesselink et al. (174)	Si	Si	No	Si	No	No	Si	Si
Hesselink et al. (99)	Si	Si	No	Si	Si	No	Si	Si
Kuypers et al. (108)	No	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si
Macphee et al. (93)	No	Si	Si	Si	Si	No	Si	Si
Li, J-L et al. (170)	Si	Si	No	Si	Si	Si	No	Si
Quteineh et al. (160)	Si	Si	No	Si	No	No	Si	Si
Roy et al. (185)	Si	Si	No	Si	Si	No	Si	Si
Santoro et al. (186)	Si	Si	No	Si	No	No	Si	Si
Tirelli et al. (175)	Si	Si	No	Si	Si	No	No	Si
Wang et al. (184)	Si	Si	No	Si	No	No	Si	Si
Zhang et al. (166)	Si	Si	No	Si	Si	Si	No	Si
Kim et al. (158)	Si	Si	No	Si	No	No	Si	Si

Tabla 10. Calidad Metodológica de los estudios que evalúan el rechazo agudo y la nefrotoxicidad aguda y crónica relacionada con tacrólimus.

5.2.3 Análisis de los datos

Análisis de la proporción C/D

Treinta y dos estudios analizaron el C/D de tacrólimus (2.732 pacientes). Hubo al menos 12 meses de seguimiento de los pacientes en 13 estudios (114, 157, 158, 160, 161, 164, 168, 173-178), 6 meses de seguimiento en 4 estudios (113, 115, 162, 179), 3 meses en 3 estudios (101, 169, 180), 2 meses en 1 estudio (167), y ≤ 1 mes en 11 estudios (122, 124, 153, 165, 166, 171, 172, 176, 181-183). La mayoría de los estudios midió el C/D más de una vez en el periodo post trasplante (tabla 7).

El metanálisis evidenció que las DM de C/D fueron significativamente menor en el genotipo CYP3A5 expresador: 42.46 (IC95% 31.12-53.8, $p < 0.00001$), 56.49 (IC95%, 40.94-72.03, $p < 0.00001$), 50.73 (IC 95%, 38.01-63.45, $p < 0.00001$), 70.45 (IC 95%, 56.34-84.56, $p < 0.00001$), 63.66 (IC 95% 49.16-78.16, $p < 0.00001$) y 61.26 (IC 95%, 45.99-76.53, $p < 0.00001$) ng/ml/mg/kg/día a las semanas 1 y 2, y meses 1, 3, 6 y 12, respectivamente (figura 6). Se detectó una heterogeneidad en todos estos metanálisis (I^2 varió entre 39.57% y 85%).

Se detectó la presencia de sesgo de publicación en los estudios agrupados para los meses 1, 3 y 12 test de *Egger* $p = 0.016$, 0.025 y 0.008 , respectivamente.

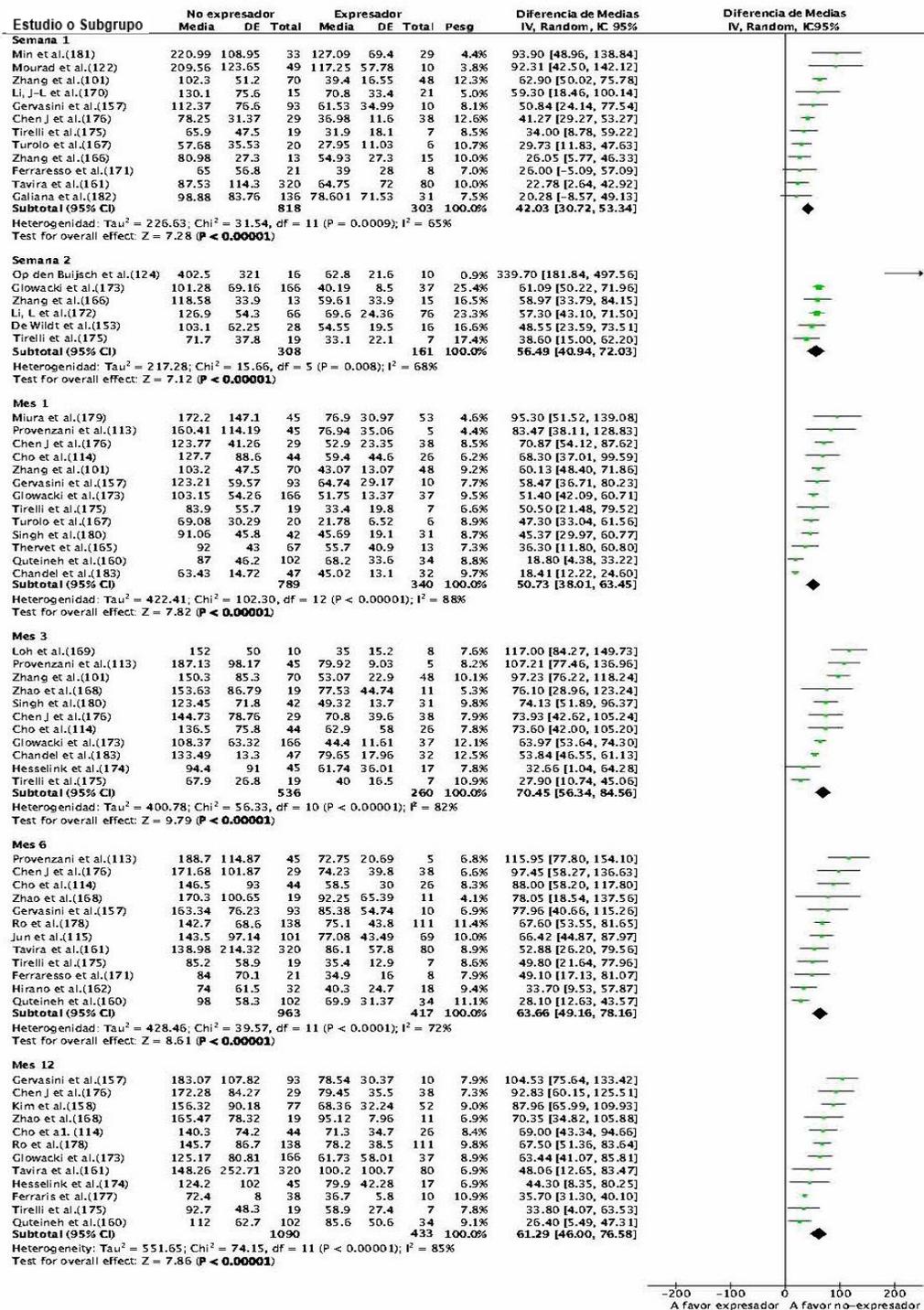


Figura 6. Forest plot que muestra el efecto del polimorfismo de CYP3A5 sobre C/D en cada tiempo post trasplante. La DME fue calculada usando el modelo de efectos aleatorios. Los cuadrados representan los efectos de los estudios y los diamantes la suma del efecto del metanálisis. Las barras horizontales representan el IC95% y la línea vertical sobre el valor 0 corresponde a la hipótesis nula del no efecto del genotipo.

Análisis del Rechazo agudo

Veintiún estudios analizaron la incidencia del rechazo agudo (2185 pacientes). El seguimiento fue de más de 12 meses en 4 estudios (61, 108, 160, 180), entre 7 y 12 meses en 7 estudios (127, 157, 174, 175, 178, 181, 184), entre 2 y 6 meses en 5 estudios (93, 99, 173, 185, 186) y ≤ 1 mes en 5 estudios (114, 164, 166, 170, 176). Tres estudios establecieron el diagnóstico en base a criterios clínicos, 15 estudios utilizaron biopsias y 3 utilizaron ambos métodos. Nueve estudios realizaron biopsias cuando existía la sospecha clínica de rechazo, mientras que en nueve estudios se realizaron biopsias rutinariamente (tabla 8).

La estimación del efecto combinado sugiere un mayor riesgo de rechazo para el genotipo CYP3A5 expresador (OR=1.32, IC95% 1.02 -1.71; $I^2=3\%$; $p=0.04$, figura 7). Suponiendo que un riesgo basal de rechazo agudo es de 16 eventos por cada 100 pacientes tratados, el riesgo anticipado para el genotipo expresador de CYP3A5 es de 4 eventos más por 100 pacientes tratados (IC 95% de 0 a 9 eventos más por cada 100).

No se observó asimetría en el diagrama de embudo y el valor-p para el test de *Egger* no fue significativo ($p= 0.36$).

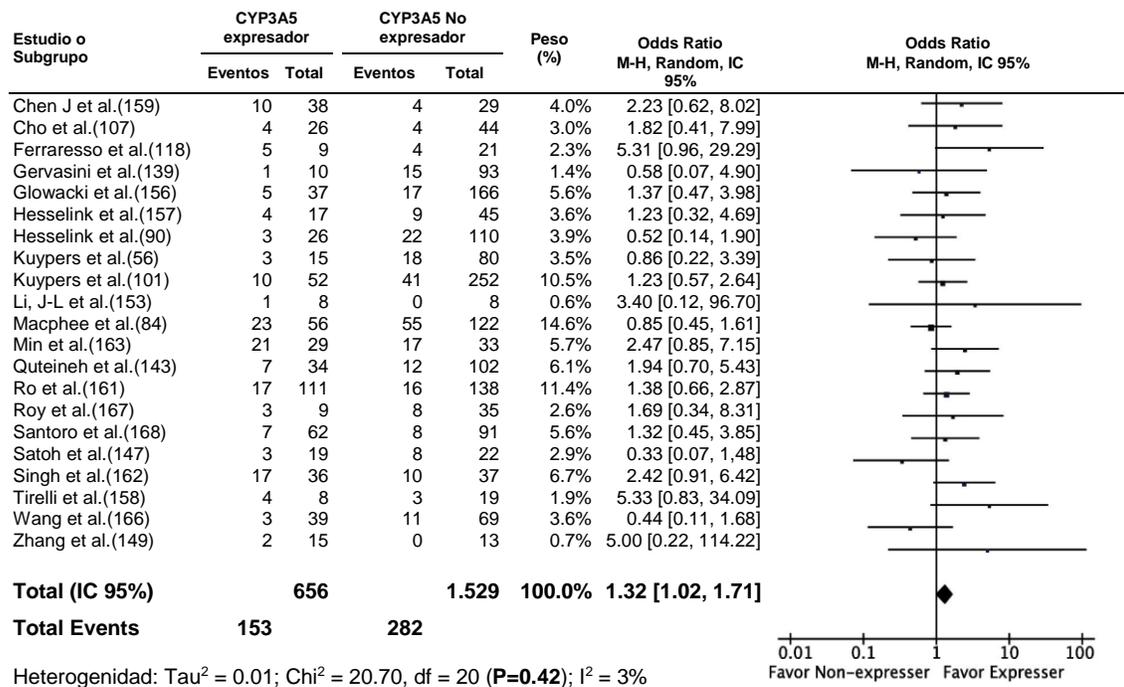


Figura 7. Forest plot que muestra el efecto del polimorfismo de CYP3A5 sobre el riesgo de rechazo agudo. El OR combinado fue calculado usando el modelo de efectos aleatorios. Los cuadrados representan el efecto individual de cada estudio y los diamantes representan el efecto global del metanálisis. Las barras horizontales representan el IC 95% y la línea vertical sobre el valor 1 corresponde a la hipótesis nula del no efecto del genotipo.

Análisis de la nefrotoxicidad aguda

Tres estudios reportaron incidencias de nefrotoxicidad aguda (157, 173, 181), incluyeron 363 pacientes y el seguimiento fue entre 10 días y hasta 12 meses. Dos estudios determinaron resultados basados en biopsias sistemáticas de injerto (173, 181), mientras que un estudio (157) estableció el diagnóstico a través de criterios clínicos y/o biopsias (Tabla 8).

La estimación combinada del efecto no mostró una asociación entre el polimorfismo de CYP3A5 y la incidencia de nefrotoxicidad aguda (OR=0.9, IC95% 0.45 -1.83, $I^2=0\%$, $p=0.78$, figura 8). Asumiendo un riesgo base de nefrotoxicidad aguda de 19 eventos por cada 100 pacientes tratados, el riesgo anticipado para el genotipo expresador de

RESULTADOS

CYP3A5 es de 2 eventos más por cada 100 pacientes tratados (IC95% de 10 eventos menos a 11 eventos más por cada 100).

No se encontró asimetría en el diagrama de embudo (Valor-p del test de *Egger* 0.41).

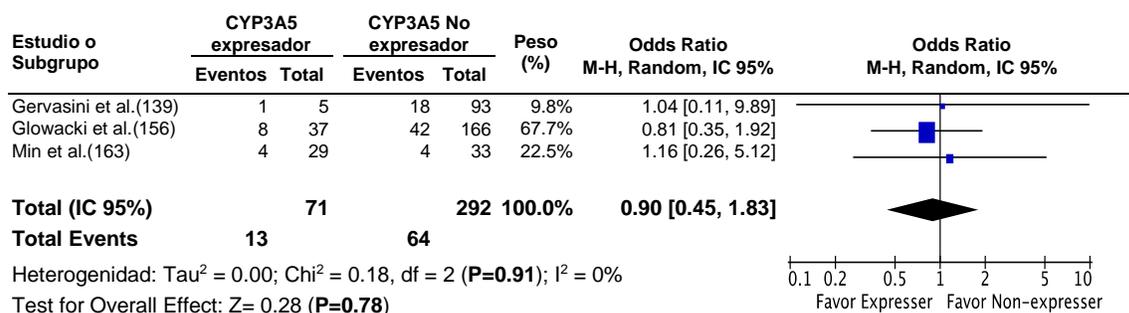


Figura 8. Forest plot que muestra el efecto del polimorfismo de CYP3A5 sobre el riesgo de nefrotoxicidad aguda. El OR combinado fue calculado usando el modelo de efectos aleatorios. Los cuadrados representan el efecto individual de cada estudio y los diamantes representan el efecto global del metanálisis. Las barras horizontales representan el IC 95% y la línea vertical sobre el valor 1 corresponde a la hipótesis nula del no efecto del genotipo.

Análisis de la nefrotoxicidad crónica

Cinco estudios evaluaron nefrotoxicidad crónica (976 pacientes). Tres estudios tuvieron un tiempo de seguimiento ≥ 50 meses (61, 108, 158) y dos estudios tuvieron un tiempo de seguimiento < 50 meses (160, 173). Todos los estudios establecieron el diagnóstico a través de biopsias. Tres estudios realizaron biopsias cuando existía la sospecha clínica de toxicidad, mientras que dos estudios realizaron biopsias rutinariamente (tabla 8).

Los resultados no demostraron ni refutaron un efecto del genotipo CYP3A5 sobre el riesgo de nefrotoxicidad crónica (OR=1.81, IC95% 0.89-3.68, $I^2 = 61\%$; $p=0.1$, Figura 9). Asumiendo un riesgo base de nefrotoxicidad crónica de 11 eventos por cada 100 pacientes tratados, el riesgo anticipado para el genotipo expresador de CYP3A5 es de 7 eventos más por 100 pacientes (IC 95% de 1 evento menos a 21 eventos más por 100). Sin embargo, un estudio realizado por *Glowacki et al.* (173) reportaron un riesgo de nefrotoxicidad crónica inusualmente elevado en el grupo no expresador (50%) y, en particular, una incidencia muy alta de fibrosis intersticial/atrofia tubular grado I o II (34%).

En un análisis de sensibilidad, se excluyó este estudio y la nueva estimación fue consistente con un aumento en el riesgo de nefrotoxicidad crónica para pacientes con el genotipo expresador de CYP3A5 (OR= 2.42, IC 95% 1.51 -3.90; I²= 0%, p= 0.02).

El análisis de sesgo de la publicación no dio resultados significativos (valor-p para test de Egger= 0.4).

