



FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Cirugía

**Impacto de los polimorfismos genéticos CYP3A5 y ABCB1 en los
requerimientos de dosis de tacrolimus y en el rechazo agudo en
receptores caucásicos de trasplante hepático**

Tesis realizada por:
José Tinoco González

Dirección de la tesis:
FRANCISCO JAVIER PADILLO RUÍZ
MIGUEL ÁNGEL GÓMEZ BRAVO
JOSE MARÍA ÁLAMO MARTÍNEZ

Sevilla, 2016

UNIVERSIDAD DE SEVILLA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

IMPACTO DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS
CYP3A5 Y ABCB1 EN LOS REQUERIMIENTOS DE
DOSIS DE TACROLIMUS Y EN EL RECHAZO
AGUDO EN RECEPTORES CAUCÁSICOS DE
TRASPLANTE HEPÁTICO

Tesis presentada por José Tinoco González,
para acceder al grado de Doctor en Medicina y Cirugía por la
Universidad de Sevilla

Directores: FRANCISCO JAVIER PADILLO RUÍZ, MIGUEL ÁNGEL GÓMEZ
BRAVO y JOSE MARÍA ÁLAMO MARTÍNEZ

SEVILLA, 2016

UNIVERSIDAD DE SEVILLA



FACULTAD DE MEDICINA

DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

Departamento de Cirugía | Universidad de Sevilla



Dr. Francisco Javier Padillo Ruíz, Doctor en Medicina y Cirugía, especialista en Cirugía General y Catedrático de Cirugía por la Universidad de Sevilla, y Dr. Miguel Ángel Gómez Bravo y Dr. José María Álamo Martínez, Doctores en Medicina y Cirugía, especialista en Cirugía General.

CERTIFICAN QUE el trabajo titulado **IMPACTO DE LOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS CYP3A5 Y ABCB1 EN LOS REQUERIMIENTOS DE DOSIS DE TACROLIMUS Y EN EL RECHAZO AGUDO EN RECEPTORES CAUCÁSICOS DE TRASPLANTE HEPÁTICO, ha sido realizado bajo su supervisión por José Tinoco González para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía de la Universidad de Sevilla.**

Y para que conste a los efectos oportunos, firma el presente certificado en Sevilla a quince de Marzo de 2016.

Dr. Francisco Javier Padillo Ruíz

Dr. Miguel Ángel Gómez Bravo

Dr. José María Álamo Martínez

A Ángel Bernardos, por ser el responsable último de la creación de la unidad de trasplante en este hospital y ser parte indirecta de este trabajo. Su culminación implica que la energía, el afán de superación y la motivación para hacer las cosas bien hechas, siguen vivos entre nosotros.

Agradecimientos

A los *Dres. Javier Padillo Ruiz, José María Álamo Martínez y Miguel Ángel Gómez Bravo* Directores de esta tesis, por haberme brindado la oportunidad de trabajar a su lado, ofreciéndome su apoyo incondicional desde el inicio de mi residencia y sobre todo para llevar a cabo este estudio. Desde el primer momento me han contagiado su pasión por el Trasplante y la Cirugía, su afán investigador y su curiosidad científica, que me han sabido transmitir, no sólo como mis tutores sino también como amigos.

A los *Dres. Juan Serrano, Carmen Bernal, Luis Miguel Marín y Gonzalo Suárez*, integrantes de la Unidad de Cirugía Hepatobiliopancreática y Trasplante. Con ellos he iniciado mi actividad en la cirugía hepatobiliopancreática, y a ellos les debo mi formación en Trasplante Hepático y su confianza en mí para mantener esta afinidad. Y a Lydia Barrera por ofrecerme su visión como bióloga de la Unidad de Trasplante, y ser tan cercana al paciente trasplantado.

Al *Dr. Francisco López*, mi tutor durante la residencia, integrante de la Unidad de Cirugía de Urgencias, por su interés y dedicación en la formación del Residente, habiéndome brindado su apoyo para presentar esta tesis doctoral.

A todos los Cirujanos integrantes de las diferentes Unidades del Servicio de Cirugía General, Unidad de Esófago-Gástrica y Bariátrica, Unidad de Coloproctología, Unidad de Cirugía Endocrina, Cirugía de Pared Avanzada y CMA, y Cirugía de Urgencias, con los que he tenido la fortuna de trabajar a lo largo de mi Residencia, por su paciencia e interés demostrado, contribuyendo a completar mi formación quirúrgica.

A mis compañeros de Residencia, los *Dres. Jesús Cañete, Antonio Muñoz, Virginia Gómez, Marta Gutiérrez, Salud García, Cristina Méndez, Diego Bernal, Juan Antonio Martínez, Aurelio Navas, Juan Carlos Herrera, Carmen Cepeda, Juan José Segura, Carlos Jordán, Vanessa Sojo, Julio Reguera, Mercedes Rubio, Carlos Maya, Violeta Camacho, Virginia Durán, Claudia Olivares, Eduardo Perea, Carla García, Verónica Pino, Quetzal Arroyo, Ana Senent, Sandra Dios, José Luis Guerrero, Amando Marchal*, y en especial, a *Irene Ramallo* por ser pilar fundamental durante mi residencia en lo laboral y en lo personal, por su complicidad y amistad. A todos ellos les debo sus buenos consejos, su profesionalidad, y el haber podido compartir momentos de fatiga, haciendo más llevadero esos interminables días de trabajo. A los que vienen, *Patricia García, María Fernández y Diego Pinilla*, espero transmitirles los conocimientos adquiridos a lo largo de estos años de Residencia y mostrarles mi apoyo tanto en el ámbito laboral como en el personal.

A *Manoli*, por velar por mí, como residente, desde el primer día. Por su comprensión, por saber escucharme, por su ayuda incondicional, por su gran profesionalidad, por su calidad humana hacia los residentes. Y por ser un ejemplo a seguir.

A todo el personal de enfermería, de la tercera y quirófanos, por los buenos y malos momentos compartidos, y por enseñarme aquello que en los libros no aparece, como

es la entrega desinteresada al paciente. Mención especial, a *Concha e Inés*, por sus sabios consejos.

A mi familia y a mis amigos.

Abreviaturas

ABCB1: ATP binding cassette B1	IL: interleuquina
ACr: aclaramiento de creatinina	IMPDH: inosina monofosfato deshidrogenasa
AE: efecto adverso	INR: international normalized ratio
ALG: antilymphocyte globulin	ITT: intención de tratar
ALT: alanina aminotransferasa	LAMG: lesiones agudas mucosa gástrica
ARN-m: ARN mensajero	m-TOR: mammalian target of rapamycin
ARN: acido ribonucleico	MARS: molecular adsorbentes recirculating system
ATG: antithymocyte globulin	MDR1: multiple drugs resistance tipo 1
ATP: adenosin trifosfato	MELD: model for end-stage liver disease
AUC: área bajo la curva	MMF: micofenolato mofetilo
Aza: azatioprina o 6-mercaptopurina	MPA: ácido micofenólico
Bt: bilirrubina total	NIH: national institute of health
C ₀ /D: ratio concentración / dosis	OKT3: anticuerpos anti-CD3
CC: colangiocarcinoma	ONT: organización nacional de trasplantes
CEIC: comité de ética en investigación clínica	P-gp: glicoproteína P
Cmin: concentración mínima	PBE peritonitis bacteriana espontanea
CMV: citomegalovirus	PCR: reacción en cadena de la polimerasa
Cr: creatinina	PIC: presión intracraneal
CRD: clinical research document	postTH: postrasplante hepático
CsA: ciclosporina	PP: población por protocolo
CYP: citocromo P450	PPD: derivado proteico purificado
CYP3A5: citocromo P450, isoenzima 3A5	PXR: receptor del pregnano X
DNA: acido desoxirribonucleico	RAC: rechazo agudo
ECG: electrocardiograma	RMN: resonancia magnética nuclear
EDTA: ácido etildiaminotetraacético	SETH: sociedad española de trasplante hepático
EE. UU.: Estados unidos de América	SHR: síndrome hepatorenal
EMIT: inmunoanálisis multiplicación enzimática	SIDA: síndrome de inmunodeficiencia adquirida
FA: fosfatasa alcalina	SNC: sistema nervioso central
FDA: federal drugs agency	SNP: single nucleotide polymorphisms
FG: filtrado glomerular	Tac: tacrolimus
FK: tacrolimus	TC: tomografía computarizada
FKBP: tacrolimus binding protein	TH: trasplante hepático
FPIA: fluorescence polarization inmunoassay	TIPS: transyugular intrahepática portosistémica
GGT: gammaglutaril transferasa	TMD: dominio transmembrana
GOT: transaminasa glutamicooxalacética	UCI: unidad cuidados intensivos
GPT: transaminasa glutámico-pirúvica	UDPGA: 5' difosfoglucurónico de uridina
HBeAg: antígeno E de la hepatitis B	UGT: UDP-glucuronil transferasa
HBV: Virus de la hepatitis B	UNOS: united network for organ sharing
HCC: hepatocarcinoma	VEB: virus de Epstein Barr
HDA: hemorragia digestiva alta	VHB: virus de la hepatitis B
HPLC: high performance liquid chromatography	VHC: virus de la hepatitis C
HTA: hipertensión arterial	VHD: virus hepatitis delta
ICN: inhibidores de la calcineurina	VHS: virus herpes simple
IECA: inhibidor de la enzima de angiotensina	VIH: virus de la inmunodeficiencia humana

Índice

Agradecimientos.....	6
Abreviaturas.....	8
1. ABSTRACT.....	15
1.1. Introducción.....	16
1.2. Material y métodos.....	18
1.3. Resultados.....	19
1.4. Discusión.....	19
1.5. Conclusiones.....	21
2. INTRODUCCIÓN.....	23
2.1. Evolución histórica del trasplante hepático.....	24
2.1.1. Desarrollo de la técnica quirúrgica.....	24
2.1.2. Desarrollo de fármacos inmunosupresores.....	24
2.1.3. Selección de candidatos para trasplante hepático.....	25
2.1.4. Desarrollo de las técnicas de extracción y de preservación hepática.....	26
2.2. Estado actual del trasplante hepático.....	27
2.2.1. Indicaciones del trasplante hepático.....	27
2.2.1.1. Cirrosis biliar primaria.....	29
2.2.1.2. Colangitis esclerosante primaria.....	29
2.2.1.3. Cirrosis vírica.....	29
2.2.1.4. Cirrosis enólica.....	30
2.2.1.5. Hepatitis fulminante.....	30
2.2.1.6. Enfermedades metabólica con afectación hepática.....	31
2.2.1.7. Enfermedades vasculares con afectación hepática.....	31
2.2.1.8. Tumores hepáticos.....	32
2.2.2. Contraindicaciones al trasplante hepático.....	33
2.2.2.1. Enfermedad extrahepática mortal a corto plazo.....	33
2.2.2.2. Infecciones activas extrahepáticas incontroladas.....	33
2.2.2.3. Pacientes VIH +.....	34
2.2.2.4. Causas psicosociales.....	34
2.2.3. Selección de candidatos a trasplante hepático.....	35
2.2.3.1. Modelos predictivos más utilizados en las hepatopatías parenquimatosas crónicas.....	36
2.2.3.2. Screening básico a pacientes candidatos a trasplante hepático.....	37
2.2.3.3. Estudios especiales.....	38
2.2.4. Selección de donantes.....	39
2.3. Inmunosupresión en el trasplante hepático.....	40
2.3.1. Antecedentes.....	40
2.3.2. Farmacocinética del Tacrolimus y MMF.....	41
2.3.2.1. Farmacocinética del Tacrolimus.....	41
2.3.2.2. Farmacocinética del MMF.....	42
2.3.3. Efectos adversos de la terapia inmunosupresora.....	43
2.3.3.1. Tacrolimus y ciclosporina.....	44
2.3.3.2. Corticoesteroides.....	44
2.3.3.3. Ácido micofenólico.....	45
2.3.3.4. Otros inmunosupresores.....	45
2.3.4. Rechazo agudo celular en el trasplante hepático.....	46
2.4. Farmacogenética.....	50

2.4.1. Enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de tacrolimus y MMF.....	50
2.4.1.1. Citocromo P450.....	51
2.4.1.1.1. Efecto de primer paso.....	52
2.4.1.1.2. Mecanismo de inducción enzimática del CYP3A.....	53
2.4.1.1.3. Mecanismo de inhibición enzimática del CYP3A.....	54
2.4.1.1.4. Polimorfismos del CYP3A5 implicados en el metabolismo de los inhibidores de la calcineurina.....	55
2.4.1.1.4.1. CYP3A4.....	56
2.4.1.1.4.2. CYP3A4 y Tac.....	56
2.4.1.1.4.3. CYP3A5.....	56
2.4.1.1.4.4. CYP3A5 y Tac.....	57
2.4.1.2. UDP-glucuronil transferasa (UGT)	58
2.4.1.3. Glicoproteína P.....	59
2.4.1.3.1. Polimorfismos de la glicoproteína-P implicados en el metabolismo de los inhibidores de la calcineurina.....	61
2.4.1.3.1.1. ABCB1 (MDR1)	62
2.4.1.3.1.2. ABCB1 y Tac.....	62
2.4.1.4. Polimorfismos del injerto hepático.....	63
3. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO.....	65
4. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	67
4.1. Hipótesis de trabajo.....	68
4.2. Objetivos.....	68
4.2.1. Objetivo principal.....	68
4.2.2. Objetivos secundarios.....	68
5. MATERIAL Y MÉTODOS.....	69
5.1. Diseño del estudio.....	70
5.1.1. Centros participantes en el estudio.....	70
5.1.2. Fases del estudio.....	71
5.1.2.1. Fase I: Preselección de los pacientes.....	71
5.1.2.2. Fase II: Toma de muestras.....	71
5.1.2.3. Fase III: Seguimiento.....	71
5.1.3. Criterios para interrumpir el estudio.....	71
5.2. Población de estudio.....	72
5.2.1. Criterios de selección.....	72
5.2.1.1. Criterios de inclusión.....	72
5.2.1.2. Criterios de exclusión.....	72
5.2.2. Criterios y procedimiento de retirada del estudio.....	73
5.2.3. Limitaciones del estudio.....	74
5.2.4. Descripción de la muestra.....	74
5.2.4.1. Características demográficas de receptores y donantes.....	75
5.2.4.1.1. Datos de los receptores.....	75
5.2.4.1.2. Datos de los donantes.....	75
5.2.4.2. Indicaciones de trasplante hepático.....	75
5.3. Periodo de inclusión, observación y desarrollo del estudio.....	77
5.4. Descripción del tratamiento y exposición.....	77
5.4.1. Administración y determinación de niveles de tacrolimus.....	77
5.4.1.1. Dosis iniciales de Tac.....	77
5.4.1.2. Niveles C _{min} objetivo de Tac.....	78
5.4.1.3. Modificación de la dosis de Tac.....	78
5.4.1.4. Determinación de concentraciones valle sanguíneas de Tac.....	79
5.4.2. Administración de esteroides.....	79

5.4.3.	Administración de otros inmunosupresores.....	79
5.4.4.	Medicación concomitante durante el tratamiento	80
5.4.5.	Valoración del cumplimiento.....	80
5.4.6.	Diagnóstico y tratamiento del rechazo agudo celular.....	80
5.5.	Determinación del tamaño muestral y poder estadístico.....	81
5.5.1.	Tamaño muestral.....	81
5.5.2.	Poder estadístico.....	82
5.6.	Variables e instrumentos de medida.....	83
5.6.1.	Definición de variable principal.....	83
5.6.2.	Variables secundarias.....	83
5.7.	Técnicas de laboratorio.....	84
5.7.1.	Medición de las concentraciones del fármaco.....	84
5.7.2.	Análisis de genotipos.....	84
5.7.2.1.	PCR.....	85
5.8.	Análisis estadístico.....	87
5.8.1.	Método estadístico.....	87
5.8.2.	Análisis de eficacia.....	87
5.8.3.	Evaluación de la seguridad.....	88
5.8.4.	Criterios para la finalización del estudio.....	88
5.8.5.	Manejo de los datos perdidos o incompletos.....	88
5.8.6.	Pacientes a incluir en los análisis.....	88
5.9.	Aspectos éticos.....	89
5.9.1.	Consideraciones generales.....	89
5.9.2.	Evaluación beneficio-riesgo.....	89
5.9.3.	Hoja de información y formulario de consentimiento.....	89
5.9.4.	Comités éticos de investigación clínica.....	90
5.9.5.	Confidencialidad de los datos.....	90
5.9.6.	Control y garantía de calidad.....	90
5.9.7.	Interferencia con los hábitos de prescripción médicos.....	91
5.10.	Consideraciones prácticas.....	92
5.10.1.	Plan de trabajo/ calendario de evaluaciones.....	92
5.10.2.	Evaluación de seguridad.....	93
5.10.3.	Registro y comunicación de acontecimientos adversos.....	93
5.10.4.	Definición de acontecimiento adverso.....	93
5.10.5.	Definición de causalidad.....	94
5.10.6.	Definición de intensidad.....	94
5.10.7.	Acontecimientos adversos graves.....	94
5.10.8.	Definición de gravedad.....	95
5.10.9.	Seguimiento de los pacientes después de los acontecimientos adversos.....	95
5.10.10.	Manejo de los datos y mantenimiento de los registros.....	96
5.10.11.	Uso de medios electrónicos.....	96
5.10.12.	Informes de seguimiento y final.....	97
6.	RESULTADOS.....	98
6.1.	Frecuencias de los genotipos CYP3A5 y ABCB1.....	99
6.1.1.	Frecuencia de los genotipos en los receptores.....	99
6.1.1.1.	CYP3A5.....	99
6.1.1.2.	ABCB1.....	99
6.1.2.	Frecuencia de los genotipos en los donantes.....	100
6.1.2.1.	CYP3A5.....	100
6.1.2.2.	ABCB1.....	101
6.1.3.	Frecuencia global de los genotipos.....	102

6.2. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 en la concentración/dosis de tacrolimus	103
6.2.1. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 según el genotipo del receptor en la concentración/dosis de tacrolimus.....	103
6.2.1.1. Visita 1: día 3 (receptores)	104
6.2.1.2. Visita 2: día 7 (receptores)	106
6.2.1.3. Visita 3: día 14 (receptores)	110
6.2.1.4. Visita 4: día 30 (receptores)	112
6.2.1.5. Visita 5: día 90 (receptores)	114
6.2.2. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 según el genotipo del donante en la concentración/dosis de tacrolimus.....	116
6.2.2.1. Visita 1: día 3 (donantes)	116
6.2.2.2. Visita 2: día 7 (donantes)	118
6.2.2.3. Visita 3: día 14 (donantes)	120
6.2.2.4. Visita 4: día 30 (donantes)	122
6.2.2.5. Visita 5: día 90 (donantes)	124
6.2.3. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 en la concentración/dosis de tacrolimus. Resultados globales y análisis multivariante.....	128
6.3. Efecto de los polimorfismos ABCB1 en la concentración/dosis de tacrolimus	132
6.3.1. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (1236C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del receptor.....	132
6.3.1.1. Visita 1: día 3 (receptores)	132
6.3.1.2. Visita 2: día 7 (receptores)	133
6.3.1.3. Visita 3: día 14 (receptores)	133
6.3.1.4. Visita 4: día 30 (receptores)	134
6.3.1.5. Visita 5: día 90 (receptores)	134
6.3.2. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (3435C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del receptor.....	137
6.3.2.1. Visita 1: día 3 (receptores)	137
6.3.2.2. Visita 2: día 7 (receptores)	137
6.3.2.3. Visita 3: día 14 (receptores)	138
6.3.2.4. Visita 4: día 30 (receptores)	139
6.3.2.5. Visita 5: día 90 (receptores)	139
6.3.3. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (2677G>T/A) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del receptor.....	142
6.3.3.1. Visita 1: día 3 (receptores)	142
6.3.3.2. Visita 2: día 7 (receptores)	143
6.3.3.3. Visita 3: día 14 (receptores)	143
6.3.3.4. Visita 4: día 30 (receptores)	144
6.3.3.5. Visita 5: día 90 (receptores)	145
6.3.4. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (1236C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del donante.....	147
6.3.4.1. Visita 1: día 3 (donantes)	147
6.3.4.2. Visita 2: día 7 (donantes)	148
6.3.4.3. Visita 3: día 14 (donantes)	148
6.3.4.4. Visita 4: día 30 (donantes)	149
6.3.4.5. Visita 5: día 90 (donantes)	149
6.3.5. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (3435C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del donante.....	152
6.3.5.1. Visita 1: día 3 (donantes)	152
6.3.5.2. Visita 2: día 7 (donantes)	152

6.3.5.3.	Visita 3: día 14 (donantes)	153
6.3.5.4.	Visita 4: día 30 (donantes)	154
6.3.5.5.	Visita 5: día 90 (donantes)	154
6.3.6.	Efecto de los polimorfismos ABCB1 (2677G>T/A) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del donante	157
6.3.6.1.	Visita 1: día 3 (donantes)	157
6.3.6.2.	Visita 2: día 7 (donantes)	157
6.3.6.3.	Visita 3: día 14 (donantes)	158
6.3.6.4.	Visita 4: día 30 (donantes)	159
6.3.6.5.	Visita 5: día 90 (donantes)	159
6.3.7.	Efecto de los polimorfismos ABCB1 en la concentración/dosis de tacrolimus. Resultados globales	162
6.4.	Rechazo agudo celular	167
6.4.1.	Efecto de los polimorfismos CYP3A5 en el desarrollo de rechazo agudo celular	167
6.4.1.1.	Rechazo agudo celular (CYP3A5, receptores)	168
6.4.1.2.	Rechazo agudo celular (CYP3A5, donantes)	169
6.4.1.3.	Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (CYP3A5, receptores)	170
6.4.1.4.	Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (CYP3A5, donantes)	170
6.4.1.5.	Grado de rechazo agudo celular para el CYP3A5	170
6.4.2.	Efecto de los polimorfismos ABCB1 en el desarrollo de rechazo agudo celular	171
6.4.2.1.	Rechazo agudo celular (ABCB1, receptores)	171
6.4.2.2.	Rechazo agudo celular (ABCB1, donantes)	174
6.4.2.3.	Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (ABCB1, receptores)	177
6.4.2.4.	Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (ABCB1, donantes)	178
6.4.2.5.	Grado de rechazo agudo celular para el ABCB1	179
6.4.3.	Análisis multivariante del rechazo agudo celular	180
6.5.	Función hepática	181
6.5.1.	Grupo de receptores	181
6.5.1.1.	CYP3A5	181
6.5.1.2.	ABCB1	181
6.5.2.	Grupo de donantes	182
6.5.2.1.	CYP3A5	182
6.5.2.2.	ABCB1	183
6.5.3.	Función hepática y rechazo agudo celular	187
6.6.	Función renal	188
6.6.1.	Grupo de receptores	188
6.6.1.1.	CYP3A5	188
6.6.1.2.	ABCB1	188
6.6.2.	Grupo de donantes	189
6.6.2.1.	CYP3A5	189
6.6.2.2.	ABCB1	189
6.7.	Acontecimientos adversos relacionados con tacrolimus	193
6.7.1.	Efectos adversos globales	193
6.7.1.1.	Alteraciones neurológicas	193
6.7.1.2.	Diabetes mellitus	193
6.7.1.3.	Hipercolesterolemia	193

6.7.1.4.	Hipertensión arterial.....	193
6.7.1.5.	Insuficiencia renal.....	194
6.7.2.	Influencia de los polimorfismos genéticos CYP3A5 y ABCB1 en la aparición de efectos adversos por tacrolimus.....	194
6.7.2.1.	CYP3A5.....	194
6.7.2.2.	ABCB1.....	195
7.	DISCUSIÓN.....	197
7.1.	Justificación del análisis farmacogenético en el trasplante hepático....	198
7.2.	¿Cuál es la prevalencia de los polimorfismos del CYP3A5 en la población española?	199
7.3.	¿Cómo influyen los polimorfismos del CYP3A5 en el metabolismo del tacrolimus?	201
7.4.	¿Influyen los polimorfismos del CYP3A5 en la aparición de rechazo agudo celular en el paciente trasplantado hepático?	205
7.5.	¿Cuál es la prevalencia de los polimorfismos del ABCB1 en la población española?	207
7.6.	Cómo influyen los polimorfismos del CYP3A5 en el metabolismo del tacrolimus?	208
7.7.	¿Influyen los polimorfismos del ABCB1 en la aparición de rechazo agudo celular en el paciente trasplantado hepático?	209
7.8.	¿Influyen los polimorfismos de los genes CYP3A5 y ABCB1 en la función hepática de los receptores de un trasplante hepático?	211
7.9.	¿Influyen los polimorfismos de los genes CYP3A5 y ABCB1 en la función renal de los receptores de un trasplante hepático?	213
7.10.	¿Influyen los polimorfismos de los genes CYP3A5 y ABCB1 en la aparición de otras complicaciones asociadas al uso de tacrolimus?....	215
7.10.1.	Alteraciones neurológicas.....	215
7.10.2.	Hipertensión arterial, diabetes mellitus e hipercolesterolemia.....	216
8.	CONCLUSIONES.....	218
9.	BIBLIOGRAFIA.....	220
10.	ANEXOS.....	234
Anexo 1.	Formulario de consentimiento informado.....	235
Anexo 2.	Fármacos que interaccionan con Tacrolimus.....	236
Anexo 3.	Esquema de Consenso Internacional de Banff.....	237
Anexo 4.	Notificación de Sospecha de Reacción Adversa.....	239
Anexo 5.	Certificado de aceptación del comité de ética en investigación clínica.....	241

1. Abstract

1.1. INTRODUCCIÓN

La supervivencia de los pacientes receptores de un trasplante hepático ha mejorado significativamente durante la última década, tanto por la mejora de las técnicas quirúrgicas, como por la incorporación de nuevos inmunosupresores y la gran experiencia acumulada por los equipos de trasplante. La tasa de supervivencia tras el primer año postrasplante se sitúa en cifras superiores al 80% según los datos del registro europeo, (que contrasta significativamente con el 44% reportado por este mismo registro en 1987) y, en el momento actual, el mayor reto consiste en mejorar la evolución a largo plazo del órgano trasplantado y, por ende, la del paciente.

Entre las principales complicaciones a largo plazo en el trasplante hepático se encuentran factores tanto relacionados con el injerto (la recidiva de la enfermedad primaria, principalmente en el caso de las hepatitis vírica, el rechazo crónico o el rechazo agudo refractario), como aspectos no relacionados con el injerto (complicaciones cardiovasculares y neoplasias).

La inadecuada exposición a los agentes inmunosupresores, tanto por sobreexposición, como por infraexposición, constituye un elemento que impacta de forma muy significativa en ambos grupos de factores: La infraexposición aumenta el riesgo de rechazo y, en el trasplante hepático, las tasas de rechazo agudo todavía se encuentran en cifras que oscilan entre el 25 y el 35%. El rechazo agudo habitualmente sucede en las primeras semanas tras el trasplante, con un pico de aparición al final de la primera semana, de ahí la importancia de conseguir niveles terapéuticos adecuados en los primeros días postrasplante. Por otra parte, la aparición de episodios de rechazo agudo tardío o de rechazo crónico (habitualmente como consecuencia de un rechazo agudo no controlado) suele ocurrir si el tratamiento inmunosupresor no se maneja de forma adecuada.

Por lo que respecta a la sobreinmunosupresión, ésta parece estar relacionada, además de con el conocido aumento del riesgo de infecciones y neoplasias, con el desarrollo de insuficiencia renal crónica, además de con una mayor toxicidad metabólica dosis-dependiente.

La cinética de los agentes inmunosupresores es muy variable intra e interindividualmente, influyendo en ello variables demográficas y genéticas, variables clínicas fisiológicas y patológicas, así como las dependientes de interacciones medicamentosas. La variabilidad en la farmacocinética de los inmunosupresores constituye un factor crítico en el manejo del tratamiento inmunosupresor, especialmente en el postrasplante inmediato. Durante años, la monitorización terapéutica de los fármacos, principalmente de los ICN, ha sido la estrategia utilizada para optimizar los niveles sanguíneos, pero tiene la gran limitación de que, al instaurarse después de iniciado el tratamiento, no tiene ningún valor predictivo en el momento crítico del inicio del tratamiento, por lo que no ayuda a determinar la dosis óptima de inicio de los inmunosupresores. Las dosis iniciales se basan generalmente en el peso del paciente o son dosis fijas por protocolo, que posteriormente se ajustan para conseguir el rango de niveles preestablecido y pueden variar según las características del donante y del receptor, así como según la terapia inmunosupresora concomitante empleada. Dado que esta pauta de utilización de los agentes inmunosupresores no predice la exposición que un determinado paciente conseguirá en el postrasplante inmediato, es difícil alcanzar inmediatamente unos niveles de fármaco dentro de una ventana terapéutica eficaz y segura, con el riesgo subsiguiente de infraexposición (pérdida de eficacia) o sobreexposición (toxicidad).

La farmacogenética pretende identificar las variantes genéticas que se expresan de una forma estable en un individuo, y que pueden utilizarse como

variables predictivas de las propiedades farmacocinéticas o farmacodinámicas de un fármaco concreto.

El metabolismo de los ICN se lleva cabo por determinadas enzimas codificadas por cierto genes; genes que a su vez pueden presentar diversos polimorfismos. La existencia de polimorfismos en los genes que codifican por los enzimas de biotransformación de estos fármacos y sus proteínas transportadoras, se revela día a día como un factor crítico a la hora de justificar la variabilidad farmacocinética interindividual, por lo que el conocimiento de las implicaciones farmacocinéticas que tiene la presencia de determinados alelos, tanto en los receptores de un trasplante hepático, como en los injertos procedentes del donante, podría ayudar a disponer de una herramienta predictiva, que orientara sobre la correcta dosificación inicial de los inmunosupresores y ayudara a optimizar el tratamiento inmunosupresor de estos pacientes.

De forma general, la farmacogenética está basada en la identificación de polimorfismos de un único nucleótido (SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms) en genes involucrados en la absorción, distribución y mecanismo de acción de los fármacos.

Respecto a su nomenclatura, está ampliamente aceptado el nombrar a los genes salvajes con el nombre del gen, seguido de *1, y a las variaciones en los alelos con números secuenciales: gen*2, gen*3, aunque esta nomenclatura se ha adaptado para los polimorfismos del CYP3A, pero no del ABCB1.

El citocromo P450, conocido como CYP, está constituido por una superfamilia que implica a 57 genes que codifican por una serie de proteínas clasificadas en familias y subfamilias en función de la similitud de su secuencia de aminoácidos, con una gran variedad de funciones, que van desde el metabolismo de fármacos, a la síntesis de vitamina D3 o la hidroxilación del ácido retinoico.

Los miembros de la subfamilia CYP3A están involucrados en el metabolismo del 45-60% de los fármacos utilizados en la actualidad, y también en el metabolismo de moléculas procarcinogénicas. Las diferencias interindividuales en su expresión contribuyen de forma significativa a la variación en la biodisponibilidad oral y el aclaramiento sistémico de sus sustratos, por lo que las características de su expresión son un determinante muy importante de la eficacia y seguridad de los fármacos.

Uno de los SNP descritos para CYP3A5 es la mutación conocida como CYP3A5*3, que codifica por una proteína CYP3A5 no funcional. Este SNP se presenta de forma homocigótica en el 80% de los caucásicos y en el 30% de los afroamericanos.

CYP3A5 se expresa en los portadores del gen salvaje CYP3A5*1, tanto en individuos homocigóticos (CYP3A5*1/*1) como heterocigóticos (CYP3A5*1/*3), mientras que los homocigotos para los alelos mutantes CYP3A5*3 no sintetizan proteína funcional.