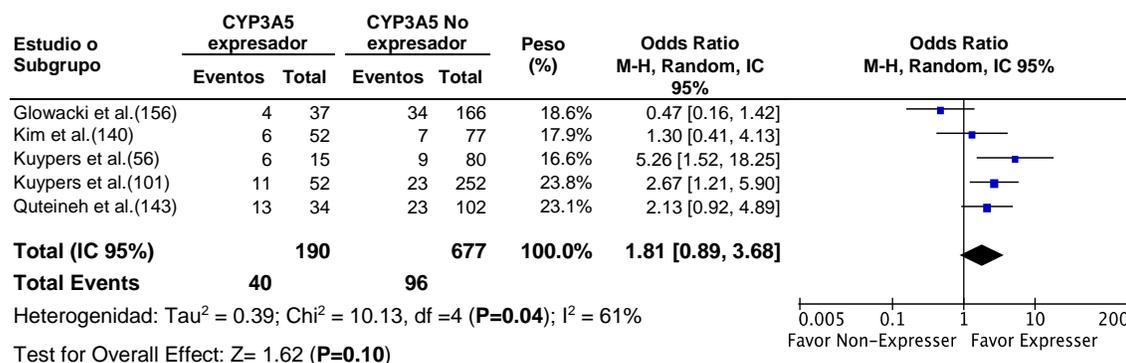


Figura 9. Forest plot que muestra el efecto del polimorfismo de CYP3A5 sobre el riesgo de nefrotoxicidad crónica. El OR combinado fue calculado usando el modelo de efectos aleatorios. Los cuadrados representan el efecto individual de cada estudio y los diamantes representan el efecto global del metanálisis. Las barras horizontales representan el IC 95% y la línea vertical sobre el valor 1 corresponde a la hipótesis nula del no efecto del genotipo.

Análisis de la heterogeneidad

Se realizó un análisis de subgrupos basado en las siguientes variables predefinidas: calidad metodológica, etnia, participantes menores de 15 años, tipo de diseño del estudio, métodos de diagnóstico para el rechazo agudo y nefrotoxicidad (biopsia o criterio clínico) y el uso de terapia de inducción inmunológica (sólo para el rechazo agudo).

Después de ajustar los resultados para C/D por etnicidad, se encontró una interacción para la edad de los participantes en la semana 1 y mes 12. Los participantes mayores de 15 años mostraron una mayor DM (semana 1= 47.33 ng/ml/mg/kg/día, IC 95% 33.1-61.6 versus 30.23 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 17.02-44.4, test de interacción p=0,02; mes 12=65.35 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 52.6-78.1 versus 35.66 ng/ml/mg/kg/día, IC95%

RESULTADOS

31.33-40.02, test de interacción $p < 0.0001$). La DM fue mayor en estudios de cortes transversales sólo al mes 3 (117.1 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 84.27-149.73 versus 71.26 ng/ml/mg/kg/día, IC95% 58.29 -84.23, test de interacción $p = 0.01$).

Después de ajustar los resultados para rechazo agudo por edad, se encontró una interacción para los métodos de diagnóstico. Estudios que reportaron diagnósticos basados en biopsias fracasaron en establecer o refutar un aumento en el rechazo agudo (OR 1.25, IC95% 0.96-1.62), pero aquellos con diagnósticos basados en el criterio clínico mostraron un mayor riesgo en CYP3A5 expresador (OR 5.04; IC95% 1.55-16.33, test de interacción $p = 0.02$). No se encontraron interacciones para el tipo de diseño del estudio (test de interacción $p = 0,6$).

No se encontraron interacciones significativas en los estudios que evaluaron nefrotoxicidad aguda y crónica.

De forma complementaria, se realizó un análisis de metaregresión utilizando las siguientes variables predefinidas: proporción de pacientes con genotipo CYP3A5 *1/*1 en todo el grupo expresador, rango utilizado para la dosis de tacrólimus, dosis inicial por peso corporal (sólo para las semanas 1 y 2 y rechazo agudo) y tiempo de seguimiento (sólo para rechazo agudo y nefrotoxicidad aguda y crónica). En todos los análisis realizados se demostró que las variables antes descritas no modifican de manera significativa el efecto de los polimorfismos de CYP3A5.

Análisis de sensibilidad

No se encontraron diferencias significativas entre los resultados globales del metanálisis C/D con y sin la exclusión de los estudios atípicos en la semana 2 y del estudio de *Glowacki et al.* (173) en el metanálisis de nefrotoxicidad crónica. Lo mismo ocurrió en todos los resultados cuando las estimaciones de los efectos agrupados se obtuvieron por modelos de efectos fijos o aleatorios.

5.2.4 Discusión

Los hallazgos de este metanálisis sugieren que el polimorfismo CYP3A5 6986A>G de receptores de trasplante renal probablemente influye sobre la farmacocinética de tacrólimus y afecta el riesgo de rechazo agudo y nefrotoxicidad crónica, pero no parece afectar la incidencia de la nefrotoxicidad aguda. Pacientes con el genotipo CYP3A5 no expresador presentaron una C/D 1.8 a 2.5 veces mayor que CYP3A5 expresador durante el primer año después del trasplante, lo que sugiere que los genotipos de los receptores participan en el metabolismo de tacrólimus desde los primeros días posteriores al trasplante, y que los pacientes expresadores de CYP3A5 requieren mayores dosis para alcanzar las concentraciones sanguíneas adecuadas. El efecto a la semana 1 y mes 12 es más pronunciado si consideramos sólo pacientes menores de 15 años, y por lo tanto, estos pacientes jóvenes pueden tener un mayor riesgo de sufrir complicaciones relacionadas a la ocurrencia de niveles plasmáticos de tacrólimus fuera de rango, como rechazo del injerto o toxicidad.

Además, en comparación con el genotipo no expresador, los pacientes expresadores no presentan un riesgo diferente de nefrotoxicidad aguda y probablemente tienen un mayor riesgo de rechazo agudo y nefrotoxicidad crónica relacionada a tacrólimus. Con respecto a este último resultado, se encontró una heterogeneidad significativa que fue explicada por la presencia de un único estudio (173), el que reportó un riesgo inusualmente alto de nefrotoxicidad crónica en el grupo no expresador (50%) y menor tiempo de seguimiento. Cuando este estudio fue excluido, la heterogeneidad desapareció y la nueva estimación combinada fue consistente con un incremento en el riesgo de nefrotoxicidad entre los pacientes con el genotipo expresador de CYP3A5.

El sistema GRADE calificó la calidad global de la evidencia como baja para los metanálisis de C/D, rechazo agudo y nefrotoxicidad crónica porque los estudios incluidos fueron de tipo observacional (no hay estudios aleatorizados publicados) y con riesgo de sesgo elevado en la mayoría de ellos. No fue posible llevar a cabo este análisis en nefrotoxicidad aguda por tener un bajo número de estudios incluidos. Por estos motivos, se requieren más estudios para determinar el verdadero efecto del polimorfismo de CYP3A5 de donantes y receptores sobre los desenlaces farmacocinéticos y clínicos.

RESULTADOS

Las revisiones sistemáticas anteriores han reportado efectos similares del genotipo CYP3A5 en los requerimientos de dosis de tacrólimus (104, 187) y en la nefrotoxicidad relacionada a tacrólimus (130, 188), sin embargo, los resultados respecto al rechazo agudo difieren. Terrazino et al. (104) y Tang et al. (187) reportaron resultados que no sustentan un efecto de este polimorfismo sobre rechazo agudo, posiblemente debido al número limitado de estudios incluidos. Un ensayo clínico llegó a la misma conclusión pero, como señalan sus autores, esto pudo deberse a la inclusión de pacientes con bajo riesgo de rechazo agudo (107).

5.2.5 Limitaciones y fortalezas

Nuestra revisión tiene algunas **limitaciones**. Primero, fueron incluidos únicamente estudios observacionales y la calidad global de la evidencia es baja. Sólo el diseño de algunos estudios sobre resultados clínicos consideró el control de factores de confusión, tales como infección por VHC, diabetes, hipertensión y tipo de donantes. Segundo, la corta duración del seguimiento en algunos estudios pudo resultar en estimaciones inadecuadas de la incidencia de rechazo agudo y nefrotoxicidad. Tercero, las biopsias de riñón no fueron realizadas de manera rutinaria en todos los estudios, y los criterios diagnóstico histológicos no fueron homogéneos. Estos dos aspectos pueden haber causado diferencias en el número de eventos clínicos diagnosticados.

La **fortaleza** de nuestro metanálisis reside en que las estrategias de búsqueda bibliográfica fueron exhaustiva y utilizaron amplios criterios de inclusión. Además, se llevaron a cabo análisis estadísticos apropiados acerca de desenlaces relevantes tanto para los pacientes como para el sistema de salud. Por último, se ha comprobado la robustez de los resultados con múltiples análisis de sensibilidad.

El tipo de intervención estudiada y la calidad de la evidencia disponible no permite la aplicación directa de los resultados, aunque en vista de la importancia clínica del problema y las razones expuestas anteriormente, los resultados de nuestro metanálisis son un argumento poderoso para que se lleven a cabo ensayos clínicos donde el polimorfismo CYP3A5 del receptor se considere en la determinación de la dosis inicial de tacrólimus y en la dosificación durante la fase estable después del trasplante, y se evalúe su impacto sobre la incidencia de nefrotoxicidad inducida por tacrólimus y rechazo agudo. Los futuros estudios deben ser diseñados de tal forma que permitan superar las falencias de los estudios ya publicados. Uno de los aspectos más falentes es el control los factores de confusión como la edad, riesgo base del paciente, terapia co-inmunosupresora y genotipo de los donantes.

Dado que la mayoría de los pacientes incluidos fueron caucásicos y asiáticos y que la distribución de los polimorfismos genéticos de CYP3A5 difieren entre las diferentes etnias (189), se debe tener precaución al extrapolar nuestros hallazgos a otros grupos, como los africanos.

5.2.6 Conclusión

Nuestra revisión sugiere que el polimorfismo CYP3A5 6986A>G de receptores de trasplante de riñón puede afectar los requerimientos de tacrólimus durante el primer año después del trasplante, así como la eficacia del tratamiento (rechazo agudo). El genotipo expresador también puede estar asociado con un mayor riesgo de nefrotoxicidad crónica pero no con el riesgo de nefrotoxicidad aguda relacionada a tacrólimus.

Teniendo en cuenta estos hallazgos sobre la farmacogenética del metabolismo hepático, el conocimiento del genotipo CYP3A5 podría ayudar a los médicos asistenciales a determinar de mejor forma las dosis iniciales de tacrólimus con el fin de lograr una dosificación más eficaz y se podría detectar precozmente los pacientes con alto riesgo de desarrollar complicaciones relacionadas al tacrólimus y de esta forma implementar intervenciones que permitan prevenir la aparición de efectos adversos asociados a la eficacia y toxicidad de tacrólimus.

5.3 Resultados objetivo 3: Estudio de cohortes con pacientes de trasplante hepático

5.3.1 Características de los pacientes incluidos en el estudio de cohortes

Un total de 86 (65% hombres) receptores de trasplante hepático y sus respectivos donantes fueron incluidos. De ellos, 77 pacientes (89.5%) fueron incluidos para el análisis posterior. Las razones de exclusión para la evaluación se muestran en la figura 10. Todos los participantes incluidos recibieron aloinjerto de donantes fallecidos.

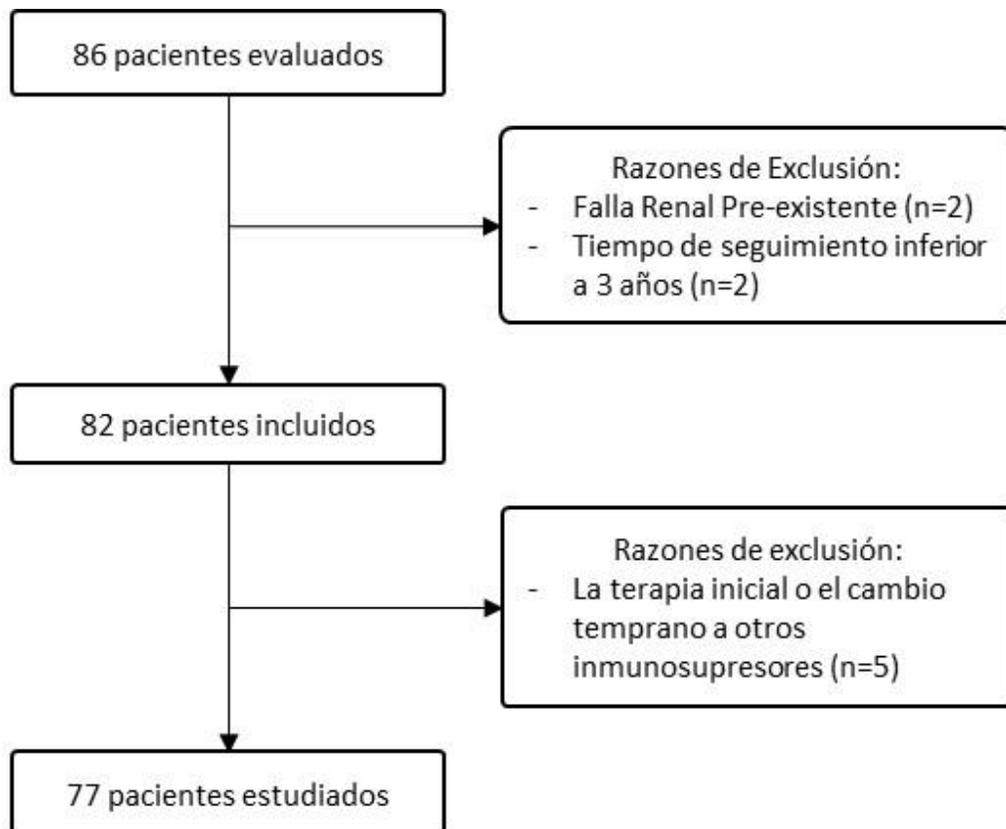


Figura 10. Selección de la población de estudio y razones de exclusión

RESULTADOS

El promedio de edad de los receptores fue de 55 años (rango de 23 a 68) y el peso corporal promedio fue 74.9±13.1 kg. El promedio de tiempo de seguimiento para evaluar los resultados fue 48 meses (rango de 24 a 63). La dosis promedio diarias requeridas de tacrólimus durante el primer mes posterior al trasplante hepático fueron 0.085±0.02 mg/kg/día. Posterior al trasplante hepático, 22.4% de los pacientes sufrió hipertensión, 15.5% diabetes mellitus y 43.1% infección por VHC, y 13.7% utilizó fármacos nefrotóxicos. El aclaramiento de creatinina y creatinina sérica basal fueron 90.1 ±22.9 ml/min y 0.89±0.18, respectivamente. Las características basales de los pacientes acorde a las variantes de cada SNP se muestran en las tablas 11 y 12.

	Total	Donantes			Receptores		
		expresador	No-expresador	p	expresador	No-expresador	p
n	77	16	61		13	64	
Edad, promedio ±DS (años)	53,1 ±1	51,8±3,7	53,4±1,1	0.60	51,69±4,1	53,3±11	0.59
Género, femenino (%)	36.8	31.2%	38.3	0.45	30.7	38.1	0.43
Infección HCV (%)	50	50	49.18	0.37	56.23	39.3	0.14
DM (%)	13.1	12.5	17.3	0.65	7.7	14.1	0.46
HTA (%)	25	25	18	0.37	7.7	21.8	0.22
Causa del trasplante							
Alcohol (%)	31.2	18.7(3)	34.3(21)		30.7(4)	31.2(20)	
HBV (%)	6.5	12.5 (2)	4.92(3)		7.7 (1)	6.25(4)	
HCV (%)	42.8	50(8)	40.98(25)		23 (3)	46.8(30)	
Uso de fármacos que modifican la actividad enzimática del CYP3A5 (%)	6.5	12.5	4.92	0.27	7.69	6.26	0.6
Uso de fármacos de nefrotoxicidad (%)	13.8	16.6	13	0.75	25	10.8	0.2
Tratamiento							
Inmunosupresor							
Micofenolato (%)	45.4	56.2	42.6	0.24	38.4	46.8	0.44
Esteroides (%)	94.8	100	93.4	0.38	100	93.75	0.47
Tiempo de uso de esteroides, media ±DS (meses)	11±9.3	13.6±9.2	18.2±17.7	0.31	13.64±9.2	18.24±17.7	0.37
Azatioprina (%)	15.6	25	13.1	0.20	23	14	0.32
Terapia de Inducción (%)	5.1	0	6.5	0.30	7.7	4.69	0.53
Creatinina Basal, promedio ±DS (mg/dL)	0.83±0.16	0.82±0.18	0.83±0.16	0.87	0.80±0.17	0.83±0.16	0.56
Depuración creatinina, promedio ±DS (ml/min)	96.3±26,3	100.6±27.3	95.14±26.11	0.46	102.9±28.3	96.3±26.2	0.31

Tabla 11. Características descriptivas de la población estudiada acorde al polimorfismo de CYP3A5 6986A>G.