Está ampliamente constatada la presencia de una concentración de Tac significativamente inferior en los expresores de CYP3A5 y algunos autores afirman que la determinación del genotipo de CYP3A5 es predictiva de la dosis de Tac requerida por los pacientes trasplantados renales, destacando la relevancia de este hecho en la determinación de la dosis inicial ideal para cada paciente individual, que garantice una adecuada inmunosupresión sin exceso de nefrotoxicidad.

Por otro lado, la P-gp es una proteína transmembrana, codificada por el gen ABCB1 (ATP-binding cassette B1), dentro de la familia de los transportadores de membrana (subfamilia B), también conocido como MDR1 o gen de multirresistencia a fármacos, que se expresa en el hígado, el riñón, el páncreas, el intestino delgado y el colon.

Esta proteína dependiente de ATP, es capaz de bombear muchas sustancias

exógenas y fármacos, incluidos los ICN, del interior de la célula (citoplasma o membrana) al espacio extracelular, bilis, orina o luz intestinal, actuando así de barrera protectora.

Se han descrito más de 30 mutaciones en el gen ABCB1 o MDR1, pero muchas de ellas no se han relacionado con la farmacocinética, ni la farmacodinamia de los fármacos.

El primer SNP identificado en relación con la actividad de la P-gp fue el C3435T, que presenta un genotipo salvaje (CC) y mutante (TT), con una presencia de ambos genotipos muy diferenciada entre los grupos étnicos: los individuos de raza negra presentan el genotipo C3435T CC en el 50-80% de los casos, mientras que, en otros grupos étnicos, la prevalencia es inferior al 30%. Por lo que respecta a la mutación TT, está prácticamente ausente de forma homocigótica en la población africana, aunque aparece de forma heterocigótica en el 20-40% de la población.

Existe además del C3435T, otro SNP sinónimo de éste, el C1236T y también el G2677T, todos ellos unidos en el MDR1*2.

La relación entre la expresión de la P-gp y la concentración de Tac se ha estudiado, tanto en trasplante hepático, como renal y de intestino delgado.

El importante metabolismo hepático de los inmunosupresores y su impacto en la variabilidad farmacocinética, hace necesario el estudio farmacogenético no sólo de los receptores de un trasplante hepático, sino también de los órganos trasplantados.

El objetivo de este estudio fue evaluar la prevalencia y el tipo de los polimorfismos de los genes que se codifican por los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac, en pacientes portadores de un trasplante hepático primario, así como en los órganos trasplantados. Además se analizó el impacto de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac en el coeficiente concentración/dosis de dichos fármacos.

1.2. MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio observacional multicéntrico post-autorización prospectivo, de una única cohorte, para evaluar la prevalencia y la relevancia clínica de los polimorfismos de los genes que codifican por los enzimas de biotransformación y proteínas de transformación de Tac en pacientes receptores de un trasplante hepático primario.

Se incluyeron en el estudio pacientes que fueran a recibir un trasplante hepático, y candidatos a recibir una terapia inmunosupresora basada en la combinación de esteroides, MMF y Tac y que cumplieren los criterios de inclusión y exclusión.

Los pacientes incluidos en el estudio se sometieron a una determinación genética que pretendía identificar la presencia de polimorfismos a nivel de los genes que codifican por uno o varios de los enzimas encargados de la metabolización y transporte de Tac. Los mismos polimorfismos genéticos serían analizados en el injerto.

1.3. RESULTADOS

Se analizaron 186 sujetos (98 receptores y 88 donantes hepáticos). Todos fueron pacientes españoles de raza. Todos los paciente recibieron triple terapia basada en Tac + MMF + Prednisona. La etiología que motivó el TH con mayor frecuencia fue la cirrosis de origen etílico con un 56,1%.

En el 85,7% de los receptores de un TH estuvo presente el genotipo CYP3A5 para el alelo *3/*3, y de un 14,3% para el alelo CYP3A5*1/*3. En el caso del grupo de donantes el 84% portaban el alelo del gen CYP3A5*3/*3, un 13,6% el heterocigoto CYP3A5*1/*3 y un 2,3% el CYP3A5*1/*1.

En cuanto a la influencia de los polimorfismos en el metabolismo del tacrolimus en el caso del CYP3A5 en el grupo receptor se alcanzan diferencias estadísticamente significativas en el séptimo día de seguimiento con una ratio concentración/dosis de tacrolimus menor para el SNP *3/*3. En el grupo donante se alcanza significación estadística el día 90 de seguimiento para dosis menores en el SNP *3/*3

En el caso de gen ABCB1, durante los 90 días de seguimiento y para ambos grupos de estudio (donante y receptor) no se hallaron diferencias estadísticamente significativas.

La tasa de rechazo agudo en el grupo receptor para el CYP3A5 fue menor para el genotipo *3/*3, al igual que en grupo donante. Además apareció de forma más temprana en el SNP expresor.

Para el gen ABCB1, en ningún caso se obtuvo significación estadística. No hubo tampoco diferencias en cuanto al tiempo de desarrollo de rechazo agudo.

Se apreciaron diferencias estadísticas en la función renal, en cuanto a aclaramiento de creatinina en el caso de receptores para el CYP3A5*1/*3, así como para el SNP 1235C>T, 3435C>T y 2677G>T/A con un menor aclaramiento para los mutantes.

Un 40,9% de los pacientes desarrollaron uno o más alteraciones relacionadas con la inmunosupresión con tacrolimus. Destaca un incremento de alteraciones neurológicas para el SNP 2677TT. De forma global aparecieron 10 rechazos agudos, 32 alteraciones neurológicas, 24 casos de diabetes mellitus, 8 hipercolesterolemias, 12 casos de hipertensión arterial y 14 casos nuevo de insuficiencia renal.

1.4. DISCUSIÓN

En nuestro análisis de resultados, con una muestra de raza caucásica (tanto donantes como pacientes receptores) se observa una prevalencia de genotipo CYP3A5*3 de un 84% tanto en los receptores como en los donantes, lo que significa que la isoenzima metabólicamente activa (*1) sólo está presente en un 16% en la población caucásica.

Considerando que en la primera semana, el injerto hepático es funcionalmente deficiente, cobra una mayor importancia el metabolismo intestinal por el CYP3A5. Como veremos, el genotipo del receptor parece cobrar importancia en el metabolismo del tacrolimus en los primeros días postrasplante, dado que el organismo se encuentra en un periodo de adaptación al nuevo órgano. Sin embargo, y dado que el mayor volumen de citocromo CYP3A5 se encuentra en el hígado, vemos como con el paso de los días la condición alélica del receptor va perdiendo importancia, igualándose los ratios, prácticamente, a partir de las dos semanas de seguimiento.

La repercusión clínica más destacable surge de que a pesar de los controles exhaustivos de los niveles sanguíneos del fármaco, se hace difícil mantener los niveles ajustados sobre todo en las dos primeras semanas, apareciendo igualmente diferencias estadísticas en cuanto a dosis administrada de tacrolimus (mayor en los expresores), así como en los niveles sanguíneos (menores en los expresores).

Los hallazgos anteriores corroboran, que los pacientes españoles de raza blanca, beneficiarios de un trasplante hepático, con al menos un alelo CYP3A5*1 tienen requerimientos de dosis de tacrolimus más altos que los que no lo tienen. Aunque las diferencias estadísticamente significativas entre expresores (ratio más baja de tacrolimus C_0/D ; $p=0.002$; $n=14$) y no expresores ($n=84$) fueron solamente alcanzadas en el día 7, la consistencia general de los resultados entre expresores y no expresores sugiere fuertemente que los primeros requieren dosis superiores de tacrolimus para alcanzar las concentraciones mínimas terapéuticas.

Esta interpretación es también válida para expresores ($n=14$) y no expresores ($n=74$) en el grupo definido como genotipo de los donantes, es decir, la del hígado trasplantado, aunque la significación estadística de nuevo sólo se logró en una ocasión: por aumento de la dosis ($p=0,031$) y menor proporción de C_0/D ($p=0,019$) en el día 90. El hecho de que esto ocurra mucho más tarde que en el grupo de receptores coincide con la idea de que los niveles de tacrolimus están fuertemente influidos por el polimorfismo CYP3A5 intestinal a principios del periodo postrasplante, pero que el CYP3A5 hepático se vuelve más importante con el tiempo.

En cuanto al gen ABCB1, parece que en nuestra población de estudio, aproximadamente un tercio de la población expresaría de forma homocigota el alelo salvaje (CC, GG) y por lo tanto, la proteína sería funcionante como bomba de expulsión del fármaco. La mayor proporción de individuos se agruparía como heterocigotos (40% aproximadamente) con una proteína no funcionante. La menor parte quedaría reservada para el alelo homocigoto mutante, TT.

En cuanto a la influencia del genotipos ABCB1 en los receptores o donantes sobre las variables de tacrolimus, nuestros resultados no revelaron ninguna asociación significativa entre estos genotipos y los requisitos dosis de tacrolimus y de la relación C_0/D .

A lo largo del de seguimiento los valores C_0/D de tacrolimus en los genotipos "wild-type", con actividad en el receptor P-gp, presenta valores más bajos, frente a los mutados, no activos; tanto para el alelo C3435T, como para sus sinónimos C1236T, G2677T.

En cuanto a la influencia del genotipo ABCB1 en el grupo donante, los resultados obtenidos, como era de esperar, no arrojan ninguna relevancia ni clínica ni estadística, ya que, como se ha dicho, esta proteína no se expresa en el hígado, ni tiene una función directa sobre el mismo. El único interés de estos hallazgos radica en el análisis de la prevalencia de los diversos genotipos discutidos en el apartado anterior.

Hemos visto, respecto al CYP3A5 una repercusión tanto clínica como estadística en lo que a aclaramiento de creatinina se refiere. Los pacientes portadores del gen expresor *1, presentan un deterioro en el aclaramiento de creatinina a lo largo de todo el seguimiento de unos 20-25 ml/min. Esto sugiere, una vez establecido el tratamiento con tacrolimus, que los pacientes expresores, fruto de su metabolismo elevado y de las dosis medias más altas de fármaco, presentan un efecto lesivo sobre las nefronas. Si bien, clínicamente no supondría un grado de insuficiencia renal que requiriese ninguna medida especial, es importante tenerlo en cuenta como marcador de un efecto perjudicial de la sobrexposición al fármaco. Sin embargo, como hemos dicho, estos valores pueden estar influenciado por otras causas como, en este grupo, una filtración glomerular disminuida a día 3 en el grupo expresor. Esto nos haría

pensar en un sesgo al interpretar los resultados, ya que este grupo presentaba una función renal menor ya al comienzo del trasplante.

En relación a la nefrotoxicidad de tacrolimus, influenciado por el citocromo, la proporción de pacientes en cada grupo no permiten identificar una asociación clara basándonos en números absolutos. Sin embargo, la proporción de portadores *1 que desarrollan insuficiencia renal es del 33%, frente a un 12% en el caso de los no expresores (grupo receptor). De nuevo, como se comentó en el apartado anterior, una exposición a dosis medias más altas de tacrolimus, así como un ajuste más complejo para obtener niveles óptimos en sangre, podrían influenciar en este hallazgo. En el grupo de donantes, el efecto es muy similar, motivado por las mismas causas.

En cuanto al receptor intestinal MDR1 y su influencia en el desarrollo de insuficiencia renal, los datos obtenidos son poco significativos con porcentajes de desarrollo de fracaso renal muy similar entre mutantes y salvajes.

Referente a las alteraciones neurológicas para el CYP3A5 en ambos grupos, expresores y no expresores, el porcentaje de aparición de estos síntomas fueron idénticos, con un 33% para ambos. Esto nos permite pensar de forma razonable, que no existe una relación directa entre la expresión del CYP3A5 y el desarrollo de complicaciones neurológicas.

Algo similar ocurre para el ABCB1 en los SNPs 1236 C>T y 3435 C>T, con porcentaje de complicaciones neurológicas parecidas.

Llama la atención que en el caso del SNP 2677 G>T/A hasta un 45% de los mutantes (proteína no eficaz para eliminar el fármaco), frente a un 13%, en los funcionantes, desarrollaron alteraciones neurológicas. Estos resultados se han relacionado con el hecho de que la expresión de esta glicoproteína se asocia con una menor entrada de fármaco al sistema nervioso central, motivada por una mejor barrera hematoencefálica, por lo que los bajos expresores de P-gp serían susceptibles de una mayor neurotoxicidad.

1.5. CONCLUSIONES

Por lo tanto podemos concluir que la prevalencia del CYP3A5 expresor (*1/*3, *1/*1) en pacientes trasplantados hepáticos de raza caucásica en España es de 14%, frente a un 86% de pacientes con un genotipo no expresor (*3/*3). De la misma forma las dosis diarias de tacrolimus necesarias para alcanzar los niveles objetivo son más altas en los receptores que expresan CYP3A5 (CYP3A5*1) y en los que reciben un hígado de donante expresor de (CYP3A5*1) comparado con los homocigotos para el CYP3A5*3/*3. Por otro lado, no existe asociación entre el CYP3A5 y la incidencia de rechazo agudo en los pacientes con trasplante hepático, sin embargo los pacientes expresores del gen CYP3A5*1 desarrollan más precozmente el rechazo agudo, en caso de presentarlo, que los no expresores.

Los polimorfismos del gen ABCB1 no influyen en la biodisponibilidad de tacrolimus en el trasplante hepático. Por lo tanto, tampoco se asocian a la aparición de rechazo agudo. Los pacientes expresores CYP3A5*1, así como los mutantes del gen ABCB1 presentan un deterioro renal más acusado en términos de aclaramiento de creatinina, que los no expresores del gen CYP3A5 y wild-type del gen ABCB1.

El SNP 2677G>T/A mutante homocigoto (TT) predispone a mayor neurotoxicidad por tacrolimus frente a los portadores heterocigotos y no mutados.

2. Introducción

2.1. EVOLUCIÓN HISTÓRICA DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

El primer trasplante hepático (TH) se realizó en 1963 por Thomas Starzl (1), aunque hasta 5 años después, en 1968, no fueron publicados los primeros éxitos (2) en el TH. En los 70 la cirugía del TH se caracterizó por una puesta a punto de la técnica quirúrgica. En Europa, hasta 1980, el número de TH realizados, apenas alcanzaba los 20 (3). Hasta esta fecha existían no más de 10 centros de TH en todo el mundo. A partir de 1980, Starzl (4) publica la mejoría de la supervivencia de los receptores de TH al introducir de ciclosporina y prednisona, surgiendo un renovado interés por el TH.

En junio de 1983 se celebró la primera conferencia de consenso de la “National Institute of Health” (NIH). En esta conferencia se llegó a las siguientes conclusiones que: “el TH es una modalidad terapéutica válida para las enfermedades hepáticas en estadio terminal” (5). Desde entonces hubo una rápida expansión de centros de TH en todo el mundo, de forma que a finales de 1988 se realizaban aproximadamente 1000 TH/año tanto en EE.UU. como en la Unión Europea. En 2012 se contabilizaron unos 143 centros de TH en EE.UU., con similar volumen en Canadá, Europa y Asia, realizándose entre 7.000 y 8.500 TH/año en todo el mundo.

En España actualmente existen 24 centros de TH en adultos y 4 para TH infantil, con un volumen de trasplantes de 1000/año. En Andalucía hay 4 centros de TH de adultos y 1 de infantil, realizando unos 200 trasplantes /año (Datos de la ONT, Memoria anual de la actividad de donación y trasplante 1984-2016) (6).

La evolución histórica del trasplante hepático se ha caracterizado por 4 grandes líneas de actuación:

2.1.1. Desarrollo de la técnica quirúrgica

El inicio del TH coincidió con el avance en técnicas de cirugía vascular por A. Carrel. A pesar de ello, tras este trabajo pionero de Carrel, el desarrollo del TH estuvo en letargo durante más de cincuenta años, hasta que en 1955 C.S. Welch (7) publicó los primeros intentos de TH, utilizado como trasplante auxiliar heterotópico. En el mismo año J.A. Cannon publica su primer TH ortotópico (8). Sin embargo, siendo rigurosos, sólo dos programas desarrollaron el TH experimental: el programa de “P. Bent, Brigham Hospital” (Boston) bajo la dirección de F. Moore y el programa de la “Northwestern University” de Chicago, bajo la dirección de Thomas E. Starzl. Durante este período (1958 a 1963) fue desarrollada y descrita la técnica de la hepatectomía total utilizada en la actualidad. El primer TH en humanos se lleva a cabo en 1963 en un niño de 3 años diagnosticado de atresia biliar, falleciendo por coagulopatía durante el procedimiento (1). Este trágico desenlace condujo al desarrollo del tromboelastograma. El primer TH realizado de forma exitosa en humanos se realizó en 1967, también en un niño, afecto de hepatocarcinoma (2). La sustitución de la solución de Ringer lactato por la de Collins y posteriormente por solución Wisconsin (9,10) para la preservación, permitió que los injertos se pudiesen conservar durante más tiempo. Posteriormente se desarrolló la técnica del piggy-back y del shunt portocava para la preservación de la vena cava y derivación portal en el receptor, siendo posible la enseñanza de la técnica a numerosos cirujanos, con lo que los centros de trasplante proliferaron rápidamente (11). La técnica para la reconstrucción biliar también pasó por

varias fases, concluyendo en que los procedimientos más exitosos eran la colédoco-coledocostomía término-terminal y la colédoco-yeyunostomía en Y de Roux.

2.1.2. Desarrollo de fármacos inmunosupresores

Si bien es cierto que el desarrollo de la técnica quirúrgica fue fundamental para llevar a cabo un TH factible, su existencia hubiera estado limitada si no fuese por el desarrollo conjunto de los inmunosupresores (Tabla 1). Los primeros TH en los años 50 se produjeron sin ningún tipo de inmunosupresión. De modo experimental y con intención de evitar la aparición del rechazo agudo se utilizaron glucocorticoides y radioterapia. A finales de los 50 y principios de los 60, Dameshek y col. (12) introdujeron la 6-mercaptopurina o azatioprina en monoterapia sin éxito. Sin embargo al emplearlos en combinación con glucocorticoides, se obtuvieron los primeros éxitos en el trasplante de riñón. Por otro lado, se descubrió que el empleo de bolos de glucocorticoides revertían el rechazo celular agudo (13). Pronto se descubrió también la dificultad de los rechazos corticorresistentes y la necesidad de empleo de globulina antilinfocítica (ALG) y globulina antitimocítica (ATG) en suero de caballo (14). A pesar de todo, la supervivencia al año no subió por encima del 30% durante los siguientes 15 años. En 1978, Calne introdujo la ciclosporina (CsA), demostrando su gran potencial inmunosupresor aunque a expensas de una gran toxicidad y de un difícil manejo clínico (15).

Tabla 1.-Desarrollo histórico de la inmunosupresión

<1989	>1989
Glucocorticoides Irradiación corporal total 6-mercaptopurina Azatioprina Aza + ciclofosfamida + drenaje conducto torácico Aza + glucocorticoides ALG/ATG Ciclosporina + glucocorticoides	OKT3 Tacrolimus MMF Sirolimus, Everolimus Anti-IL-2R monoclonal (quimérico Basiliximab/humanizado Daclizumab) Otros en investigación: Brequinar, 15-deoxyspergualin, bloqueadores de moléculas adhesión, inhibidores de células presentadoras de antígenos, FK 778, timoglobulina

Más tarde Starzl utilizó la CsA en asociación con corticoides, doblando la tasa de supervivencia al año (4). De esta forma la combinación de CsA + prednisona, y posteriormente, CsA + prednisona + azatioprina fue la combinación con mejores resultados durante más de una década. El desarrollo de los anticuerpos monoclonales permitió la producción de OKT3 (16), sustituyendo a las antiguas ALG y ATG. En 1989, el Tacrolimus (Tac) (17) se introdujo como inmunosupresor en el TH, consiguiendo supervivencias al año del 90%. Por último, se llevó a cabo la introducción fármacos antiproliferativos tales como mofetil micofenolato (MMF) e inhibidores de la m-TOR (sirolimus y everolimus) permitiendo establecer nuevas pautas terapéuticas y avanzar en el tratamiento a largo plazo de los problemas de la inmunosupresión, como son el rechazo crónico, las neoplasias y la nefrotoxicidad, permitiendo adaptar individualmente la pauta inmunosupresora más adecuadas según

sus características clínicas, evolución y/o presencia de complicaciones.

2.1.3. Evolución histórica de la selección de candidatos para trasplante hepático

Los primeros pacientes candidatos a TH eran enfermos con tumores hepáticos muy avanzados o con hepatopatías muy graves, por lo que la morbimortalidad fue muy elevada. Sin embargo, con el empleo de la CsA y los corticoides como terapia inmunosupresora la expectativa de vida mejoró de forma notoria, forzando así una adecuada selección de los enfermos. Muy pronto, las necesidades estimadas de injertos pasaron de 10-15/millón de habitantes a unos 50/millón de habitantes. Así el fin último del TH no fue únicamente la preservación de la vida, sino también su prolongación con una buena calidad. Poco a poco, las indicaciones de TH fueron aumentando hasta recoger la mayoría de las patologías hepáticas admitidas a día de hoy. En contra, la lista de contraindicaciones de TH fue disminuyendo, incrementándose el número de candidatos en lista de espera de forma exponencial. Dado que no ha habido el mismo crecimiento de donantes, en la actualidad, el número de posibles receptores supera el número de donantes ofertados. Existen numerosos estudios sobre factores predictivos de morbimortalidad que intentan definir al enfermo que por su escasa supervivencia no debería incluirse.

2.1.4. Desarrollo de las técnicas de extracción y de preservación hepática

Junto al avance de la técnica quirúrgica, hubo grandes innovaciones en cuanto a la técnica de extracción de órganos, junto a una mejor calidad de la solución de preservación. De la solución con Ringer lactato se pasó a la de Collins y por último a la solución Wisconsin (10). La introducción de la solución de Wisconsin posibilitó el intercambio de órganos entre instituciones distantes, pues al aumentar el tiempo de preservación (12 a 18 horas), un hígado extraído en un hospital podría ser implantado en otro.

En esta época también, se desarrollan los conceptos de muerte encefálica y la aceptación de las extracciones orgánicas múltiples en un mismo donante.

Tabla 2.-Nuevos métodos para aumentar el pool de donantes

- | |
|--|
| <ol style="list-style-type: none">1. Empleo de donantes subóptimos2. Reducción de injertos3. Técnica de split4. Donante vivo5. Donante en asistolia6. Perfusión rápida y extracción en bloque7. Xenotrasplante8. Aplicación de técnicas alternativas que permiten reducir o retrasar la necesidad de trasplante: radiofrecuencia, quimioembolización, alcoholización, resección, TIPS |
|--|

Dado el numero creciente de indicaciones de TH junto a la escasez de donantes obligaron al desarrollo otras técnicas para aumentar el “pool” de donaciones (Tabla 2). Los injertos reducidos posibilitaron el empleo de hígados de donantes adultos en niños (18). El split hizo posible utilizar un injerto en dos receptores (19,20). El empleo de donante vivo ha tenido mucho éxito en países como Japón, ya que el concepto de muerte encefálica no es bien recibido por la sociedad (21). Ésta, unida a la técnica de extracción de órganos en donantes en asistolia podrían ser una medida al bajo número de donantes (22) y al incremento de las listas de espera de muchos hospitales.

2.2. ESTADO ACTUAL DEL TRASPLANTE HEPÁTICO

2.2.1. Indicaciones del trasplante hepático

En España la diferencia entre candidatos a TH y de donantes es de 4/1 (23). El efecto de esta diferencia supone un claro incremento del tiempo en lista de espera y por lo tanto, un empeoramiento de la enfermedad de base y de sus consecuencias en el resto del organismo (24). Por ello, uno de los objetivos primordiales en el proceso de TH, es en primer lugar llevar a cabo una correcta selección de los receptores, quedando definidas por las indicaciones y contraindicaciones, y en segundo lugar estimar el momento idóneo para el TH dentro de la evolución natural de la enfermedad.

Tanto la indicación como las contraindicación al TH son procesos dinámicos sujetos a la evolución de los tratamientos médicos, avances en la técnica quirúrgica, investigación de los procesos etiopatológicos, etc. Esto causa que las indicaciones (Tabla 3) y contraindicaciones de TH (Tabla 6) puedan cambiar entre diferentes centros, quedando reflejada la experiencia personal y el interés investigador de cada programa (Tabla 4).

Clásicamente se han utilizado como indicadores de gravedad de la enfermedad aquellas manifestaciones clínicas que ponen en peligro inminente y a corto plazo la vida del paciente (peritonitis bacteriana espontánea, encefalopatía hepática, ascitis refractaria a diuréticos, coagulopatía, hipoalbuminemia, hiperbilirrubinemia, colangitis recurrente, sangrado por varices esofágicas, síndrome hepatorenal...). También disponemos de los denominados indicadores de calidad de vida, que aunque son incapacitantes, no ponen en peligro inmediato la vida del paciente (fatiga incapacitante, prurito severo, afectación ósea...). Estos indicadores van cobrando cada día más importancia.

Tabla 3.- Indicaciones de TH en la actualidad

1. ENFERMEDADES HEPÁTICAS CRÓNICAS

Enfermedades crónicas hepatocelulares

- Cirrosis hepática virus B y delta
- Cirrosis hepática virus C
- Cirrosis hepática autoinmune
- Cirrosis hepática tóxica
- Cirrosis criptogenética
- Cirrosis alcohólica

Enfermedades hepáticas crónicas colostásicas

- Cirrosis biliar primaria y secundaria
- Colangitis esclerosante primaria
- Atresia de las vías biliares
- Síndrome de Byler
- Síndromes colostásicos familiares

Enfermedades vasculares con afectación crónica avanzada

- Síndrome de Budd-Chiari (déficit de proteínas anticoagulantes...)
- Enfermedad venoclusiva hepática
- Cirrosis de origen cardiaco

2. INSUFICIENCIA HEPÁTICA AGUDA

- Hepatitis B,A,D,E y C
- Drogas: paracetamol, isoniacida, rifampicina...
- Metabólicas: enfermedad de Wilson
- Tóxicos: tetracloruro de carbono (uso industrial) y setas (Amanita Phalloides)
- Idiopáticas
- Hepatitis isquémicas (shock, Budd-Chiari agudo, trombosis portal, arterial, ligadura arterial), esteatosis aguda del embarazo...
- Traumatismos hepáticos o accidentes quirúrgicos

3. ENFERMEDADES METABÓLICAS

- Hemocromatosis
- Enfermedad de Wilson
- Deficiencia de alfa 1-antitripsina
- Hiperoxalosis primaria
- Enfermedades del almacenamiento del glucógeno (tipo I y IV)
- Tirosinemia
- Fibrosis quística
- Hipercolesterolemia familiar homocigota
- Polineuropatía amiloidótica familiar

4. TUMORES HEPÁTICOS PRIMITIVOS O METASTÁSICOS

- Tumores hepáticos benignos (adenomatosis hepática, hiperplasia nodular...)
- Neoplasias primarias de hígado (hepatocarcinoma y hematoma fibrolamelar)
- Colangiocarcinoma
- Hepatoblastoma, hemangioendotelioma epitelial y angiosarcoma

Tabla 4.-Tasa de indicaciones de TH en EEUU vs. España

OPTN/SRTR 2012	ONT 2012
1. Cirrosis enólica (23.9%)	1. Cirrosis alcohólica (30%)
2. Cirrosis por VHC y VHB (30.1% y 2.8%)	2. Cirrosis por VHC y VHB (24.5% y 4.3%)
2. Cirrosis colostática (8.5%)	3. Hepatocarcinoma (17.8%)
3. Hepatitis fulminante (2.1%)	4. Fallo Hepático Agudo (4.7%)
4. Atresia vías biliares (2%)	5. Cirrosis Biliar Primaria (3.3%)
5. Enfermedades metabólicas (1.6%)	6. Enf. Biliares congénitas (3.5%)
6. Hepatocarcinoma (6.9%)	7. Otras: 12%
7. Otras (16.7%)	8. Retrasplante 8.5%
8. Retrasplante 10%	

2.2.1.1. Cirrosis biliar primaria

La cirrosis biliar primaria fue la primera patología que se aceptó como indicación de TH. Es una patología que compromete sobre todo al género femenino fundamentalmente de edad media. Su etiología es desconocida, aunque suele asociarse a fenómenos autoinmunes, sobre todo a los autoanticuerpos antimitocondriales. Histológicamente se trata de una colangitis crónica destructiva no supurativa cuya evolución es hacia la fibrosis portal y cirrosis. Los síntomas presentados son ictericia, prurito y problemas por malabsorción de vitaminas liposolubles y calcio. Posteriormente aparecen los síntomas típicos de la cirrosis. Se ha intentado su tratamiento con multitud de fármacos, siendo el ácido ursodesoxicólico el único que parece afectar en la evolución y morbilidad de la cirrosis (25,26).

2.2.1.2. Colangitis esclerosante primaria

Supone hasta un 8.5% de las indicaciones en EE.UU., siendo la 4ª causa de TH en Europa. En nuestro país las cirrosis colostáticas suponen hasta un 4-5% de las indicaciones. Histológicamente se produce una inflamación crónica y posterior fibrosis de los conductos biliares, fundamentalmente de grueso y mediano calibre, aunque también pueden verse involucrados los de pequeño calibre (interlobares). Esto da lugar a la estenosis y dilataciones de los conductos biliares confiriendo un aspecto arrosariado en las pruebas de imagen. Evoluciona hasta la cirrosis. Es de etiología no conocida. Las manifestaciones clínicas son secundaria a colangitis bacterianas de repetición, síntomas de colostasis crónica y síntomas secundarios a la cirrosis(27).

La colangitis esclerosante primaria se relaciona hasta en un 6-10% de los individuos a colangiocarcinoma, siendo el TH una contraindicación relativa. También se asocia en un 50-75% a colitis ulcerosa, siendo TH una indicación aceptada con mejoría, incluso, de la patología inflamatoria intestinal, sin olvidar que la inmunosupresión eleva el riesgo de padecer cáncer de colon (28) obligando a colonoscopías regulares.

2.2.1.3. Cirrosis vírica

La cirrosis por VHC es una de las indicaciones más frecuentes en nuestro país representando entre el 30-50% (29), aunque en numerosas ocasiones va ligada a otras etiologías: cirrosis enólica, por VHB, hepatocarcinoma, etc.

Teniendo en cuenta que la recidiva del virus en el injerto hepático es universal (portador crónico), provoca lesiones histológicas hasta en el 50% de los injertos y en un 25% el desarrollo de cirrosis, hasta la fecha las posibilidades de detener la evolución de la hepatitis crónica hacia el desarrollo de la cirrosis eran escasas, sin embargo en la actualidad, la introducción de nuevos fármacos antivirales (30,31) como el interferón y ribavirina, boceprevir, telaprevir, sofosbuvir.... para tratar la hepatitis C y abren nuevas expectativas terapéuticas.

Los pacientes trasplantados por VHC presentan una tasa de supervivencia a medio y largo plazo menor que para el resto de indicaciones (32,33,34).

Por otro lado, la cirrosis hepática secundaria a la infección por VHB representa el 8-10% de las indicaciones de TH en España (35).

La cirrosis crónica por VHB es considerada como indicación de TH válida cuando el

HBeAg y el DNA del VHB son negativos por hibridación o PCR. Previamente, la tendencia era la de no trasplantar a aquellos enfermos que tuvieran datos de replicación viral activa dados los malos resultados obtenidos de forma precoz con pérdidas tempranas del injerto. Afortunadamente, la aparición de fármacos que logran negativizar dicha replicación han permitido su inclusión en lista de espera y mejorar los resultados, considerándose actualmente sólo una contraindicación relativa.