	ABCB1 3435			ABCB1 1236			ABCB1 2677		
	expresador	No expresador	p	expresador	No expresador	p	expresador	No expresador	P
N	61	16		68	9		69	8	
Edad, mediana, rango (años)	55, 23 a 67	54, 24 a 68	0.10	55, 23 a 67	60, 39 a 68		55, 23 a 67	56.5 39 a 68	
Género, femenino (%)	65	66.6	0.91	65.3	66.6	0.93	66	62.5	0.85
Infección HCV (%)	46.5	33.3	0.37	42.8	44.4	0.92	56	37.5	0.33
DM (%)	12.1	33.3	0.06	14.2	22.2	0.54	16	12.5	0.79
HTA (%)	23	37,5	0.23	18.3	44.4	0.08	20	37.5	0.44
Causa del Trasplante									
Alcohol (%)	39.5	33.3	0.67	36.7	44.4	0.66	36	50	0.44
HBV (%)	7	6.6	0.95	8.1	0	0.37	8	0	0.40
HCV (%)	34.8	33.3	0.95	32.6	44.4	0.49	78.4	37.5	0.015
Uso de fármacos que modifican la actividad enzimática del CYP3A5 (%)									
Uso de fármacos de nefrotoxicidad (%)	9.3	26.6	0.095	14.2	11.1	0.80	16	12.5	0.79
Tratamiento Inmunosupresor									
Micofenolato (%)	42	53.3	0.44	48.9	55.5	0.72	46	37.5	0.65
Esteroides (%)	93	85	0.35	89.7	88.8	0.93	92	87.5	0.67
Azatioprina (%)	16.2	13.3	0.78	14.2	11.1	0.8	14	25	0.42
Terapia de Inducción (%)	9.3	6.6	0.74	6.1	11.1	0.58	6	0	0.47
Creatinina Basal, promedio \pm DS (mg/dL)	0.87 \pm 0.17	0.94 \pm 0.18	0.18	0.89 \pm 0.19	0.92 \pm 0.1	0.64	0.9 \pm 0.19	0.86 \pm 0.13	0.54
Depuración creatinina, promedio \pm DS (ml/min)	92.28 \pm 21.61	83.03 \pm 26.13	0.18	91.4 \pm 24.4	82.88 \pm 10.81	0.31	90.12 \pm 24.31	89.65 \pm 12.84	0.95

Tabla 12. Características basales de los pacientes acorde a sus polimorfismos de ABCB1 3435C>T; 1236C>T; 2677G>T/A.

5.3.2 Frecuencia de los genotipos

Las distribuciones de los genotipos ABCB1 y CYP3A5 no se desviaron significativamente de los valores predichos por el equilibrio *Hardy-Weinberg*. La frecuencia para los genotipos ABCB1 fueron las siguientes: 3435 CC-CT-TT: 19-42-16; 1236 CC-CT-TT: 20-48-9; 2677: GG/AT-GT-AG/TT: 22-47-8, en receptores. Para CYP3A5 6895A>G, los genotipos *1/*1, *1/*3, y *3/*3 fueron detectados en 3, 13, y 61 donantes y en 1, 12, y 64 receptores.

5.3.3 Resultados del efecto de los genotipos

Efecto sobre la farmacocinética de tacrólimus

Los resultados del modelo de regresión lineal mixto mostraron una interacción estadísticamente significativa de tres vías entre el tiempo y el polimorfismo expresador de CYP3A5 de donantes y receptores ($p= 0.012$) (figura 11), es decir: tenemos una influencia significativa tanto del genotipo del donante, como del genotipo del receptor como del tiempo. No deberíamos de interpretar ninguna situación en el contexto del trasplante hepático, en relación al genotipo de SNP de CYP3A5 y los valores C/D de tacrólimus, sin tener en cuenta los tres elementos. Si los donantes o receptores presentan un polimorfismo expresador, los valores de C/D de tacrólimus fueron menores durante los primeros 12 meses de seguimiento. Si ambos son expresadores los valores fueron similares a los casos donde sólo uno de ellos es expresador ($p= 0.05$), en los periodos más inmediatos post trasplante, aunque las diferencias se hacen mayores al transcurrir el tiempo. En todos los casos, los valores de la proporción C/D aumenta con el tiempo ($p<0.001$). Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre receptores no expresadores y expresadores para los genotipos ABCB1 3435C>T, 1236C>T o 2677G>T, durante los tres años después del trasplante de hígado. Los parámetros farmacocinéticos según tipo de polimorfismo en los diferentes tiempos posteriores al trasplante hepático se encuentran en la tabla 13.

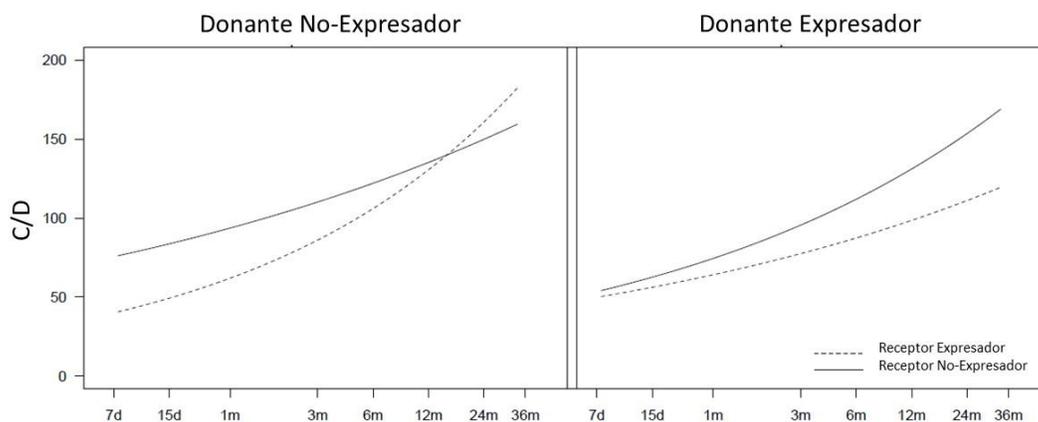


Figura 11. C/D de tacrólimus obtenidos posterior al trasplante en receptores CYP3A5>G expresador y no expresador. Resultados diferenciados para los injertos CYP3A5 no expresador (A) y CYP3A5 expresador (B).

RESULTADOS

Parámetros	Genotipo	Semana 1	Semana 2	Mes 1	Mes 3	Mes 6	Mes 12	Mes 24	Mes 36	
C min (ng/mL)	CYP3A5 Donantes									
	*1/*1 + *1/*3	6.1±1.9 (n=14)	8.6±3.1 (n=14)	11.5±5.3 (n=14)	10.6±3 (n=16)	10.7±4.2 (n=16)	8.8±2.4 (n=16)	6.2±2.9 (n=16)	6.2±2.7 (n=15)	
	*3/*3	8.2±2.9 (n=49)	9.5±3.1 (n=48)	10.3±4.2 (n=47)	10.2±3.6 (n=49)	10.6±4.4 (n=55)	8.6±2.4 (n=56)	6.9±2.9 (n=56)	6.8±2.8 (n=54)	
	CYP3A5 Receptores									
	*1/*1 + *1/*3	5.9±2.2 (n=13)	7.1±2.9 (n=12)	9.6±2.6 (n=11)	9.6±3 (n=11)	8.6±2.1 (n=11)	8±2.6 (n=12)	6.3±3 (n=12)	6.3±2.8 (n=11)	
	*3/*3	8.2±2.8 (n=50)	9.77±2.95 (n=50)	10.9±4.9 (n=50)	10.6±3.6 (n=54)	10.7±4.3 (n=60)	8.8±2.3 (n=60)	6.9±2.8 (n=60)	6.8±3.10 (n=58)	
	ABCB1 3435 Receptores									
	CC+CT	7.8±2.8 (n=49)	8.9±2.7 (n=49)	10.6±4.8 (n=48)	10.8±3.7 (n=52)	10.9±4.2 (n=56)	9.1±2.3 (n=56)	7.3±2.8 (n=56)	7.4±2.8 (n=55)	
	TT	7.5±3.1 (n=14)	10.3±4.2 (n=13)	10.6±3.2 (n=13)	8.9±2.1 (n=13)	8.3±2.5 (n=15)	7.3±1.8 (n=16)	5.3±2.5 (n=16)	5.4±2.4 (n=14)	
	ABCB1 1236 Receptores									
	CC+CT	7.9±2.9 (n=54)	9.1±2.8 (n=54)	10.7±4.8 (n=53)	10.5±3.7 (n=57)	10.6±4.2 (n=63)	8.9±2.3 (n=63)	7.1±2.9 (n=63)	7.1±2.7 (n=62)	
	TT	6.9±2.7 (n=9)	10.4±4.6 (n=8)	10.3±2.8 (n=8)	9.5±2.3 (n=8)	8.3±2 (n=8)	7.7±2.2 (n=9)	5.3±2.4 (n=9)	5.4±2.7 (n=7)	
	ABCB1 2677 Receptores									
	GG+AG/GT/AT	7.8±2.7 (n=55)	9.2±3.0 (n=55)	10.8±4.8 (n=54)	10.6±3.6 (n=58)	10.5±4.2 (n=64)	8.9±2.3 (n=64)	6.9±2.7 (n=64)	7±1.2 (n=62)	
	TT	7.5±3.7 (n=8)	9.6±4.2 (n=7)	9.9±2.6 (n=7)	9±2.4 (n=7)	8.7±2.6 (n=7)	7.1±2.1 (n=8)	5.7±3.4 (n=8)	5.8±3.3 (n=7)	
	Dosis (mg/Kg)	CYP3A5 Donantes								
*1/*1 + *1/*3		0.1±0.03 (n=14)	0.1±0.04 (n=14)	0.2±0.2 (n=14)	0.08±0.05 (n=16)	0.065±0.3 (n=16)	0.05±0.03 (n=16)	0.04±0.02 (n=16)	0.04±0.03 (n=15)	
*3/*3		0.3±1.2 (n=49)	0.1±0.03 (n=48)	0.13±0.12 (n=47)	0.1±0.05 (n=49)	0.08±0.4 (n=55)	0.06±0.03 (n=56)	0.05±0.03 (n=56)	0.05±0.06 (n=54)	
CYP3A5 Receptores										
*1/*1 + *1/*3		0.1±0.2 (n=13)	0.1±0.04 (n=12)	0.1±0.05 (n=11)	0.1±0.08 (n=11)	0.093±0.6 (n=11)	0.06±0.03 (n=12)	0.05±0.02 (n=12)	0.04±0.1 (n=11)	
*3/*3		0.3±1.2 (n=50)	0.1±0.04 (n=50)	1.4±5.3 (n=50)	0.08 ± 0.03 (n=54)	0.07±0.04 (n=60)	0.06±0.03 (n=60)	0.05±0.03 (n=60)	0.05±0.08 (n=58)	
ABCB1 3435 Receptores										
CC+CT		0.1±0.04 (n=14)	0.1±0.04 (n=49)	1.3±5.1 (n=48)	0.1±0.05 (n=52)	0.08±0.04 (n=56)	0.06±0.03 (n=56)	0.05±0.03 (n=56)	0.05±0.06 (n=55)	
TT		0.3±1.2 (n=49)	0.1±0.03 (n=13)	0.2±0.2 (n=13)	0.06±0.01 (n=13)	0.06±0.02 (n=15)	0.05±0.02 (n=16)	0.03±0.02 (n=16)	0.04±0.01 (n=14)	
ABCB1 1236 Receptores										
CC+CT		0.2±1.1 (n=54)	0.1±0.04 (n=54)	1.2 ± 5 (n=53)	0.1±0.05 (n=57)	0.08±0.04 (n=63)	0.06±0.03 (n=63)	0.05±0.3 (n=63)	0.04±0.05 (n=62)	
TT		0.1±0.3 (n=9)	0.1±0.5 (n=8)	0.3±0.3 (n=8)	0.07±0.2 (n=8)	0.05±0.09 (n=8)	0.05±0.02 (n=9)	0.04±0.3 (n=9)	0.04±0.01 (n=7)	
ABCB1 2677 Receptores										
GG+AG/GT/AT		0.3±1.1 (n=55)	0.1±0.4 (n=55)	1.2±5 (n=54)	0.09±0.05 (n=58)	0.08±0.4 (n=64)	0.06±0.03 (n=64)	0.05±0.03 (n=64)	0.04±0.03 (n=62)	
TT		0.08±0.04 (n=8)	0.1±0.04 (n=7)	0.3±0.3 (n=7)	0.06±0.01 (n=7)	0.06±0.01 (n=7)	0.04±0.01 (n=8)	0.03±0.02 (n=8)	0.04±0.01 (n=7)	

Tabla 13. Concentración (Cmin), Dosis por kilo de peso y Concentración de Tacrolimus ajustada por Dosis por kilo de peso (C/D) en el tiempo según los genotipos ABCB1 y CYP3A5.

Parámetros	Genotipo	Semana 1	Semana 2	Mes 1	Mes 3	Mes 6	Mes 12	Mes 24	Mes 36
Razón C/D (ng ml ⁻¹ /mg kg ⁻¹)	CYP3A5 Donantes								
	*1/*1 + *1/*3	99.9±50.3 (n=49)	66.8±28.16 (n= 14)	94.8±36.9 (n=14)	136.9±69.3 (n=16)	176.7±88.9 (n=16)	205.2±93.8 (n=16)	142.5±52.6 (n=16)	141.7±48.6 (n=15)
	*3/*3	61.0±16.0 (n=14)	111.1±60.7 (n=48)	103.1±48.1 (n=47)	129.7±55.7 (n=49)	161.5±73.6 (n=55)	192±122.4 (n=56)	184.7±87.8 (n=56)	180.2±80.8 (n=54)
	CYP3A5 Receptores								
	*1/*1 + *1/*3	61.1±29.2 (n=13)	61.4±33.34 (n= 12)	89.4±44 (n=11)	105.2±79.6 (n=11)	129.5±92.8 (n=11)	152.9±48.3 (n=12)	146.6±76 (n=12)	144.3±74 (n=11)
	*3/*3	99.1±48.6 (n=50)	109.7±58.8 (n= 50)	105.43±46.1 (n=50)	138.1±50.4 (n=54)	172.7±70.4 (n=60)	206.3±127.6 (n=60)	185.6±85.1 (n=60)	179.6±83.2 (n=58)
	ABCB1 3435 Receptores								
	CC+CT	89.7±48.6 (n=49)	95.1±57.1 (n=49)	93.6±38.2 (n=48)	122.5±52 (n=52)	168.7±74.6 (n=56)	196.8±126.4 (n=56)	182.8±90.9 (n=56)	177.8±91.2 (n=55)
	TT	96.5±45.6 (n=14)	119.9±58.5 (n=13)	128.6±62.1 (n=13)	164.4±70.1 (n=13)	149.9±81.9 (n=15)	187.7±88 (n=16)	160.5±57.8 (n=16)	155.5±34.1 (n=14)
	ABCB1 1236 Receptores								
	CC+CT	91.8±47.6 (n=54)	97.7±56.4 (n=54)	103.7±47.8 (n=53)	132.1±59.4 (n=57)	163.8±76.6 (n=63)	193.8±120.4 (n=63)	187±85.9 (n=63)	1179±33.2 (n=62)
	TT	87.9±51.2 (n=9)	118±68.33 (n=8)	84.8±17.5 (n=8)	124.9±48.6 (n=8)	168.9±77.3 (n=8)	198.1±102.3 (n=9)	118.5±26.2 (n=9)	120.1±22.1 (n=7)
	ABCB1 2677 Receptores								
	GG+AG/GT/AT	89.8±44.9 (n=55)	98.4±58.3 (n=55)	98.5±45.5 (n=54)	130.6±59.3 (n=58)	163.47±76.5 (n=64)	194.3±120.3 (n=64)	182.3±88.2 (n=64)	173.3±78.8 (n=62)
	TT	101.1±66.5 (n=8)	15.7±55.8 (n=7)	119.41±47.9 (n=7)	135.4±49.7 (n=7)	171.4±78.3 (n=7)	195.5±103.2 (n=8)	146.8±40.4 (n=8)	144.8±41.3 (n=7)

Tabla 13. (Continuación) Concentración (Cmin), Dosis por kilo de peso y Concentración de Tacrolimus ajustada por Dosis por kilo de peso (C/D) en el tiempo según los genotipos ABCB1 y CYP3A5.

Considerando la posibilidad que el efecto sobre C/D pudo verse afectada por la combinación de los polimorfismos, se examinó la influencia de la combinación de los polimorfismos de CYP3A5 de donante y receptor y de los polimorfismos de ABCB1 y CYP3A5 y no se encontraron diferencias significativas (Tablas 14, 15, 16, 17, 18,19 y 20).

Es decir, el efecto estadísticamente significativo reflejado en la figura 11 realmente está determinado por la combinación que muestra la figura y no hay otra combinación posible, que contenga a las variantes de ABCB1 y que estuviese influyendo los resultados de la figura.

RESULTADOS

	Semana 1 Media± DE (n)	Semana 2 Media± DE (n)	Mes 1 Media± DE (n)	Mes 3 Media± DE (n)	Mes 6 Media± DE (n)	Mes 12 Media± DE (n)	Mes 24 Media± DE (n)	Mes 36 Media± DE (n)
CYP donante exp	53.51±21.26	67.89±41.78	89.75±35	104.28±65.2	113.26±86.12	141.63±59.7	132.9±52.3	128.58±60.13
CYP receptor exp	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(6)	(5)
CYP donante no exp	105.26±60.67	117.98±60.41	121.63±60.7	155.81±83.2	178.57±92.13	202.05±128	223±143.01	243.12±180.9
CYP receptor no exp	(42)	(42)	(42)	(44)	(50)	(50)	(50)	(48)
CYP donante exp	66.67±8.2 (8)	66.1±14.9	94.69±49.77	110.66±48.01	152.29±60.03	182.21±89.64	200.79±199.97	240.47±146.45
CYP receptor no exp	(8)	(8)	(8)	(10)	(10)	(10)	(10)	(10)
CYP donante no exp	67.54±35.12	54.97±24.48	73.36±36.17	201.77±274.29	156.78±102.45	182.81±92	150.72±83.04	188.82±117.04
CYP receptor exp	(7)	(6)	(5)	(5)	(5)	(6)	(6)	(6)

Tabla 14. C/D (ng/ml/mg/kg/día) de tacrólimus acorde a combinaciones de los polimorfismos CYP3A5 6986 A>G del donante y receptor.

	Semana 1 Media± DE (n)	Semana 2 Media± DE (n)	Mes 1 Media± DE (n)	Mes 3 Media± DE (n)	Mes 6 Media± DE (n)	Mes 12 Media± DE (n)	Mes 24 Media± DE (n)	Mes 36 Media± DE (n)
CYP donante exp	53.42±16.75	60.92±3.52	83.89±18.85	107.49±60.41	136.36±85.87	219.34±115.65	136.58±8.71	132.87±13.87
ABCB1 3435 no exp	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)	(3)
CYP donante no exp	108.25±44.06	137.68±55.21	129.95±73.94	177.79±97.08	181.62±113.72	208.18±95.57	222.87±129.34	227.32±175.32
ABCB1 3435 no exp	(11)	(10)	(10)	(10)	(12)	(13)	(13)	(11)
CYP donante exp	63.11±15.97	68.49±31.86	94.94±47.62 (108.45±53.93	137.96±70.99	154.92±70.39	184.29±179.16	220.76±144.69
ABCB1 3435 exp	(11)	(11)	11)	(13)	(13)	(13)	(13)	(12)
CYP donante no exp	97.45±52.19	102.85±60.73	112.86±56.58	156.07±116.95	175.19±86.94.	197.51±132.89	212.96±143.35	239.59±176.86
ABCB1 3435 exp	(38)	(38)	(37)	(39)	(43)	(43)	(43)	(43)

Tabla 15. C/D (ng/ml/mg/kg/día) de tacrólimus acorde a combinaciones de los polimorfismos CYP3A5 6986 A>G del donante y ABCB1 3435C>T del receptor.

	Semana 1 Media± DE (n)	Semana 2 Media± DE (n)	Mes 1 Media± DE (n)	Mes 3 Media± DE (n)	Mes 6 Media± DE (n)	Mes 12 Media± DE (n)	Mes 24 Media± DE (n)	Mes 36 Media± DE (n)
CYP donante exp	49.84±8.95	60.49±5.52	80.86±16.41	115.32±44.13	150.84±72.69	194.46±105.06	111.34±33.79	114.94±29.38
ABCB1 1236 no exp	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)	(4)
CYP donante no exp	118.32±50.84	175.59±45.08	159.59±80.68	232.55±110.86	238.37±160.92	231.75±102.56	279.11±159.77	191.42±162.54
ABCB1 1236 no exp	(5)	(4)	(4)	(4)	(4)	(5)	(5)	(3)
CYP exp	65.52±16.29	69.43±33.32	97.25±49.55 (105.92±57.28	133.25±72.89	157.85±73.36	196.68±182.31	235.27±142.88
ABCB1 1236 exp	(10)	(10)	10)	(12)	(12)	(12)	(12)	(11)
CYP donante no exp	97.78±50.34	104.15±58.81	112.49±57.55	154.09±111.69	171.75±85.55	196.88±126.87	209.00±137.13	239.78±176.80
ABCB1 1236 exp	(44)	(44)	(43)	(45)	(51)	(51)	(51)	(51)

Tabla 16. C/D (ng/ml/mg/kg/día) de tacrólimus acorde a combinaciones de los polimorfismos CYP3A5 6986 A>G del donante y ABCB1 1236C>T del receptor.

	Semana 1 Media± DE (n)	Semana 2 Media± DE (n)	Mes 1 Media± DE (n)	Mes 3 Media± DE (n)	Mes 6 Media± DE (n)	Mes 12 Media± DE (n)	Mes 24 Media± DE (n)	Mes 36 Media± DE (n)
CYP donante exp ABCB1 2677 no exp	46.01±5.69 (3)	59.35±6.16 (3)	84.66±17.81 (3)	114.47±54.01 (3)	138.78±83.97 (3)	201.19±127.61 (3)	118.93±36.99 (3)	123.72±28.51 (3)
CYP donante no exp ABCB1 2677 exp	134.28±63.80 (5)	175.88±24.59 (4)	153.88±78.01 (4)	197.66±109.21 (4)	201.83±145.79 (4)	208.95±102.36 (5)	229.19±128.35 (5)	194.04±132.81 (4)
CYP donante exp ABCB1 2677 exp	65.13±15.51 (11)	68.933±31.66 (11)	94.73±47.75 (11)	106.84±54.94 (13)	137.39±71.37 (13)	159.11±70.38 (13)	188.37±177.10 (13)	223.05±142.66 (12)
CYP donante no exp ABCB1 2677 exp	95.96±47.82 (44)	105.76±61.33 (44)	113.02±58.22 (43)	157.20±113.47 (45)	174.61±88.72 (51)	199.11±127.28 (51)	213.89±141.26 (51)	240.54±178.52 (50)

Tabla 17. C/D (ng/ml/mg/kg/día) de tacrólimus acorde a combinaciones de los polimorfismos CYP3A5 6986 A>G del donante y ABCB1 2677G>T/A del receptor.

	Semana 1 Media± DE (n)	Semana 2 Media± DE (n)	Mes 1 Media± DE (n)	Mes 3 Media± DE (n)	Mes 6 Media± DE (n)	Mes 12 Media± DE (n)	Mes 24 Media± DE (n)	Mes 36 Media± DE (n)
CYP receptor exp ABCB1 3435 no exp	87.00±44.33 (3)	63.17±2.09 (2)	104.8±1.15 (2)	97.92±24.95 (2)	185.94±143.92 (2)	178.93±77.09 (3)	146.11±48.09 (3)	190.51±123.71 (3)
CYP receptor no exp ABCB1 3435 no exp	99.09±47.74 (11)	130.29±57.81 (11)	121.96±73.69 (11)	173.15±96.61 (11)	170.51±108.31 (13)	217.51±100.48 (13)	220.67±129.38 (13)	211.59±172.38 (11)
CYP receptor exp ABCB1 3435 exp	53.29±20.41 (10)	61.09±36.84 (10)	77.29±37.04 (9)	159.86±206.54 (9)	121.29±84.17 (9)	156.66±80.82 (9)	140.39±74.51 (9)	150.54±91.62 (8)
CYP receptor no exp ABCB1 3435 exp	99.08±49.46 (39)	103.86±58.47 (39)	116.01±55.89 (39)	140.88±74.45 (43)	175.21±82.51 (47)	193.56±128.26 (47)	218.93±159.17 (47)	249.94±175.76 (47)

Tabla 18. C/D (ng/ml/mg/kg/día) de tacrólimus acorde a combinaciones de los polimorfismos CYP3A5 6986 A>G del receptor y ABCB1 3435C>T del receptor.

	Semana 1 Media± DE (n)	Semana 2 Media± DE (n)	Mes 1 Media± DE (n)	Mes 3 Media± DE (n)	Mes 6 Media± DE (n)	Mes 12 Media± DE (n)	Mes 24 Media± DE (n)	Mes 36 Media± DE (n)
CYP receptor exp ABCB1 1236 no exp	61.19±29.17 (3)	57.03±6.59 (2)	86.45±24.80 (2)	83.34±4.33 (2)	90.43±8.85 (2)	133.02±9.73 (3)	105.32±28.30 (3)	110.11±21.47 (3)
CYP receptor no exp ABCB1 1236 no exp	101.23±56.73 (6)	138.38±67.40 (6)	131.48±76.26 (6)	204.13±98.28 (6)	229.33±126.36 (6)	256.26±97.69 (6)	254.16±156.32 (6)	175.92±137.97 (4)
CYP receptor exp ABCB1 1236 exp	61.03±30.91 (10)	62.31±36.72 (10)	81.37±38.00 (9)	163.10±205.47 (9)	142.52±99.82 (9)	171.96±87.79 (9)	153.99±72.61 (9)	180.69±107.61 (8)
CYP receptor no exp ABCB1 1236 exp	98.79±48.13 (44)	105.77±57.26 (44)	115.39±57.64 (44)	140.37±75.13 (48)	168.07±81.73 (54)	192.36±123.92 (54)	215.43±152.71 (54)	247.62±176.71 (54)

Tabla 19. C/D (ng/ml/mg/kg/día) de tacrólimus acorde a combinaciones de los polimorfismos CYP3A5 6986 A>G del receptor y ABCB1 1236C>T del receptor.

RESULTADOS

	Semana 1 Media± DE (n)	Semana 2 Media± DE (n)	Mes 1 Media± DE (n)	Mes 3 Media± DE (n)	Mes 6 Media± DE (n)	Mes 12 Media± DE (n)	Mes 24 Media± DE (n)	Mes 36 Media± DE (n)
CYP receptor exp ABCB1 2677 no exp	61.19±29.17 (3)	57.03±6.59 (2)	86.45±24.80 (2)	83.34±4.33 (2)	90.43±8.85 (2)	133.02±9.73 (3)	105.32±28.30 (3)	110.11±21.47 (3)
CYP receptor no exp ABCB1 2677 no exp	125.17±73.45 (5)	139.10±47.08 (5)	139.32±74.99 (5)	193.47±95.04 (5)	208.56±127.15 (5)	249.86±110.46 (5)	237.36±119.52 (5)	204.25±125.09 (4)
CYP receptor exp ABCB1 2677 exp	61.03±30.91 (10)	62.31±36.72 (10)	81.37±38.00 (9)	163.10±205.47 (9)	142.52±99.82 (9)	171.96±87.79 (9)	153.99±72.61 (9)	180.69±107.61 (8)
CYP receptor no exp ABCB1 2677 exp	96.19±45.33 (45)	106.41±59.48 (45)	114.88±58.02 (45)	142.76±77.39 (49)	171.07±84.22 (55)	194.10±123.28 (55)	217.66±155.59 (55)	245.52±177.93 (54)

Tabla 20. C/D (ng/ml/mg/kg/día) de tacrólimus acorde a combinaciones de los polimorfismos CYP3A5 6986 A>G del receptor y ABCB1 2677G>T/A del receptor.

Efectos de los genotipos sobre la función renal

Se detectaron 34 episodios de nefropatía aguda, 21 pacientes (33.5%) desarrollaron al menos un episodio, 7 presentaron 2 episodios y uno de ellos presentó 3 episodios. Por otro lado, 13 pacientes (17%) sufrieron nefropatía crónica durante el periodo de estudio. El tiempo promedio de la aparición de nefropatía aguda y crónica fue de 3 meses (rango de 0.8 a 5 meses) y 22 meses (rango 8 a 40 meses), respectivamente.

No se encontraron efectos de los polimorfismos CYP3A5 o ABCB1 sobre nefropatía aguda (tabla 21). Al evaluar la combinación de los polimorfismos, se observó una tendencia hacia una mayor incidencia en receptores CYP3A5 no expresador que recibieron un injerto CYP3A5 no expresador [18/54 (33.3%) vs 0/6 (0%), OR: 6.5, IC95% 0.35-123.4 p=0.09] (tabla 22).

El análisis univariable de los factores de confusión (edad del donante, niveles de tacrólimus dentro de los primeros 3 meses y uso de antagonistas del calcio) no determinó resultados significativos.

	n (%)	OR (IC95%)	Valor-p
CYP3A5 Donante			
*1/*1 + *1/*3	4 (25)	0.59 (0.12 a 2.2)	0.40
*3/*3	22 (36)		
CYP3A5 Receptor			
*1/*1 + *1/*3	4 (30.7)	0.84 (0.17 a 3.4)	0.80
*3/*3	22 (34.3)		
ABCB1 3435 Receptor			
CC+CT	19 (31.1)	0.58 (0.16 a 2.1)	0.34
TT	7 (43.7)		
ABCB1 1236 Receptor			
CC+CT	24 (35.3)	1.9 (0.32 a 20.1)	0.43
TT	2 (22.2)		
ABCB1 2677 Receptor			
GG+AG/GT/AT	25 (36.2)	3.97 (0.45 a 186.3)	0.17
TT	1 (12.5)		

Tabla 21. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 6985A>G y ABCB1 3435C>T, 2677G>T y 1236C>T sobre la incidencia de nefropatía aguda.

RESULTADOS

	n (%)	OR [IC95%]	Valor-p
CYP donante no exp CYP receptor no exp	18 (33.3%)	6.5 [0.35, 123.4]	0.09
CYP donante exp CYP receptor exp	0 (0.0%)		
CYP donante no exp ABCB1 3435 no exp	5 (38.4%)	1.45 [0.18, 12.7]	0.67
CYP receptor exp ABCB1 3435 exp	3(30.0%)		
CYP donante no exp ABCB1 1236 no exp	1 (20.0%)	1.71 [0.09, 112]	0.67
CYP receptor exp ABCB1 1236 exp	0 (0.0%)		
CYP donante no exp ABCB1 2677 no exp	0 (0.0%)	0.11 [0.04, 2.5]	0.16
CYP receptor exp ABCB1 2677 exp	4 (40.0%)		
CYP receptor no exp ABCB1 3435 no exp	5 (46.1%)	3.43 [0.4, 42.8]	0.18
CYP donante exp ABCB1 3435 exp	2 (15.3%)		
CYP receptor no exp ABCB1 2677 no exp	0 (0.0%)	0.23 [0.01, 5.2]	0.35
CYP donante exp ABCB1 2677 exp	3 (23.1%)		
CYP donante exp ABCB1 1236 exp	3 (25.0%)	0.6 [0.5, 11]	0.70
CYP receptor no exp ABCB1 1236 no exp	2 (33.3%)		

Tabla 22. Efecto de la combinación de los polimorfismos CYP3A5 6985A>G y ABCB 3435C>T, 2677G>T y 1236C>T sobre la incidencia de nefropatía aguda.

La incidencia de nefropatía crónica fue afectada por el alelo CYP3A5*1 en donantes [expresador vs no-expresador: 5/12 (41.6%) vs. 5/46 (11.6%), $p=0.02$; OR 6.1, CI95% 1.5 to 24.4]. No se encontró un aumento en el riesgo de eventos de nefropatía crónica en receptores según el genotipo: ABCB1 3435C>T (OR= 1.28, IC95% 0.28–5.7), ABCB1 1236C>T (OR= 3.0, IC95% 0.6–14.8), y ABCB1 2677G>T (OR= 3.68, IC95% 0.71–18.98), o CYP3A5 (OR=0.95, IC95% 0.17-5.2) (Tabla 23). En el análisis multivariable, sólo el genotipo expresador de CYP3A5 en donantes fue asociado de manera independiente con el desarrollo de nefropatía crónica.

	n (%)	OR (IC95%)	Valor-p
CYP3A5 Donante			
*1/*1 + *1/*3	7 (11.2)	4.6 (1.02 a 19.8)	0.01
*3/*3	6 (37.6)		
CYP3A5 Receptor			
*1/*1 + *1/*3	2 (15.3)	0.87 (0.83 a 4.9)	0.87
*3/*3	11 (17)		
ABCB1 3435 Receptor			
CC+CT	9 (14.7)	0.51 (0.11 a 2.72)	0.33
TT	4 (25)		
ABCB1 1236 Receptor			
CC+CT	11 (16.1)	0.67 (0.1 a 7.5)	0.64
TT	2 (22.2)		
ABCB1 2677 Receptor			
GG+AG/GT/AT	11 (15.9)	0.56 (0.08 a 6.5)	0.51
TT	2 (25)		

Tabla 23. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 6985A>G y ABCB1 3435C>T, 2677G>T y 1236C>T sobre la nefropatía crónica.