Los principales fármacos antivirales empleados son la lamivudina, tenofovir y gammaglobulina que logran la negativización del DNA-VHB en prácticamente la totalidad de los pacientes positivos previamente y garantizar la protección tras el TH.

2.2.1.4. Cirrosis enólica

Supone la segunda etiología en frecuencia en EEUU (24%) (datos de la UNOS) y la primera en nuestro país (30%) (datos del RETH) (6). Sin embargo, esta demostrado que la abstinencia absoluta de alcohol es capaz de frenar la progresión de la cirrosis en un número no desdeñable de pacientes.

Con una cuidadosa selección, sobre todo de la patología extrahepática (cardiomiopatía, malnutrición, daño neurológico), estos pacientes presentan una supervivencia similar a la de los no alcohólicos. Hay que tener en cuenta que la abstinencia inferior a 6 meses, el entorno familiar poco favorable, o el deterioro psicológico, son factores de riesgo para el fracaso terapéutico, así como la patología extrahepática importante, ya sea pancreática neurológica respiratoria, o cardíaca.

2.2.1.5. Hepatitis fulminante

La causa más habitual en España son las hepatitis víricas fundamentalmente la VHB y muy de lejos la A, D, E y C. El paracetamol es el medicamento más frecuente, seguido de la isoniacida y de la rifampicina. Los agentes tóxicos más frecuentes son el tetracloruro de carbono (de uso industrial) y las setas (*Amanita Phalloides*). Menos frecuentes son: las hepatitis isquémicas, las hepatitis metabólicas (enfermedad de Wilson), la esteatosis aguda durante el embarazo, sepsis, etc.

La clínica consiste en ictericia mucocutánea y encefalopatía hepática, siendo el tiempo entre la aparición de la ictericia y el desarrollo de la encefalopatía lo que determinará el pronóstico (36,37). El edema cerebral, las alteraciones de la coagulación, las alteraciones metabólicas, la insuficiencia renal aguda, alteraciones circulatorias o respiratorias, son las complicaciones más frecuentes, encaminadas al fracaso multiorgánico por hipoxia mantenida a corto plazo.

El tratamiento (38) puede ser:

1. Médico: soporte hemodinámico.
2. Soporte temporal: perfusión extracorpórea de la sangre del enfermo a otro hígado o bien de un sistema bioartificial (MARS)
3. Quirúrgico temporal: TH heterotópico y el trasplante de hepatocitos (en fase experimental)
4. Quirúrgico definitivo: el TH ortotópico total o parcial.

Se recogen como factores para la contraindicación de TH en estos casos (39,40):

- Fallo multiorgánico con inestabilidad hemodinámica, enfermedad cardiovascular grave, pancreatitis necrohemorrágica, síndrome de distress respiratorio del adulto.

- Mejoría espontánea de la función hepática.
- Infecciones sistémicas, sobre todo las fúngicas.
- Daño cerebral irreversible.
- PIC>50mmHg o presión de perfusión cerebral <40 durante 2 horas.
- Trombosis portal o mesentérica extensa.

2.2.1.6. Enfermedades metabólica con afectación hepática

En EEUU, la enfermedad metabólica supone el 1.6% de las indicaciones, mientras que en nuestro medio son el 2.7%. Se suelen manifestar en torno a la adolescencia y juventud, y en algunos casos en la edad adulta. En afectos de enfermedades metabólicas con repercusión extrahepática, habría que considerar el trasplante combinado, en ciertos casos.

La *polineuropatía amiloidótica familiar* se produce por la acumulación de una sustancia proteica denominada amiloide. Es un enfermedad hereditaria que afecta al sistema conectivo, especialmente al sistema nervioso periférico, provocando con el paso de los años una neuropatía sensitiva, motora y autonómica. Se indica TH una vez que el paciente desarrolla los primeros síntomas. Además, esta patología permite el empleo del hígado explantado en un subtipo de TH especial denominado TH secuencial o dominó.

La *hemocromatosis* causada por el almacenamiento excesivo de hierro en el organismo, se considera indicación de TH cuando el paciente presenta cirrosis descompensada (similar a las cirrosis alcohólica o víricas) o desarrollen hepatocarcinoma. Sería contraindicación en el caso de prestar cardiomiopatía, enfermedad diabética de pequeño vaso o ateromatosis avanzada.

La *enfermedad de Wilson* se produce por depósito excesivo de cobre. La indicación de TH aparece ante el desarrollo de fallo hepático fulminante, cirrosis descompensada y progresión tras 2-3 meses con quelantes del cobre. En el caso de hepatitis aguda en individuos entre 5 y 45 años, con historia familiar de alteraciones neurológicas, junto a ictericia intensa con hemólisis y cirrosis, debemos sospechar una enfermedad de Wilson, confirmada mediante analítica con ceruloplasmina y fosfatasa alcalina sérica bajas.

El *déficit de alfa 1-antitripsina* requiere una adecuada evaluación de la cirrosis, junto con un examen que descarte la afectación pulmonar grave. Una vez debuta la cirrosis con descompensación, el curso es rápidamente progresivo.

2.2.1.7. Enfermedades vasculares con afectación hepática

El Síndrome de Budd-Chiari (0.5% de las indicaciones) es la patología más frecuente en este grupo. Consiste en la trombosis de las venas suprahepáticas fundamentalmente en el contexto de trastornos de la coagulación (déficit de proteína S o C), procesos hematológicos del tipo mieloproliferativo como la policitemia, etc. La cirrosis de origen cardíaco como en el caso de la pericarditis constrictiva o la cardiopatía valvular grave, causan cirrosis por estasia sanguínea crónica.

2.2.1.8. Tumores hepáticos

1. Tumores hepáticos benignos. Existiría indicación de TH en función del tamaño, localización, riesgo de degeneración siempre que no puedan ser extirpados.

2. Hepatocarcinoma o carcinoma hepatocelular (CHC). El CHC se suele desarrollar sobre hígados cirróticos. Es la tercera causa de TH en nuestro medio, suponiendo casi un 18% a día de hoy (25). Actualmente, se ha llegado a la conclusión de que la cirrosis hepática es un estado preneoplásico, ya sea por el potencial cancerígeno de ciertas infecciones como el VHC y el VHB, o por sobrestimulación dado el estado hiperregenerativo de la cirrosis. Para el manejo del paciente con CHC en lista de espera, contamos con otras armas terapéuticas para el tratamiento del CHC, como son la resección quirúrgica, complementadas con alcoholización, la radiofrecuencia, la quimioembolización arterial o la quimioterapia adyuvante. La ventaja del TH frente al resto de terapias es que no sólo elimina el CHC sino que también resuelve la cirrosis subyacente (41). En la bibliografía, la mayoría de los grupos restringe las indicaciones de TH a enfermos que cumplan los criterios de Milán (tumor único < a 5 cm, o un máximo de tres nódulos < 3 cm, sin afectación vascular, sin invasión capsular, sin enfermedad a distancia) (42). Estas premisas, mantenidas en la actualidad, consideran a aquellos que las cumplan, como pacientes con mejores resultados, tanto de recidiva, como de supervivencia.

3. Colangiocarcinoma (CC). La forma extrahepática es la presentación más habitual, donde se incluyen los tumores del conducto hepático común, de la bifurcación (Tumor de Klastkin), de la vesícula biliar, del conducto cístico y del colédoco; aunque también pueden ser intrahepáticos y perihiliares. La colangitis esclerosante tiene una fuerte asociación con el CC. El tratamiento con mejores resultados consiste en la resección quirúrgica y quimioterapia (5-Fluoracilo/Mitomycin-C, y actualmente Gemcitabina) y radioterapia, con una tasa de recidiva de hasta el 78.5%. El TH ofrece malos resultados en general, si bien puede ofrecer buenas expectativas en pacientes muy seleccionados y con tumores iniciales.

4. Neoplasias metastásicas. Se han publicado resultados con buena supervivencia en algunos tumores neuroendocrinos pancreáticos (gastrinomas, glucagonomas, vipomas, carcinoideas y apudomas), aunque el mejor resultado se presenta en el tumor carcinoide (43,44). En el registro presentado por el hospital Mont Sinaí y en un estudio multicéntrico francés, la supervivencia a los cinco años fue del 36%, llegando a un 69% en el grupo de pacientes con tumor carcinoide (45).

2.2.2. Contraindicaciones al trasplante hepático

Tabla 6.-Contraindicaciones de TH

CONTRAINDICACIONES ABSOLUTAS	FACTORES DE RIESGO
-Cáncer metastásico hepático en otros órganos (excepto tumor carcinoide) -Enfermedad extrahepática mortal a corto plazo -Drogodependencia activa en los últimos 6 meses -Cáncer hepático primario avanzado -Enfermedades activas extrahepáticas incontroladas -SIDA	-Enfermedades asociadas renal, cardíaca o pulmonar avanzadas -Edad mayor de 70 años -Pacientes alcohólicos con un período de abstinencia menor de 6 meses -VIH+, VHB ADN+ -Anomalías anatómicas (trombosis portal, cirugía previa...) -Mal estado nutricional -Causas psicosociales, con entorno social y familiar inadecuado

Nota: las "clásicas" contraindicaciones relativas, actualmente han pasado a denominarse factores de riesgo, dado el avance de la técnica en los últimos años.

2.2.2.1. Enfermedad extrahepática mortal a corto plazo

Las neoplasias extrahepática no operable, el SIDA (excepto tuberculosis), la enfermedad multisistémica irreversible son contraindicaciones universales al TH. Aunque en el caso de enfermedad multiórgano la opción de trasplantes de varios órganos nos obliga a reconsiderar estas contraindicaciones en pacientes seleccionados.

2.2.2.2. Infecciones activas extrahepáticas incontroladas

En general, las infecciones tienen un carácter temporal dejando de ser una contraindicación una vez que la infección está resuelta.

- Tras 48 horas de tratamiento antibiótico la **peritonitis bacteriana espontánea** (PBE) no supone una contraindicación para TH. Hasta un 95% de los cultivos del líquido peritoneal de una PBE se negativizan tras 48 horas de tratamiento antibiótico (46).
- La colangitis aguda retrasará el TH hasta que haya una respuesta clínica al tratamiento, sin bacteriemias durante 48h y ausencia de abscesos o procesos locales hepáticos.
- Los pacientes con PPD+ son tratados de acuerdo con los protocolos existentes para esta. La tuberculosis activa obliga a tratamiento específico al menos dos semanas, e idealmente varios meses antes del TH y continuar con el mismo al menos un año tras el mismo.

2.2.2.3. Pacientes VIH +

Existen terapias antirretrovirales que consiguen frenar la actividad del VIH, disminuir su carga sérica e incluso en algunos casos negativizarla, lo que mejora la expectativa de los pacientes VIH trasplantados. Se ha demostrado que los coinfectados de VIH y VHC presentan una hepatitis rápidamente progresiva a cirrosis, lo que lleva a considerar el TH en estos pacientes algo muy controvertido. La infección por VIH supone un factor de riesgo para TH, pudiéndose incluir en lista a los pacientes que cumplen los siguientes criterios:

- Ausencia de SIDA clínico, excepto tuberculosis.
- Carga viral VIH-1 ARN indetectable a tras tratamiento antiretroviral, o carga detectable sin antirretrovirales, con supresión postrasplante predecible.
- Presentar antes al TH una cifra de CD4 > 100 cel/mm³.
- Abstinencia a drogas ilegales (sobre todo cocaína, heroína) de 2 años como mínimo y de alcohol de 6 meses como mínimo.
- Los criterios aplicables a la población no infectada por el VIH-1.

2.2.2.4. Causas psicosociales

El entorno sociofamiliar no adecuado para cumplir las revisiones en consulta y la toma de fármacos, se puede considerar una causa de contraindicación.

2.2.3. Selección de candidatos a trasplante hepático

El TH debe efectuarse en el momento adecuado, cuando la hepatopatía está suficientemente avanzada pero no tanto para que la repercusión orgánica sea muy grave. El éxito reside en indicar el TH cuando la supervivencia esperable sea claramente superior a la supervivencia si el paciente solo recibe el tratamiento convencional (47).

En 1984 40 varones de cada 100.000 hab y 17 mujeres de cada 100.000 hab, fallecían por una hepatopatía evolucionada o deterioro de una de una hepatopatía crónica. Esta tasa ha tendido a estabilizarse en el caso de las mujeres y a disminuir en el caso de los varones, presentado una tasa de mortalidad en 2012 de 13,6/100.000 hab para las mujeres y 34,6/100.000 hab en el caso de los varones (49). En cuanto a la edad, analizándola por grupos etarios, se observa claramente un incremento de la mortalidad a mayor edad.

Existen entidades nosológicas, que en si mismas, ofrecen unas expectativas de supervivencia limitadas:

- El desarrollo de **ascitis refractaria** al tratamiento habitual, junto a los siguientes indicadores, suponen una tasa de supervivencia menor al 50% a los 2 años, con una mortalidad al año del 50-80% (50,51). Indicadores de mal pronóstico: alteración en la función renal (síndrome hepatorenal, hiponatremia <133mEq/L, disminución de la excreción de sodio <2mEq/día, disminución de la aclaramiento de agua libre <6mL/min), peritonitis bacteriana espontánea previa, hipotensión <85mmHg, incremento de la renina plasmática, albuminemia <2.8g/dL, mal estado nutricional y ausencia de hepatomegalia.
- La aparición de **encefalopatía hepática aguda** se asocia a una supervivencia por debajo del 30% a los 3 años (52,53). Si además, se hace refractaria al manejo conservador con dieta, antibióticos y laxantes, la mortalidad asciende hasta un 40% según las series. No debemos confundir esta situación a la presencia de encefalopatía crónica, con la cual se puede vivir muchos años, aunque el deterioro en la calidad de vida hace que la indicación de TH se lleve a cabo con independencia del pronóstico a corto plazo.
- Una vez que ocurre el primer **sangrado por varices esofágicas**, el riesgo de recurrencia del mismo es de un 70% en los dos años siguientes, confiriendo una mortalidad del 30-50% en cada episodio. La clasificación de Child modificada tiene una relación muy estrecha con la probabilidad de supervivencia tras uno de estos episodios (54).

2.2.3.1. Modelos predictivos más utilizados en las hepatopatías parenquimatosas crónicas

1. CHILD-PUGH. Sistema de estadificación usado para evaluar el pronóstico de una enfermedad hepática crónica, principalmente la cirrosis. Aunque originalmente se usó para predecir la probable mortalidad asociada a la cirugía, se emplea actualmente para determinar el pronóstico y la necesidad de un trasplante de hígado. La indicación de TH se establece a partir del grado B o C.

2. CHILD-PUGH MODIFICADA. Agrupa las mismas variables de la clasificación tradicional de Child, pero añade la desnutrición, las varices esofágicas y el síndrome hepatorenal (SHR) (Tabla 7).

Tabla 7.-Clasificación Child-Pugh modificada

	1	2	3	4
<i>Ascitis</i>	No	Tratada	Refractaria	+SHR
<i>Encefalopatía</i>	No	I-II	II-IV	Crónica
<i>Desnutrición</i>	No	Leve	Moderada	Grave
<i>Albúmina</i>	>3.5	3.5-3	2.9-2	<2
<i>Bilirrubina</i>	<2	2-3	3-10	>10
<i>Protrombina</i>	>60	60-50%	49-40%	<40%
<i>Varices</i>	IV	HDA-LAMG	HDA-Varicosa	

La *desnutrición* no se valora por parámetros bioquímicos ni inmunitarios, dado que están alterados por la propia hepatopatía, por lo tanto se recurre a una relación entre la creatinina en orina de 24h (mg), con altura (cm), ponderada en la siguiente tabla:

	Normal	Leve	Moderada	Grave
<i>Hombres</i>	10.5-9.5	9.5-8.4	8.4-7.4	<7.4
<i>Mujeres</i>	5.8-4.8	4.8-3.7	3.7-2.7	<2.7

La indicación de TH se establecería en función del puntaje obtenido tras la suma de los diferentes signos y síntomas:

GRADO A (10-23 puntos): indicación de TH.

GRADO B (<10 puntos): no indicación salvo CHC, ascitis refractaria al tratamiento, HDA incontrolable.

GRADO C (incluidos en lista activa): pueden presentar contraindicación relativa "momentánea" por sepsis o por PBE.

GRADO D (>23 puntos): contraindicación absoluta.

3. UNOS. Esta establecido que el estado preTH va a marcar la supervivencia posterior del paciente (32). La clasificación más utilizada se puede resumir en la siguiente tabla (Tabla 8):

Tabla 8. -Clasificación UNOS

UNOS-IV	Pacientes en domicilio
UNOS-III	Pacientes en sala de hospitalización convencional.
UNOS-II	Pacientes en UCI.
UNOS-I	Pacientes en UCI en urgencia 0.

De la misma forma, hay una relación directa entre el coste TH y el estado previo al mismo (55). Hasta un 80% de los pacientes que esperan un hígado, ingresados en UCI, desarrollan fracaso multiorgánico, sin embargo es muy infrecuente que esto ocurra en pacientes que esperan en su domicilio. Este fracaso multiorgánico, además aumenta el coste del TH al doble, y presenta una tasa de mortalidad del 42% (56).

4. MELD (Model for end-stage liver disease). Este baremo, inicialmente utilizado para predecir la mortalidad postcirugía en pacientes portadores de TIPS, se utiliza como un predictor del riesgo de mortalidad del paciente en lista de espera de un trasplante hepático. La puntuación se obtiene mediante una ecuación que incluye el INR (internacional normalized ratio), la bilirrubina total y la creatinina (48) (Tabla 8):

Tabla 8.-Fórmula MELD

$$\text{MELD} = 3.78[\text{Ln bilirrubina (mg/dL)}] + 11.2[\text{Ln INR}] + 9.57[\text{Ln creatinina (mg/dL)}] + 6.43$$

Tras el cálculo, se multiplica por 10 y se redondea al número entero más próximo. Se indica el trasplante para valores de MELD mayores de 15 puntos.

Tabla 9.-Mortalidad porcentual a los 3 meses según MELD.

40 ó más	71,3%
30-39	52,6%
20-29	19,6%
10-19	6,0%
Menos de 9	1,9%

2.2.3.2. Screening básico a pacientes candidatos a trasplante hepático

La decisión final de indicar el TH debe llevarse a cabo por un equipo multidisciplinar que involucre a hepatólogos, cirujanos, anestesistas, infectólogos, patólogos salud mental, etc.

1. Es fundamental el registro de *antecedentes personales*, especialmente de la esfera vascular (ángor, claudicación) y pulmonar.

2. En la *exploración física* hay que prestar especial interés por los signos cardiacos y vasculares (soplos precordiales, carotídeos, abdominales o inguinales,

signos de vasculopatía), así como signos de patología pulmonar (arañas vasculares, dedos en palillo de tambor, cianosis)

3. El *estudio básico* debe incluir las siguientes valoraciones:

- Analítica: hemograma, coagulación, bioquímica con función hepática y renal completa y gasometría arterial.
- Serologías: VHB, VHC, VIH, CMV, VHS, VEB.
- Si HBsAg (+): HBeAg, anti-HBe, VHB-DNA, VHD.
- Serológica bacteriana-fúngica-protozoaria: sífilis, toxoplasma, PPD.
- Pruebas inmunológicas: grupo sanguíneo ABO y Rh, y anticuerpos antihemáticos y anticuerpos circulantes.
- ECG, Rx de tórax y abdomen.
- Ecografía doppler abdominal.
- Endoscopia.
- Pruebas funcionales respiratorias.
- Ecocardiografía
- Estudio psicológico

2.2.3.3. Estudios especiales

Estos estudios no son rutinarios ni imprescindibles para todo los candidatos a TH, pero si el comité lo considera oportuno se deben llevar a cabo, con el fin de rentabilizar el TH:

1. Biopsia hepática (de forma excepcional, ya que el estudio vascular se realiza con angioTC o angioRMN y sabes que los parámetros radiológicos permiten definir en el 97% las LOEs)

2. Arteriografía de tronco celíaco y arteria mesentérica superior, con retorno venoso, sobre todo si se sospecha trombosis vascular u otras anomalías.

3. TC, Angio-TC, RNM. Si bien no se realizan de rutina cada vez están tomando más protagonismo a la hora de detectar incidentalomas.

4. Examen ginecológico en mujeres.

2.2.4. Selección de donantes

La ampliación de los criterios de aceptación del donante conlleva asociado un mayor riesgo de disfunción primaria del injerto. Si bien las indicaciones son cada vez más amplias, las contraindicaciones a la aceptación de donantes son más laxas, fundamentalmente en cuanto a contraindicaciones relativas.

Contraindicaciones absolutas

- Neoplasias malignas, excepto tumores primarios del SNC o carcinoma basocelular.
- Arterioesclerosis avanzada.
- Colagenosis con afectación hepática (p. Ej. Lupus)
- Sepsis.
- Enfermedades hematológicas: hemofilia, trombocitopenia, anemia drepanocítica y hemoglobinopatías.
- Enfermedades sistémicas y neurológicas de posible etiología viral.
- SIDA, HBsAg +.

Donantes de riesgo

- Consumo de fármacos hepatotóxicos.
- Drogodependencia o alcoholismo.
- Enfermedades de transmisión sexual.
- Estancia en UCI superior a una semana.
- Inestabilidad hemodinámica con paro cardíaco u oligoanuria.
- Fármacos vasoactivos a dosis elevadas.
- AntiVHC+

2.3. INMUNOSUPRESIÓN EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

Los protocolos de inmunosupresión han ido variando desde el primer TH. Sin embargo, todos tienen en común una primera fase de inducción, con dosis altas de inmunosupresores, y una fase de mantenimientos, con dosis más estables y mucho menores. Es por ello, que se hace imprescindible la monitorización de los niveles plasmáticos de inmunosupresor, ya que el exceso es tan peligrosos como el defecto. El equilibrio entre estos dos extremos permite prevenir tanto el rechazo, por defecto de dosis, como infecciones o alteraciones en otros órganos por exceso, por lo que el manejo de estos medicamentos deben estar reservados a profesionales expertos en su administración y seguimiento.

2.3.1. Antecedentes

La supervivencia de los pacientes receptores de un TH ha mejorado significativamente durante la última década, tanto por la mejora de las técnicas quirúrgicas, como por la incorporación de nuevos inmunosupresores y la gran experiencia acumulada por los equipos de trasplante. La tasa de supervivencia tras el primer año postrasplante se sitúa en cifras superiores al 80% según los datos del registro europeo (57), (que contrasta significativamente con el 44% reportado por este mismo registro en 1987) (58) y, en el momento actual, el mayor reto consiste en mejorar la evolución a largo plazo del órgano trasplantado y, por ende, la del paciente.

Las principales complicaciones a largo plazo relacionadas con el injerto hepático son la recidiva de la enfermedad primaria, principalmente en el caso de las hepatitis, el rechazo crónico o el rechazo agudo refractario. Y entre los factores no relacionados con el injerto son los eventos cardiovasculares y las neoplasias de novo las que suponen mayor impacto en la supervivencia del pacientes trasplantado de hígado.

La inadecuada exposición a los agentes inmunosupresores, tanto por sobreexposición, como por infraexposición, constituye un elemento que impacta de forma muy significativa en ambos grupos de factores: en el TH, las tasas de rechazo agudo celular (RAC) todavía se encuentran en cifras que oscilan entre el 25 y el 35% (59), la infraexposición aumenta este riesgo de rechazo. El RAC habitualmente sucede en las primeras semanas tras el trasplante, con un pico de aparición al final de la primera semana (62), lo que llama la atención sobre la relevancia de conseguir niveles terapéuticos adecuados en los primeros días postrasplante. Por otra parte, la aparición de episodios de rechazo agudo tardío o de rechazo crónico (habitualmente como consecuencia de un rechazo agudo no controlado) suele ocurrir si el tratamiento inmunosupresor no se maneja de forma adecuada, o bien por un cumplimiento inadecuado por parte de los pacientes.

Por lo que respecta a la sobreinmunosupresión, ésta parece estar relacionada, además de con el conocido aumento del riesgo de infecciones y neoplasias de novo, con el desarrollo de insuficiencia renal crónica (un problema que afecta a casi el 20% de los pacientes trasplantados hepáticos a los 5 años de seguimiento) (60), además de con una mayor toxicidad metabólica dosis-dependiente (61,65) y con un incremento en la tasa y agresividad de las recidivas virales, entre las que hay que destacar la recidiva de la infección por el virus de la hepatitis C (VHC) (62).

La cinética de los agentes inmunosupresores es muy variable intra e

interindividualmente, influyendo en ello variables demográficas y genéticas, variables clínicas fisiológicas y patológicas, así como las dependientes de interacciones medicamentosas. La variabilidad en la farmacocinética de los inmunosupresores constituye un factor crítico en el manejo del tratamiento inmunosupresor, especialmente en el postrasplante inmediato. Durante años, la monitorización terapéutica de los fármacos, principalmente de los ICN, ha sido la estrategia utilizada para optimizar el ajuste de los niveles sanguíneos de los ICN, pero tiene la gran limitación de que, al realizarse después de iniciado el tratamiento, no tiene ningún valor predictivo en el momento crítico del inicio del tratamiento, por lo que no ayuda a determinar la dosis óptima de inicio de los inmunosupresores. Las dosis iniciales se basan generalmente en el peso del paciente o son dosis fijas predefinidas, que posteriormente se ajustan para conseguir el rango de niveles requerido por protocolo y pueden variar según las características del donante y del receptor, así como según la terapia inmunosupresora concomitante empleada. Dado que esta pauta de utilización de los agentes inmunosupresores no predice la exposición que un determinado paciente conseguirá en el postrasplante inmediato, es frecuente que éste no alcance rápidamente tras el trasplante unos niveles de fármaco dentro de una ventana terapéutica eficaz y segura, con el riesgo subsiguiente de infraexposición (pérdida de eficacia) o sobreexposición (toxicidad).

La existencia de polimorfismos en los genes que codifican por los enzimas de biotransformación de estos fármacos y sus proteínas transportadoras, suponen un factor crítico a la hora de justificar la variabilidad farmacocinética interindividual.

2.3.2. Farmacocinética del Tacrolimus y MMF

2.3.2.1. Farmacocinética del Tacrolimus

Tac es un macrólido lactona cuya actividad inmunosupresora se basa en la inhibición de la calcineurina. Para inhibir la calcineurina, Tac ha de unirse a una inmunofilina o receptor citoplasmático denominado FK *binding protein-12* (FKBP-12) y es el complejo Tac-FKBP-12 el que, tras su unión a la calcineurina, determina su inhibición (69).

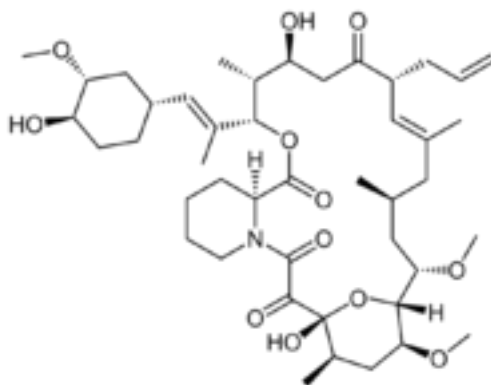


Figura 1.- Estructura química del tacrolimus

Una vez administrado por vía oral Tac se absorbe en las porciones proximales del intestino delgado (70). La absorción de Tac es en general pobre, con una biodisponibilidad oral media del 20-25%, aunque sometida a importantes variaciones

interindividuales, con un rango de 5-93% (71,72). Una vez que Tac penetra en el enterocito está sometido al efecto de la P-glicoproteína, una bomba que como se comentará más adelante, está implicada en la expulsión del fármaco desde la célula a la luz intestinal. La absorción no depende del flujo biliar ni de la integridad de la mucosa intestinal.

Tac se distribuye ampliamente por el organismo, y su metabolización depende del citocromo P-450, fundamentalmente de su isoenzima CYP3A4 (80,81), que presenta unos polimorfismos que se relacionan con diferentes grados de expresión y por tanto de actividad enzimática.

El aclaramiento de Tac es lento, con una semivida de eliminación de aproximadamente 40 horas (73). Como consecuencia, y teniendo en cuenta además la amplia distribución tisular del fármaco, los cambios en la dosificación requieren varios días hasta alcanzar valores estables en sangre.

2.3.2.2. Farmacocinética del MMF

MMF es un profármaco que, tras su administración oral, se hidroliza rápidamente a ácido micofenólico (MPA), su metabolito activo, un potente inhibidor de la inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH) a la que inhibe de forma selectiva y reversible, lo que provoca la inhibición de la ruta *de novo* de la síntesis de purina en los linfocito B y T (74).

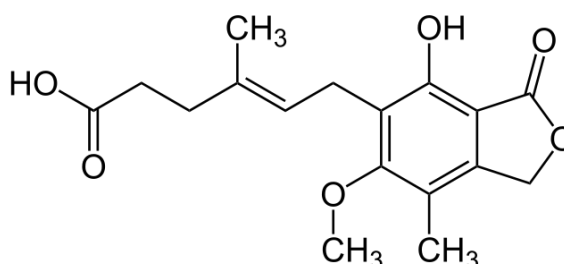


Figura 2.- Estructura química del ácido micofenólico

MPA se metaboliza principalmente por glucuronidación en el grupo hidroxilo fenólico, formándose el conjugado 7-O-glucurónido (MPAG), un metabolito inactivo. La enzima responsable de la conversión de MPA a MPAG, que tiene lugar preferentemente en el tracto gastrointestinal, el hígado y posiblemente en el riñón, es la UDP-glucurónido-transferasa.

MPAG sufre una importante circulación enterohepática: una fracción del metabolito sintetizado en el hígado se excreta en la bilis y llega al intestino, donde puede sufrir una deconjugación por parte de la glucuronidasa de la flora intestinal, que provoca una nueva síntesis de MPA, que a su vez es reabsorbido. El porcentaje de MPA reabsorbido a partir de la circulación enterohepática supone de media un 37% sobre el metabolito activo total y en la curva concentración-tiempo, este MPA reabsorbido se identifica como un pico de concentración secundario (75).

Además de MPAG, también se han identificado en el plasma de receptores de trasplante hepático, renal y cardíaco tratados con MMF otros dos metabolitos menores del MPA (76): 7-O-glucósido fenólico (identificado como M-1) y AcMPAG (identificado como M-2).

2.3.3. Efectos adversos de la terapia inmunosupresora

Como hemos comentado, existe una amplia variabilidad tanto intraindividual como interindividual, que afecta a la farmacocinética de estos fármacos, que unido a su estrecho margen terapéutico hacen precisa la monitorización sanguínea para ajustar las dosis y evitar efectos indeseables. El mejor método para ello es la medición del área bajo la curva, ya que representa la exposición total al principio activo, y presenta buena correlación con la evolución de los paciente, tanto en lo relativo a efectos por infraexposición (rechazo agudo) como por exceso (efectos adversos). Si bien, esta medición es muy dificultosa y se consensua el seguimiento por muestras de sangre puntuales, de acuerdo a rangos establecidos para cada fármaco, aumentando o disminuyendo la dosis dentro este margen de seguridad, y según los requerimientos (tabla 10) (143).

Tabla 10.- Rango terapéutico de algunos de los inmunosupresores, en función del órgano trasplantado y del tiempo transcurrido.

CICLOSPORINA A			
C2 (ng/ml)	0-6 meses	6-12 meses	> 1 año
Hígado	1000	800	600
Riñón			
1er mes	1700	-	-
2º mes	1500	-	-
3º-4º mes	1200	-	-
5º-6º mes	1000	-	-
		800	800
C0 (ng/ml)	HPLC	FPIA	EMIT
	Inducción		
Riñón	150-225	250-375	125-200
Hígado	225-300	250-313 (300-375*)	125-200*
Corazón	250-325	300-400	275-374
	Mantenimiento		
Riñón	100-150	100-250	75-150
Hígado	100-150 (100-150*)	135-200 (150-250*)	75-150*
Corazón	125-175	150-250	150-250
TACROLIMUS			
	1-4 semanas	1-12 meses	>12 meses
Hígado	15-20	8-12	5-10
	1 semana- 6 meses	6-12 meses	>12 meses
Riñón	10-15	8-12	5-10
	Inicial	Mantenimiento	
Corazón	10-18	8-15	
ÁCIDO MICOFENÓLICO			
	C0	ABC (mgxh/l)	
Micofenolato de mofetilo	1-3,5	35-70 (30-60) según técnica de análisis	
Micofenolato sódico	No se ha establecido rango terapéutico		

Nota: (C0: concentración predosis; C2: concentración a las 2 horas; ABC: área bajo la curva; *: si doble terapia; HPLC: High-performance liquid chromatography; FPIA: Fluorescence Polarization ImmunoAssay; EMIT: Inmunoanálisis de multiplicación enzimática)

2.3.3.1. Tacrolimus y ciclosporina

No existen aún niveles establecidos como dosis óptimas en el empleo en monoterapia para estos fármacos. El mecanismo por el cual, ese grupo farmacológico, presenta multitud de efectos adversos, aún no es bien conocido. Se intenta explicar, por la ubicuidad de la inmunofilina y la calcineurina, y las múltiples funciones que desempeñan (144).

Tanto CsA como Tac pueden producir efectos adversos graves, generalmente dosis-dependientes. Destaca la presencia de **nefrotoxicidad** (144, 145), en relación con la dosis administrada, que puede contraindicar el uso de estos fármacos, y que desde luego contraindican su combinación. Esta nefrotoxicidad aparece hasta en el 25-37% de los pacientes, pudiendo hacerse crónica en el 15%. Esta toxicidad renal se ve potenciada cuando se combina con otros fármacos nefrotóxicos como los aminoglucósidos, anfotericina B, trimetoprim, IECAs, etc.

En casi el 50% de los pacientes en tratamiento con CsA o Tac pueden desarrollar **hipertensión arterial** (HTA)(144), provocada por retención de sodio y líquidos, que se suele comportar como buena respondedora a diuréticos y betabloqueantes. La HTA más refractaria y grave se suele asociar al empleo de CsA.

Otros efectos adversos habituales son los **síntomas neurológicos** (145), que aparecen sobre todo con la administración de Tac, siendo los más frecuentes el temblor distal y las parestesias; aunque en algunas ocasiones puede aparecer cefalea, insomnio e incluso convulsiones.

Ambos, reducen la secreción endocrina del páncreas, con la consecuente disminución de la insulina, desarrollando en muchos casos **diabetes mellitus**, en especial al emplear Tac. También se produce una alteración en el metabolismo lipídico, provocando **hipercolesterolemia e hipertrigliceridemia** sobre todo con la CsA. En muchas ocasiones el empleo de CsA desarrolla **hiperpotasemia e hipomagnesemia**. También se han descrito **manifestaciones gastrointestinales**, tales como diarrea, y elevación de las enzimas hepáticas. Es un efecto adverso raro pero típico de la CsA el desarrollo de **hipertricosis e hiperplasia gingival**, que si bien no son graves, provocan un deterioro psicológico importante en el paciente (143,144,145)

Además, al suprimir parte de la respuesta inmune, provoca un aumento de las **infecciones**, de las **neoplasias** (sobre todo linfomas B, en relación con el virus de Epstein Barr) y de **tumores cutáneos** (carcinomas y sarcoma de Kaposi).

2.3.3.2. Corticosteroides

La actividad inmunosupresora de los corticoides se traduce de su efecto sobre la función de los linfocitos y macrófagos en cuanto a la quimiotaxis, procesamiento y presentación de antígenos, síntesis y liberación de IL-1 y otras citoquinas, que a su vez activan a los linfocitos. Interfiere de esta forma con el linfocito T helper y en su capacidad de producir IL-2, impidiendo la propagación de la respuesta inmune. Sin embargo, a pesar de limitar la liberación de IL-1 que estimula a los linfocitos B, los corticoides tienen poco efecto en cuanto a la producción de anticuerpos.

Los corticoides producen múltiples efectos sobre el metabolismo de gran variedad de tejidos del organismo, tales como **intolerancia hidrónica, retención hidrosalina, HTA, atrofia muscular y osteoporosis**. Además, el uso crónico y a altas dosis, pueden generar un síndrome de **Cushing**. Por ello, la tendencia actual es la disminución de la dosis, llegando incluso a suspenderlos,

gracias a la asociación con otros inmunosupresores.

Otro efecto importante es la **alteración del desarrollo** en niños y jóvenes. Es por ello, que se prefiere prescindir de este grupo farmacológico en menores de 16 años.

2.3.3.3. Ácido micofenólico

El MMF, en sus dos formas de administración, suele ser un fármaco bien tolerado, aunque puede desarrollar **gastritis, vómitos y náuseas, anorexia, meteorismo** en relación a la dosis administrada.

Ocasionalmente, pueden provocar **leucopenia, anemia y pancitopenia**, resultado de la inhibición de la síntesis de las purinas (115, 116, 117)

2.3.3.4. Otros inmunosupresores

- **Inhibidores de la mTOR:** hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, mielosupresión, alteraciones gastrointestinales, hepatotoxicidad, ototoxicidad, pancreatitis, reacciones psicóticas.
- **Azatioprina:** mielotoxicidad, hepatitis, urticaria.
- **Anticuerpos anti CD3/ anti CD25:** fiebre, escalofríos, edema pulmonar (en las primeras horas), hipo-hipertensión, diarreas, artromialgias, neoplasias e infecciones

2.3.4. Rechazo agudo celular en el trasplante hepático

El rechazo es la causa más frecuente de disfunción primaria del injerto en el TH. El estado inmunológico propio de cada paciente determina el desarrollo del rechazo.

El RAC suele ocurrir en las primeras semanas y meses postrasplante, si bien “agudo” no hace referencia al tiempo transcurrido desde el implante, sino a los hallazgos anatomopatológicos y la reversibilidad del cuadro. Presenta una incidencia del 12-19% (hasta 80% si se realiza biopsia en la primera semana) (145). Su detección precoz es fundamental por el riesgo que supone para el injerto hepático. La máxima incidencia ocurre generalmente en las primeras 6 semanas.

La presentación clínica del RAC es muy inespecífica. Los síntomas varían desde su ausencia, hasta fiebre elevada, astenia y dolor en hipocondrio derecho. Puede existir un descenso en la excreción de la bilis o un cambio en su fluidez, por lo que las bilirrubina y las enzimas de colestasis (GGT, FA) son las primeras en alterarse. En cambio, en los estadios iniciales, las transaminasas no suelen presentar un gran ascenso. No es rara la presencia de eosinofilia y leucocitosis.

La histología hepática sigue siendo el gold-estándar para el diagnóstico de rechazo. Existe un documento de consenso internacional donde se recomienda un examen de al menos dos secciones a dos niveles diferentes, obtenidas mediante biopsia con aguja gruesa, que contenga al menos cinco tríadas portales observadas con tinción de hematoxilina y eosina (145).

Están bien establecidos los criterios histopatológicos para definir RAC como “inflamación del aloinjerto, provocada por una disparidad genética entre el donante y el receptor, lo que afecta principalmente a las vías biliares y el endotelio vascular interlobulillar, incluyendo las ramas del territorio portal”. El RAC es un fenómeno reversible, en la mayoría de los casos, con tratamiento inmunosupresor adecuado (146). Existe una triada histológica típica del RAC; se deben cumplir al menos dos de los tres criterios para llegar a un diagnóstico:

- reacción inflamatoria pleomórfica de los espacios portales (con presencia de linfocitos activados, polimorfonucleares, y a veces eosinófilos).
- cambios inflamatorios y displásicos en el epitelio biliar.
- endotelitis subendotelial de ramas venosas portales y/o venas centrolobulillares.

La alteración del epitelio biliar es la que más repercusión funcional va a tener, sin embargo es muy inespecífica para el RAC. Sin embargo, la endotelitis si es muy específica.

El patólogo no suele encontrar dificultades par el diagnostico del RAC cuando este se da en el primer mes postTH, en cambio, el diagnostico se dificulta si ocurre más allá, ya que el desarrollo de endotelitis disminuye con el paso del tiempo. En estos casos, el diagnostico es dificultoso ya que las características histológicas son muy similares al de la reinfección por VHC y con la recidiva de otras etiología autoinmunes, dado que en ambos casos existe daño del epitelio biliar y procesos inflamatorios periportales.

El inicio del tratamiento del RAC, va a depender de varios factores. En primer lugar, el tiempo desde el TH; la aparición de un RAC grave o moderado dentro de las primeras 4 semanas postTH suelen tener un pronostico favorable, frente al RAC tardío. En segundo lugar, la gravedad histológica; los episodios graves y la mayor parte de los moderados deben recibir tratamiento. En cambio, el RAC leve no requerir

un tratamiento activo, resolviéndose con la optimización de la medicación inmunosupresora de base. Por último, hay que tener en cuenta las alteraciones bioquímicas; de esta forma, un RAC diagnosticado por biopsias rutinarias sin alteración analítica, difícilmente va a tener repercusión sobre el pronóstico del injerto, y por lo tanto no requerirá tratamiento. No hay que olvidar, que en presencia del VHC, hay que sopesar la administración de dosis altas de corticosteroides, dado el riesgo de aumentar la agresividad de la infección latente.

La base del tratamiento del RAC continúa siendo los corticosteroides a altas dosis. Su efectividad está basada en el potente efecto modulador de la respuesta inmune que provocan a distintos niveles. La pauta habitual consiste en administrar 1 gr. de metilprednisolona intravenosa durante 3 días consecutivos. Algunos grupos consideran una mejor opción utilizar dosis menores (500 mg/día durante tres días consecutivos) o corticoides por vía oral (prednisolona 100-200 mg al día durante tres días). Se considera que el tratamiento está siendo efectivo cuando las pruebas bioquímicas tienden a la normalidad, no siendo necesaria una biopsia de control. Estos medicamentos resuelven hasta el 90% de los RAC precoces (primeras 4 semanas) y entre el 50-70% de los RAC tardíos (148). Si tras 3 gr. de corticoides no existe una mejoría analítica, estaría indicada la realización de una biopsia que confirme el RAC y descarte otras etiologías de disfunción del injerto hepático. Ante la confirmación de RAC persistente se permite realizar un segundo ciclo de 3gr. de corticoides o bien cambiar la terapia de inmunosupresor.

El tacrolimus queda reservado para el tratamiento del RAC corticorresistente, evitando así el uso de anticuerpos monoclonales como en el pasado. Incluso, algunos grupos consideran al tacrolimus el fármaco de primera línea para el RAC, sobre todo para el leve, a fin de evitar las altas dosis de corticoides y sus efectos indeseables. La pauta de Tac va a depender del inmunosupresor de base que tome el paciente. Si toma CsA, se suspenderá y comenzará con Tac a dosis de 0.10mg/kg/día, en dos tomas diarias, ajustable posteriormente según los niveles sanguíneos y de la evolución del RAC. Si el paciente tomaba ya Tac, se incrementarán 1-2 mg cada dos días hasta que las bioquímicas hepáticas comiencen a mejorar o se alcancen niveles próximos a 15-20ng/ml.

En el pasado se empleaban anticuerpos tipo OKT3, que quedaban reservados para aquellos casos de RAC que no respondían a las terapias anteriores. Estos fármacos actúan sobre el complejo CD3 de la membrana de los linfocitos inactivando esta proteína, inhibiendo consecuentemente la activación de los linfocitos T CD8 (citotóxicos). La dosis empleada es de 5mg/día (2,5 mg/día si el peso es inferior a 30 kg) durante 10-14 días, en infusión lenta durante 5 minutos. Hay que asociar 500mg de metilprednisolona 1-4h antes de la primera y segunda dosis de OKT3. Además hay que administrar también un antihistamínico y 500mg de paracetamol 1h antes. Se debe indicar una profilaxis contra el citomegalovirus con ganciclovir en todos los pacientes expuestos a OKT3. Debe evitarse su uso en paciente con insuficiencia cardíaca, con historia de convulsiones, en hipersensibilidad a derivados murinos o que ya hayan recibido OKT3 en otra ocasión.

Se ha demostrado que tan solo el 17% de los RAC histológicos son clínicamente relevantes (147). La existencia de RAC se relaciona, obviamente, con un defecto en la inmunosupresión y a la realización de biopsias hepáticas de forma sistemática, que permitiría el diagnóstico de lesiones compatibles con RAC sin manifestaciones clínicas ni analíticas en muchos casos.

El grado histológico de rechazo fue analizado y clasificado por Banff (145) y se aplica sólo al rechazo agudo de tipo celular. El rechazo predominantemente humoral (por ejemplo, en casos de incompatibilidad de grupo sanguíneo ABO) y el rechazo

crónico no están incluidos en esta clasificación. Deben observarse los aspectos siguientes, antes de la aplicación de este sistema:

En primer lugar, debe evaluarse la biopsia para comprobar su idoneidad. En general, al menos deben presentarse cuatro tríadas. Sin embargo, pueden estar presentes hallazgos diagnósticos, incluso cuando se identifican menos de cuatro tríadas. Por consiguiente, la idoneidad debe determinarse según el juicio del patólogo que informe.

Cada biopsia debe clasificarse según la presencia o ausencia de rechazo agudo, basándose en los criterios expuestos en la Tabla 11. Después, deben puntuarse los hallazgos histopatológicos individuales enumerados en la Tabla 12 hasta llegar a un índice de actividad de rechazo para cada biopsia.

No es infrecuente que en una biopsia esté presente más de un proceso patológico. Por ejemplo, inmediatamente tras el trasplante, pueden observarse juntos lesión de conservación y rechazo agudo. Cuando en una biopsia se produce más de un proceso patológico, el patólogo debe enumerar primero la que considere más importante, seguida por la siguiente más importante, y así sucesivamente.

Tabla 11.- Clasificación del rechazo agudo celular del aloinjerto de hígado

Evaluación global	Criterios
Ausencia de rechazo	Ausencia de infiltrado o inflamación relacionado con una causa que no es rechazo (por ejemplo, hepatitis)
Indeterminado	Infiltrado inflamatorio portal que no cumple los criterios para el diagnóstico de rechazo agudo (véase "leve", a continuación)
Leve	Infiltrado de rechazo en una minoría de tríadas, que generalmente es leve, y está confinado en los espacios portales más, al menos, uno de los siguientes: 1. Lesión clara del conducto biliar o 2. Inflamación subendotelial de la vénula hepática o portal.
Moderado	Igual que antes, infiltrado de rechazo, que se extiende a la mayoría o a todas las tríadas.
Intenso	Igual que para la moderada, con extensión a las áreas periportales e inflamación perivenular de moderada a grave que se extiende al interior del parénquima hepático y que está asociada con necrosis de hepatocitos perivenulares.

Tabla 12- Índice de actividad de rechazo (RAI).

Categoría	Criterios	Puntuación
Inflamación portal	Inflamación principalmente linfocítica que afecta, pero no se extiende apreciablemente, a una minoría de las tríadas	1
	Expansión de la mayoría o de todas las tríadas, mediante un infiltrado mezclado que contiene linfocitos con blastos, neutrófilos y eosinófilos ocasionales.	2
	Expansión notable de la mayoría o de todas las tríadas mediante un infiltrado mezclado que contiene numerosos blastos y eosinófilos con extensión inflamatoria al interior del parénquima periportal	3
Lesión de inflamación del conducto biliar	Una minoría de conductos están revestidos e infiltrados por células inflamatorias y sólo muestran leves cambios reactivos, tal como un aumento de la razón citoplásmica nuclear de las células epiteliales	1
	La mayoría o todos los conductos están infiltrados por células inflamatorias. Más de un conducto ocasional muestra cambios degenerativos, tales como pleomorfismo nuclear, polaridad alterada y vacuolización citoplasmática del epitelio	2
	Igual que para 2, mostrando la mayoría o todos los conductos cambios degenerativos o interrupción focal de la luz	3
Inflamación endotelial venosa	Infiltración linfocítica subendotelial que afecta a algunas, pero no a una mayoría, de las vénulas portales y/o hepáticas	1
	Infiltración subendotelial que afecta a la mayoría o a todas las vénulas portales o hepáticas	2
	Igual que para 2, con inflamación perivenular de moderada a intensa que se extiende al interior del parénquima perivenular y que está asociada con necrosis de hepatocitos perivenulares	3
PUNTUACIÓN TOTAL (Suma de los componentes) =		

Parece que cierto grupos de pacientes tiene mayor predisposición al desarrollo de un RAC, lo que nos permitiría un ajuste óptimo de la inmunosupresión en estos casos. A tales efectos Wierner y cols (148) identifican algunos factores de riesgo par el RAC, como son: edad joven del receptor, ausencia de insuficiencia renal, ALT elevada, ausencia de edemas previos al trasplante, baja concordancia de HLA, tiempo de isquemia fría de más de 15 horas, edad del donante mayor de 30 años, etiología metabólica y autoinmune sobre la alcohólica, infección por VHC, Child A y en general hepatopatías poco evolucionadas (148-152).

La explicación más lógica podría estar en la persistencia del sistema inmune hiperactivo en las primeras semanas postrasplante en individuos sin demasiada repercusión orgánica, frente a individuo con un compromiso inmunitario previo en relación a tóxicos (alcohol), edad y diversas causas.

2.4. FARMACOGENÉTICA

La farmacogenética es el estudio de la respuesta farmacológica del individuo según el genotipo. Su objetivo es optimizar el tratamiento a nivel individual, ir a una terapia personalizada más segura y eficiente que permita al clínico seleccionar el fármaco correcto, a la dosis adecuada, para el paciente indicado.

Tal y como mencionaron Evans y McLeod en su revisión sobre farmacogenómica (77), “la farmacogenética tiene el potencial de ayudar a identificar el fármaco correcto y la dosis correcta para cada paciente individual”.

De forma general, la farmacocinética está basada en la identificación de polimorfismos de un único nucleótido (SNPs: Single Nucleotide Polymorphisms) en genes involucrados en la absorción, distribución y mecanismo de acción de los fármacos.

Respecto a su nomenclatura, está ampliamente aceptado el nombrar a los genes salvajes con el nombre del gen, seguido de *1, y a las variaciones en los alelos con números secuenciales: gen*2, gen*3, aunque como se verá a continuación, esta nomenclatura se ha adaptado para los polimorfismos del CYP3A, pero no del ABCB1.

En los siguientes apartados, se revisará la información disponible hasta el momento sobre las características de los genes que codifican por los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac y MMF, los polimorfismos que se han descrito de estos genes y su posible relevancia en términos de exposición a dichos agentes inmunosupresores.

2.4.1. Enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de tacrolimus y MMF

Actualmente, parece que ya ha quedado claramente establecido que gran parte de las diferencias interindividuales en la farmacocinética de los ICN, se deben a la variabilidad en la actividad de las enzimas implicadas en su metabolismo (CYP3A) y, en menor medida, de sus proteínas transportadoras, fundamentalmente la P-glicoproteína (P-gp) (78).

Las enzimas oxidativas de la familia CYP3, y en particular CYP3A4 y CYP3A5 están involucradas en el metabolismo intestinal y hepático de los ICN. La P-gp es una proteína expresada en las membranas celulares que, a nivel intestinal, expulsa a los fármacos desde el interior del enterocito a la luz intestinal. La P-gp está codificada por el gen de resistencia múltiple a fármacos-1 (MDR1 multiple drug resistance-1) o ABCB1 (ATP-binding cassette B1).

El conocimiento de los polimorfismos de los genes que codifican por estas proteínas, así como del impacto que la presencia de cada uno de ellos tiene en la farmacocinética de los ICN, constituye una oportunidad para individualizar la inmunosupresión a partir de un estudio genotípico, con la gran ventaja de que este estudio se podría realizar antes del inicio del trasplante, y los cambios de dosificación de los ICN se podrían implantar desde la primera administración del fármaco, aumentando las oportunidades de conseguir unos niveles terapéuticos óptimos más rápidamente.

2.4.1.1. Citocromo P450

El citocromo P450 es un complejo enzimático, formado por cientos de enzimas, que involucran a un complejo de hemoporfirina que actúa como centro catalítico, a su vez rodeado por multitud de estructuras proteicas que le conferirán especificidad hacia diferentes sustratos. En el ser humano, 57 genes son los encargados de expresar las proteínas que componen el citocromo. Solo un pequeño número de ellas se relacionan con el metabolismo de fármacos (82). Las más importantes son 3 familias y 7 isoenzimas: CYP1A2, CYP2B6, CYP2C8/9/10, CYP2C19, CYP2D6, CYP2E1 y CYP3A4. El **CYP3A4** es el responsable de metabolizar la mayoría de los fármacos (>50%) de aplicación en humano. La nomenclatura se basa en la similitud que muestran las secuencias genéticas que codifican cada isoenzima. Así, es necesario al menos un 40% de similitud entre dos cadenas de ADN codificantes para 2 isoenzimas, para que se consideren de la misma familia. Las familias denominarán por un número (p.ej. CYP3). A su vez las subfamilias se designarán por una letra (p.ej. CYP3A). El último dígito indicaría la isoenzima concreta que lo formaría (p.ej. CYP3A4). Por otro lado, el gen que codifica la enzima se expresará en cursiva (p.ej. *CYP3A4*) (83). Los alelos (mutaciones, wild-type) se identifican con asterisco continuando con un dígito. Se reserva el número 1 para los alelos originales o "wild-type" (p.ej. CYP3A4*1).

Las diferencias interindividuales en su expresión contribuyen de forma significativa a la variación en la biodisponibilidad oral y el aclaramiento sistémico de sus sustratos, por lo que las características de su expresión son un determinante muy importante de la eficacia y seguridad de los fármacos (y pueden también afectar a la predisposición individual para el desarrollo de determinados cánceres) (83).

Debido al polimorfismo genético de las enzimas encargadas del metabolismo de ciertos fármacos, existe una variabilidad en el aclaramiento plasmático de hasta 10 veces entre individuos. Existen 2 alelos para cada gen, ya que cada individuo porta una pareja de cromosomas. Estos diferentes alelos hacen que existan variaciones hereditarias dentro de una misma población. Si ambos alelos son distintos, uno de ellos (dominante) se puede expresar sobre el otro (recesivo). Además, un gen que codifique una proteína funcional, como puede ser una enzima, pueden además tener una expresión diferente en los distintos tejidos. El polimorfismo genético ocurre cuando en una población coinciden 2 o más genotipos posibles en una proporción elevada, por encima del 1%, dando lugar a una distribución polimodal. Esto da lugar a dos tipos de individuos: los metabolizadores rápidos (que suelen ser la mayoría de la población) o lentos (83). Cuando un medicamento tiene metabolismo fundamentalmente hepático, por una enzima determinada, la presencia de polimorfismos se traduce como consecuencias clínicas importantes. Así, los metabolizadores lentos sufrirán las consecuencias de su baja capacidad metabólica, con un riesgo aumentado de toxicidad en el caso de un fármaco activo; o su defecto de eficacia cuando se trate de un profármaco que requiera activación enzimática. Los polimorfismos afectarán también en la capacidad para desarrollar interacciones metabólicas; en el caso de los metabolizadores lentos existe menor riesgo de interacción, tanto por inducción como por inhibición, ya que de entrada su actividad metabólica basal está disminuida y difícilmente se puede inducir o inhibir. En cuanto a los metabolizadores rápidos existe una amplia gama de variabilidad interindividuo; de esta forma, las interacciones por inhibición tienen una amplia repercusión clínica cuanto mayor sea la actividad metabólica basal de la enzima; en las interacciones por inducción, se harán más evidentes en aquellos cuya actividad metabólica basal sea baja. (85). Las consecuencias clínicas de estas posibilidades basadas en las interacciones, dependerá sobre todo de si la ruta enzimática involucrada desempeña

un papel principal en la vía de eliminación del fármaco, así como en su margen terapéutico (83).

2.4.1.1.1. Efecto de primer paso

El CYP3A se encuentra fundamentalmente en el hígado e intestino delgado (dos tercios proximales), aunque también expresa en riñón, placenta, pulmón y cerebro.

Su presencia en el intestino es relevante para fármacos que poseen un elevado efecto de primer paso, que se administran por vía oral como son la CsA, el Tac o el midazolam (86) (figura 3). El midazolam es un buen ejemplo de sustrato específico del CYP3A4/5, que además no presenta afinidad por la glicoproteína-P (involucrada en el metabolismo de los inmunosupresores como se verá más adelante), que permite explicar el efecto de primer paso (87).

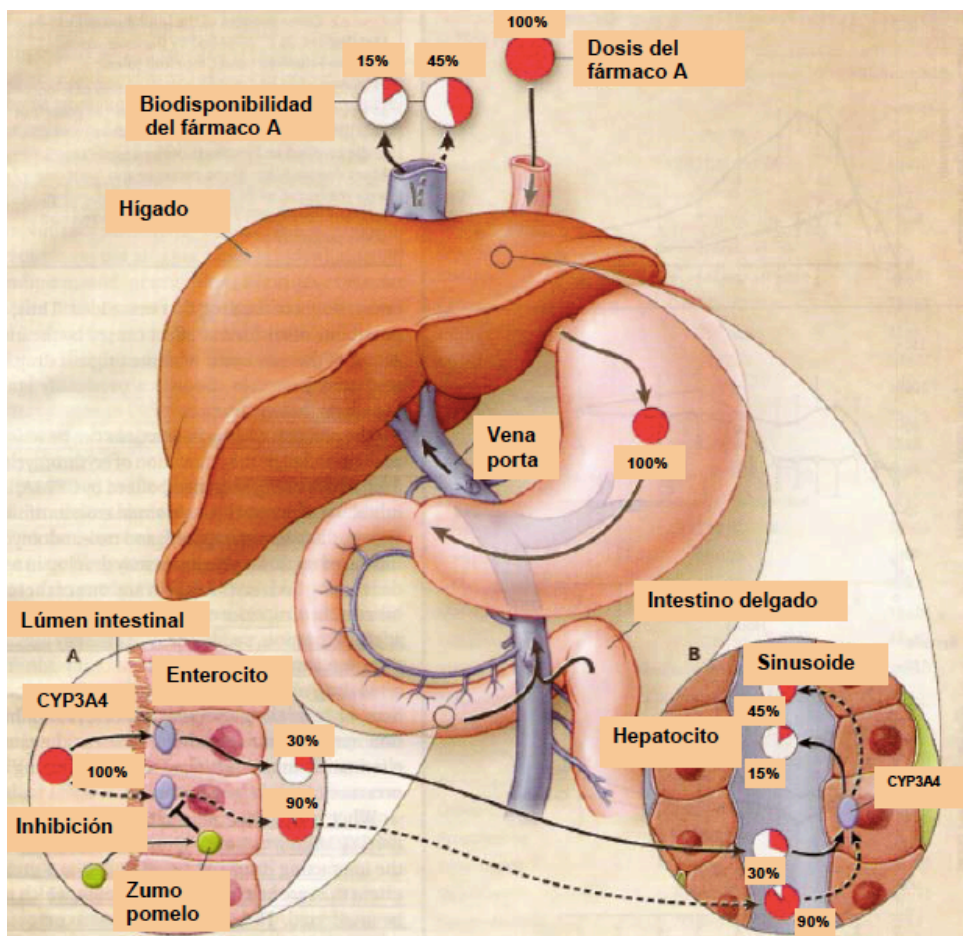


Figura 3.- Efecto de primer paso (82).

El efecto de primer paso ocurre cuando un fármaco de vía de administración oral es ampliamente metabolizado antes de su incorporación a la circulación sistémica, y por lo tanto dosis finalmente efectiva. La Figura 3 muestra la interacción de un fármaco A (como el tacrolimus) que presenta un amplio metabolismo mediado por el citocromo P-450 y el zumo de pomelo. Los isoenzimas CYP3A que se encuentran en los enterocitos metabolizan ampliamente el fármaco, de manera que sólo un 30% llegaría a la circulación portal (*línea continua*). Posteriormente, los isoenzimas CYP3A

ubicados en los hepatocitos prosiguen metabolizando ese 30% del fármaco que llega al hígado resultando un 15% del total de la dosis inicial, que llegaría a la circulación sistémica, y que por lo tanto realizaría su función farmacológica. Por otro lado, es conocido que el zumo de pomelo inhibe selectivamente al CYP3A de los enterocitos (*línea discontinua*). Esto ocurre porque una vez ingerido el zumo, las enzimas intestinales se exponen a una alta concentración del mismo; sin embargo, los componentes bioactivos del zumo de pomelo se inactivan en casi su totalidad en la luz intestinal, no llegando apenas a la circulación portal, por lo que no afectarían al metabolismo hepático del fármaco (85). Unos 200cc de zumo de pomelo causan una inhibición del citocromo intestinal de 24-48h de duración (87). Por otra parte, se ha demostrado que el zumo de pomelo, puede incrementar la actividad de expulsión de fármacos de la glicoproteína-P. Adicionalmente, se ha demostrado que el zumo de pomelo puede aumentar la actividad de la glicoproteína P (88). Como se observa en la figura 3, el metabolismo del fármaco se reduce drásticamente en el intestino, llegando al hígado, y por ende a la circulación sistémica, una concentración más alta del medicamento. Sin embargo, el efecto inhibitorio del zumo de pomelo es muy variable, en función de los principios activos, cantidad ingerida, etc., por lo que no se recomienda su uso para reducir el efecto de primer paso.

De forma general, podemos decir, que cuando un inhibidor actúa únicamente en la luz intestinal se incrementara la $C_{m\acute{a}x}$ del sustrato sin que se afecte su semivida de eliminación (82).

2.4.1.1.2. Mecanismo de inducción enzimática del CYP3A

En el caso de fármacos inductores, estos propiciarán un aumento del metabolismo del citocromo P450, y por lo tanto una disminución de la concentración del sustrato, con su consecuente potencial riesgo de fracaso terapéutico. Existen dos alternativas para corregirlo: incrementando la dosis o retirando el inductor enzimático. La rifampicina, la fenitoína y la carbamazepina serían buenos ejemplos de fármacos inductores, así como algunos fármaco antirretroviral como el efavirenz o la nevirapina.

El mecanismo de inducción enzimática es un proceso lento que precisa de días o semanas para llegar a un estado de equilibrio, determinado por un incremento de la transcripción de ADN a ARN-m que a su vez permite una traducción suficiente de la proteína enzimática implicada en la inducción (figura 4). Tras eliminar el fármaco inductor, la vuelta a la normalidad de la función enzimática, dependerá de la vida media del mismo.