Al evaluar el impacto de la combinación de donantes y receptores, se observó una mayor incidencia de nefropatía crónica en receptores ABCB1 no expresador (3435C>T; 1236C>T y 2677 G>T/A) con injertos CYP3A5 expresador. Cabe destacar que esta asociación no fue significativa al combinar ABCB1 con el CYP3A5 del receptor (tabla 24). Desafortunadamente, al realizar combinaciones de tantos elementos farmacogenéticos, observamos que incluso los grupos con valor-p significativos han de ser tomados con cautela, ya que cuentan con números muy bajos de casos.

RESULTADOS

	n (%)	OR [IC95%]	Valor-p
CYP donante no exp CYP receptor no exp	6 (11.1%)		
CYP donante exp CYP receptor exp	1 (16.6%)	1.6 [0.029, 18]	0.68
CYP donante no exp ABCB1 3435 exp	5 (10.4%)		
CYP donante exp ABCB1 3435 no exp	1 (33.3%)	17.2 [1.31, 225]	0.006
CYP donante no exp ABCB1 1236 exp	7 (12.5%)		
CYP donante exp ABCB1 1236 no exp	2 (50.0%)	7.28 [0.43, 109]	0.03
CYP donante no exp ABCB1 2677 exp	7 (12.5%)		
CYP donante exp ABCB1 2677 no exp	2 (66.6%)	14.57 [0.62, 875]	0.0093
CYP receptor no exp ABCB1 1236 exp	10 (17.2%)		
CYP receptor exp ABCB1 1236 no exp	1(33.0%)	2.4 [0.037, 49.5]	0.47
CYP receptor no exp ABCB1 2677 exp	10 (12.5%)		
CYP receptor exp ABCB1 2677 no exp	1 (66.6%)	2.45 [0.037, 50]	0.46
CYP receptor no exp ABCB1 3435 exp	8 (15.6%)		
CYP receptor exp ABCB1 3435 no exp	1 (33.3%)	2.68 [0.04, 56.2]	0.42

Tabla 24. Efecto de la combinación de los polimorfismos CYP3A5 6985A>G y ABCB 3435C>T, 2677G>T y 1236C>T sobre la nefropatía crónica.

Efecto en Rechazo Agudo

Se observó la ocurrencia de rechazo agudo en 15.5% de los pacientes (12 casos), lo que sucedió en un tiempo promedio de 2.5 meses posteriores al trasplante. Todos ellos fueron diagnosticados con biopsias y análisis histológicos. La incidencia del rechazo agudo no se vio afectada por el polimorfismo CYP3A5 o ABCB1 ni la combinación de ellos en donantes y receptores (tabla 25 y 26). El análisis univariable de los factores de confusión (niveles de tacrólimus al tercer día post trasplante, edad del receptor y la causa del trasplante) no arrojó una asociación significativa.

	n (%)	OR (IC95%)	Valor-p
CYP3A5 Donante			
*1/*1 + *1/*3	2 (12.5)	0.72 (0.07 a 4.06)	0.7
*3/*3	10 (16.3)		
CYP3A5 Receptor			
*1/*1 + *1/*3	2 (15.3)	0.98 (0.09 a 5.6)	0.98
*3/*3	10 (15.3)		
ABCB1 3435 Receptor			
CC+CT	10 (16.3)	1.37 (0.24 a 14.2)	0.70
TT	2 (12.5)		
ABCB1 1236 Receptor			
CC+CT	11 (16.1)	1.54 (0.17 a 74.6)	0.69
TT	1 (11.1)		
ABCB1 2677 Receptor			
GG+AG/GT/AT	11 (15.9)	1.32 (0.14 a 65.2)	0.79
TT	1 (12.5)		

Tabla 25. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 6985A>G y ABCB1 3435C>T, 2677G>T y 1236C>T sobre rechazo agudo.

RESULTADOS

	n (%)	OR [IC95%]	Valor-p
CYP donante no exp CYP receptor no exp	10 (18.5%)	1.1 [0.1, 57]	0.92
CYP donante exp CYP receptor exp	1 (16.6%)		
CYP donante no exp ABCB1 3435 no exp	1 (7.6%)	13 [0.15, 109]	0.85
CYP donante exp ABCB1 3435 exp	1 (9.0%)		
CYP donante no exp ABCB1 1236 no exp	0 (0.0%)	1.09 [0.03, 37.6]	0.90
CYP donante exp ABCB1 1236 exp	1 (7.6%)		
CYP donante no exp ABCB1 2677 no exp	0 (0.0%)	1.0 [0.03, 34.6]	0.90
CYP donante exp ABCB1 2677 no exp	1 (8.0%)		
CYP receptor no exp ABCB1 1236 no exp	0 (0.0%)	2.75 [0.1, 73.3]	0.87
CYP receptor exp ABCB1 1236 exp	2 (20.0%)		
CYP receptor no exp ABCB1 2677 no exp	0 (0.0%)	1.22 [0.03, 42.8]	0.86
CYP receptor exp ABCB1 2677 no exp	1 (10.0%)		
CYP receptor no exp ABCB1 3435 no exp	2 (15.3%)	1.37 [0.08, 22.5]	0.72
CYP receptor exp ABCB1 3435 exp	2 (20.0%)		

Tabla 26. Efecto de los polimorfismos combinados CYP3A5 6985A>G y ABCB 3435C>T, 2677G>T y 1236C>T sobre rechazo agudo.

5.3.4 Discusión

A nuestro conocimiento, nuestro trabajo es uno de los pocos reportes que ha evaluado en trasplante de hígado el impacto CYP3A5 6895A>G en receptores y donantes y ABCB1 3535C>T, 1236C>T, y 2677G>T/A en receptores sobre la farmacocinética de tacrólimus y resultados clínicos, en especial en nefropatía crónica, una de las complicaciones más relevantes que condiciona la supervivencia de los pacientes trasplantados.

La frecuencia observada de los SNPs de los polimorfismos ABCB13535C>T, 1236C>T y 2677G>T/A, y CYP3A5 6938A>G en la población estudiada fue consistente con la distribución esperada en la población caucásica. Demostramos que tanto el polimorfismo CYP3A5 6938A>G de donantes y receptores puede afectar la farmacocinética de tacrólimus. Cuando el CYP3A5 del receptor fue no expresador los valores de C/D fueron más altos cuando el hígado donado fue CYP3A5 no expresador. A su vez, cuando el receptor fue CYP3A5 expresador el C/D fue bajo, independiente del polimorfismo del donante. Es decir, es importante evaluar el estado de CYP3A5 de los donantes principalmente cuando los receptores son no expresadores.

En resumen, el CYP3A5 de receptores y donantes puede contribuir a la variación inter-individual de los requerimientos de dosis de tacrólimus, lo que es consistente con el resultado reportado por otros estudios realizados en poblaciones caucásicas (190) y asiáticas (102, 126, 191, 192) y con los hallazgos de un metanálisis reciente (193), además concuerda con las recomendaciones de la guía del Consorcio de *The Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing*. Esta guía indica cómo individualizar la dosis inicial de tacrólimus usando información del genotipo de CYP3A5 6938A>G cuando los genotipos de los donantes y receptores son idénticos (194). Sin embargo, aún no hay estudios que hayan evaluado si la adaptación de la dosis inicial de tacrólimus según el genotipo CYP3A5 6938A>G, tanto de donantes como de receptores de trasplante hepático, permite lograr una concentración adecuada de tacrólimus en forma precoz. Esto sólo se ha estudiado en el trasplante renal, donde los estudios han mostrado resultados contradictorios (195).

Diferencias en la expresión del gen ABCB1 afectan la función de las Gp-P. Por esta razón, muchos estudios han evaluado el impacto del polimorfismo ABCB1 en la

RESULTADOS

farmacocinética de tacrólimus. Al igual que estudios previos (196-199), nosotros no demostramos una asociación significativa entre los polimorfismos ABCB1 3435C>T, 1236C>T, y 2677G>T/A y la farmacocinética de tacrólimus, sin duda, estos resultados podrían ser diferentes si añadiésemos el genotipo de los donantes. *Wei-lin et al.* encontraron un efecto de ABCB1 3435C>T durante el primer mes después del trasplante, sin embargo, este efecto no es claro ya que el diseño del estudio no controló las variables de confusión (119)

Cambios en la expresión de Gp-P podrían potenciar el efecto de los polimorfismos de CYP3A5 sobre la farmacocinética de tacrólimus. Por esta razón, estudiamos la interacción entre polimorfismos de receptores ABCB1 y polimorfismos de donantes CYP3A5 A6986G, y no encontramos correlación, lo que fue similar a resultados reportados por otros autores (101, 199). Sin embargo, *Goto et al.* reportaron que los pacientes con alta expresión intestinal de ABCB1 y con genotipo expresador de CYP3A5 6938A>G en el injerto hepático tuvieron un valor menor de C/D en comparación con otros grupos, pero esto se observó solamente durante la primera semana después de la cirugía. Cabe destacar que el riesgo de sesgo en este estudio es alto (200).

Nosotros observamos que la incidencia de nefropatía crónica y aguda y rechazo agudo entre pacientes hispanos blancos que recibieron tacrólimus fue similar a la reportada anteriormente (9, 190, 191). No encontramos una asociación entre la incidencia de rechazo agudo y polimorfismos de CYP3A5 6986A>G y/o ABCB1 3435C>T, 1236C>T, y 2677G>T/A. Gomez Bravo et al. reportaron resultados similares en un grupo de pacientes caucásicos, cuya incidencia de rechazo agudo fue similar a la nuestra (201). *Debette-Gratien et al.* también mostraron los mismos resultados, aunque incluyeron pacientes expuestos a tacrólimus y ciclosporina (190). Uesugi et al. informaron que el genotipo CYP3A5 del injerto hepático era un factor que afectaba de manera significativa el rechazo agudo, a su vez demostraron que los factores de confusión como género, polimorfismo CYP3A5 de receptores, y la concentración media de tacrólimus no tuvieron efecto sobre este resultado, sin embargo, ellos analizaron la incidencia en un periodo de sólo 1 semana a partir del día 14 post-operatorio, excluyendo episodios de rechazo celular agudo ocurridos entre los días 1 y 13 post-operatorios y no diagnosticaron el rechazo celular agudo en base a biopsia hepática en todos los casos (202). Un metanálisis previo informó una asociación entre CYP3A5 y rechazo agudo, pero este

estudio incluyó sólo pacientes con trasplante renal, la calidad de la evidencia de los estudios incluidos fue baja y un análisis de subgrupos demostró que los estudios que usaron la biopsia como método diagnóstico no lograron establecer o refutar esta asociación (203) .

Al analizar el efecto combinado de los polimorfismos de CYP3A5 y ABCB1 detectamos una tendencia no significativa de mayor incidencia de rechazos en pacientes con CYP3A5 donante y receptor expresador más ABCB1 3535 C>T expresador, que podría explicarse por la probabilidad de presentar niveles de tacrólimus bajos debido a la menor absorción y al mayor metabolismo, sin embargo se requiere un tamaño de la población mayor para apoyar o refutar esta hipótesis. *Yang et al.* informaron una alta incidencia de rechazo agudo en receptores CYP3A5 expresador que recibieron un injerto hepático CYP3A5 expresador (191), pero ellos sólo estudiaron pacientes pediátricos por un periodo de 12 meses.

En relación al polimorfismo ABCB1, *Masuda et al.* reportaron un mayor riesgo de rechazo agudo en pacientes con una alta expresión de mRNA intestinal de MDR1, pero analizaron sólo los primeros 10 días post trasplante y la mayoría de los pacientes incluidos en este estudio fueron niños (204) .

A pesar de la asociación entre el polimorfismo CYP3A5 y la farmacocinética de tacrólimus, no se encontró una mayor incidencia de nefropatía aguda entre donantes CYP3A5 no expresadores, solamente encontramos una tendencia a ocurrir más eventos en receptores CYP3A5 no expresadores con injertos no expresadores, probablemente porque estos pacientes presentan mayores niveles de tacrólimus. Existen estudios en trasplantes de hígado (190) y de riñón (203) con resultados similares a los nuestros. En contraste con ellos, *Fukudo et al.* (125) reportaron una asociación significativa entre los receptores CYP3A5 y la nefropatía aguda, pero no reportaron dentro de los criterios de exclusión la presencia de otras afecciones que pudieran causar insuficiencia renal. Los polimorfismos ABCB1 en receptores tampoco afectaron la incidencia de disfunción renal aguda, sin embargo al evaluar el efecto combinado de los polimorfismos de ABCB1 3435C>T de los receptores con CYP3A5 de los donantes y receptores vimos una tendencia no significativa hacia una mayor incidencia de nefropatía aguda en los pacientes con los tres polimorfismos no expresadores, lo que podría deberse a que

RESULTADOS

pueden presentar niveles sanguíneos de tacrólimus más elevados. Tal vez nuevos estudios con un mayor número de pacientes permitirá dilucidar esta hipótesis. El único estudio publicado que ha reportado esta misma combinación reportó una ausencia de efecto sobre nefrotoxicidad aguda (191), sin embargo, en este estudio la incidencia de nefropatía aguda fue muy baja, el seguimiento fue solo por 12 meses, solo se incluyó niños y utilizaron el valor de creatinina en lugar del aclaramiento de creatinina para evaluar función renal, marcador poco sensible en la población pediátrica

Tal como varios estudios previos realizados en trasplante renal (61, 160, 173) y trasplante hepático (205, 206) no pudimos establecer o refutar una asociación significativa entre los genotipos ABCB1 3435C>T, 1236C>T y 2677G>T/A con la incidencia de nefropatía crónica. Existen dos estudios que si detectaron una influencia de estos polimorfismos, pero ambos ocurrieron bajo condiciones particulares. *Hebert et al.* encontraron un efecto significativo de ABCB1 2677G>T/A en pacientes que fueron tratados con tacrólimus y ciclosporina, este último con conocido riesgo elevado de causar nefrotoxicidad (60). *Hawwa et al.* encontraron una asociación para los tres SNPs (ABCB1 3435C>T, 1266C>T, 2677TG>/A), aunque su grupo de estudio estaba compuesto principalmente por niños y no se evaluó ningún factor de confusión que pudieran afectar la función renal (207). En resumen, aparentemente no existe una relación entre el polimorfismo del gen ABCB1 y la nefropatía crónica asociada a tacrólimus en adultos con trasplante de hígado. Se requieren más estudios para apoyar o refutar esta asociación.

En relación a CYP3A5, se encontró que los pacientes con genotipo expresador tienen un mayor riesgo de sufrir nefropatía crónica que los pacientes no expresadores. Nuestros resultados difieren del único estudio publicado sobre este tema en trasplante de hígado. Tapirdamaz et al. reportaron que el genotipo CYP3A5 6989A>G de donantes y receptores no se asoció con un mayor riesgo de enfermedad renal crónica después del trasplante de hígado (206). Sin embargo, no consideraron como criterio de exclusión otras causas de enfermedad renal crónica y los pacientes con fallo renal tuvieron una tasa de filtración glomerular estimada baja antes del trasplante o en la fase post-operatoria temprana. Se exploró el efecto combinado de los polimorfismos CYP3A5 y ABCB1 y se encontró una mayor incidencia de nefropatía crónica en los receptores con polimorfismos no expresadores para ABCB1 que recibieron un injerto CYP3A5

expresador. Efecto que no se observó al realizar el mismo análisis con el polimorfismo de CYP3A5 de los receptores. Este hallazgo puede estar sustentado en la hipótesis del daño tisular por efecto directo de los metabolitos de tacrólimus. Los polimorfismos expresadores de CYP3A5 de los donantes, secundario a la mayor metabolización de tacrólimus, contribuye a una mayor síntesis de metabolitos los cuales pueden acumularse en el tejido renal, lo que se ve potenciado por la menor capacidad para expulsarlos de las células renales por tener menor funcionalidad de Gp-P, situación propia de los polimorfismos no expresadores de ABCB1. Esta hipótesis también sostiene que esta mayor acumulo intrarenal de tacrólimus y/o metabolitos no está condicionado por los niveles sanguíneos de tacrólimus (208) , hecho que también fue evidenciado en nuestro estudio.