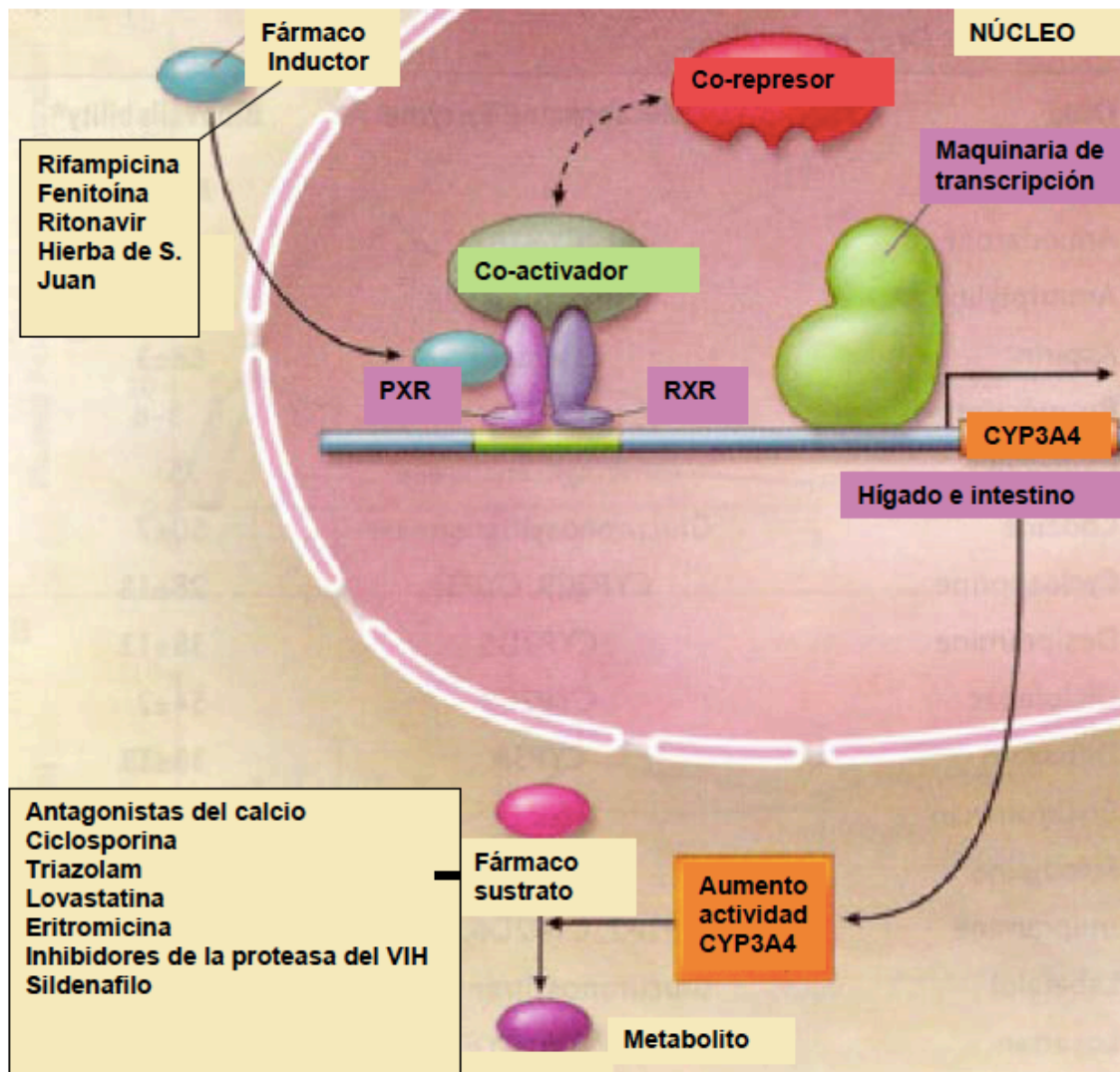


Figura 4.- Mecanismo de inducción enzimática.

Como se observa en la figura 4, el fármaco inductor actúa en el núcleo celular en el receptor PXR (receptor de pregnano X ó NR1I2 ó receptor de esteroide X), que a su vez forma un heterodímero con el receptor RXR (receptor de retinoide) que se une a zonas de reconocimiento afines a la región 5' de la porción reguladora del gen CYP3A4 (no ocurre así en el CYP3A5) y actuando como factor de transcripción (89). El resultado es un incremento de la transcripción de ADN y como consecuencia un aumento de la síntesis de la isoenzima CYP3A4. Esto produce un incremento del metabolismo del fármaco sustrato de esta enzima, reduciendo la concentración del mismo y aumentando la concentración de sus metabolitos. Este mecanismo no queda limitado solo al CYP3A4, sino que involucra a otras isoenzimas y por los transportadores de membrana encargados de la biodisponibilidad del fármaco (82, 90).

2.4.1.1.3. Mecanismo de inhibición enzimática del CYP3A

La administración de fármacos inhibidores disminuirán el metabolismo hepático del sustrato, y en consecuencia aumentará su concentración, pudiendo aumentar su toxicidad. Esto es fundamental en aquellos casos donde el sustrato es un fármaco con un estrecho margen terapéutico o los niveles sanguíneos alcanzados son muy

elevados.

Se conocen diversos mecanismos de inhibición enzimática. El más frecuente es la **inhibición reversible**, producida porque la unión entre el fármaco inhibidor y la enzima es débil, no inactivándola de forma permanente. Esta inhibición puede ser **competitiva**, si tanto el inhibidor como el sustrato tiene su sitio de unión en la misma parte de la enzima, o **no competitiva**, cuando ambos ocupan distintos sitios de unión. Esta inhibición va a depender de dos factores: la afinidad tanto del sustrato como del inhibidor; y la concentración de inhibidor en el sitio de unión. La afinidad (K_i) se define como la concentración de inhibidor que se precisaría para reducir a la mitad la velocidad máxima de la reacción. A menor K_i más potente será el inhibidor. Los inhibidores potentes del CYP3A (itraconazol, ketoconazol, ritonavir) presenta un $K_i < 1$ μM . Los fármacos con un $K_i > 100$ μM no afectan de forma clínicamente relevante al CYP3A (91).

La inhibición de una enzima del citocromo puede tener también un comportamiento denominado **inhibición lentamente reversible**, debido a que una vez unido el inhibidor a la enzima, este sufre un proceso de oxidación mediado por el grupo hemo. Ocurre en el caso de los macrólidos, que a pesar de no ser inhibidores potentes, pueden generar interacción relevantes clínicamente (92).

Por último, puede ocurrir la **inhibición irreversible** (o inhibición suicida) donde, mediada por el propio citocromo, se produce un metabolito reactivo unido de forma covalente al sitio de unión del sustrato; lo que inactiva la enzima de forma permanente. Es el caso del zumo de pomelo ya comentado. Las consecuencias de esta inhibición permanente van a depender de la concentración tanto de enzima como de inhibidor, así como la capacidad de síntesis de nuevas enzimas de la maquinaria celular (85).

2.4.1.1.4. Polimorfismos del CYP3A5 implicados en el metabolismo de los inhibidores de la calcineurina

Se han estudiado polimorfismos en CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7 que afectan a la biodisponibilidad de los ICN.

CYP3A4 se expresa en el hígado, yeyuno, riñón y páncreas y existen unas marcadas diferencias interindividuales en su actividad. En pacientes trasplantados renales se han detectado variaciones de hasta 10 veces en el contenido de esta enzima (93). Las actividades del CYP3A4 son la suma de las actividades de, al menos, tres isoenzimas: CYP3A4, CYP3A5 y CYP3A7

CYP3A5, el segundo miembro de la subfamilia CYP3A en importancia, y altamente homólogo a CYP3A4 (83%) está también presente en el hígado, riñón e intestino delgado, y su expresión es incluso más variable que la de CYP3A4. En pacientes caucásicos, CYP3A5 se detecta solamente en el 10-40% de los hígados estudiados (94), pero sin embargo puede constituir hasta el 50% de las enzimas CYP3A hepáticas en algunos pacientes.

Por lo que se refiere a CYP3A7, parece que se expresa en el hígado fetal, y no tiene un papel relevante en adultos.

Por último, CYP3A43, con un 75% de coincidencia en su secuencia de aminoácidos con CYP3A4 y CYP3A5, contribuye también al mediado por CYP3A, aunque parece que de forma mínima (93)

2.4.1.1.4.1. CYP3A4

Se han descrito 5 SNPs en los promotores de los genes y 19 SNPs en la región de codificación. El SNP más estudiado es el CYP3A4*1B,-392A→G, pero se relaciona más con un incremento de riesgo oncológico que con un impacto farmacocinético (95).

Aunque hay muy pocos estudios al respecto, no se han descrito efectos farmacocinéticos de los polimorfismos del CYP3A4 en la farmacocinética de CsA, con la excepción de un estudio realizado en voluntarios sanos (96) donde se determinó un AUC de CsA significativamente inferior en pacientes CYP3A4*1B. Tampoco se han establecido asociaciones entre el polimorfismo CYP3A4*1B y la expresión enzimática de CYP3A4 en bancos de tejidos de donantes.

2.4.1.1.4.2. CYP3A4 y Tac

Por lo que respecta a Tac, sólo un estudio ha establecido el requerimiento de mayores dosis de Tac para alcanzar unos niveles objetivo en pacientes trasplantados CYP3A4*1B, respecto a pacientes homocigóticos CYP3A4*. En este estudio (97) se incluyeron 174 pacientes trasplantados renales estables (con un tiempo de evolución del trasplante de al menos un año), 64 de ellos tratados con Tac. Durante visitas rutinarias al hospital se extrajeron muestras para el genotipado. Los valores de dosis y C_{\min} de los ICN estudiados correspondían a los 3 y 12 meses postrasplante. El estudio reveló que los pacientes CYP3A4*1B requerían aproximadamente un tercio más de dosis de Tac que los pacientes homocigóticos CYP3A4*1, para alcanzar unos niveles objetivo.

2.4.1.1.4.3. CYP3A5

Se estima que la isoenzima CYP3A5 está sólo presente en un 10-30% de las muestras de hígado analizadas. El alelo mutado CYP3A5*3 provoca una pérdida de la transcripción del gen *CYP3A5* lo que conlleva una disminución de su actividad. Esta mutación se encuentra más frecuentemente en la población caucásica. En cambio, los portadores del alelo "wild-type" CYP3A5*1, el CYP3A5 se expresa en grandes cantidades y, por ejemplo, se ha demostrado que los portadores de al menos uno de los alelos CYP3A5*1, la eliminación de midazolam aumenta hasta 2,5 veces. Las poblaciones que presentan mayor expresión del gen no mutado (CYP3A5*1) son los afroamericanos, habitantes del sureste asiático, de islas del Pacífico e indios americanos del suroeste, lo que les confiere un metabolismo más rápido de los sustratos de CYP3A, disminuyendo el efecto terapéutico del fármaco (83).

A diferencia de lo que ocurre con CYP3A4, que se expresa universalmente, los individuos pueden ser "expresores" o "no expresores" de CYP3A5, en función de los polimorfismos que presentan.

Otro de los SNP descritos para CYP3A5 es la mutación conocida como CYP3A5*3, que codifica por una proteína CYP3A5 no funcional. Este SNP se presenta de forma homocigótica en el 80% de los caucásicos y en el 30% de los afroamericanos (94,98)

CYP3A5 se expresa en los portadores del gen salvaje CYP3A5*1, tanto en individuos homocigóticos (CYP3A5*1/*1) como heterocigóticos (CYP3A5*1/*3), mientras que los homocigotos para los alelos mutantes CYP3A5*3 no sintetizan proteína funcional (99).

Otros polimorfismos descritos son CYP3A5*2 (1% en caucasianos), CYP3A5*6 (0,1% en caucasianos y 13% en afroamericanos) y CYP3A5*7 (10% en afroamericanos) y estas mutaciones, en combinación con el alelo CYP3A5*1, también pueden impedir la síntesis de CYP3A5 funcional (94, 100).

También ligado a la expresión de CYP3A5 está el polimorfismo ligado al CYP3AP1*3. Los Individuos que son homocigóticos para este alelo no expresan proteína funcional, mientras que sí lo hacen aquellos que presentan CYP3AP1*1, al menos en un alelo.

En lo que respecta a la distribución de individuos “expresores de CYP3A5” en relación con el grupo étnico, MacPhee y cols. (101) establecieron que entre el 5 y el 30% de los sujetos de raza caucásica, y entre el 73 y el 87% de los de raza negra serían expresores.

El polimorfismo de CYP3A5 tiene un mayor efecto que el polimorfismo de CYP3A4 sobre la farmacocinética de los inmunosupresores. En el caso de CsA, de nuevo la mayoría de los estudios publicados no han encontrado asociaciones significativas entre la presencia de CYP3A5*3 y la farmacocinética de este fármaco, aunque el grupo de Min (que había encontrado relación entre la presencia de CYP3A4*1B y una menor AUC de CsA), encontró una AUC de CsA significativamente más baja en los expresores de CYP3A5 (102). También el grupo de Hesselink (97), en el estudio anteriormente mencionado, encontró una relación entre una menor concentración de CsA y expresores CYP3A5, pero sólo en individuos de raza caucásica. Por otra parte, existe un estudio en pacientes trasplantados renales, en que el que se ha establecido una relación entre los no expresores de CYP3A5 (103) y la necesidad de mayores dosis de CsA para alcanzar unos niveles determinados, pero este resultado es opuesto al esperado y entra en contradicción con el resto de los estudios publicados.

2.4.1.1.4.4. CYP3A5 y Tac

Está ampliamente constatada la presencia de una concentración de Tac significativamente inferior en los expresores de CYP3A5, tanto en trasplante renal (97,104-107), como cardíaco (108) y pulmonar (109), y algunos autores afirman que la determinación del genotipo de CYP3A5 es predictiva de la dosis de Tac requerida por los pacientes trasplantados renales, destacando la relevancia de este hecho en la determinación de la dosis inicial ideal para cada paciente individual, que garantice una adecuada inmunosupresión sin exceso de neurotoxicidad (104).

MacPhee y cols, a partir de la caracterización del genotipo de CYP3A5 en 180 pacientes trasplantados renales, con una inmunosupresión basada en Tac, establecieron que los pacientes expresores de CYP3A5 tienen unos requerimientos que ascienden al doble de dosis de Tac para alcanzar una concentración determinada, en comparación con los no expresores (110). Este mismo autor y sus cols. (111) han descrito no sólo las modificaciones en la farmacocinética de los ICN debido a los polimorfismos, sino la implicación directa en la evolución del trasplante. En este estudio retrospectivo, los autores confirmaron que a pesar del uso de la monitorización terapéutica de Tac, los expresores de CYP3A5 tenían unos niveles valle de Tac significativamente inferiores durante las dos primeras semanas postrasplante, alcanzaron los niveles objetivo más tarde y sufrieron episodios de rechazo agudo antes que los no expresores (media de 8 días frente a 13).

Por lo que respecta al trasplante hepático, dos estudios chinos, uno de ellos retrospectivo realizado en 53 pacientes tratados con un régimen inmunosupresor

basado en triple terapia Tac + MMF + esteroides (112), y otro recientemente publicado realizado en 50 pacientes (113) también tratados con Tac + MMF + esteroides, han descrito la asociación entre el polimorfismo de CYP3A5 y la razón concentración-dosis de Tac. Los pacientes receptores de órganos con genotipos del donante no expresores de CYP3A5 mostraban un cociente concentración dosis superiores a los expresores.

2.4.1.2. UDP-glucuronil transferasa (UGT)

Las glucuroniltransferasas son las responsables del proceso de la glucuronidación, una parte importante del metabolismo de la fase II. Posiblemente, la UGT sea la enzima más importante de la fase II (conjugación). La UGT ha sido objeto de estudio científico desde mediados y finales de la década de 1990.

La reacción catalizada por la enzima UGT implica la adición de un resto de ácido glucurónico al sustrato y es la vía más importante para la eliminación del organismo humano de más de 200 medicamentos. Es la principal vía de eliminación para algunos fármacos, residuos dietética, ambientales, toxinas y sustancias endógenas perjudiciales. La UGT está presente en los seres humanos, otros animales, plantas y bacterias. Curiosamente, no están presentes en el género *Felis* (114), lo que explica una serie de toxicidades inusuales en la familia de los felinos.

La reacción glucuronidación consiste en la transferencia del grupo glucurónico del ácido 5'-difosfo-glucurónico de uridina (UDPGA) al sustrato de moléculas que contienen oxígeno, nitrógeno, azufre o grupos funcionales carboxilo (115). El glucurónido resultante es más polar (hidrófilo) y más fácilmente excretado. La solubilidad del producto en la sangre se incrementa permitiendo que se elimine del organismo por excreción renal.

La UDP-glucurónido-transferasa (UGT) es la enzima responsable del metabolismo del ácido micofenólico glucuronizado (MPAG), el principal metabolito activo de MMF.

Existen al menos 10 isoformas de la UGT y, entre ellas, la UGT1A9 (figura 5) es la más eficiente en la síntesis de MPAG, y la UGT2B7 la única que sintetiza acil-MPAG en cantidades significativas, presumiblemente debido a su expresión hepática y renal (116).

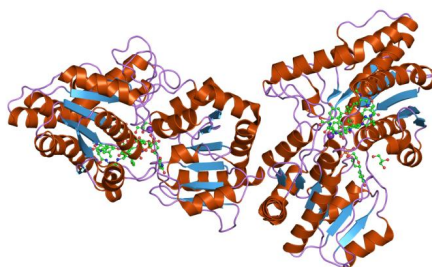


Figura 5.- Estructura cuaternaria de la UGT

Aunque no se ha localizado ningún estudio que evalúe estos polimorfismos en pacientes trasplantados hepáticos, Kuypers y cols (117) sí han comenzado a estudiarlos en el ámbito del trasplante renal. Estos autores estudiaron en 95 trasplantados renales de novo dos SNPs de la UGT1A9 (117): T--275A y C--2152T, asociados a una elevada expresión de UGT1A9 y a un incremento de la actividad de

glucuronización del MPA, así como la mutación UGT1A9*3 y establecieron que la presencia de ambos SNPs en el gen de la UGT1A9 en los pacientes tratados con dos gramos diarios de MMF, se asociaba con una exposición a MPA significativamente menor, en parte debido a la interrupción de la recirculación enterohepática del MPA.

2.4.1.3. Glicoproteína P

La familia de transportadores ABC (ATP-binding cassette) está presente en la mayoría de organismos y estas proteínas poseen una estructura altamente conservada que sugiere un papel importante en la función celular. La relevancia farmacológica de este importante grupo de transportadores, cuya función es expulsar sus sustratos fuera de las células, se debe a que son responsables de la multirresistencia frente a compuestos antitumorales debilitando su acción quimioterapéutica en las células (118). Por otra parte, ejercen una función protectora al limitar el transporte de diversos compuestos a través de las barreras existentes entre la circulación sistémica y diversos órganos (119).

Si consideramos el ámbito terapéutico, la función de los transportadores ABC tiene consecuencias directas en la biodisponibilidad de fármacos (incluyendo la excreción a leche), distribución tisular y principalmente afecta a la eficacia de la acción farmacológica. La modulación de los transportadores relacionada con la acción inhibitoria de diversos compuestos cobra una importancia creciente en el ámbito terapéutico y en el manejo de la multirresistencia. Por otra parte, la propia fisiología de los organismos puede verse afectada cuando los sustratos son vitaminas o compuestos endógenos.

El conocimiento de factores que pueden afectar a la función de los transportadores es especialmente relevante. Este conjunto de factores es muy diverso y objeto de un amplio campo de investigación que no sólo se restringe a los agentes farmacológicos que actúan como moduladores, sino también a factores presentes en la dieta que pueden afectar a la expresión y función de los transportadores ABC.

La influencia de las variaciones entre géneros, especies o individuos sobre todo asociadas a la existencia de polimorfismos ha suscitado el interés de múltiples estudios. Los cambios en un único aminoácido debidos a polimorfismos como las diferencias entre los homólogos de diferentes especies pueden afectar de forma relevante tanto a la actividad como a la especificidad del transportador. Además, las variaciones interespecíficas en el caso de las propiedades inhibitorias de diversos compuestos, pueden tener implicaciones clínicas.

El término de transportadores ABC fue introducido por primera vez por Chris Higgins en 1992 (120) y hace referencia a la principal característica de esta superfamilia: la presencia del sitio de unión a ATP. Sin embargo, la primera evidencia directa de transporte activo relacionado con resistencia a fármacos fue ya descrita en los años 70 por Dano (121), quien observó un flujo de salida de daunomicina mediado por transportadores en contra de un gradiente electroquímico en células resistentes. Muchos de estos transportadores poseen un papel protector, ya que limitan el transporte de fármacos y compuestos tóxicos a través de las barreras existentes entre la circulación sistémica y diversos órganos, tales como cerebro, tracto gastrointestinal y placenta. Además, también tienen otras muchas funciones fisiológicas como el transporte de lípidos, sales biliares, colesterol, hormonas, esteroides y metabolitos (122). Este transporte de compuestos se produce en contra de un gradiente de

concentración siendo dependiente de ATP, e independiente tanto de un potencial electroquímico transmembrana como de un gradiente de protones.

Todos los transportadores ABC comparten una estructura básica independientemente de que su función sea importar o exportar el compuesto transportado. Esta estructura básica puede estar presente en una única proteína de una cadena polipeptídica (full-transporters), o en dos proteínas separadas (halftransporters).

Así, están compuestos de uno o dos dominios transmembrana (Transmembrane domain, TMDs) y de uno o dos dominios de unión a ATP (Nucleotide Binding Domain, NBDs) (figura 6a). Las regiones TMD participan en la estructura del canal de transporte y están formadas por proteínas plegadas en hélice alfa que atraviesan varias veces la membrana plasmática, presentando una alta variabilidad estructural dependiendo del tipo de transportador ABC. El número de hélices transmembrana oscila entre 8 y 20 para los transportadores cuya función es importar y 12 para los exportadores. En cambio, las regiones NBD están altamente conservadas en toda la familia de proteínas ABC y presentan los motivos característicos Walker A y B y el motivo signature (figura 6b). Estas regiones se encargan de participar en la unión e hidrólisis de ATP para la obtención de energía. Esta unión ocasiona cambios conformacionales en los dominios NBDs haciendo que se aproximen y, a su vez, provocando que los dominios TMDs abran el conducto hacia la parte exterior o interior de la célula (123).

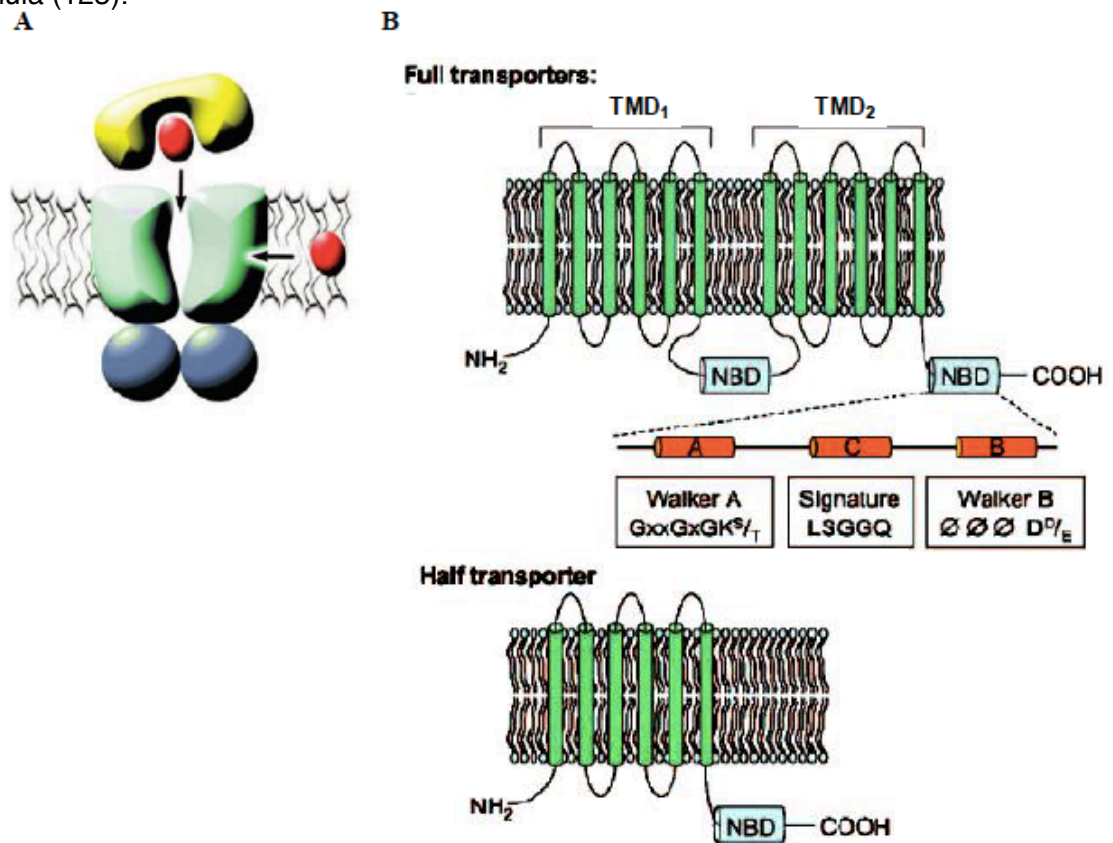


Figura 6.- Estructura general de los transportadores ABC.

a) Representación esquemática de un transportador ABC: 2 dominios transmembrana (verde) y dos dominios de unión a ATP (azul). Algunos transportadores reciben el sustrato (rojo) desde la bicapa lipídica y otros desde la fase acuosa. Existen proteínas (amarillo) capaces de dirigir el sustrato hacia el transportador ABC (123).

b) Estructura de un full-transporter y de un half-transporter de la familia ABC (122).

La secuenciación del genoma humano ha permitido caracterizar, hasta el momento, 49 genes ABC, 16 de los cuales tienen una función conocida y 14 están asociados con enfermedades genéticas (124), como son el síndrome Dubin-Johnson (125), la fibrosis quística (126), epilepsia y Alzheimer (126) y la sitosterolemia (hiperabsorción de esteroles)(127).

El primer miembro de esta superfamilia fue identificado en 1976 por el grupo de Ling y se describió como una glicoproteína de membrana de 170kDa que se sobreexpresaba en células resistentes a la colchicina y se denominó glicoproteína P (P-gp).

Está codificada por el gen ABCB1 (MDR1 en humanos; *mdr1a* y *mdr1b* en roedores). Consta de 1280 aminoácidos, con 12 segmentos transmembrana distribuidos en dos mitades homólogas, cada una de las cuales contiene 6 segmentos transmembrana que están unidos por un gran lazo citoplasmático; además presenta dos sitios de unión para el ATP y se caracteriza porque el primer lazo extracelular está altamente glicosilado (figura 7).

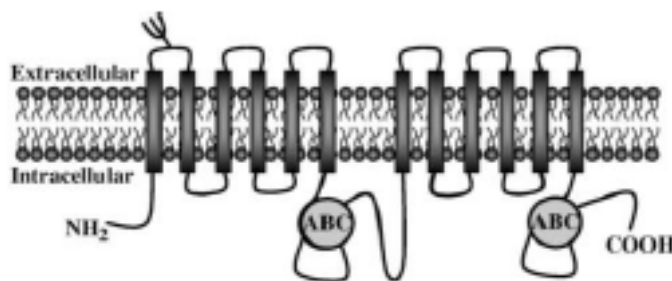


Figura 7.- Estructura general de la glicoproteína-P (MDR1)

La proteína se localiza en la membrana plasmática, específicamente en la porción apical/luminal de las células epiteliales pertenecientes al borde en cepillo del intestino, en la membrana de los canalículos biliares del hepatocito, la membrana luminal de las células epiteliales del túbulo proximal del riñón y en las células endoteliales de la barrera hematoencefálica; además, se ha localizado en ovario, placenta, testículo, células de la médula espinal, etc. (128,129). Además, ensayos con ratones *Mdr1a/b*^{-/-} han demostrado que participa en el transporte de ivermectina, digoxina, saquinavir, paclitaxel, entre otros compuestos (130).

2.4.1.3.1. Polimorfismos de la glicoproteína-P implicados en el metabolismo de los inhibidores de la calcineurina

La P-gp contribuye a la absorción incompleta de CsA y Tac desde el intestino (131) por la expulsión activa de estos productos desde el interior de los enterocitos a la luz intestinal. La relación entre los requerimientos de dosis de los ICN y la expresión de la P-gp también se ha descrito en pacientes receptores de un trasplante hepático (132,133) y también en pacientes trasplantados de intestino delgado (134) y riñón (93).

2.4.1.3.1.1. *ABCB1 (MDR1)*

El primer SNP identificado en relación con la actividad de la P-gp fue el C3435T, que presenta un genotipo salvaje (CC) y mutante (TT), con una presencia de ambos genotipos muy diferenciada entre los grupos étnicos: los individuos de raza negra presentan el genotipo C3435T CC en el 50-80% de los casos, mientras que, en otros grupos étnicos, la prevalencia es inferior al 30% (133,135). Por lo que respecta a la mutación TT, está prácticamente ausente de forma homocigótica en la población africana, aunque aparece de forma heterocigótica en el 20-40% de la población (99).

Existe además del C3435T, otro SNP sinónimo de éste, el C1236T y también el G2677T, todos ellos unidos en el MDR1*2.

La expresión de la P-gp en los túbulos renales se ha demostrado que es significativamente superior en los genotipos C3435T CC que en los TT.

Muy pocos estudios han establecido una clara asociación entre el genotipo *ABCB1* y la concentración de CsA, tanto cuando se ha buscado esa correlación determinando los niveles C₀, como C₂ e incluso con curvas abreviadas. Sí encontraron esta relación Bohomme-Faivre y cols. (136) en 44 receptores de trasplante hepático, en los que estudiaron los requerimientos de dosis de CsA y el cociente concentración/dosis durante el primer mes tras el trasplante. Los pacientes C3435T CC homocigóticos tenían una menor concentración de CsA respecto a la dosis administrada. Estos autores concluyeron que el polimorfismo de C3435T es un determinante del cociente concentración/dosis y predictivo de la dosis de CsA que debe ser administrada, para alcanzar unos niveles determinados. Por su parte, Yates y cols (137), al igual que les ocurriera con la expresión de CYP3A5, también presentaron unos resultados opuestos a los esperados: obtuvieron un AUC de CsA significativamente mayor en pacientes homocigóticos para C3435T CC, aunque existen algunos estudios que apoyan una expresión menor de P-gp en genotipos CC.

2.4.1.3.1.2. *ABCB1 y Tac*

La relación entre la expresión de la P-gp y la concentración de Tac se ha estudiado, tanto en trasplante hepático, como renal y de intestino delgado.

En el trasplante hepático, Wei-Lin y cols. (113), estudiaron la relación entre los SNP del gen *ABCB1* y el cociente concentración/dosis de Tac. Los autores encontraron que la presencia del genotipo homocigótico 3435CC, cuando se comparaba con los genotipos CT y TT, se correlacionaba con valores más bajos para el cociente concentración/dosis de Tac, en cualquier momento durante el primer mes postrasplante.

También MacPhee y cols. (138), en pacientes trasplantados renales, describieron cómo los pacientes homocigóticos para CC presentan una concentración de Tac para una dosis normalizada significativamente inferior que los pacientes con genotipo C3435T TT y Anglicheau y cols (139) en otro estudio también retrospectivo realizado en 85 receptores de un trasplante renal, encontraron una correlación significativa entre la dosis diaria de Tac y el cociente concentración/dosis para los pacientes con el SNP G2677T.

En contraposición a estos datos, existen otros estudios, tanto en trasplante hepático como renal, en los que no se ha podido establecer la correlación entre el genotipo de *ABCB1* y la concentración de Tac. En el ámbito del trasplante hepático, en un estudio prospectivo realizado en 181 pacientes, de los cuales 143 habían recibido inmunosupresión basada en Tac (140), los autores no encontraron asociación entre 10

SNPs del ABCB1 y el cociente concentración/dosis de Tac. En el área del trasplante renal, Hesselink y cols. (97), en el estudio también referido anteriormente, no encontraron relación entre el polimorfismo de C3435T y los requerimientos de dosificación de Tac, ni tampoco lo encontró Zhang (107) en 118 trasplantados renales chinos, en los que estudió el mismo polimorfismo de C3435T. Tampoco encontraron ninguna relación Haufroid (105), ni Tsuchiya (106), cuando estudiaron los polimorfismos C1236T, G2677T/A y C3435T50 de ABCB1 en 50 y 30 trasplantados renales, respectivamente.