En suma, el genotipado para CYP3A5 6989A>G podría proporcionar una guía para la dosificación diferenciadas de tacrólimus (209) , y junto al genotipado de ABCB1 en los receptores podría guiarnos para decidir cuando los regímenes de inmunosupresores deben no considerar el uso de InC (210) . De esta forma implementaríamos el concepto de terapia inmunosupresora individualizada basada en la predisposición genética de los pacientes.

5.3.5 Limitaciones y fortalezas

Este estudio tiene algunas **limitaciones**. En primer lugar, el número de pacientes incluidos para evaluar el impacto de dos polimorfismos fue bajo. Segundo, no fueron estudiados los efectos de otros SNPs, como CYP3A4, en la farmacocinética de tacrólimus o sobre los resultados clínicos. Tercero, no se determinó la presencia de metabolitos sanguíneos en la sangre o los niveles de tacrólimus en la orina que pudiera apoyar la teoría fisiopatológica propuesta para la génesis de nefropatía crónica y cuarto, no hubo diagnóstico de nefrotoxicidad crónica por criterio histológico, por lo que pudo haberse producido una posible sub-notificación de la incidencia real de nefropatía crónica asociada a tacrólimus. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que los cambios histológicos relacionados con tacrólimus también pueden ocurrir en otras formas de nefropatía crónica de injerto de origen diferente (211) .

Como **fortalezas**, en este estudio las cohortes de pacientes fueron comparables y se realizaron análisis estratificados y multivariados para las variables de confusión. A su vez, evaluamos desenlaces que son realmente relevantes para los pacientes y clínicos durante un periodo de tiempo prolongado y generamos nuevas hipótesis que hasta ahora no habían sido sustentadas por otros estudios, y por último, los investigadores y clínicos fueron ciegos a los tipos de polimorfismos de los pacientes, de tal forma que no pudieron influir en la dosificación ni en los diagnósticos de los desenlaces clínicos.

5.3.6 Conclusiones

Nuestro estudio concluye que

1. El polimorfismo CYP3A5 6989A>G en receptores y donantes de trasplante hepático afecta los requerimientos de dosificación de tacrólimus,
2. El polimorfismo expresador CYP3A5 6989A>G en donantes aumenta el riesgo de incidencia de nefropatía crónica.
3. No pudimos demostrar una correlación entre el genotipo ABCB1 3435C>T, C1236C>T y G2677G>T/A, de los receptores y la farmacocinética de tacrólimus. Tampoco parecen aumentar la susceptibilidad a desarrollar rechazo agudo o nefropatía aguda, pero si pueden favorecer la incidencia de nefropatía crónica cuando se asocia a polimorfismos de CYP3A5 del donante.

Como conclusión de futuro, nuestros hallazgos son un argumento que justificar la ejecución de ensayos clínicos rigurosamente diseñados que evalúen regímenes de dosificación individualizados de tacrólimus basados en CYP3A5 6989A>G y estudios que evalúen la asociación entre niveles de tacrólimus y de sus metabolitos a nivel tisular y la ocurrencia de nefrotoxicidad crónica en presencia de la combinación de polimorfismos de CYP3A5 del donante y ABCB1 3435C>T, C1236C>T y G2677G>T/A del receptor.

BIBLIOGRAFIA

6. BIBLIOGRAFIA

1. CARREL D. [OPERATIVE TECHNIC OF VASCULAR ANASTOMOSES AND VISCERAL TRANSPLANTATION]. Lyon Med. 1964;212:1561-8.
2. Shackman R. The story of kidney transplantation. Br Med J. 1966;1(5500):1379-83.
3. Linden PK. History of solid organ transplantation and organ donation. Crit Care Clin. 2009;25(1):165-84, ix.
4. Starzl TE, Klintmalm GB, Porter KA, Iwatsuki S, Schroter GP. Liver transplantation with use of cyclosporin a and prednisone. The New England journal of medicine. 1981;305(5):266-9.
5. site UW. United Network for Organ Sharing (UNOS) data. 2012.
6. Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later--progress, challenges, and promises. N Engl J Med. 2004;351(26):2761-6.
7. Morris PJ. Transplantation--a medical miracle of the 20th century. N Engl J Med. 2004;351(26):2678-80.
8. Introduction. American Journal of Transplantation. 2014;14(S1):8-10.
9. trasplante OND. Datos globales de donaciones y trasplantes [Available from: <http://www.ont.es/infesp/Paginas/DatosdeDonacionyTrasplante.aspx>].
10. Matas AJ, Smith JM, Skeans MA, Thompson B, Gustafson SK, Schnitzler MA, et al. OPTN/SRTR 2012 Annual Data Report: Kidney. American Journal of Transplantation. 2014;14(S1):11-44.
11. Watt KD, Pedersen RA, Kremers WK, Heimbach JK, Charlton MR. Evolution of causes and risk factors for mortality post-liver transplant: results of the NIDDK long-term follow-up study. Am J Transplant. 2010;10(6):1420-7.
12. Gillis KA, Patel RK, Jardine AG. Cardiovascular complications after transplantation: treatment options in solid organ recipients. Transplant Rev (Orlando). 2014;28(2):47-55.
13. Singh S, Watt KD. Long-term medical management of the liver transplant recipient: what the primary care physician needs to know. Mayo Clin Proc. 2012;87(8):779-90.
14. McKeon F. When worlds collide: immunosuppressants meet protein phosphatases. Cell. 1991;66(5):823-6.
15. Watanabe Y, Sato M, Abe Y, Yamamoto T, Kashu Y, Horiuchi A, et al. Enteric absorption of FK 506: estimation by a block liver perfusion technique in rats. Transplant Proc. 1998;30(7):3777-8.
16. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. Clinical pharmacokinetics. 1995;29(6):404-30.
17. Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, Hori R, Komano T. Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. The Journal of biological chemistry. 1993;268(9):6077-80.
18. Piekoszewski W, Jusko WJ. Plasma protein binding of tacrolimus in humans. J Pharm Sci. 1993;82(3):340-1.
19. Karanam BV, Vincent SH, Newton DJ, Wang RW, Chiu SH. FK 506 metabolism in human liver microsomes: investigation of the involvement of cytochrome P450 isozymes other than CYP3A4. Drug Metab Dispos. 1994;22(5):811-4.
20. Sattler M, Guengerich FP, Yun CH, Christians U, Sewing KF. Cytochrome P-450 3A enzymes are responsible for biotransformation of FK506 and rapamycin in man and rat. Drug Metab Dispos. 1992;20(5):753-61.
21. Möller A, Iwasaki K, Kawamura A, Teramura Y, Shiraga T, Hata T, et al. The disposition of ¹⁴C-labeled tacrolimus after intravenous and oral administration in healthy human subjects. Drug Metab Dispos. 1999;27(6):633-6.

BIBLIOGRAFIA

22. Lhöest GJ, Maton N, Latinne D, Laurent A, Verbeeck RK. 15-Desmethyl FK-506 and 15,31-desmethyl FK-506 from human liver microsomes: isolation, identification (by fast atom bombardment mass spectrometry and NMR), and evaluation of in vitro immunosuppressive activity. *Clin Chem.* 1994;40(5):740-4.
23. Shaw LM, Kaplan B, Brayman KL. Advances in therapeutic drug monitoring for immunosuppressants: a review of sirolimus. Introduction and overview. *Clinical therapeutics.* 2000;22 Suppl B:B1-13.
24. Haddad EM, McAlister VC, Renouf E, Malthaner R, Kjaer MS, Gluud LL. Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients. *Cochrane database of systematic reviews (Online).* 2006;(4)(4):CD005161.
25. McAlister VC, Haddad E, Renouf E, Malthaner RA, Kjaer MS, Gluud LL. Cyclosporin versus tacrolimus as primary immunosuppressant after liver transplantation: a meta-analysis. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2006;6(7):1578-85.
26. Wiesner RH, Demetris AJ, Belle SH, Seaberg EC, Lake JR, Zetterman RK, et al. Acute hepatic allograft rejection: incidence, risk factors, and impact on outcome. *Hepatology (Baltimore, Md).* 1998;28(3):638-45.
27. Maluf DG, Stravitz RT, Cotterell AH, Posner MP, Nakatsuka M, Sterling RK, et al. Adult living donor versus deceased donor liver transplantation: a 6-year single center experience. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2005;5(1):149-56.
28. Anand AC, Hubscher SG, Gunson BK, McMaster P, Neuberger JM. Timing, significance, and prognosis of late acute liver allograft rejection. *Transplantation.* 1995;60(10):1098-103.
29. Undre NA, van Hooff J, Christiaans M, Vanrenterghem Y, Donck J, Heeman U, et al. Low systemic exposure to tacrolimus correlates with acute rejection. *Transplantation proceedings.* 1999;31(1-2):296-8.
30. Wiesner RH, Batts KP, Krom RA. Evolving concepts in the diagnosis, pathogenesis, and treatment of chronic hepatic allograft rejection. *Liver Transplantation and Surgery : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 1999;5(5):388-400.
31. Ministerio de Sanidad y Política S. Ministerio de Sanidad y Política Social. Organización Nacional de Trasplantes.
32. Demetris A, Adams D, Bellamy C, Blakolmer K, Clouston A, Dhillon AP, et al. Update of the International Banff Schema for Liver Allograft Rejection: working recommendations for the histopathologic staging and reporting of chronic rejection. An International Panel. *Hepatology.* 2000;31(3):792-9.
33. Tomasoni S, Remuzzi G, Benigni A. Allograft rejection: acute and chronic studies. *Contrib Nephrol.* 2008;159:122-34.
34. Opelz G, Döhler B, Report CTS. Influence of time of rejection on long-term graft survival in renal transplantation. *Transplantation.* 2008;85(5):661-6.
35. Paul LC. Chronic allograft nephropathy: An update. *Kidney Int.* 1999;56(3):783-93.
36. Massy ZA, Guijarro C, Wiederkehr MR, Ma JZ, Kasiske BL. Chronic renal allograft rejection: immunologic and nonimmunologic risk factors. *Kidney Int.* 1996;49(2):518-24.
37. Mourad G, Ribstein J, Mimran A. Converting-enzyme inhibitor versus calcium antagonist in cyclosporine-treated renal transplants. *Kidney Int.* 1993;43(2):419-25.

38. Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. European FK506 Multicentre Liver Study Group. *Lancet*. 1994;344(8920):423-8.
39. Fishman JA. Infection in solid-organ transplant recipients. *The New England journal of medicine*. 2007;357(25):2601-14.
40. Fishman JA, Rubin RH. Infection in organ-transplant recipients. *The New England journal of medicine*. 1998;338(24):1741-51.
41. Hoorn EJ, Walsh SB, McCormick JA, Fürstenberg A, Yang CL, Roeschel T, et al. The calcineurin inhibitor tacrolimus activates the renal sodium chloride cotransporter to cause hypertension. *Nat Med*. 2011;17(10):1304-9.
42. Bloom RD, Crutchlow MF. New-onset diabetes mellitus in the kidney recipient: diagnosis and management strategies. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008;3 Suppl 2:S38-48.
43. Burroughs TE, Lentine KL, Takemoto SK, Swindle J, Machnicki G, Hardinger K, et al. Influence of early posttransplantation prednisone and calcineurin inhibitor dosages on the incidence of new-onset diabetes. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2007;2(3):517-23.
44. Weir MR, Fink JC. Risk for posttransplant Diabetes mellitus with current immunosuppressive medications. *Am J Kidney Dis*. 1999;34(1):1-13.
45. Dumortier J, Bernard S, Bouffard Y, Boillot O. Conversion from tacrolimus to cyclosporine in liver transplanted patients with diabetes mellitus. *Liver Transpl*. 2006;12(4):659-64.
46. Kuster GM, Drexel H, Bleisch JA, Rentsch K, Pei P, Binswanger U, et al. Relation of cyclosporine blood levels to adverse effects on lipoproteins. *Transplantation*. 1994;57(10):1479-83.
47. Moench C, Barreiros AP, Schuchmann M, Bittinger F, Thiesen J, Hommel G, et al. Tacrolimus monotherapy without steroids after liver transplantation--a prospective randomized double-blinded placebo-controlled trial. *Am J Transplant*. 2007;7(6):1616-23.
48. Vajdic CM, van Leeuwen MT. Cancer incidence and risk factors after solid organ transplantation. *International journal of cancer* *Journal international du cancer*. 2009;125(8):1747-54.
49. Group USMFLS. A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Engl J Med*. 1994;331(17):1110-5.
50. Vizzini G, Asaro M, Miraglia R, Gruttadauria S, Fili D, D'Antoni A, et al. Changing picture of central nervous system complications in liver transplant recipients. *Liver Transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*. 2011;17(11):1279-85.
51. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Chapman JR, Allen RD. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: longitudinal assessment by protocol histology. *Transplantation*. 2004;78(4):557-65.
52. Naesens M, Lerut E, Damme BV, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Tacrolimus exposure and evolution of renal allograft histology in the first year after transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2007;7(9):2114-23.
53. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *The New England journal of medicine*. 2003;349(10):931-40.
54. Porayko MK, Gonwa TA, Klintmalm GB, Wiesner RH. Comparing nephrotoxicity of FK 506 and cyclosporine regimens after liver transplantation: preliminary results from US Multicenter trial. U.S. Multicenter Liver Study Group. *Transplant Proc*. 1995;27(1):1114-6.

BIBLIOGRAFIA

55. Goldstein DJ, Zuech N, Sehgal V, Weinberg AD, Drusin R, Cohen D. Cyclosporine-associated end-stage nephropathy after cardiac transplantation: incidence and progression. *Transplantation*. 1997;63(5):664-8.
56. Chapman JR, Nankivell BJ. Nephrotoxicity of ciclosporin A: short-term gain, long-term pain? *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2006;21(8):2060-3.
57. Podder H, Stepkowski SM, Napoli KL, Clark J, Verani RR, Chou TC, et al. Pharmacokinetic interactions augment toxicities of sirolimus/cyclosporine combinations. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(5):1059-71.
58. Christians U, Kohlhaw K, Budniak J, Bleck JS, Schottmann R, Schlitt HJ, et al. Ciclosporin metabolite pattern in blood and urine of liver graft recipients. I. Association of ciclosporin metabolites with nephrotoxicity. *European journal of clinical pharmacology*. 1991;41(4):285-90.
59. Iwasaki K. Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics. *Drug Metab Pharmacokinet*. 2007;22(5):328-35.
60. Hebert MF, Dowling AL, Gierwatowski C, Lin YS, Edwards KL, Davis CL, et al. Association between ABCB1 (multidrug resistance transporter) genotype and post-liver transplantation renal dysfunction in patients receiving calcineurin inhibitors. *Pharmacogenetics*. 2003;13(11):661-74.
61. 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. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2007;82(6):711-25.
62. Kershner RP, Fitzsimmons WE. Relationship of FK506 whole blood concentrations and efficacy and toxicity after liver and kidney transplantation. *Transplantation*. 1996;62(7):920-6.
63. Ekberg H, Bernasconi C, Nöldeke J, Yussim A, Mjörnstedt L, Erken U, et al. Cyclosporine, Tacrolimus and Sirolimus Retained Their Distinct Toxicity Profiles Despite Low Doses in the Symphony Study. In *Transplant Congress 2007 Executive and Program Planning Committees and Abstract Review Committees*. *American Journal of Transplantation*. 2007;7:160.
64. Stratta P, Quaglia M, Cena T, Antoniotti R, Fenoglio R, Menegotto A, et al. 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.
65. Yasuhara M, Hashida T, Toraguchi M, Hashimoto Y, Kimura M, Inui K, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of FK 506 in pediatric patients receiving living-related donor liver transplantations. *Transplantation proceedings*. 1995;27(1):1108-10.
66. Busuttill RW, Klintmalm GB, Lake JR, Miller CM, Porayko M. General guidelines for the use of tacrolimus in adult liver transplant patients. *Transplantation*. 1996;61(5):845-7.
67. Grevel J. Area-under-the-curve versus trough level monitoring of cyclosporine concentration: critical assessment of dosage adjustment practices and measurement of clinical outcome. *Therapeutic drug monitoring*. 1993;15(6):488-91.
68. Jusko WJ. Analysis of tacrolimus (FK 506) in relation to therapeutic drug monitoring. *Therapeutic drug monitoring*. 1995;17(6):596-601.
69. Armstrong VW, Oellerich M. New developments in the immunosuppressive drug monitoring of cyclosporine, tacrolimus, and azathioprine. *Clinical biochemistry*. 2001;34(1):9-16.
70. Homma M, Tomita T, Yuzawa K, Takada Y, Kohda Y. False positive blood tacrolimus concentration in microparticle enzyme immunoassay. *Biological & pharmaceutical bulletin*. 2002;25(8):1119-20.

71. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clinical pharmacokinetics*. 2004;43(10):623-53.
72. Evans WE, Relling MV. Pharmacogenomics: translating functional genomics into rational therapeutics. *Science (New York, NY)*. 1999;286(5439):487-91.
73. Koch I, Weil R, Wolbold R, Brockmoller J, Hustert E, Burk O, et al. Interindividual variability and tissue-specificity in the expression of cytochrome P450 3A mRNA. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2002;30(10):1108-14.
74. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He YQ, Klein K, et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics*. 2001;11(9):773-9.
75. Dai Y, Hebert MF, Isoherranen N, Davis CL, Marsh C, Shen DD, et al. Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2006;34(5):836-47.
76. Christians U, Strom T, Zhang YL, Steudel W, Schmitz V, Trump S, et al. Active drug transport of immunosuppressants: new insights for pharmacokinetics and pharmacodynamics. *Therapeutic drug monitoring*. 2006;28(1):39-44.
77. Fromm MF. Importance of P-glycoprotein for drug disposition in humans. *European journal of clinical investigation*. 2003;33:6-9.
78. Ueda K, Cornwell MM, Gottesman MM, Pastan I, Roninson IB, Ling V, et al. The *mdr1* gene, responsible for multidrug-resistance, codes for P-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1986;141(3):956-62.
79. Pauli-Magnus C, Kroetz DL. Functional implications of genetic polymorphisms in the multidrug resistance gene MDR1 (ABCB1). *Pharmaceutical research*. 2004;21(6):904-13.
80. Choi JH, Lee YJ, Jang SB, Lee JE, Kim KH, Park K. Influence of the CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in healthy Korean subjects. *British journal of clinical pharmacology*. 2007;64(2):185-91.
81. Venter JC, Adams MD, Myers EW, Li PW, Mural RJ, Sutton GG, et al. The sequence of the human genome. *Science*. 2001;291(5507):1304-51.
82. Rebbeck TR, Jaffe JM, Walker AH, Wein AJ, Malkowicz SB. Modification of clinical presentation of prostate tumors by a novel genetic variant in CYP3A4. *J Natl Cancer Inst*. 1998;90(16):1225-9.
83. Sata F, Sapone A, Elizondo G, Stocker P, Miller VP, Zheng W, et al. CYP3A4 allelic variants with amino acid substitutions in exons 7 and 12: evidence for an allelic variant with altered catalytic activity. *Clin Pharmacol Ther*. 2000;67(1):48-56.
84. García-Martín E, Martínez C, Pizarro RM, García-Gamito FJ, Gullsten H, Raunio H, et al. CYP3A4 variant alleles in white individuals with low CYP3A4 enzyme activity. *Clin Pharmacol Ther*. 2002;71(3):196-204.
85. Wandel C, Witte JS, Hall JM, Stein CM, Wood AJ, Wilkinson GR. CYP3A activity in African American and European American men: population differences and functional effect of the CYP3A4*1B5'-promoter region polymorphism. *Clin Pharmacol Ther*. 2000;68(1):82-91.
86. The National Center for Biotechnology I. Database of single nucleotide polymorphisms (SNPs) and multiple small-scale variations that include insertions/deletions, microsatellites, and non-polymorphic variants. 2011.
87. Lamba JK, Lin YS, Schuetz EG, Thummel KE. Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2002;54(10):1271-94.

BIBLIOGRAFIA

88. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nature genetics*. 2001;27(4):383-91.
89. Huang W, Lin YS, McConn DJ, 2nd, Calamia JC, Totah RA, Isoherranen N, et al. Evidence of significant contribution from CYP3A5 to hepatic drug metabolism. *Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals*. 2004;32(12):1434-45.
90. information USNCfB. Single nucleotide polymorphism. 2009.
91. Wolf SJ, Bachtiar M, Wang J, Sim TS, Chong SS, Lee CG. An update on ABCB1 pharmacogenetics: insights from a 3D model into the location and evolutionary conservation of residues corresponding to SNPs associated with drug pharmacokinetics. *Pharmacogenomics J*. 2011;11(5):315-25.
92. Macphee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation*. 2002;74(11):1486-9.
93. Macphee IA, Fredericks S, Mohamed M, Moreton M, Carter ND, Johnston A, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: the CYP3A5*1 allele predicts low dose-normalized tacrolimus blood concentrations in whites and South Asians. *Transplantation*. 2005;79(4):499-502.
94. Hitzl M, Drescher S, van der Kuip H, Schäffeler E, Fischer J, Schwab M, et al. The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics*. 2001;11(4):293-8.
95. Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, et al. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther*. 2001;70(2):189-99.
96. Drescher S, Schaeffeler E, Hitzl M, Hofmann U, Schwab M, Brinkmann U, et al. MDR1 gene polymorphisms and disposition of the P-glycoprotein substrate fexofenadine. *Br J Clin Pharmacol*. 2002;53(5):526-34.
97. Wang D, Johnson AD, Papp AC, Kroetz DL, Sadée W. Multidrug resistance polypeptide 1 (MDR1, ABCB1) variant 3435C>T affects mRNA stability. *Pharmacogenet Genomics*. 2005;15(10):693-704.
98. Salama NN, Yang Z, Bui T, Ho RJ. MDR1 haplotypes significantly minimize intracellular uptake and transcellular P-gp substrate transport in recombinant LLC-PK1 cells. *J Pharm Sci*. 2006;95(10):2293-308.
99. Hesselink DA, van Schaik RH, van Agteren M, de Fijter JW, Hartmann A, Zeier M, et al. CYP3A5 genotype is not associated with a higher risk of acute rejection in tacrolimus-treated renal transplant recipients. *Pharmacogenetics and genomics*. 2008;18(4):339-48.
100. Barry A, Levine M. A systematic review of the effect of CYP3A5 genotype on the apparent oral clearance of tacrolimus in renal transplant recipients. *Therapeutic drug monitoring*. 2010;32(6):708-14.
101. Zhang X, Liu ZH, Zheng JM, Chen ZH, Tang Z, Chen JS, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on tacrolimus concentration in the early stage after renal transplantation. *Clinical transplantation*. 2005;19(5):638-43.
102. Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y, Inui K. Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. *Pharmacogenetics and genomics*. 2006;16(2):119-27.

103. Mai I, Perloff ES, Bauer S, Goldammer M, Johne A, Filler G, 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(5):548-53.
104. Terrazzino S, Quaglia M, Stratta P, Canonico PL, Genazzani AA. 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.
105. Tang HL, Xie HG, Yao Y, Hu YF. Lower tacrolimus daily dose requirements and acute rejection rates in the CYP3A5 nonexpressers than expressers. *Pharmacogenetics and genomics.* 2011;21(11):713-20.
106. Haufroid V, Wallemacq P, VanKerckhove V, Elens L, De Meyer M, Eddour DC, et al. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2006;6(11):2706-13.
107. Thervet E, Lorient MA, Barbier S, Buchler M, Ficheux M, Choukroun G, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clinical pharmacology and therapeutics.* 2010;87(6):721-6.
108. Kuypers DR, Naesens M, de Jonge H, Lerut E, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Tacrolimus dose requirements and CYP3A5 genotype and the development of calcineurin inhibitor-associated nephrotoxicity in renal allograft recipients. *Therapeutic drug monitoring.* 2010;32(4):394-404.
109. Shi Y, Li Y, Tang J, Zhang J, Zou Y, Cai B, et al. Influence of CYP3A4, CYP3A5 and MDR-1 polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics and early renal dysfunction in liver transplant recipients. *Gene.* 2013;512(2):226-31.
110. MacPhee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, et al. The influence of pharmacogenetics on the time to achieve target tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons.* 2004;4(6):914-9.
111. Fukudo M, Yano I, Masuda S, Goto M, Uesugi M, Katsura T, et al. Population pharmacokinetic and pharmacogenomic analysis of tacrolimus in pediatric living-donor liver transplant recipients. *Clinical pharmacology and therapeutics.* 2006;80(4):331-45.
112. Li D, Zhu JY, Gao J, Wang X, Lou YQ, Zhang GL. Polymorphisms of tumor necrosis factor- α , interleukin-10, cytochrome P450 3A5 and ABCB1 in Chinese liver transplant patients treated with immunosuppressant tacrolimus. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry.* 2007;383(1-2):133-9.
113. Provenzani A, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, Vizzini G, Salis P, et al. Influence of CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms and other factors on tacrolimus dosing in Caucasian liver and kidney transplant patients. *International journal of molecular medicine.* 2011;28(6):1093-102.
114. Cho JH, Yoon YD, Park JY, Song EJ, Choi JY, Yoon SH, et al. Impact of cytochrome P450 3A and ATP-binding cassette subfamily B member 1 polymorphisms on tacrolimus dose-adjusted trough concentrations among Korean renal transplant recipients. *Transplantation proceedings.* 2012;44(1):109-14.
115. Jun KR, Lee W, Jang MS, Chun S, Song GW, Park KT, et al. Tacrolimus concentrations in relation to CYP3A and ABCB1 polymorphisms among solid organ transplant recipients in Korea. *Transplantation.* 2009;87(8):1225-31.

BIBLIOGRAFIA

116. Herrero MJ, Sánchez-Plumed J, Galiana M, Bea S, Marqués MR, Aliño SF. Influence of pharmacogenetic polymorphisms in routine immunosuppression therapy after renal transplantation. *Transplant Proc.* 2010;42(8):3134-6.
117. Fredericks S, Moreton M, Reboux S, Carter ND, Goldberg L, Holt DW, et al. Multidrug resistance gene-1 (MDR-1) haplotypes have a minor influence on tacrolimus dose requirements. *Transplantation.* 2006;82(5):705-8.
118. Wei-lin W, Jing J, Shu-sen Z, Li-hua W, Ting-bo L, Song-feng Y, et al. Tacrolimus dose requirement in relation to donor and recipient ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms in Chinese liver transplant patients. *Liver Transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society.* 2006;12(5):775-80.
119. Cheung CY, Op den Buijsch RA, Wong KM, Chan HW, Chau KF, Li CS, et al. Influence of different allelic variants of the CYP3A and ABCB1 genes on the tacrolimus pharmacokinetic profile of Chinese renal transplant recipients. *Pharmacogenomics.* 2006;7(4):563-74.
120. Anglicheau D, Verstuyft C, Laurent-Puig P, Becquemont L, Schlageter MH, Cassinat B, et al. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN.* 2003;14(7):1889-96.
121. Goto M, Masuda S, Saito H, Uemoto S, Kiuchi T, Tanaka K, et al. C3435T polymorphism in the MDR1 gene affects the enterocyte expression level of CYP3A4 rather than Pgp in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics.* 2002;12(6):451-7.
122. Mourad M, Wallemacq P, De Meyer M, Brandt D, Van Kerkhove V, Malaise J, et al. The influence of genetic polymorphisms of cytochrome P450 3A5 and ABCB1 on starting dose- and weight-standardized tacrolimus trough concentrations after kidney transplantation in relation to renal function. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC.* 2006;44(10):1192-8.
123. Haufroid V, Mourad M, Van Kerkhove V, Wawrzyniak J, De Meyer M, Eddour DC, et al. The effect of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics.* 2004;14(3):147-54.
124. Op den Buijsch RA, Christiaans MH, Stolk LM, de Vries JE, Cheung CY, Undre NA, et al. Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) and cytochrome (CYP) 3A polymorphisms. *Fundamental & clinical pharmacology.* 2007;21(4):427-35.
125. Fukudo M, Yano I, Yoshimura A, Masuda S, Uesugi M, Hosohata K, et al. Impact of MDR1 and CYP3A5 on the oral clearance of tacrolimus and tacrolimus-related renal dysfunction in adult living-donor liver transplant patients. *Pharmacogenetics and genomics.* 2008;18(5):413-23.
126. Yu S, Wu L, Jin J, Yan S, Jiang G, Xie H, et al. Influence of CYP3A5 gene polymorphisms of donor rather than recipient to tacrolimus individual dose requirement in liver transplantation. *Transplantation.* 2006;81(1):46-51.
127. Ferraresso M, Tirelli A, Ghio L, Grillo P, Martina V, Torresani E, et al. Influence of the Cyp3a5 genotype on tacrolimus pharmacokinetics and pharmacodynamics in young kidney transplant recipients. *Pediatric transplantation.* 2007;11(3):296-300.
128. Elens L, Capron A, Kerckhove VV, Lerut J, Mourad M, Lison D, et al. 1199G>A and 2677G>T/A polymorphisms of ABCB1 independently affect tacrolimus concentration in hepatic tissue after liver transplantation. *Pharmacogenet Genomics.* 2007;17(10):873-83.
129. Barrera-Pulido L, Aguilera-Garcia I, Docobo-Perez F, Alamo-Martinez JM, Pareja-Ciuro F, Nunez-Roldan A, et al. Clinical Relevance and Prevalence of Polymorphisms in CYP3A5 and MDR1

Genes That Encode Tacrolimus Biotransformation Enzymes in Liver Transplant Recipients. *Transplantation proceedings*. 2008;40(9):2949-51.

130. Gijzen VM, Madadi P, Dube MP, Hesselink DA, Koren G, de Wildt SN. Tacrolimus-induced nephrotoxicity and genetic variability: a review. *Annals of Transplantation : Quarterly of the Polish Transplantation Society*. 2012;17(2):111-21.

131. Chitnis SD, Ogasawara K, Schniedewind B, Gohh RY, Christians U, Akhlaghi F. Concentration of tacrolimus and major metabolites in kidney transplant recipients as a function of diabetes mellitus and cytochrome P450 3A gene polymorphism. *Xenobiotica*. 2013:1-9.

132. Klauke B, Wirth A, Zittermann A, Bohms B, Tenderich G, Körfer R, et al. No association between single nucleotide polymorphisms and the development of nephrotoxicity after orthotopic heart transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2008;27(7):741-5.

133. Hauser IA, Schaeffeler E, Gauer S, Scheuermann EH, Wegner B, Gossmann J, et al. ABCB1 genotype of the donor but not of the recipient is a major risk factor for cyclosporine-related nephrotoxicity after renal transplantation. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2005;16(5):1501-11.

134. Shuster JJ. Review: Cochrane handbook for systematic reviews for interventions, Version 5.1.0, published 3/2011. Julian P.T. Higgins and Sally Green, Editors. *Research Synthesis Methods*. 2011;2(2):126-30.

135. Liberati A, Altman DG, Tetzlaff J, Mulrow C, Gotzsche PC, Ioannidis JP, et al. The PRISMA statement for reporting systematic reviews and meta-analyses of studies that evaluate healthcare interventions: explanation and elaboration. *BMJ (Clinical research ed)*. 2009;339:b2700.

136. Higgins JPT, Green S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*. 2011.

137. Hozo SP, Djulbegovic B, Hozo I. Estimating the mean and variance from the median, range, and the size of a sample. *BMC medical research methodology*. 2005;5:13.

138. Wells GA, Shea B, O'Connell D, Peterson J, Welch V, Losos M, et al. Newcastle-Ottawa scale (NOS) for assessing the quality of non randomised studies in meta-analysis.

139. Guyatt GH, Oxman AD, Vist GE, Kunz R, Falck-Ytter Y, Alonso-Coello P, et al. GRADE: an emerging consensus on rating quality of evidence and strength of recommendations. *BMJ (Clinical research ed)*. 2008;336(7650):924-6.

140. Deeks JJ, Altman DG, Bradburn MJ. *Statistical Methods for Examining Heterogeneity and Combining Results from Several Studies in Meta-Analysis*. *Systematic Reviews in Health Care: BMJ Publishing Group*; 2001. p. 285-312.

141. Altman DG, Bland JM. Interaction revisited: the difference between two estimates. *BMJ (Clinical research ed)*. 2003;326(7382):219.