Desde un punto de vista de impacto clínico, en el ámbito del trasplante hepático, Hebert y cols (141) en un estudio retrospectivo de casos y controles, establecieron una asociación entre la presencia de disfunción renal crónica y la homocigosis para el SNP 2677T, cuya presencia se había asociado a una baja expresión de P-gp.

Por otra parte, otro estudio también retrospectivo en pacientes trasplantados hepáticos en tratamiento con Tac asoció el genotipo 2677T de los pacientes como predictor de neurotoxicidad de Tac (142). Estos resultados se han relacionado con el hecho de que la expresión de P-gp se ha asociado con una menor entrada de fármaco al sistema nervioso central, motivada por una mejor barrera sangre-cerebro, por lo que los bajos expresores de P-gp serían susceptibles de una mayor neurotoxicidad.

En el caso del trasplante de intestino, además de establecerse una buena correlación entre la concentración de Tac y la expresión de ABCB1, se ha descrito una peor supervivencia en los pacientes con una expresión elevada de ABCB1 (132).

2.4.1.4. Polimorfismos del injerto hepático

El importante metabolismo hepático de los inmunosupresores y su impacto en la variabilidad farmacocinética, hace necesario el estudio farmacogenético, no sólo de los receptores de un trasplante hepático, sino también de los órganos trasplantados, tal y como realizaron los autores de los estudios previamente comentados (118-132)

Yu y cols. (112), realizaron un estudio retrospectivo en pacientes receptores de un trasplante hepático de donante cadáver, para estudiar el efecto del genotipo del CYP3A5 del injerto en el cociente concentración/dosis de Tac. Todos los pacientes recibieron una inmunosupresión basada en Tac + MMF + esteroides, con una dosis inicial de Tac de 4 mg/día y ajustado a unos niveles sanguíneos determinados en C_0 de 7-10 ng/ml durante el primer mes, MMF 1000 mg/día y esteroides en dosificación decreciente hasta 20mg/día desde la segunda semana. Los pacientes que tomaban alguna medicación con interacciones conocidas con los ICN fueron excluidos del estudio. Los autores establecieron que el cociente concentración/dosis de Tac era significativamente más bajo en pacientes receptores de injertos con genotipos expresores del CYP3A5, que en aquellos que recibían órganos con genotipo no expresor para esta enzima, tanto a las dos semanas, como al mes del trasplante. Aunque estos autores también establecen esta correlación para los genotipos de los receptores, concluyen que el polimorfismo del CYP3A5 del donante parece contribuir más que el del receptor a las diferencias en la farmacocinética de Tac y destacan el genotipado del CYP3A5 de los injertos como más útil que el de los receptores, para individualizar la dosis de Tac en los pacientes.

Goto y cols (140) también analizan el efecto del genotipo del CYP3A5 del injerto en el cociente concentración/dosis de Tac y observan que éste no varía durante las semanas 1-2 postrasplante, pero que existe una tendencia a su reducción en los pacientes con genotipos expresores tras la tercera semana (tanto CYP3A5 *1/*1 como

CYP3A5 *1/*3). Por otra parte, los pacientes trasplantados con injertos con genotipo *1/*1 mostraban unos cocientes menores que el resto de los grupos.

Por último, Wei-Lin y cols. (113) también estudiaron el efecto de los polimorfismos de CYP3A5 y ABCB1 de donante y receptor en la farmacocinética de Tac en un estudio en el que los pacientes receptores de un injerto procedente de cadáver recibieron un tratamiento basado en Tac + MMF + esteroides, con una dosis inicial de Tac de 0,08 mg/kg/día, y unos niveles sanguíneos objetivo determinados en C_0 durante el primer mes de 7 a 10 ng/ml, MMF 1000 mg/día y esteroides en un régimen de reducción de dosis, con 20 mg/día desde la segunda semana. Estos autores también encontraron relación entre el genotipo del CYP3A5 de los injertos y la farmacocinética de Tac: los pacientes receptores de donantes expresores de CYP3A5 tenían un cociente concentración/dosis de Tac menor. Cuando estudiaron el genotipo del gen ABCB1, no encontraron relación entre éste y la farmacocinética de Tac.

3. Justificación del estudio

Los datos revisados ponen de manifiesto, por una parte, el impacto que los polimorfismos de las enzimas de biotransformación y de las proteínas transportadoras de los ICN y de MMF podrían tener sobre la farmacocinética de estos fármacos y, por otra parte, el potencial que la determinación del perfil genético, tanto de injertos, como de receptores, posee en la individualización del tratamiento inmunosupresor en pacientes trasplantados hepáticos.

Hasta la fecha, los estudios disponibles son, en su mayoría estudios retrospectivos, sin un control adecuado de otras variables con impacto conocido sobre la cinética de los inmunosupresores (variables demográficas, clínico-fisiológicas, clínico-patológicas y las dependientes de interacciones medicamentosas), lo que hace que las estimaciones en las necesidades de dosis de fármacos en función de los distintos polimorfismos sean sólo aproximaciones y ninguno de ellos ha sido realizado en una población caucásica de pacientes trasplantados hepáticos con las particularidades genéticas de este grupo étnico. Los estudios más relevantes en el ámbito del trasplante hepático han sido realizados en población asiática, por lo que es muy probable que existan diferencias genéticas importantes respecto a la mayoría caucásica de nuestro país. La necesidad de estudios prospectivos, incluyendo un número suficiente de pacientes que permitan extrapolar las conclusiones a la población trasplantada, es una constante en las discusiones de los estudios anteriormente revisados.

Existen numerosos estudios sobre esquemas de inmunosupresión en el TH, pero muy pocos que analicen el impacto genético a la hora de decidir el protocolo inmunosupresor, así como sus dosis, en parte por la heterogeneidad de los protocolos, diferencias en la categorización de causas de enfermedad hepática y en muchos casos por pérdida de seguimiento de pacientes o uniformidad en el mismo. Por ello el planteamiento del estudio tiene como objetivo analizar la implicación de la expresión de algunos polimorfismos genéticos del injerto hepático y del receptor de un trasplante hepático, con el fin de esclarecer su relación y optimizar su relación con la dosis de tacrolimus y evitar sus efectos adversos. Ello se traduciría en una menor morbilidad, mayor supervivencia del paciente trasplantado y por tanto en una mejora de la calidad de vida.

Los regímenes de inmunosupresión más comunes en el TH están basados en el Tac y MMF. Dado que el uso clínico de estos fármacos no está exento de riesgos, y basándonos en su farmacocinética, muestran una importante variabilidad intra e interindividual, siendo necesario controlar los niveles plasmáticos para permitir obtener concentraciones terapéuticas eficaces evitando la toxicidad.

Las marcadas diferencias entre pacientes podrían ser atribuibles a los polimorfismos de los genes de codificación de las proteínas metabolizadoras y de transporte, debiendo jugar un papel clave en su absorción, distribución y metabolismo.

Es por ello, que el conocimiento del fenotipo enzimático pretrasplante en nuestro medio, permitiría un ajuste de la medicación y una dosis óptima de inmunosupresión, optimizando además parte de los recursos de los que disponemos.

4. Hipótesis y objetivos

4.1. HIPÓTESIS DE TRABAJO

La prevalencia y el tipo de polimorfismos para los genes CYP3A5 y ABCB1 en la población caucásica debe ser similar a la descrita para otras poblaciones.

Los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac (CYP3A5 y ABCB1) deben influir en la ratio concentración/dosis de dicho fármaco.

La presencia de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac deben influir en la aparición de rechazo agudo celular.

Los distintos polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac deben estar relacionados con la aparición de efectos por sobreexposición.

4.2. OBJETIVOS

4.2.1. Objetivo principal

1. Evaluar la prevalencia y el tipo de los polimorfismos de los genes que codifican por los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac en pacientes de raza caucásica receptores de un trasplante hepático primario, así como en los órganos trasplantados.

4.2.2. Objetivos secundarios

1. Analizar el impacto de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac en la ratio concentración/dosis de dicho fármaco.
2. Evaluar la correlación entre la presencia de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac y la aparición de rechazo agudo celular.
3. Analizar la relación entre los distintos polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac y la aparición de efectos por sobreexposición tales como insuficiencia renal, alteraciones neurológicas, desarrollo de diabetes, hipertensión arterial y dislipemia.

5. Material y métodos

5.1. DISEÑO DEL ESTUDIO

Estudio multicéntrico, observacional, post-autorización, prospectivo, de una única cohorte, para evaluar la prevalencia y la relevancia clínica de la expresión de los polimorfismos de los genes que codifican por los enzimas de biotransformación y proteínas de transformación de Tac en receptores de un trasplante hepático primario.

Se incluyeron en el estudio pacientes trasplantados hepáticos, candidatos a recibir una terapia inmunosupresora basada en la combinación de esteroides, Tac y MMF y que cumpliesen los criterios de inclusión y exclusión del estudio.

Los pacientes incluidos en el estudio se sometieron a una evaluación genética que pretendía identificar la presencia en el receptor de polimorfismos a nivel de los genes que codifican por uno o varios de los enzimas encargados de la metabolización y transporte de Tac. Los mismos polimorfismos genéticos fueron evaluados en el injerto procedente del donante. Los pacientes fueron analizados de manera protocolizada durante los primeros tres meses postrasplante, tratando de correlacionar la presencia de los polimorfismos genéticos descritos, con la exposición a Tac, evaluada en términos de niveles mínimos (C_{min}) normalizados por la dosis utilizada del inmunosupresor y, la eficacia y seguridad del régimen inmunosupresor, en términos de RAC y aparición de efectos adversos.

5.1.1. Centros participantes en el estudio

Este estudio se lleva a cabo en 7 centros hospitalarios de toda España especializados en trasplante hepático:

Hospital Virgen del Rocío, Sevilla.
Hospital Gregorio Marañón, Madrid.
Hospital Clinic i Provincial, Barcelona.
Complejo Hospitalario A Coruña, La Coruña.
Hospital Vall D'Hebrón, Barcelona.
Hospital Reina Sofía, Córdoba.
Hospital Virgen de la Arrixaca, Murcia.

5.1.2. Fases del estudio

5.1.2.1. Fase I: Preselección de los pacientes

Se identificaron a los pacientes que cumplían los criterios de selección y que estaban en la lista de espera para recibir un injerto hepático hepático. Tras la información detallada del estudio y la aceptación del paciente se procedió la firma del consentimiento informado (Anexo 1).

El paciente tuvo que firmar el consentimiento informado antes de someterse al trasplante hepático o cualquier procedimiento necesario para determinar su idoneidad para participar en el estudio.

5.1.2.2. Fase II: Toma de muestras

En cada momento se llevó a cabo la confirmación del cumplimiento de los criterios de selección, trasplante y extracción de muestras para determinación de polimorfismos genéticos del paciente y del injerto, así como la ausencia de criterios de exclusión.

5.1.2.3. Fase III: Seguimiento

Se llevó a cabo un seguimiento clínico durante los 3 meses posteriores al trasplante hepático según el calendario de visitas del estudio.

5.1.3. Criterios para interrumpir el estudio

El estudio podría ser interrumpido en cualquier momento por parte del investigador o las autoridades sanitarias, siempre que existiesen riesgos para la seguridad de los pacientes, que justificaran esta decisión según su criterio.

También podía producirse el cierre del estudio en un centro, si existiese evidencia de que no se estuviesen cumpliendo los procedimientos del estudio indicados en el protocolo, y no se estableciesen medidas efectivas para solventarlo en el plazo establecido por el monitor del estudio.

Por otra parte, se podía producir la retirada del estudio de un paciente, bien porque éste retirara su consentimiento, o siguiendo el criterio del investigador. Las causas que pudieran motivar estas retiradas se especifican en el apartado *criterios y procedimientos de retirada* (apartado 5.2.2)

5.2. POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes de raza caucásica trasplantados hepáticos de forma electiva en un periodo comprendido entre enero de 2008 y marzo de 2010, en un total de 7 centros españoles con amplia experiencia en el TH.

La inclusión entre los distintos hospitales se realizó de forma acumulativa y competitiva hasta alcanzar la muestra necesaria.

5.2.1. Criterios de selección

5.2.1.1. Criterios de inclusión

1. Pacientes de ambos sexos con edad igual o superior a 18 años.
2. Pacientes que fuesen a recibir un trasplante hepático primario procedente de un donante ABO compatible..
3. Pacientes si contraindicación para recibir una terapia inmunosupresora consistente en la combinación de Tac, MMF y esteroides.
4. En el caso de mujeres en edad fértil, las pacientes deberían tener una prueba de embarazo negativa antes de la inclusión y deberán utilizar un método anticonceptivo eficaz durante el estudio, a no ser que se documentara la infertilidad.
5. Pacientes capaces de entender el propósito y los riesgos del estudio, que hayan sido informados detalladamente y que hubiesen otorgado su consentimiento informado por escrito.

5.2.1.2. Criterios de exclusión

1. Pacientes receptores de un trasplante multiorgánico.
2. Pacientes receptores de un injerto procedente de donante vivo
3. Pacientes en los que se fuese a retrasar el inicio de Tac por cualquier motivo.
4. Pacientes que presentaron alguna contraindicación al uso de Tac o MMF.
5. Pacientes con neoplasia en curso o antecedentes de neoplasia en los 5 años previos, excepto carcinoma basocelular o epidermoide de la piel no metastásico tratado satisfactoriamente. Se permitió la inclusión de pacientes con carcinoma hepático primario, que cumplieron los criterios de Milán valorados radiológicamente.
6. Pacientes con infección generalizada que requiriesen tratamiento.
7. Pacientes o donantes VIH positivos.
8. Diarrea grave, vómitos, úlcera péptica activa o trastornos gastrointestinales que pudieran afectar la absorción de Tac o MMF.
9. Pacientes en tratamiento con algún inductor o inhibidor del CYP3A (ver *Anexo 3*)
10. Pacientes con alguna toxicomanía, trastorno psiquiátrico o enfermedad que, según el criterio del investigador, pudiese dificultar la comunicación con el mismo.

11. Pacientes que estuviesen participando en algún ensayo clínico con un fármaco experimental o participado en los 28 días previos a la inclusión en este estudio.
12. El paciente estuviese recibiendo o ha recibido un fármaco no registrado en los 28 días previos a la inclusión en este estudio.
13. Pacientes que probablemente no cumplieren el programa de visitas del protocolo.
14. Pacientes que hayan recibido con anterioridad otro injerto hepático
15. Pacientes candidatos a un injerto hepático parcial

5.2.2. Criterios y procedimiento de retirada del estudio

Todos los pacientes participantes en el estudio tuvieron derecho a retirarse del estudio en cualquier momento, retirando su consentimiento, sin tener que justificar esta decisión y sin que ello le supusiera detrimento alguno en su seguimiento clínico. En caso de retirada, el investigador intentaría que el paciente realizase todas las evaluaciones necesarias para asegurar que no se presentasen acontecimientos adversos y para garantizar un seguimiento apropiado en el caso de que se hubiese presentado algún tipo de problema.

El investigador también tuvo derecho a retirar a los pacientes del estudio en el caso de que apareciese alguna enfermedad concomitante o acontecimiento adverso que a su juicio requiriese el abandono del paciente del estudio, si ocurriesen violaciones del protocolo o por otras razones.

Los motivos de abandono prematuro serían por lo tanto los siguientes:

- Efectos adversos graves relacionados con los fármacos del estudio que justifiquen su retirada.
- Respuesta terapéutica insatisfactoria.
- Embarazo
- Falta de cumplimiento de los criterios de inclusión o exclusión.
- Necesidad de tratamiento con inductores o inhibidores de CYP3A, (ver Anexo 8)
- Necesidad de tratamiento con un fármaco de investigación o con medicación prohibida por el protocolo.
- Solicitud de las autoridades sanitarias del abandono del tratamiento por parte del paciente.
- Incumplimiento sistemático del protocolo del estudio, incluyendo el calendario de visitas, sin que se objetivasen acciones para intentar solucionarlo.
- Pérdida del injerto.
- Pérdida de seguimiento del paciente.
- Retirada del consentimiento del paciente.
- Muerte del paciente.

Los pacientes en los que, por motivos de seguridad, fuese necesaria la suspensión temporal de la medicación no fueron retirados del estudio.

Los abandonos se documentaron detalladamente en el CRD.

El tratamiento inmunosupresor de mantenimiento de los pacientes que abandonasen el estudio se dejó a criterio del investigador.

No se reemplazó a los pacientes que abandonaron el estudio, independientemente de la causa que motivó la retirada, ni su número de identificación fue utilizado por otro paciente del estudio.

5.2.3. Limitaciones del estudio

Si bien la población del estudio es homogénea, pertenece a varios centros del mismo territorio nacional (multicéntrico) y se han definido de forma precisa los criterios de inclusión, las indicaciones de TH y la asignación de injertos en los diferentes centros participantes podrían no ser homogéneas al no existir un consenso sobre estos aspectos a nivel internacional.

El periodo de seguimiento propuesto para el evento a analizar (polimorfismos genéticos) se ha acotado entre los años 2008-2010 por ser la etapa más reciente donde la indicación de TH está consolidada y el periodo de aprendizaje debería estar superado, pero también corresponde a una etapa donde se han generado cambios sobre todo en el tipo de donantes e injertos, que pudieran tener influencia en los resultados globales.

Por otro lado, se seleccionaron los genes CYP3A5 y ABCB1 para el análisis por ser los que han presentado mayor relación con el metabolismo del Tac tras la revisión bibliográfica; sin embargo, hay que tener en cuenta que otros polimorfismos, y condiciones fisiológicas del propio paciente podrían ejercer su influencia sobre el metabolismo del Tac.

5.2.4. Descripción de la muestra

Los pacientes se incluyeron en el periodo entre de enero del año 2008 y marzo del año 2010, todos mayores de 18 años, que cumplían con los criterios de inclusión establecidos, distribuidos entre 7 hospitales españoles según se muestra en la Tabla 13.

Se recogieron 98 pacientes trasplantados hepáticos de forma electiva, 98 genotipos se extrajeron de la sangre de los propios pacientes (receptores) y 88 genotipos de la sangre de los donantes. En 10 donantes no se pudo analizar el genotipo, bien por pérdidas de la muestra o por muestras insuficientes.

Tabla 13- Distribución de pacientes por centros.

Centro	Nº pacientes	Porcentaje
Hospital Virgen del Rocío	35	35,7%
Hospital Gregorio Marañón	20	20,4%
Hospital Clinic i Provincial	15	15,3%
Complejo Hospitalario A Coruña	10	10,2%
Hospital de Vall d'Hebrón	8	8,2%
Hospital Reina Sofía	5	5,1%
Hospital Virgen de la Arrixaca	5	5,1%
Total: 7 hospitales	98	100%

5.4.2.1. Características demográficas de receptores y donantes

Los datos demográficos se representan en la Tabla 14.

5.4.2.1.1. Datos de los receptores

El 26,2% (25) de los receptores fueron mujeres y el 73,8% (73) varones, todos de raza caucásica.

La edad media de los receptores estudiados fue de 54,0 +8,3 años (mediana 54,3), con rango: 18-70 años, (Q1-Q3: 46,3-59,9)

En todos los casos se empleó la triple terapia inmunosupresora basada en Tac + MMF + Esteroides

5.4.2.1.2. Datos de los donantes

El 42,6% (36) de los injertos correspondían a mujeres y el 57,4% (52) a varones, todos de raza caucásica.

La edad media de los injertos estudiados fue de 54,4 +15,3 años (mediana 51,7), con rango: 22-74 años, (Q1-Q3: 51,3-61,3)

Tabla 14- Datos demográficos de receptores y donantes.

	Receptores	Donantes
Total población (n)	98	88
Varones (% del total)	73 (73.8%)	52 (57.4%)
Mujeres (% del total)	25 (26.2%)	36 (42.6%)
Edad (años)	54±8.3	54.4±15.6
Inmunosupresión	Tac + MMF + Pred	
Grupo étnico	Caucásicos	Caucásicos

5.4.2.2. Indicaciones del trasplante hepático

Entre las causas que motivaron el TH, las hepatopatías hepatocelulares (cirrosis alcohólicas y de origen vírico VHC/VHB) suponen el 100% de las indicaciones, siendo la cirrosis hepática por alcohol con 55 pacientes (56,1%) la principal indicación, seguida de la cirrosis alcohólica asociando hepatocarcinoma con 10 pacientes (10,2%) y en menos frecuencia la cirrosis VHC con hepatocarcinoma en 8 pacientes (Tabla 15). El 95,9% de los pacientes presentan como etiología de su hepatopatía el VHC, el alcohol o el hepatocarcinoma, aislados o en combinación.

Tabla 15- Indicación de trasplante hepático según patología del receptor

Etiología	n	%
Etanol	55	56,1%
VHB	4	4,1%
VHC	3	3,1%
Etanol + Hepatocarcinoma+VHC	6	6,1%
Etanol + VHC	6	6,1%
Etanol + Hepatocarcinoma	10	10,2%
VHB + Hepatocarcinoma	6	6,1%
VHC + Hepatocarcinoma	8	8,2%

5.3. PERÍODO DE INCLUSIÓN, OBSERVACIÓN Y DESARROLLO DEL ESTUDIO

El tiempo estimado para el reclutamiento fue de 12 meses comprendidos entre enero del 2008 y febrero de 2009). El periodo de seguimiento tuvo un período de duración de tres meses.

5.4. DESCRIPCIÓN DEL TRATAMIENTO Y EXPOSICIÓN

La pauta de tratamiento de los pacientes se basó en Tac + MMF + esteroides, permitiéndose la inducción con anticuerpos Anti CD-25, según pauta habitual de cada centro y siempre que el objetivo de esta inducción no fuese el retraso en la introducción de tacrolimus (Tabla 16)

Tabla 16.- Protocolo de tratamiento inmunosupresor del estudio.

Tac	Día 1 (en las 24 horas postrasplante): 0.1 mg/Kg/día en dos dosis. Las dosis posteriores se ajustarían para alcanzar niveles Cmin: 8 – 13 ng/mL en los primeros 45 días postrasplante. 5 – 8 ng/mL a partir del día 46 postrasplante.
MMF	1 g/12 horas, horas, ajustándose las dosis posteriores de acuerdo a datos de eficacia y seguridad y de acuerdo a Cmin según la práctica habitual del centro.
Esteroides	Día 0 (día del trasplante): 200 mg de metilprednisolona i.v. Día 1: 160 mg i.v. de metilprednisolona Día 2: 120 mg i.v. de metilprednisolona Día 3: 80 mg i.v. de metilprednisolona Día 4: 40 mg de prednisona oral o equivalente Días 5 - 14: 20 mg/día de prednisona oral o equivalente Días 15 – 29: 15 mg/día de prednisona oral o equivalente Días 30 y en adelante: 10 mg/día de prednisona oral o equivalente y retirada progresiva antes de los 3 primeros meses

5.4.1. Administración y determinación de niveles de tacrolimus

5.4.1.1. Dosis iniciales de Tac

Tac se administró en las primeras 24 horas postrasplante (día 1 del estudio).

La dosis del día 1 fue de 0,1 mg/Kg de peso del receptor repartida en dos dosis iguales, administradas cada 12 horas, por boca o a través de una sonda nasogástrica, si el paciente no pudiera deglutir. Las dosis posteriores se ajustaron para la

consecución de los niveles C_{min} especificados en el apartado siguiente y siempre teniendo en cuenta datos de eficacia y seguridad del paciente.

Las cápsulas de Tac se debían tragar con un líquido (preferiblemente agua, no permitiéndose zumo de pomelo) con el estómago vacío. Era fundamental en el estudio que las cápsulas se ingirieran 1 hora antes de la comida correspondiente o al menos 2 horas después.

El día de las visitas del estudio, se dieron instrucciones al paciente para que no tomase la dosis de la mañana, antes de la extracción de sangre, con el fin de tener niveles C_{min} de Tac en la muestra de sangre, correspondientes a aproximadamente 12 horas desde la última ingesta (± 1 hora).

5.4.1.2. Niveles C_{min} objetivo de Tac

La dosis de Tac se ajustó individualmente basándose en las determinaciones de la concentración mínima en sangre y en los signos y síntomas clínicos de eficacia y seguridad.

Las concentraciones de Tac y MPA se determinaron en el laboratorio de cada centro por inmunoensayo (IMX® o EMIT®). Para garantizar la consistencia de resultados entre los distintos laboratorios que van a intervenir, se recogieron los valores de los controles obtenidos (cuyos valores deben estar $\pm 0,5\%$ respecto al valor diana del control para los tres niveles, bajo, medio y alto) para Tac en aquellas series analíticas en las que se incluyeron muestras de pacientes del estudio.

Siempre que fuese clínicamente posible, se intentó establecer las siguientes concentraciones mínimas en sangre completa:

- 8 – 13 ng/mL en los primeros 45 días postrasplante
- 5 – 8 ng/mL a partir del día 45 postrasplante.

5.4.1.3. Modificación de la dosis de Tac

El investigador podía ajustar la dosis del paciente y modificar la pauta de administración de Tac como considerara necesario para minimizar los acontecimientos adversos y mantener una inmunosupresión eficaz.

Debido a la prolongada semivida de eliminación de Tac (aproximadamente 16 horas), se recomendó limitar los ajustes de la dosis a un máximo de dos veces por semana debido a que los cambios en las concentraciones sanguíneas mínimas se producen con lentitud, habitualmente 48 a 72 horas después del ajuste de la dosis. Los cambios en la dosis de Tac se hicieron en etapas del 25% de la dosis en curso.

Se consideró la interrupción temporal de la administración de Tac cuando se observaran efectos secundarios inaceptables relacionados con el fármaco.

Cuando estuvo justificado, la dosis y/o los niveles objetivo de Tac se podrían modificar si, en opinión del investigador, existiese intolerancia al fármaco o la respuesta terapéutica no fue satisfactoria. Los motivos para los ajustes de dosis y toda la información clínica relacionada/relevante con las desviaciones de los niveles recomendados se registraron en el apartado correspondiente del CRD.

5.4.1.4. Determinación de concentraciones valle sanguíneas de Tac

La determinación de las concentraciones valle de Tac se realizaron al menos los días 3 (± 1 día), 7 (± 2 días), 14 (± 2 días), mes 1 (± 7 días) y mes 3 (± 7 días).

Se permitió realizar determinaciones adicionales de Tac si el investigador lo considerase oportuno. Se recomendó confirmar los niveles Cmin, 2 ó 3 días después de cualquier cambio en la dosis de Tac.

Ante la sospecha o el diagnóstico de un episodio de rechazo agudo y siempre que existió un efecto adverso o sospecha de un efecto adverso grave relacionado con Tac, debería realizarse una determinación de niveles Cmin.

5.4.2. Administración de esteroides

La pauta de esteroides a utilizar será la recogida en la Tabla 17:

Tabla 17.- Pauta de administración de esteroides

Día 0 (día del trasplante): 200 mg de metilprednisolona i.v.
Día 1: 160 mg i.v. de metilprednisolona
Día 2: 120 mg i.v. de metilprednisolona
Día 3: 80 mg i.v. de metilprednisolona
Día 4: 40 mg de prednisona oral o equivalente
Días 5 - 14: 20 mg/día de prednisona oral o equivalente
Días 15 – 29: 15 mg/día de prednisona oral o equivalente
Días 30 y en adelante: 10 mg/día de prednisona oral o equivalente y retirada progresiva antes de los 3 primeros meses

5.4.3. Administración de otros inmunosupresores

No se permitió la administración concomitante de otros fármacos inmunosupresores, como Ciclosporina, Azatioprina, Micofenolato sódico, Rapamicina, Everolimus Probenecid, Vincristina, Metotrexato, Ciclofosfamida, FtTY720, FK778, Leflunomida, Brequinar y cualquier otro agente inmunosupresor experimental.

No se permitió la realización de terapia de inducción con anticuerpos mono o policlonales cuando conllevara un retraso en el inicio de tacrolimus. Únicamente se permitió la administración de anticuerpos ATG, ALG u OKT3 para el tratamiento de un rechazo agudo grave. En estos casos, los pacientes no serían retirados del estudio.

5.4.4. Medicación concomitante durante el tratamiento

Se intentó evitar en la medida de lo posible la administración concomitante con la terapia inmunosupresora, de cualquier medicación que presentara interacciones farmacocinéticas con Tac (interacciones fármaco-fármaco) según el listado adjunto en el Anexo 2.

En caso de ser necesaria su administración, deberían monitorizarse cuidadosamente los posibles cambios en los niveles sanguíneos de los fármacos, o el desarrollo de efectos tóxicos.

5.4.5. Valoración del cumplimiento

La determinación de niveles de sanguíneos de Tac y MMF a partir de muestras de sangre obtenidas a los pacientes se utilizó como método para verificar que los pacientes estaban tomando la medicación según los regímenes prescritos.

Durante el estudio se registraron las medicaciones utilizadas, así como las dosis administradas y los niveles sanguíneos obtenidos en las determinaciones realizadas.

5.4.6. Diagnóstico y tratamiento del rechazo agudo celular

En el caso de que se sospechara la existencia de un rechazo agudo, se recomendó confirmación histopatológica mediante la realización de una biopsia hepática. Las biopsias fueron valoradas localmente en cada centro participante, y la lesión histológica se graduó según el consenso internacional de Banff (Anexo 3).

Los pacientes que experimentaron un episodio de RAC fueron tratados con pulsos de metilprednisolona a la dosis y frecuencia habitual en cada centro, o con la optimización de la dosis y niveles de Tac y/o MMF, siempre a criterio del investigador y de acuerdo con la situación clínica del paciente y la práctica habitual en el centro.

5.5. DETERMINACIÓN DEL TAMAÑO DE LA MUESTRA Y PODER ESTADÍSTICO

5.5.1. Tamaño muestral

La determinación del tamaño de la muestra se fundamentó en calcular una cantidad de pacientes, que incluidos en el estudio, permitiesen obtener los datos suficientes para lograr el objetivo principal del estudio: evaluar la prevalencia y el tipo de los polimorfismos de los genes que codifican por los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tacrolimus y MMF, en pacientes portadores de un trasplante hepático primario, así como en los órganos trasplantados.

A continuación se precisan las hipótesis para fundamentar el cálculo del tamaño muestral.

Una revisión sobre la prevalencia y el tipo de los polimorfismos de los genes que codifican por los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac permitió verificar que existe heterogeneidad en cuanto a la presencia de polimorfismos en los diversos trabajos encontrados que brindan alguna información sobre el tema en el trasplante hepático.

Wei-Lin (113) reportó, en un estudio comentado anteriormente en pacientes chinos receptores de un trasplante hepático la prevalencia de diversos polimorfismos para los genes ABCB1 y CYP3A5. Para ABCB1 la prevalencia del genotipo 3435CC fue de un 16%, mientras que el genotipo 3435CT se observó en el 70% de los pacientes, y 3435TT en el 14%. En este mismo trabajo, cuando se evaluaron los polimorfismos de CYP3A5 se detectó el genotipo *1*1 en el 14% de los receptores y en el 12 % de los donantes, *1*3 se observó en el 52% de los receptores y el 48% de los donantes y el genotipo *3*3 se observó en el 34% de los receptores y el 40% de los donantes. Para este mismo gen Yu y cols (112) establecieron la prevalencia del genotipo *1*1 en el 11,3% de los receptores y el 9,4% de los donantes, en el caso de *1*3 éste apareció en el 50,9% de los receptores y en el 47,2% de los receptores, y *3*3 se detectó en un 37,8% y un 43,4% de receptores y donantes respectivamente.

Por otra parte, en el ámbito europeo, Hesselink y cols (97) encontró el genotipo 3435CC de ABCB1 en un 20,2% de los pacientes incluidos en el estudio, mientras que el genotipo 3435CT apareció en el 51,4% de ellos y el genotipo 3435TT en el 28,4%. En este mismo trabajo se reportó para los polimorfismos de CYP3A5 un 4,6% en el caso de *1*1 y un 71,6% para *3*3.

La variabilidad encontrada en los diferentes estudios realizados en ámbitos geográficos diferentes, y ninguno español, lleva a plantear el interés en determinar un tamaño muestral factible que permita hacer una estimación de la prevalencia de los anteriores polimorfismos en España, en particular obteniendo los datos de los injertos y de los pacientes receptores de un trasplante hepático. A partir de esta información, además de disponer de los datos sobre la prevalencia que cada uno de los polimorfismo estudiados puede tener en el ámbito español, se dispondría de una mejor información para estimar las modificaciones que podrían esperarse en las relaciones concentración/dosis en los pacientes trasplantados, en el caso de que efectivamente dichos polimorfismos actúen modificando la relación concentración/dosis de tacrolimus.

A partir del informe de la Organización Nacional de Trasplantes del Ministerio de Sanidad y Consumo, se puede estimar que en España se han realizado

aproximadamente unos 22.486 trasplantes de hígado hasta 2014, con una tasa de trasplantes cercana a 1000 pacientes anuales en los últimos tres años. Sin embargo se asumió que potencialmente toda persona del ámbito español podría ser un receptor o donante de hígado, por lo que el tamaño poblacional a considerar fue el de la población de España. El tamaño muestral a determinar, permitió detectar la presencia del grupo de polimorfismos que se presenten en una proporción poblacional como mínimo del 5% con una precisión de +/- 3%. Las conclusiones sobre la prevalencia de los diversos polimorfismos se hicieron con un alfa de 0,05, una potencia del estudio del 80%, y mediante un análisis bilateral. No se había supuesto ninguna reposición de pacientes para el análisis.

Con las hipótesis anteriores, se necesitarían 90 pacientes trasplantados (180 hígados para analizar entre injertos y receptores) para poder detectar la presencia de dichos polimorfismos en la población de estudio.

Partiendo de los datos presentados por Wei-lin (113) para el estudio de la relación concentración/dosis en pacientes trasplantados, y comparando los polimorfismos *1*1 y 3*3* serían necesarios 15 pacientes en el grupo de menor tamaño (*3*3) y 30 en el de mayor tamaño (*1*1) para detectar cambios de un 54 % o más en la relación concentración/dosis entre ambos grupos, con un error alfa de 0,05 y una potencia del 80%. Por lo que en dependencia de la prevalencia en que se presenten los distintos polimorfismos en la población, podrían encontrarse diferencias estadísticamente significativas entre las dosis a emplear, en relación a dichos polimorfismos.

5.5.2. Poder estadístico

Todos los contrastes utilizados se hicieron para un nivel de significación del $\alpha=0.05$ y un nivel de confianza del 95%

5.6. VARIABLES E INSTRUMENTOS DE MEDIDA

5.6.1. Definición de variable principal

Prevalencia de polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac y MMF en los receptores de un TH y en los injertos procedentes del donante:

- **CYP3A5*1, CYP3A5*3**
- **ABCB1**
 - C3435T TT
 - C3435T CC
 - G2677T

5.6.2. Variables secundarias

Variables secundarias relacionadas con la concentración/dosis de Tac:

- C_{min} y $C_{min}/dosis$ diaria de Tac los días 3, 7 y 14 y los meses 1 y 3 postrasplante.

Variables secundarias relacionadas con los episodios de RAC:

- Incidencia de episodios de rechazo agudo.
- Tiempo hasta el primer episodio de rechazo agudo.
- Intensidad de los episodios de rechazo agudo demostrados por biopsia, de acuerdo a la clasificación de Banff 1997.
- Función hepática, en términos de GOT, GPT, FA, GGT y bilirrubina total los días 3, 7 y 14 y los meses 1 y 3 postrasplante.

Variables secundarias relacionadas con la presencia de efectos adversos:

- Función renal, en términos de creatinina sérica y aclaramiento de creatinina estimado (Cockcroft-Gault) los días 3, 7 y 14 y los meses 1 y 3 postrasplante.
- Incidencia global de acontecimientos adversos.

5.7. TÉCNICAS DE LABORATORIO

Las muestras de sangre para el seguimiento de la concentración de tacrolimus (C_0) y determinación de genotipos se recogieron en tubos con EDTA antes de la dosis de la mañana.

5.7.1. Medición de las concentraciones del fármaco

Las concentraciones valle de tacrolimus en sangre total (C_0 , ng / ml) se midieron en cada uno de los participantes mediante por inmunoensayo (AxSYM, de Abbott Diagnostics, o Emit 2000, de Siemens).

Las concentraciones dosis ajustada de tacrolimus se calcularon como C_0/D , donde D es la dosis correspondiente al día dosis (mg/(kg de peso corporal)).

5.7.2. Análisis de genotipos

Se realizó la identificación del genotipo para CYP3A5*3 (6986A> G rs776746) y para el ABCB1 en las variantes 1236C> T (rs1128503), 2677G> T / A (rs2032582) y 3435C> T (rs1045642).

Se recogieron muestras de cinco mililitros de sangre total en tubos con EDTA. Se extrajo el ADN de submuestras de 200 ml utilizando el High kit Pure PCR preparation kit (Roche). La PCR en tiempo real (qPCR) se llevó a cabo mediante Roche Applied Science LightCycler® Carousel System empleando Roche Diagnostics LightCycler® FastStart DNA Master HybProbe kits. Los cebadores y sondas fueron los siguientes:

Para el CYP3A5:

- forward, 5' TTTGCCTCTTTGTACTTCTTCATC 3'
- reverse, 5' TAGTTGTACGACACACAGCAACC 3'
- sensor, 5' CTTTTGTCTTTCAATATCTCTTCCC-FL3'
- anchor, 5'- LC640- GTTTGGACCACATTACCCTTCATC-PH3'

Para ABCB1 1236C> T:

- forward, 5' GTTCCTATATCCTGTGTCTGTGAAT 3'
- reverse, 5' CATCAgCTggACTgTTgTgCTC 3'
- sensor, 5' LC640- TTCAGGTTCAAGACCCTTCAAG-PH3'
- anchor, 5' GCCACCGTCTGCCCACTCTGCAC- FL3'

Para el ABCB1 2677G> T/A:

- forward, 5' GCAGGAGTTGTTGAAATGAAAATG 3'
- reverse, 5' CGCCTGCTTTAGTTTGA CTCA 3'
- sensor, 5' TTCCCAGTACCTTCT- FL3'
- anchor, 5' LC640-CTTTCTTATCTTTTCAAGTGCTTGTCC-PH3'

Para ABCB1 3435C> T:

- forward, 5' TGTTTTCAAGCTGCTTGATGG- 3'
- reverse, 5' AAGGCATGTATGTTGGCCTC 3'
- sensor, 5' LC640- GGAAGAGATCGTGAGGGCAG-PH3'
- anchor, 5' GACAACAGCCGGGTGGTGTCA-FL3'

5.7.2.1.PCR

La mezcla de PCR contenía 1 ml de 50 ng /ml de ADN genómico, 1.2 a 1.5 μ l de MgCl₂ 3-5 μ M, 1 μ L de Master Mix (contiene la enzima y dNTPs), 0,2 a 0,5 μ L de cada disolución de cebador 0,5-1,0 μ M, 0,5 μ l de cada disolución de sonda de 0,4 μ M y agua PCR-grade LightCycler®.

El proceso de PCR se llevó a cabo de la siguiente forma: 10 minutos a 95° C, 40 ciclos de 10 segundos a 95 °C; 60 segundos a 65-55°C (la temperatura de alineamiento fue reducida en 0.5°C en cada ciclo), 30 segundos a 72°C y un paso de elongamiento final de 7 minutos a 72°C; las temperaturas de alineamiento para el cebador fueron de 54° C para CYP3A5, ABCB1 1236C> T y 3435C ABCB1> T, y de 56° C para ABCB1 2677G> T/A. Las temperaturas de alineamiento para la sonda fueron 40 ° C en el caso de CYP3A5, 1236C ABCB1> T y ABCB1 3435C> T, y 30° C para el ABCB1 2677G> T/A.

Como control de calidad interna un 20% de las muestras también se genotiparon por secuenciación convencional mediante el método de Sanger en un secuenciador ABI3730xl.

Los productos de PCR (196 bp) se analizan en gel de agarosa al 2% y purificado usando el MiniElute® PCR Purification Kit (Qiagen®, Duesseldorf, Germany). Los productos de secuenciación se purificaron usando DyeEx 2.0 Spin Kit y secuenciados en el ABI PRISM® 3100 Genetic Analyzer (Life Technologies Corporation, Carlsbad, California, USA).



Figura 8.- Electroforesis en gel de agarosa para el CYP3A5.

***Nota:** En la posición 6, 8 y 18 pacientes heterocigotos (*1/*3) y por lo tanto expresores. El resto, pacientes homocigotos para la mutación *3/*3, no expresores.

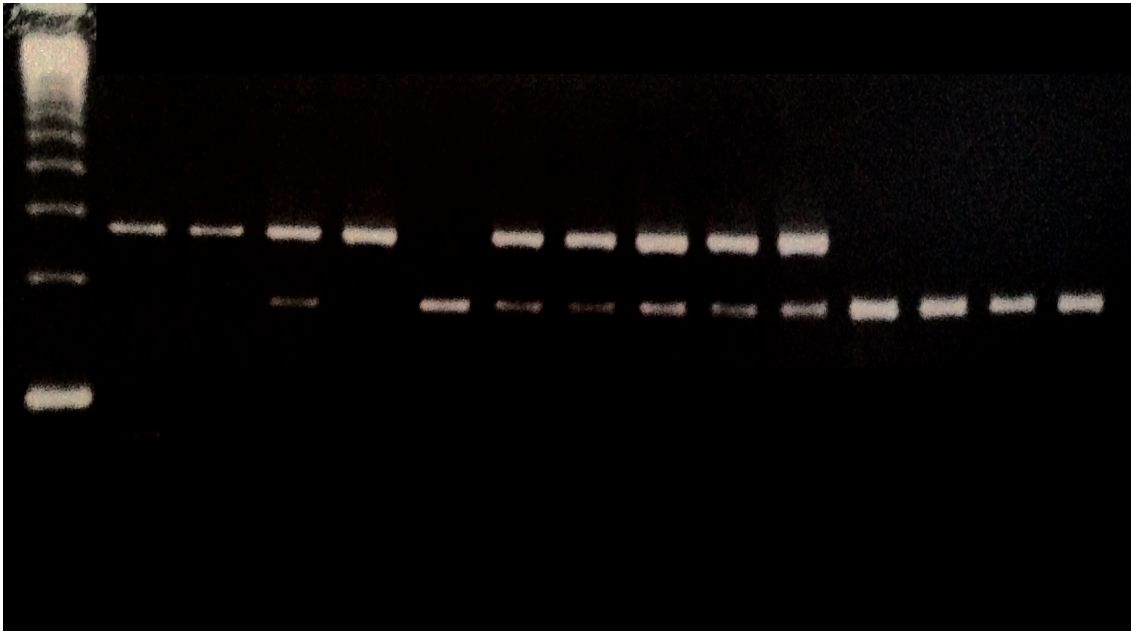


Figura 9.- Electroforesis en gel de agarosa para el ABCB1 (SNP 1236C>T).

***Nota:** En la posición 1, 2 y 4 pacientes homocigotos no expresores (TT), en posición 5, 11, 12, 13 y 14 homocigotos no mutados expresores (CC). El resto de muestras son de paciente heterocigotos no expresores (CT).

5.8. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

5.8.1. Método estadístico

Las variables categóricas ordinales o nominales se describieron mediante el número de casos en cada categoría incluyendo el número de missing o datos faltantes y calculando el porcentaje respecto al total.

Se compararon mediante la prueba Chi cuadrado o mediante la prueba exacta de Fisher para restablecer las diferencias entre los grupos.

Las variables cuantitativas continuas se describieron con medidas de centralización y de dispersión: número de casos válidos, missings o casos faltantes, media, desviación estándar (DS), mínimo, P25, mediana, P75 y máximo.

Se compararon mediante la prueba t de Student y el análisis de la varianza (ANOVA). Cuando una distribución normal no estaba presente, las variables continuas se expresaron como mediana y rango y se compararon mediante la prueba U de Mann-Whitney.

Un valor de $p > 0,05$ fue considerado significativo en todas las pruebas.

Todos los análisis se realizaron utilizando el software estadístico SPSS, versión 20 para Mac.

5.8.2. Análisis de eficacia

Se realizó la descriptiva (prevalencia) de los polimorfismos de las enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac.

Se describieron las medidas de tendencia central y de dispersión de las variables secundarias descritas anteriormente (Cmin y Cmin/dosis diaria de Tac en los días 3, 7 y 14 y los meses 1 y 3 post trasplante, tiempo hasta la consecución del rango terapéutico, etc.).

Se hizo un análisis de la prevalencia del tipo de polimorfismos encontrados y en dependencia de la cantidad de casos encontrados para cada tipo de polimorfismos, se pudo hacer una evaluación multivariada de la prevalencia por métodos de regresión logística.

La igualdad de los valores de prevalencia encontrados entre los diversos polimorfismos se evaluó mediante el test de chi cuadrado.

El impacto de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac y MMF, en el coeficiente concentración-dosis de dichos fármacos, se analizó mediante un ANOVA (si se cumplen las hipótesis para su aplicación) o mediante un test de Kruskal-Wallis si no se cumplen las condiciones para la aplicación del ANOVA.

Finalmente, la correlación entre la presencia de los polimorfismos genéticos de los enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de Tac y MMF y el perfil de eficacia y seguridad de dicha combinación, se evaluó, procediendo previamente a determinar los perfiles de eficacia y seguridad de mayor prevalencia y asignándoles valores categóricos. Esta asignación permitió construir las tablas de contingencia para evaluar la significación estadística de relación entre las variables anteriores y medirla cuantitativamente mediante el coeficiente de contingencia.

5.8.3. Evaluación de la seguridad

La evaluación de seguridad tuvo en cuenta la población ITT y se basó principalmente en la frecuencia de acontecimientos adversos o signos vitales anormales.

Los acontecimientos adversos se resumieron presentando el número y porcentaje de pacientes que tienen algún acontecimiento adverso, y que tienen cada acontecimiento adverso individual. También se indicó, cuando fue apropiado, cualquier otra información recogida (por ejemplo, gravedad o relación con la medicación de estudio).

5.8.4. Criterios para la finalización del estudio

El estudio podía ser interrumpido en cualquier momento por parte del promotor o las autoridades sanitarias, siempre que, según su criterio, existiesen motivos que afecten a la seguridad de los pacientes que justificasen esta decisión.

En caso de finalización anticipada del estudio, tan pronto como se hubiese tomado la decisión, ésta se comunicaría en el plazo de un día laborable a todas las partes implicadas, incluyendo promotor o autoridades sanitarias (el que procediese, teniendo en cuenta dónde se hubo originado la decisión) e investigadores. Los investigadores serían los responsables de informar a los pacientes de la finalización del estudio en el menor tiempo posible.

Se explicaría de forma detallada las razones que hubiesen motivado la decisión, así como los procedimientos a seguir en todos los centros, que garantizaran la correcta información a los pacientes de estos motivos y su futuro seguimiento clínico fuera del marco del estudio, así como el cumplimiento de las buenas prácticas clínicas en el proceso de cierre del estudio, incluyendo el análisis de los datos recogidos hasta la finalización anticipada y la presentación del informe final a los investigadores, y Autoridades Sanitarias.

5.8.5. Manejo de los datos perdidos o incompletos

Para las variables perdidas o incompletas no se realizó ningún tipo de imputación de datos. Únicamente se analizaron los casos observados y se describió el número de datos faltantes en cada análisis.

5.8.6. Pacientes a incluir en los análisis

El análisis se realizó basándose en la intención de tratamiento. Se definieron dos poblaciones en el estudio:

Población por intención de tratar (ITT): Incluye todos los pacientes que recibieron al menos una dosis de Tac y/o MMF.

Población por protocolo (PP): Incluye todos los pacientes pertenecientes al grupo de población por intención de tratar, de los que se disponía del estudio farmacogenético y que además no habían tenido desviaciones mayores del protocolo.

Se consideró desviaciones mayores de protocolo:

- El incumplimiento de alguno de los criterios de selección.
- La retirada de Tac o MMF durante un periodo superior a 14 días consecutivos o 30 acumulados.

5.9. ASPECTOS ÉTICOS

5.9.1. Consideraciones generales

El presente estudio clínico se realizó de acuerdo con el protocolo, los principios establecidos en la versión revisada actual de la Declaración de Helsinki (Tokio, 2004) y de acuerdo con los requisitos reguladores aplicables, en particular la circular 15/2002, que establece las directrices sobre estudios post-autorización de tipo observacional para medicamentos de uso humano.

El investigador consiente, cuando firma el protocolo, en adherirse a las instrucciones y procedimientos descritos en ellos y de esta manera, seguir los principios de las buenas prácticas clínicas que ellos implican.

5.9.2. Evaluación beneficio-riesgo

El presente estudio no tiene posibilidad de generar ningún riesgo sobre los sujetos estudiados al no suponer ningún cambio en el tratamiento ni en los procedimientos diagnósticos a los que se sometería al paciente en condiciones de seguimiento clínico habitual.

5.9.3. Hoja de información y formulario de consentimiento

A cada sujeto que se le solicitó la participación en el estudio, se le entregó un documento escrito denominado "hoja de información para el paciente", que contenía la información relevante y necesaria sobre el estudio, en una terminología comprensible para él (anexo 5). En esta hoja de información queda claramente puesto de manifiesto la realización del estudio genético, y el hecho de que las muestras no se utilizarían para estudios genéticos distintos de los descritos en este protocolo.

Fue responsabilidad del investigador obtener el consentimiento informado por escrito de cada paciente que participó en el estudio, después de explicarle los objetivos, métodos, ventajas y riesgos potenciales del estudio. El consentimiento debería obtenerse antes de realizar cualquier procedimiento específico del estudio. Debería aclararse completa e inequívocamente a cada paciente que es libre de rechazar la participación en el estudio o que puede retirar su consentimiento en cualquier momento y por cualquier razón, sin que se le ponga ninguna sanción o se le niegue el tratamiento por parte del investigador. Los investigadores conservaron el consentimiento informado firmado en un archivo y fue documentado en el cuaderno de recogida de datos y en los registros médicos de los pacientes.

5.9.4. Comités éticos de investigación clínica

En cumplimiento con la circular 15/2002, el promotor presentó la documentación pertinente al menos a un Comité Ético de Investigación Clínica para su evolución y posterior informe, en este caso al Comité Autonómico de Andalucía. Además el estudio fue presentado para su evaluación a las Comunidades Autónomas en las que se localizaron los centros participantes. También se presentaron antes de su inicio a la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios.

5.9.5. Confidencialidad de los datos

Con el fin de garantizar la confidencialidad de los datos de los pacientes participantes en el estudio, sólo tuvieron acceso a los mismos el investigador y su equipo de colaboradores, el representante del promotor, el CEIC y las Autoridades Sanitarias pertinentes.

El contenido de los cuadernos de recogida de datos, así como los documentos generados durante el estudio y la base de datos electrónica, fueron protegidos frente al uso por parte de personas ajenas a la investigación, fueron considerados estrictamente confidenciales y no serían revelados a terceros excepto a los especificados en el párrafo anterior. El tratamiento de los datos de carácter personal requeridos en este estudio se rige por la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de diciembre de Protección de Datos de Carácter Personal, exclusivamente para el desarrollo y buen fin del estudio.

5.9.6. Control y garantía de calidad

Durante el desarrollo del estudio el monitor fue el responsable de asegurar que se estaba desarrollando el estudio en cumplimiento de las buenas prácticas clínicas y la legislación vigente, verificando, entre otros procedimientos, que se habían obtenido correctamente los consentimientos informados escritos de todos los pacientes, que se han seguido los procedimientos del estudio tal y como se detallan en este protocolo y que se había realizado una recogida precisa y fiable de los datos, para lo que se contrastó la información disponible en las historias clínicas con los datos registrados en el CRD.

El investigador principal se comprometió a dar acceso a las historias clínicas de los pacientes incluidos en el estudio, así como a los informes de los laboratorios, imágenes, registros de dispensación de los fármacos, y cualquier otro documento fuente que contuviera información relacionada con la evolución y seguimiento de los pacientes durante su participación en el estudio, al promotor y/o su representante, al CEIC y a las Autoridades Sanitarias, con el fin de poder verificar la veracidad y corrección de los datos recogidos en los CRD.

En caso de falta de información o información parcial o imprecisa se generaría informes de discrepancias por parte del departamento de gestión de datos de la compañía Dynamic Solutions, responsable de esta tarea, para la resolución por parte del investigador.

Los datos generados en este estudio se manejaron de acuerdo con los procedimientos normalizados de trabajo de la compañía Dynamic Solutions por determinar responsable de la monitorización, gestión de datos y análisis estadístico del mismo.

5.9.7. Interferencia con los hábitos de prescripción médicos

El proyecto aquí planteado no interfiere en ningún caso con los hábitos de tratamiento, ya que se limita a una recogida de datos de pacientes en los que el médico ya ha definido el tipo de tratamiento a utilizar para tratar al paciente.

5.10. CONSIDERACIONES PRÁCTICAS

5.10.1. Plan de trabajo/ calendario de evaluaciones

El estudio se realizó siguiendo el esquema de visitas que se detalla en la Tabla 18, y recogiendo la información también indicada en el CRD.

Tabla 18- Plan de trabajo/calendario de evaluaciones.

Valoraciones	Basal Visita 1	Visita 2	Visita 3	Visita 4	Visita 5	Visita 6
	Día 0 (Pretx)	Día 3 (±1 día)	Día 7 (±2 días)	Día 14 (±2 días)	Mes 1 (±7 días)	Mes 3 (±7días)
Consentimiento informado ¹	X					
Criterios de inclusión / exclusión	X					
Datos del paciente ²	X					
Detalles de la cirugía, datos del donante y del órgano donante ³	X					
Diagnóstico primario / Diagnósticos secundarios	X					
Antecedentes médicos / Medicación previa al estudio	X					
Exploración física	X					
Tensión arterial	X	X	X	X	X	X
Peso y altura (altura sólo en día 0)	X			X	X	X
Test de embarazo ⁴	X					
Polimorfismos genéticos del paciente y el injerto ⁵	X					
Valoraciones de laboratorio ⁶	X	X	X	X	X	X
Dosis Tac y MMF		X	X	X	X	X
Niveles C _{min} de Tac y MPA		X	X	X	X	X
Medicación concomitante		X	X	X	X	X
Episodios de rechazo agudo		X	X	X	X	X
Acontecimientos adversos		X	X	X	X	X

1. El consentimiento informado se obtendrá antes de la inclusión en el estudio.
2. Edad, sexo, estatura, raza, motivo de la insuficiencia hepática, trasplantes previos, estado vírico [VHB (HBsAg), VHC, CMV, VEB, VIH], grupo sanguíneo ABO, grado PRA (valor máximo en los últimos seis meses) y fecha.
3. Datos del donante y del órgano: Edad, sexo, estado vírico (VHB, VHC, CMV, VEB, VIH), grupo sanguíneo ABO, tipo de donación de órgano, solución de preservación y tiempo de isquemia fría.
Detalles de la cirugía: fecha y hora de la reperusión y especificación de las complicaciones, si es aplicable.
4. Prueba de embarazo en mujeres en edad fértil, sin esterilidad documentada.
5. Se hará una extracción de sangre adicional al paciente pretrasplante, que se remitirá al laboratorio central. Se enviará también una muestra hepática del injerto (sangre y/o biopsia). El envío de muestras podrá realizarse una vez finalizada la inclusión de los pacientes en el centro. Los detalles sobre la forma de almacenamiento y envío de las muestras, se detallarán por el laboratorio central en un documento aparte.
6. Hemograma, GOT, GPT, FA, GGT, bilirrubina total, creatinina sérica, colesterol total, HDL colesterol, LDL colesterol, triglicéridos, sodio, potasio, glucosa.

5.10.2. Evaluación de seguridad

Se determinó el perfil de seguridad del tratamiento a partir de los acontecimientos adversos registrados por los pacientes. Se registraron todos los acontecimientos adversos que se manifiesten hasta 28 días después de la última dosis de medicación del estudio.

5.10.3. Registro y comunicación de acontecimientos adversos

Fue responsabilidad del investigador notificar todos los acontecimientos adversos en el CRD, tanto los observados por él como los notificados espontáneamente por el paciente, independientemente de la relación con el/los fármacos, en el momento en que se registren los datos relacionados con la visita donde ha tenido conocimiento del mismo.

5.10.4. Definición de acontecimiento adverso

Un Acontecimiento Adverso (AE), en el marco de este estudio, fue cualquier evento perjudicial para la salud en un paciente del estudio clínico tratado con un medicamento, aunque no tenga necesariamente relación causal con dicho tratamiento.

Por lo tanto, un acontecimiento adverso puede ser cualquier signo desfavorable y no intencionado (incluyendo un hallazgo de laboratorio anormal si se considera clínicamente significativo por el investigador), síntoma o enfermedad, asociado temporalmente con el uso de un producto o dispositivo médico, se considere o no relacionado con el tratamiento.

Las condiciones pre-existentes que empeoren durante un estudio se notificarían como acontecimientos adversos. Podrían convertirse en acontecimientos adversos graves si cumplen uno de los criterios de gravedad descritos más adelante.

La definición de acontecimiento adverso incluía las siguientes situaciones:

- Todas las sospechas de reacciones provocadas por los fármacos en estudio.
- Cualquier signo o síntoma de enfermedad intercurrente, aunque se considere no relacionado con la medicación, el cual se presenta en cualquier momento durante el estudio.
- El empeoramiento de enfermedades pre-existentes, entendiendo por éstas cualquier alteración o síntoma presente antes del inicio del estudio, y registrada en la historia clínica basal.
- Daño o accidente.
- Hallazgos de alteraciones psicológicas, pruebas de laboratorio o examen físico que requieran intervención clínica o estudios adicionales.

En el caso de identificar un acontecimiento adverso se recogió en el CRD la información mínima que se detalla a continuación:

- Descripción.
- Intensidad.
- Gravedad.
- Duración.

- Acciones tomadas para su resolución (incluyendo tratamiento/s administrado/s).
- Resolución.
- Relación causal con el/los tratamientos del estudio (ver siguiente apartado).

En el marco de este estudio NO se consideraron efectos adversos los rechazos agudos o sospecha de los mismos, ni las recurrencias de hepatitis C o hallazgos de laboratorio relacionados con éstas, independientemente de su gravedad. Estas patologías se registraron en apartados específicos del CRD.

5.10.5. Definición de causalidad

Tanto el investigador como el promotor valoró la relación causal entre el uso de los fármacos investigados en el estudio y los acontecimientos adversos. La relación causal con el producto puede ser:

- Probable: Existe una asociación temporal razonable entre el acontecimiento adverso y la administración de los tratamientos del estudio, y basado en la experiencia clínica del investigador, la asociación del acontecimiento adverso con el/los tratamientos del estudio parece probable.
- Posible: La asociación del acontecimiento adverso con la medicación del estudio es desconocida, sin embargo no es evidente que el acontecimiento adverso sea producido por otras causas.
- No relacionado: Existe una pequeña o nula posibilidad de que el tratamiento del estudio haya causado el acontecimiento adverso.

En el análisis de seguridad de los datos del estudio, todos los AE clasificados como probable o posiblemente relacionados con los tratamientos del estudio fueron considerados relacionados con los acontecimientos adversos, por lo que ambas categorías tuvieron el mismo estatus en los informes de los resultados del estudio.

5.10.6. Definición de intensidad

Para cada AE notificado se realizó una evaluación de intensidad inicial y posteriormente en cada visita de seguimiento. Las modificaciones en la intensidad del acontecimiento adverso fueron notificadas en el CRD.

La clasificación de intensidad utilizada fue la siguiente:

- Leve: Existe conciencia de los signos o síntomas, pero estos son fácilmente tolerados.
- Moderada: La molestia interfiere con la actividad habitual.
- Grave: El acontecimiento adverso provoca incapacidad para trabajar o realizar la actividad habitual.

5.10.7. Acontecimientos adversos graves

Cada AE fue valorado por el investigador como grave o no grave. Esta clasificación determina los procedimientos de notificación del acontecimiento adverso.

En caso de que un acontecimiento adverso fuese clasificado como grave y relacionado con el/los medicamentos en estudio, según la definición que se muestra a continuación, debería notificarse al promotor o al representante que éste indique. La notificación sería inmediata (en 24 horas) desde que se tenga conocimiento del mismo, en el formulario de “notificación de sospecha de reacción adversa” que se incluye en el *Anexo 4*.

La información mínima a incluir en la notificación inicial del acontecimiento adverso grave incluyó: identificación del sujeto, identificación del acontecimiento adverso, fecha de inicio, tratamiento del mismo y nombre de la persona que originariamente notifica el acontecimiento.

La notificación inmediata del acontecimiento adverso en el formulario es un requisito legal y fue adicional a la recogida de estos datos en el CRD.

5.10.8. Definición de gravedad

Cualquier acontecimiento adverso que cumpliera al menos uno de los siguientes criterios:

- Sea fatal (produzca la muerte) (nota: la muerte es el resultado de un acontecimiento, pero no un acontecimiento en sí mismo)
- Sea amenazador para la vida.
- Requiera la hospitalización del paciente o una prolongación de una hospitalización existente (se considera “hospitalización del paciente” a una hospitalización no planeada, con una duración mínima de al menos una noche).
- Produzca invalidez o incapacidad permanente o importante.
- Dé lugar a una anomalía o malformación congénita.

A efectos de su notificación, se trató también como graves aquellas sospechas de acontecimiento adverso o reacción adversa que se consideraron importantes desde el punto de vista médico, aunque no cumplieran los criterios anteriores.

En el marco de este estudio NO se consideraron efectos adversos graves los rechazos agudos ni las recurrencias de hepatitis C, independientemente de su gravedad, ni las hospitalizaciones provocadas por estas patologías. Tampoco se consideraron efectos adversos graves las hospitalizaciones para realizar biopsias hepáticas.

5.10.9. Seguimiento de los pacientes después de los acontecimientos adversos

El seguimiento de los pacientes que sufrieran algún acontecimiento adverso, así como la evolución de los mismos y su registro continuó hasta la finalización del estudio. Sin embargo, si algún acontecimiento adverso estuviese presente en la última visita de seguimiento del estudio, éste sería seguido hasta su resolución, o hasta que el investigador lo valorase como crónico o estable.

5.10.10. Manejo de los datos y mantenimiento de los registros

Se mantuvo un archivo en cada centro participante con la documentación del estudio, los documentos esenciales, incluyendo protocolo, cuadernos de recogida de datos, información de los productos utilizados en el estudio, originales de consentimientos informados firmados, notificaciones de reacciones adversas graves y autorizaciones de los CEICs y Comunidades Autónomas, así como el resto de la documentación requerida para asegurar el cumplimiento de las buenas prácticas clínicas.

5.10.11. Uso de medios electrónicos

Los datos requeridos para el análisis se registraron y transfirieron electrónicamente a una base de datos central, por medio de un cuaderno electrónico de recogida de datos (e-CRD). El sistema funcionaba en Internet, con un sistema de registro de datos en tiempo real (on line). Los datos, introducidos por los investigadores se transfirieron directamente por Internet a una base de datos central, sin que se registrasen en el ordenador local del investigador, utilizando la metodología e-Clinical.