142. Solez K, Racusen LC. The Banff classification revisited. *Kidney international*. 2013;83(2):201-6.

143. Summary of Recommendation Statements. *Kidney Int Suppl (2011)*. 2012;2(1):8-12.

144. Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, et al. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Annals of Internal Medicine*. 2003;139(2):137-47.

145. 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. *Annals of Internal Medicine*. 1999;130(6):461-70.

146. Cule E, De Iorio M. A semi-automatic method to guide the choice of ridge parameter in ridge regression. *Statistic*. Coronel University Library 2012.

147. Huber PJ. *Robust Statistics*. second edition ed. New York.: Wiley; 2009.

BIBLIOGRAFIA

148. Little J, Higgins JP, Ioannidis JP, Moher D, Gagnon F, von Elm E, et al. Strengthening the Reporting of Genetic Association studies (STREGA)--an extension of the STROBE statement. *European journal of clinical investigation*. 2009;39(4):247-66.
149. Little J, Higgins JPT, Ioannidis JPA, Moher D, Gagnon F, von Elm E, et al. Strengthening the Reporting of Genetic Association Studies (STREGA) An Extension of the STROBE Statement. *PLoS Med*. 2009;6(2):e1000022.
150. Provenzani A, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, Biondi F, Sanguedolce R, et al. The effect of CYP3A5 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on tacrolimus dose requirements in Caucasian liver transplant patients. *Ann Transplant*. 2009;14(1):23-31.
151. Yee ML, Tan HH, Sia WJ, Lim GK, Lim KH, Zhao Y. Impact of donor and recipient gene polymorphisms on tacrolimus dosing in Asian liver transplant patients. *Journal of gastroenterology and hepatology*. 2011;26:163.
152. Yu SF, Wu LH, Jin J, Yan S, Xie HY, Gao JT, et al. Influence of genetic polymorphism of donor CYP3A5 on FK506 individual dosage regimen in liver transplantation recipients. *Chinese Pharmaceutical Journal*. 2007;42(4):314-7.
153. de Wildt SN, van Schaik RH, Soldin OP, Soldin SJ, Brojeni PY, van der Heiden IP, et al. The interactions of age, genetics, and disease severity on tacrolimus dosing requirements after pediatric kidney and liver transplantation. *European journal of clinical pharmacology*. 2011;67(12):1231-41.
154. Copenhagen: Nordic Cochrane Centre TCC. Review Manager (RevMan). 2011.
155. Muraki Y, Usui M, Isaji S, Mizuno S, Nakatani K, Yamada T, et al. Impact of CYP3A5 genotype of recipients as well as donors on the tacrolimus pharmacokinetics and infectious complications after living-donor liver transplantation for Japanese adult recipients. *Annals of Transplantation*. 2011;16(4):55-62.
156. Thervet E. Response to pharmacogenetic vs. Concentration-controlled optimization of tacrolimus dosing in renal allograft recipients. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2010;88(5):597.
157. Gervasini G, Garcia M, Macias RM, Cubero JJ, Caravaca F, Benitez J. Impact of genetic polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics and the clinical outcome of renal transplantation. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation*. 2012;25(4):471-80.
158. Kim IW, Moon YJ, Ji E, Kim KI, Han N, Kim SJ, et al. Clinical and genetic factors affecting tacrolimus trough levels and drug-related outcomes in Korean kidney transplant recipients. *European journal of clinical pharmacology*. 2012;68(5):657-69.
159. Hesselink DA, Bouamar R, van Gelder T. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity. *Therapeutic drug monitoring*. 2010;32(4):387-93.
160. Quteineh L, Verstuyft C, Furlan V, Durrbach A, Letierce A, Ferlicot S, et al. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic & clinical pharmacology & toxicology*. 2008;103(6):546-52.
161. Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Ortega F, Arias M, Torres A, et al. Pharmacogenetics of tacrolimus after renal transplantation: analysis of polymorphisms in genes encoding 16 drug metabolizing enzymes. *Clinical chemistry and laboratory medicine : CCLM / FESCC*. 2011;49(5):825-33.
162. Hirano K, Naito T, Mino Y, Takayama T, Ozono S, Kawakami J. Impact of CYP3A5 genetic polymorphism on cross-reactivity in tacrolimus chemiluminescent immunoassay in kidney transplant recipients. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2012;414:120-4.

163. Miura M, Inoue K, Kagaya H, Saito M, Habuchi T, Satoh S. Inter-individual difference determinant of prednisolone pharmacokinetics for Japanese renal transplant recipients in the maintenance stage. *Xenobiotica*. 2009;39(12):939-45.
164. 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. *European journal of clinical pharmacology*. 2009;65(5):473-81.
165. Thervet E, Anglicheau D, King B, Schlageter MH, Cassinat B, Beaune P, et al. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation*. 2003;76(8):1233-5.
166. Zhang J, Zhang X, Liu L, Tong W. Value of CYP3A5 genotyping on determining initial dosages of tacrolimus for Chinese renal transplant recipients. *Transplantation proceedings*. 2010;42(9):3459-64.
167. Turolo S, Tirelli AS, Ferrareso M, Ghio L, Belingheri M, Groppali E, et al. Frequencies and roles of CYP3A5, CYP3A4 and ABCB1 single nucleotide polymorphisms in Italian teenagers after kidney transplantation. *Pharmacological reports : PR*. 2010;62(6):1159-69.
168. Zhao Y, Song M, Guan D, Bi S, Meng J, Li Q, et al. Genetic polymorphisms of CYP3A5 genes and concentration of the cyclosporine and tacrolimus. *Transplantation proceedings*. 2005;37(1):178-81.
169. Loh PT, Lou HX, Zhao Y, Chin YM, Vathsala A. Significant impact of gene polymorphisms on tacrolimus but not cyclosporine dosing in Asian renal transplant recipients. *Transplantation proceedings*. 2008;40(5):1690-5.
170. Li JL, Wang XD, Chen SY, Liu LS, Fu Q, Chen X, et al. Effects of diltiazem on pharmacokinetics of tacrolimus in relation to CYP3A5 genotype status in renal recipients: from retrospective to prospective. *The pharmacogenomics journal*. 2011;11(4):300-6.
171. Ferrareso M, Turolo S, Ghio L, Tirelli AS, Belingheri M, Villa R, et al. Association between CYP3A5 polymorphisms and blood pressure in kidney transplant recipients receiving calcineurin inhibitors. *Clinical and experimental hypertension (New York, NY: 1993)*. 2011;33(6):359-65.
172. Li L, Li CJ, Zheng L, Zhang YJ, Jiang HX, Si-Tu B, et al. Tacrolimus dosing in Chinese renal transplant recipients: A population-based pharmacogenetics study. *European journal of clinical pharmacology*. 2011;67(8):787-95.
173. Glowacki F, Lionet A, Buob D, Labalette M, Allorge D, Provot F, et al. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms in donor and recipient: impact on Tacrolimus dose requirements and clinical outcome after renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2011;26(9):3046-50.
174. Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, van der Werf M, Gregoor PJ, Lindemans J, et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2003;74(3):245-54.
175. Tirelli S, Ferrareso M, Ghio L, Meregalli E, Martina V, Belingheri M, et al. The effect of CYP3A5 polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in adolescent kidney transplant recipients. *Medical science monitor : international medical journal of experimental and clinical research*. 2008;14(5):CR251-4.
176. Chen JS, Li LS, Cheng DR, Ji SM, Sun QQ, Cheng Z, et al. Effect of CYP3A5 genotype on renal allograft recipients treated with tacrolimus. *Transplantation proceedings*. 2009;41(5):1557-61.

BIBLIOGRAFIA

177. Ferraris JR, Argibay PF, Costa L, Jimenez G, Coccia PA, Ghezzi LF, et al. Influence of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus maintenance doses and serum levels after renal transplantation: age dependency and pharmacological interaction with steroids. *Pediatric transplantation*. 2011;15(5):525-32.
178. Ro H, Min SI, Yang J, Moon KC, Kim YS, Kim SJ, et al. Impact of Tacrolimus Intraindividual Variability and CYP3A5 Genetic Polymorphism on Acute Rejection in Kidney Transplantation. *Therapeutic drug monitoring*. 2012;34(6):680-5.
179. Miura M, Satoh S, Kagaya H, Saito M, Inoue T, Tsuchiya N, et al. 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.
180. 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-Schmiedeberg's archives of pharmacology*. 2009;380(2):169-77.
181. Min SI, Kim SY, Ahn SH, Min SK, Kim SH, Kim YS, et al. CYP3A5 *1 allele: impacts on early acute rejection and graft function in tacrolimus-based renal transplant recipients. *Transplantation*. 2010;90(12):1394-400.
182. Galiana M, Herrero MJ, Bosó V, Bea S, Ros E, Sánchez-Plumed J, et al. Pharmacogenetics of Immunosuppressive Drugs in Renal Transplantation. In: Dr. Layron L, editor. *Renal Transplantation-Updates and Advances: In Tech*; 2012. p. 143-62.
183. Chandel N, Aggarwal PK, Minz M, Sakhuja V, Kohli KK, Jha V. CYP3A5*1/*3 genotype influences the blood concentration of tacrolimus in response to metabolic inhibition by ketoconazole. *Pharmacogenetics and Genomics*. 2009;19(6):458-63.
184. Wang P, Mao Y, Razo J, Zhou X, Wong ST, Patel S, et al. Using genetic and clinical factors to predict tacrolimus dose in renal transplant recipients. *Pharmacogenomics*. 2010;11(10):1389-402.
185. Roy JN, Barama A, Poirier C, Vinet B, Roger M. Cyp3A4, Cyp3A5, and MDR-1 genetic influences on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Pharmacogenetics and genomics*. 2006;16(9):659-65.
186. Santoro A, Felipe CR, Tedesco-Silva H, Medina-Pestana JO, Struchiner CJ, Ojopi EB, et al. Pharmacogenetics of calcineurin inhibitors in Brazilian renal transplant patients. *Pharmacogenomics*. 2011;12(9):1293-303.
187. Tang HL, Ma LL, Xie HG, Zhang T, Hu YF. Effects of the CYP3A5*3 variant on cyclosporine exposure and acute rejection rate in renal transplant patients: a meta-analysis. *Pharmacogenetics and genomics*. 2010;20(9):525-31.
188. Quaglia M, Terrazzino S, Boldorini R, Stratta P, Genazzani AA. Severe acute nephrotoxicity in a kidney transplant patient despite low tacrolimus levels: a possible interaction between donor and recipient genetic polymorphisms. *Journal of clinical pharmacy and therapeutics*. 2013.
189. Roy JN, Lajoie J, Zijenah LS, Barama A, Poirier C, Ward BJ, et al. CYP3A5 genetic polymorphisms in different ethnic populations. *Drug Metab Dispos*. 2005;33(7):884-7.
190. Debette-Gratien M, Woillard JB, Picard N, Sebah M, Loustaud-Ratti V, Sautereau D, et al. Influence of Donor and Recipient CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 Genotypes on Clinical Outcomes and Nephrotoxicity in Liver Transplant Recipients. *Transplantation*. 2016;100(10):2129-37.
191. Yang TH, Chen YK, Xue F, Han LZ, Shen CH, Zhou T, et al. Influence of CYP3A5 genotypes on tacrolimus dose requirement: age and its pharmacological interaction with ABCB1 genetics in the Chinese paediatric liver transplantation. *Int J Clin Pract Suppl*. 2015(183):53-62.

192. Ji E, Choi L, Suh KS, Cho JY, Han N, Oh JM. Combinational Effect of Intestinal and Hepatic CYP3A5 Genotypes on Tacrolimus Pharmacokinetics in Recipients of Living Donor Liver Transplantation. *Transplantation*. 2012.
193. Buendia JA, Otamendi E, Kravetz MC, Cairo F, Ruf A, de Davila M, et al. Combinational Effect of CYP3A5 and MDR-1 Polymorphisms on Tacrolimus Pharmacokinetics in Liver Transplant Patients. *Experimental and clinical transplantation : official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation*. 2015;13(5):441-8.
194. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2015;98(1):19-24.
195. Shuker N, Bouamar R, Weimar W, van Schaik RH, van Gelder T, Hesselink DA. ATP-binding cassette transporters as pharmacogenetic biomarkers for kidney transplantation. *Clin Chim Acta*. 2012;413(17-18):1326-37.
196. Cheng Y, Li H, Meng Y, Liu H, Yang L, Xu T, et al. Effect of CYP3A5 polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus and acute rejection in renal transplant recipients: experience at a single centre. *Int J Clin Pract Suppl*. 2015(183):16-22.
197. Zhao W, Elie V, Roussey G, Brochard K, Niaudet P, Leroy V, et al. Population pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in de novo pediatric kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2009;86(6):609-18.
198. Gómez-Bravo MA, Salcedo M, Fondevila C, Suarez F, Castellote J, Rufian S, et al. Impact of donor and recipient CYP3A5 and ABCB1 genetic polymorphisms on tacrolimus dosage requirements and rejection in Caucasian Spanish liver transplant patients. *J Clin Pharmacol*. 2013;53(11):1146-54.
199. Shi XJ, Geng F, Jiao Z, Cui XY, Qiu XY, Zhong MK. Association of ABCB1, CYP3A4*18B and CYP3A5*3 genotypes with the pharmacokinetics of tacrolimus in healthy Chinese subjects: a population pharmacokinetic analysis. *J Clin Pharm Ther*. 2011;36(5):614-24.
200. Goto M, Masuda S, Kiuchi T, Ogura Y, Oike F, Okuda M, et al. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics*. 2004;14(7):471-8.
201. Gomez-Bravo MA, Salcedo M, Fondevila C, Suarez F, Castellote J, Rufian S, et al. Impact of donor and recipient CYP3A5 and ABCB1 genetic polymorphisms on tacrolimus dosage requirements and rejection in Caucasian Spanish liver transplant patients. *Journal of clinical pharmacology*. 2013;53(11):1146-54.
202. Uesugi M, Kikuchi M, Shinke H, Omura T, Yonezawa A, Matsubara K, et al. Impact of cytochrome P450 3A5 polymorphism in graft livers on the frequency of acute cellular rejection in living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics and genomics*. 2014;24(7):356-66.
203. Rojas L, Neumann I, Herrero MJ, Boso V, Reig J, Poveda JL, et al. Effect of CYP3A5*3 on kidney transplant recipients treated with tacrolimus: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *The pharmacogenomics journal*. 2015;15(1):38-48.
204. Masuda S, Goto M, Fukatsu S, Uesugi M, Ogura Y, Oike F, et al. Intestinal MDR1/ABCB1 level at surgery as a risk factor of acute cellular rejection in living-donor liver transplant patients. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2006;79(1):90-102.
205. Bonhomme-Faivre L, Picard V, Saliba F, Abbara C, Fodil M, Chaunoy M, et al. Effect of the ABCB1 3435C>T polymorphism on tacrolimus concentrations and dosage requirements in liver transplant recipients. *American Journal of Health-System Pharmacy*. 2009;66(18):1645-51.

BIBLIOGRAFIA

206. Tapirdamaz O, Hesselink DA, el Bouazzaoui S, Azimpour M, Hansen B, van der Laan LJ, et al. Genetic variance in ABCB1 and CYP3A5 does not contribute toward the development of chronic kidney disease after liver transplantation. *Pharmacogenetics and genomics*. 2014;24(9):427-35.
207. Hawwa AF, McKiernan PJ, Shields M, Millership JS, McElnay JC. Influence of ABCB1 polymorphisms and haplotypes on tacrolimus nephrotoxicity and dosage requirements in children with liver transplant. 2009. p. 413; -21, 2009; 421.
208. Zheng S, Tasnif Y, Hebert MF, Davis CL, Shitara Y, Calamia JC, et al. Measurement and compartmental modeling of the effect of CYP3A5 gene variation on systemic and intrarenal tacrolimus disposition. *Clinical pharmacology and therapeutics*. 2012;92(6):737-45.
209. de Mattos AM, Olyaei AJ, Bennett WM. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: long-term consequences and challenges for the future. *American Journal of Kidney Diseases : The Official Journal of the National Kidney Foundation*. 2000;35(2):333-46.
210. Morales JM, Wramner L, Kreis H, Durand D, Campistol JM, Andres A, et al. Sirolimus does not exhibit nephrotoxicity compared to cyclosporine in renal transplant recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons*. 2002;2(5):436-42.
211. Gaston RS. Chronic calcineurin inhibitor nephrotoxicity: reflections on an evolving paradigm. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2009;4(12):2029-34.