Los datos en el e-CRD debían introducirse en el plazo de 7 días naturales desde que se realizara la visita del paciente.

Todos los datos recibidos por medio del uso de la metodología e-Clinical, se almacenaron en servidores sometidos a los procedimientos de trabajo oportunos para cumplir con la norma FDA 21 CFR Part 11 y por consiguiente garantizar la confidencialidad, seguridad y autenticidad de los mismos.

El cumplimiento de la norma 21 CFR Part 11 asegura que los datos recibidos por medio de transmisión electrónica son tan válidos como los originales recibidos en papel. Dicha norma marca las reglas para el uso de los datos electrónicos y define los requerimientos de todos los sistemas para la recogida, almacenamiento, mantenimiento y seguridad de los mismos.

A cada investigador se le hizo entrega mediante documento cerrado un nombre de usuario y una contraseña compuesta de entre 4 y 6 dígitos. Estos códigos fueron considerados confidenciales e intransferibles y estaban sometidos a las mismas normas de confidencialidad que el resto de los documentos, incluido el propio protocolo.

Fue responsabilidad de los investigadores mantener en secreto sus contraseñas y no revelarlas a terceras partes.

El monitor y el promotor del estudio tenían códigos de acceso exclusivamente para la lectura de los datos, también entregados mediante documento cerrado. En ningún momento podían modificar la información registrada en la web por el investigador.

Una vez introducidos los datos en el sistema, un programa de validación los verificaba y de acuerdo con esto se generaban informes de discrepancias automáticos, para facilitar la correcta cumplimentación del CRD electrónico. Por otra parte, el monitor revisaba los datos registrados por el investigador, y contactaba con él si fuera necesario, para conseguir que completara la totalidad de los datos y garantizar su congruencia clínica.

El investigador principal o un miembro de su equipo investigador cumplimentaba para cada paciente participante un CRD electrónico. Si un paciente se retiraba del estudio, el motivo debía quedar reflejado en el CRD.

El investigador debía garantizar al promotor que los datos comunicados son precisos y completos.

La base de datos del estudio fue registrada en la Agencia de protección de datos, en cumplimiento con la Ley Orgánica 15/1999.

Una vez finalizado el estudio en los centros, la base de datos fue enviada al departamento de biometría de la compañía Dynamic Solutions, responsable del análisis estadístico de los mismos.

5.10.12. Informes de seguimiento y final

Tras el cierre de la base de datos se realizó el análisis estadístico y se presentó un informe con los datos descriptivos, que fue revisado y aprobado por el promotor del estudio.

Una copia del mismo se hizo llegar al Comité Ético de Investigación Clínica que autorizó la realización del mismo.

6. Resultados

6.1. FRECUENCIAS DE LOS GENOTIPOS CYP3A5 Y ABCB1

Se analizaron los genotipos de ambas enzimas en función de los distintos SNPs que podían manifestar y se agruparon en función de los grupos de estudio (receptores/donantes).

6.1.1. Frecuencia de los genotipos en los receptores

6.1.1.1. CYP3A5

La frecuencia para la mutación 6986G>A en el intrón 3 en el SNP *3/*3 (G/G), fenotipo no expresor, por alelo mutado estuvo presente en un 85,7%; y la frecuencia del SNP*1/3 (A/G) expresores heterocigotos fue del 14,3%; para el *1/1 (A/A) expresores “wild type” fue del 0%. (Tabla 19)

Tabla 19.- Frecuencias del genotipo CYP3A5 en el grupo de receptores hepáticos.

Genotipo	Condición alélica	Frecuencia n=98
CYP 3A5 6986G>A (Intrón 3)	G/G (<i>CYP3A5</i> *3/3)	84 (85.7%)
	A/G (<i>CYP3A5</i> *1/3)	14 (14,3%)
	A/A (<i>CYP3A5</i> *1/1)	0 (0%)

6.1.1.2. ABCB1

Para el gen 2677G>T en el exón 21 la frecuencia del SNP “wild type” (G/G) fue del 35,7% y de heterocigotos (G/T) del 40,8%

En el caso del gen 3435C>T en el exón 26 se presentó el SNP “wild type” (C/C) en un 30,6% y de un 41,8% en los heterocigotos (C/T).

Para el gen 1236C>T en el exón 12 el SNP “wild type” (C/C) apareció en un 38,8% y en el 41,8% de los casos fue heterocigoto (C/T) (Tabla 20).

Tabla 20.- Frecuencias del genotipo ABCB1 en el grupo de receptores hepáticos

Genotipo	Condición alélica	Frecuencia n=98
ABCB1 2677G>T (Exón 21)	G/G (<i>wild-type</i>)	35 (35.7%)
	G/T	40 (40.8%)
	T/T	20 (20.4%)
	G/A & T/A	3 (3.1%)
ABCB1 3435C>T (Exón 26)	C/C (<i>wild-type</i>)	30 (30.6%)
	C/T	41 (41.8%)
	T/T	27 (27.6%)
ABCB1 1236C>T (Exón 12)	C/C (<i>wild-type</i>)	38 (38.8%)
	C/T	41 (41.8%)
	T/T	19 (19.4%)

6.1.2. Frecuencia de los genotipos en los donantes

6.1.2.1. CYP3A5

Para la mutación 6986G>A en el intrón 3 la frecuencia fue: *3/3 (G/G), fenotipo no expresor, por alelo mutado, con un 84%; *1/3 (A/G) expresores heterocigotos con 13,6%; *1/1 (A/A) expresores “wild type” con una frecuencia del 2,3% (Tabla 21).

Tabla 21.- Frecuencias del genotipo CYP3A5 en el grupo de donantes hepáticos.

Genotipo	Condición alélica	Frecuencia n=88
CYP 3A5 6986G>A (Intrón 3)	G/G (<i>CYP3A5*3/3</i>)	74 (84%)
	A/G (<i>CYP3A5*1/3</i>)	12 (13,6%)
	A/A (<i>CYP3A5*1/1</i>)	2 (2.3%)

6.1.2.2. ABCB1

Los SNPs más prevalentes fueron para el gen 2677G>T (G/T) heterocigotos con un 42%, para el gen 3435C>T (C/T) heterocigotos en un 37,5% y en el caso del gen 1236C>T (C/T) heterocigotos en el 53,4% de los injertos (Tabla 22)

Tabla 22.- Frecuencias del genotipo ABCB1 en el grupo de donantes hepáticos.

Genotipo	Condición alélica	Frecuencia n=88
ABCB1 2677G>T (Exón 21)	G/G (<i>wild-type</i>)	27 (30.7%)
	G/T	37 (42.0%)
	T/T	18 (20.5%)
	G/A & T/A	6 (6.8%)
ABCB1 3435C>T (Exón 26)	C/C (<i>wild-type</i>)	27 (30.7%)
	C/T	33 (37.5%)
	T/T	28 (31.8%)
ABCB1 1236C>T (Exón 12)	C/C (<i>wild-type</i>)	23 (26.1%)
	C/T	47 (53.4%)
	T/T	18 (20.5%)

6.1.3. Frecuencia global de los genotipos

Analizando las 186 muestras (receptores y donantes) los SNPs más prevalentes son, para el caso del CYP3A5, el *3/*3 con un 85%; en el caso del ABCB1, para el gen 1236C>T el CT heterocigoto en un 47,3%, para el 3435C>T el CT heterocigoto en un 39,8%, en el caso del SNP 2677G>T/A un 41,3% de heterocigotos GT (Tabla 23).

Tabla 23.- Frecuencias del genotipo CYP3A5 y ABCB1 en global.

Genotipo	Condición alélica	Frecuencia GLOBAL n=186
CYP 3A5 6986G>A (Intrón 3)	G/G (<i>CYP3A5</i> *3/3)	158 (85%)
	A/G (<i>CYP3A5</i> *1/3)	26 (13.9%)
	A/A (<i>CYP3A5</i> *1/1)	2 (1.1%)
ABCB1 1236C>T (Exón 12)	C/C (wild-type)	61 (32.8%)
	C/T	88 (47.3%)
	T/T	37 (19.9%)
ABCB1 3435C>T (Exón 26)	C/C (wild-type)	57 (30.6%)
	C/T	74 (39.8%)
	T/T	55 (29.4%)
ABCB1 2677G>T (Exón 21)	G/G (<i>wild-type</i>)	62 (33.3%)
	G/T	77 (41.3%)
	T/T	38 (20.4%)
	G/A & T/A	9 (4.8%)

6.2. EFECTO DE LOS POLIMORFISMOS CYP3A5 EN LA CONCENTRACIÓN/DOSIS DE TACROLIMUS

Se presenta a continuación las dosis de tacrolimus empleadas en cada día de la visita de seguimiento, así como los niveles del fármaco medidos en sangre, y la relación C/D_0 . Se comparan los resultados para los distintos SNPs del CYP3A5 en los días 3, 7, 14 y al mes y tres meses de seguimiento.

Se comparan de la misma forma los datos para el grupo según el genotipo del receptor como del donante.

6.2.1. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 según el genotipo del receptor en la concentración/dosis de tacrolimus

El tamaño muestral del grupo según el genotipo del receptor fue de $n=98$. Se recogieron las medianas por genotipo, agrupando los heterocigotos y homocigotos expresores en uno sólo, ya que en ambos el fenotipo es el mismo (expresor).

6.2.1.1. Visita 1: día 3 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo mutante, no expresor, *3/*3 la dosis mediana alcanzada fue de 0,081mg/kg/día. En el grupo de expresores la mediana fue de 0,095mg/kg/día.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 8,3ng/ml, mientras que para los expresores (*1/*1, *1/*3) fue de 6,7mg/ml.

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 102,3 frente a 70,5 en el caso de los expresores (Tabla 24, figura 10).

Tabla 24.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo CYP3A5, en la primera visita (día 3).

n=98	*3/*3 (n=84)	*1/*3 (n=14)	*1/*1 (n=0)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.081 (0.071-0.090)	0.095 (0.073-0.118)		0.230
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	8.3 (5.3-22.0)	6.7 (2.9-19.3)		0.112
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	102.3 (46.0-297.0)	70.5 (29.0-129.0)		0.631

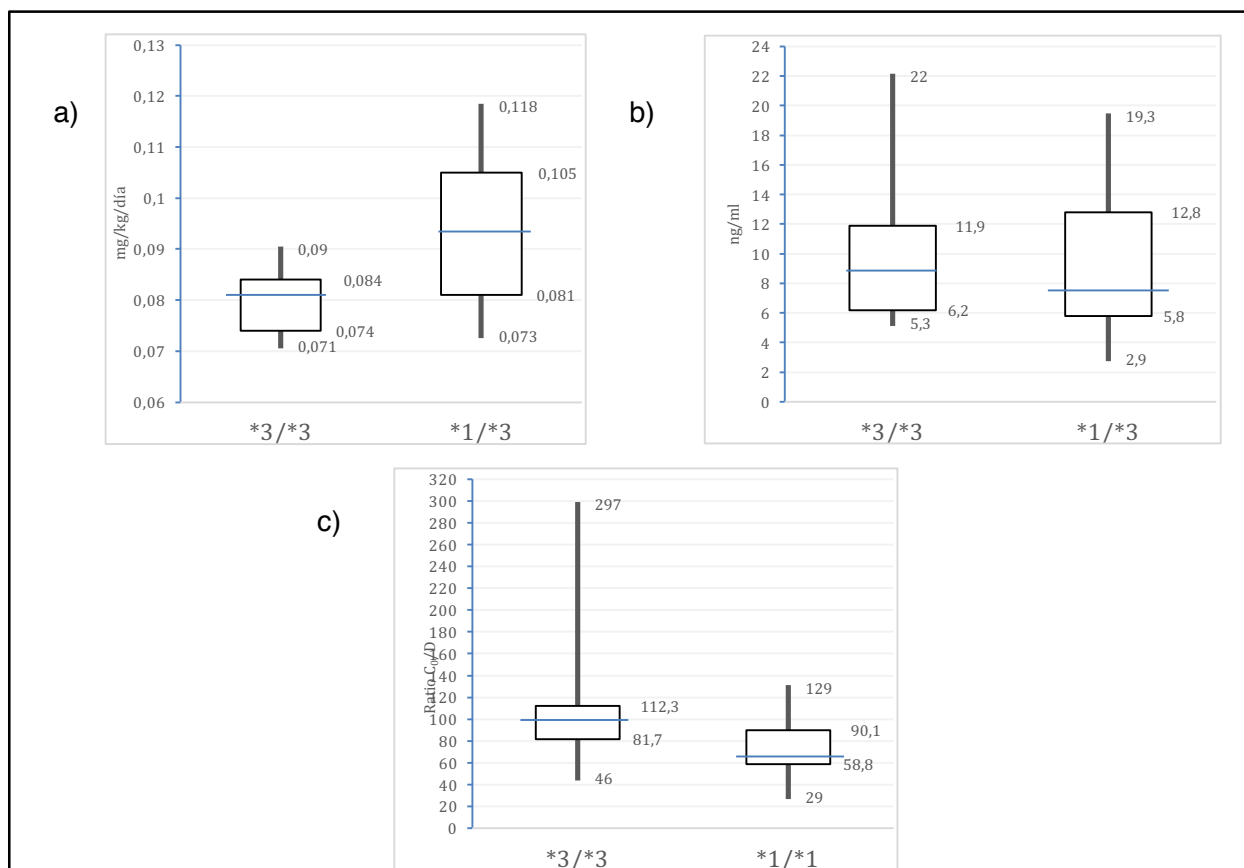


Figura 10.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 3 para el grupo de receptores: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 1:

Tras la primera visita (día 3 postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac similares en ambos grupos, 1,17 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,230$). Como se representa en la figura 10a, el grupo expresor presentó valores más dispersos respecto a la media, con valores máximos y mínimos más extremos.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,23 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,112$). En la figura 10b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos.

La ratio C/D fue 1,45 veces más alta en el grupo no expresor ($p=0,631$). Los valores medianos y la dispersión de datos fue similar en ambos grupos, sin embargo, el grupo no expresor reveló valores extremos máximos más acusados (figura 10c).

En definitiva, a día 3 postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis y concentración sanguínea de Tac fueron similares, siendo la ratio C/D menos homogénea entre ambos grupos.

6.2.1.2. Visita 2: día 7 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo mutante, *3/*3, la dosis mediana administrada fue de 0,082mg/kg/día. En el grupo de expresores la mediana fue de 0,109mg/kg/día. (p=0,037).

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 10,1 ng/ml, mientras que para los expresores (*1/*1, *1/*3) fue de 6,3 mg/ml (p=0,021).

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 123,2 frente a 57,8 en el caso de los expresores (p=0,002) (Tabla 25, figura 11).

Tabla 25.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo CYP3A5, en la segunda visita (día 7).

n=98	*3/*3 (n=84)	*1/*3 (n=14)	*1/*1 (n=0)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.082 (0.074-0.095)	0.109 (0.088-0.126)		0.037
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	10.1 (3.3-21.0)	6.3 (2.9-16.3)		0.021
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	123.2 (39.0-397.0)	57.8 (29.0-129.0)		0.002

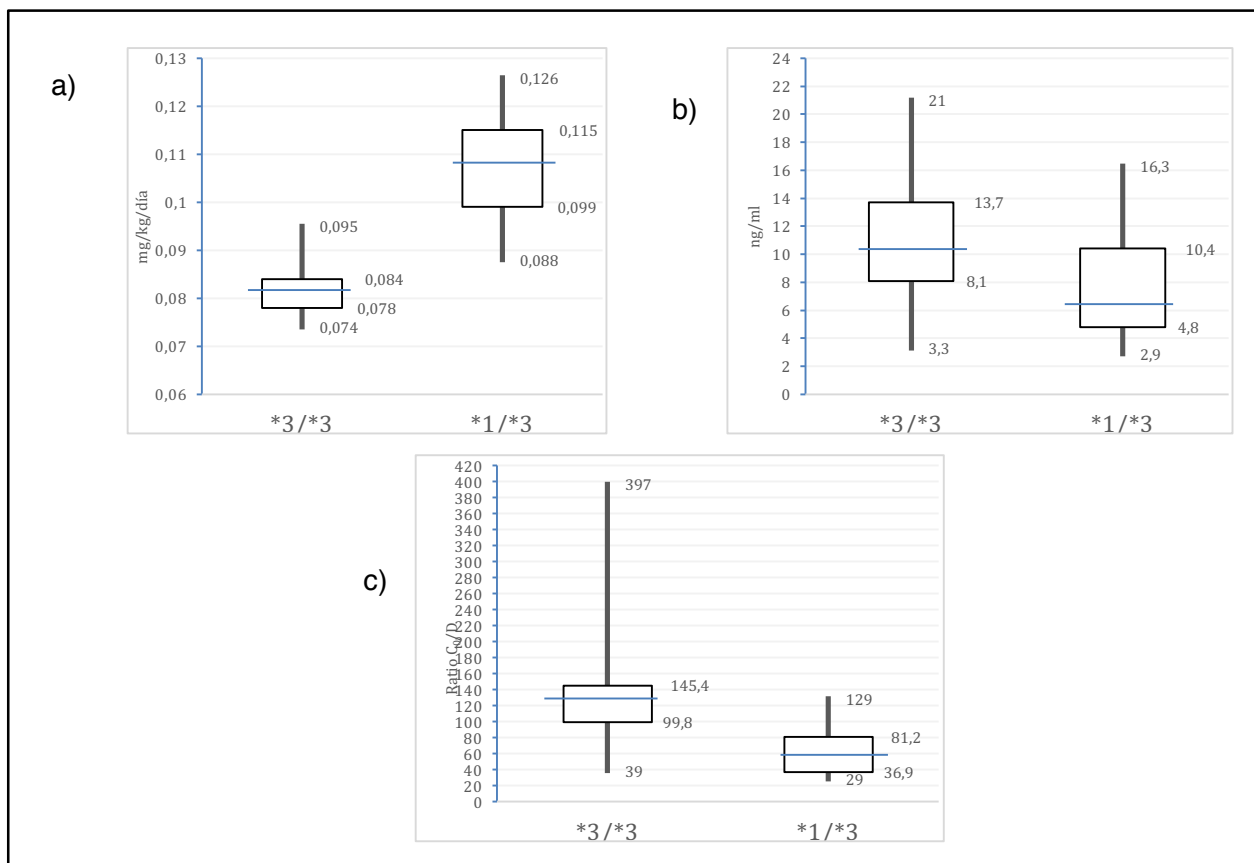


Figura 11.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 7 para el grupo de receptores: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Ante los resultados estadísticamente significativos se realizó un análisis de correlación bilateral entre las distintas variables mediante el test Rho de Spearman.

Para el grupo alelo *3/*3 el coeficiente de correlación entre la dosis de Tac y los niveles sanguíneos fue de 0,933 ($p=0,0001$); mientras que para la dosis y la ratios C/D fue de 0,821 ($p=0,002$); para los niveles y la ratio C/D de 0,981 ($p=0,0001$) (Tabla 26). En la figura 12 se representa la dispersión de los resultados de concentración de Tac respecto a la dosis administrada.

En el alelo *1/*3 el coeficiente de correlación obtenido para la dosis de Tac y los niveles sanguíneos fue de 0,843 ($p=0,0001$); mientras que para la dosis y la ratios C/D fue de 0,689 ($p=0,006$); para los niveles y la ratio C/D fue de 0,943 ($p=0,0001$) (Tabla 27). En la figura 13 se representa la dispersión de los valores de concentración respecto a dosis de Tac.

Tabla 26.- Coeficientes de correlación de los datos continuos en el día 7 para el grupo de receptores con alelo *3/*3.

Rho de Spearman (*3/*3) (día 7)		Dosis de Tac	Concentración	Ratio C/D
Dosis	Coeficiente	1	0,933	0,821
	p		0,0001	0,002
Concentración	Coeficiente	0,933	1	0,981
	p	0,0001		0,0001
Ratio C/D	Coeficiente	0,821	0,981	1
	p	0,002	0,0001	

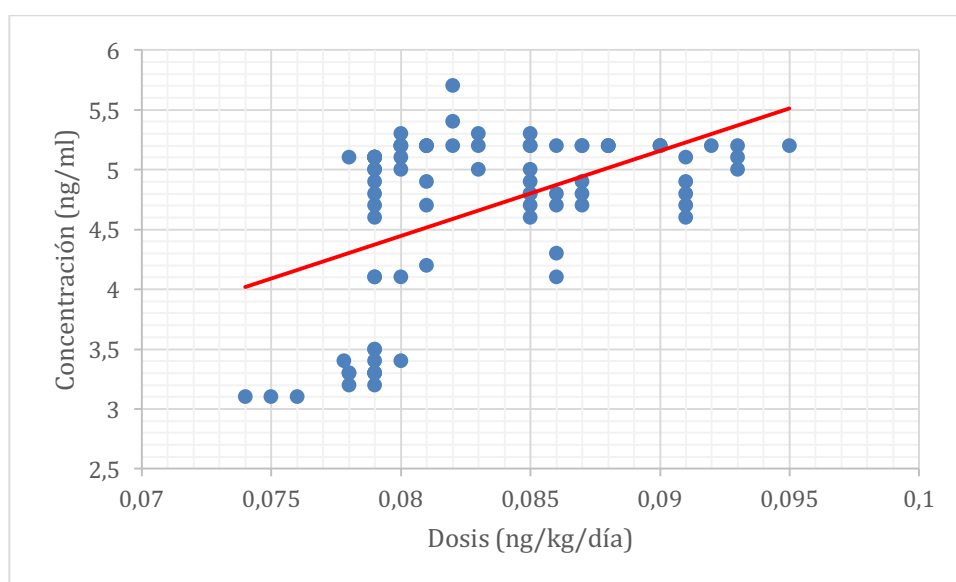


Figura 12.- Gráfico de dispersión de los valores concentración (eje Y) / dosis (eje X) para el alelo *3/*3 en el grupo de receptores en el día 7.

Tabla 27.- Coeficientes de correlación de los datos continuos en el día 7 para el grupo de receptores con alelo *1/*3.

Rho de Spearman (*1/*3) (día 7)		Dosis de Tac	Concentración	Ratio C/D
Dosis	Coeficiente	1	0,843	0,689
	p		0,0001	0,006
Concentración	Coeficiente	0,843	1	0,943
	p	0,0001		0,0001
Ratio C/D	Coeficiente	0,689	0,943	1
	p	0,006	0,0001	

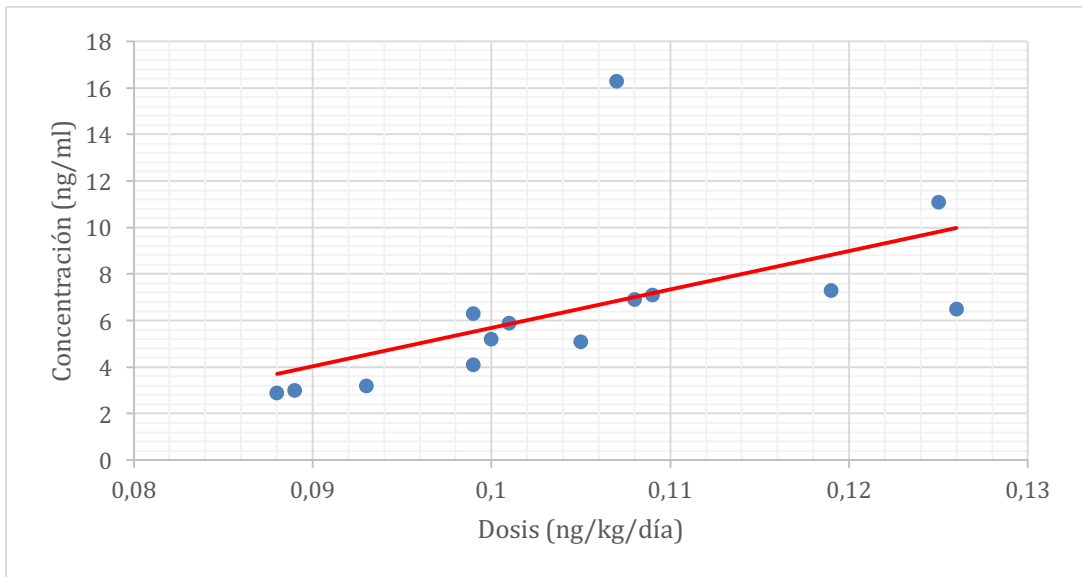


Figura 13.- Gráfico de dispersión de los valores concentración (eje Y) / dosis (eje X) para el alelo *1/*3 en el grupo de receptores en el día 7.

Resumen visita 2:

Tras la segunda visita (día 7 postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac diferentes entre ambos grupos, 1,33 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,037$). Como se representa en la figura 11a, el grupo expresor presentó valores más elevados aunque con una dispersión y unos valores extremos similares entre ambos grupos.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,60 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,021$). En la figura 11b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos.

La ratio C/D fue 2,13 veces más elevada en el grupo no expresor ($p=0,002$). Los valores medianos y la dispersión de datos fue similar en ambos grupos, sin embargo, el grupo no expresor reveló valores extremos máximos más altos (figura 11c).

Al analizar la correlación entre concentración y dosis de Tac mediante el Rho de Spearman, se apreció una asociación alta para ambos grupos (Tabla 26 y 27), sin embargo dicha asociación fue más elevada en el caso de los no expresores, con una pendiente de la curva con mayor tendencia al 1 (figura 12 y 13).

En definitiva, a día 7 postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis y concentración sanguínea de Tac son diferentes entre ambos grupos, siendo la diferencia en la ratio C/D el parámetro que mostró mayor diferencias entre ambos.

6.2.1.3. Visita 3: día 14 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo mutante, no expresor, *3/*3 la dosis mediana alcanzada fue de 0,092mg/kg/día. En el grupo de expresores la mediana fue de 0,103mg/kg/día.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 8,5ng/ml, mientras que para los expresores (*1/*1, *1/*3) fue de 8,9 mg/ml.

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 92,4 frente a 86,4 en el caso de los expresores (Tabla 28, figura 14).

Tabla 28.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo CYP3A5, en la tercera visita (día 14).

n=98	*3/*3 (n=84)	*1/*3 (n=14)	*1/*1 (n=0)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.092 (0.089-0.241)	0.103 (0.063-0.131)		0.531
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	8.5 (2.0-24.4)	8.9 (2.3-11.8)		0.098
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	92.4 (21.5-386.4)	86.4 (0.8-497.2)		0.229

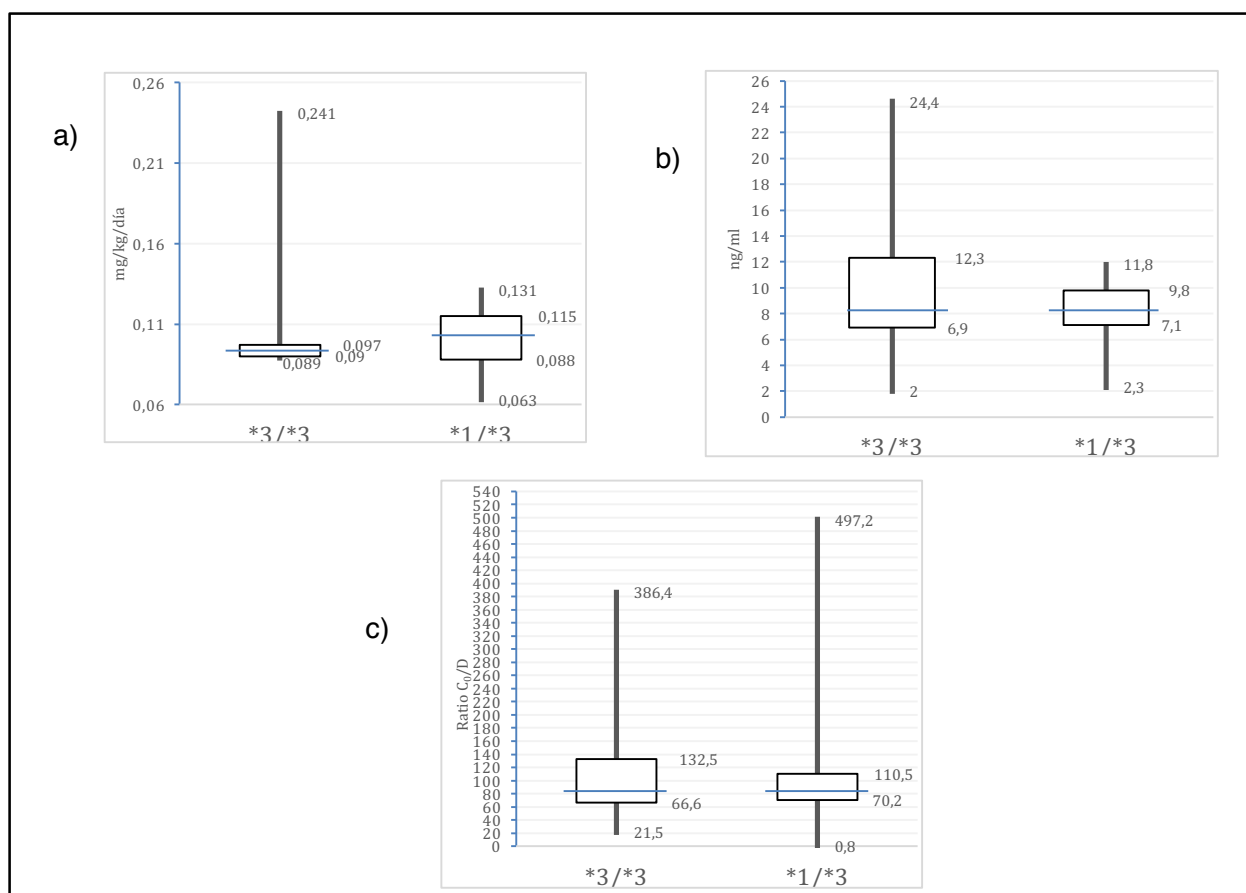


Figura 14.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 14 para el grupo de receptores: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 3:

En la tercera visita (día 14 postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac similares entre ambos grupos, 1,11 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,531$). Como se representa en la figura 14a, el grupo expresor presentó valores más elevados, si bien el grupo no expresor obtuvo unos valores menos dispersos, aunque valores extremos máximos más acusados.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,04 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,098$). En la figura 14b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos.

La ratio C/D fue 1,07 veces más alta en el grupo no expresor ($p=0,229$). Los valores medianos y la dispersión de datos fue similar en ambos grupos, sin embargo, el grupo expresor reveló valores extremos máximos más altos (figura 14c).

En definitiva, a día 14 postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis, concentración sanguínea de Tac y ratio C/D fueron bastante homogéneos y aproximados en cuanto a su comportamiento.

6.2.1.4. Visita 4: día 30 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo mutante, no expresor, *3/*3 la dosis mediana alcanzada fue de 0,100 mg/kg/día. En el grupo de expresores la mediana fue de 0,102mg/kg/día.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 9,7 ng/ml, mientras que para los expresores (*1/*1, *1/*3) fue de 9,4 mg/ml.

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 97,0 frente a 92,2 en el caso de los expresores (Tabla 29, figura 15).

Tabla 29.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo CYP3A5, en la cuarta visita (día 30).

n=98	*3/*3 (n=84)	*1/*3 (n=14)	*1/*1 (n=0)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.100 (0.068-0.221)	0.102 (0.059-0.125)		0.377
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, rango)	9.7 (1.5-23.2)	9.4 (4.6-12.8)		0.701
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	97.0 (29.1-371.5)	92.2 (47.1-413.6)		0.391

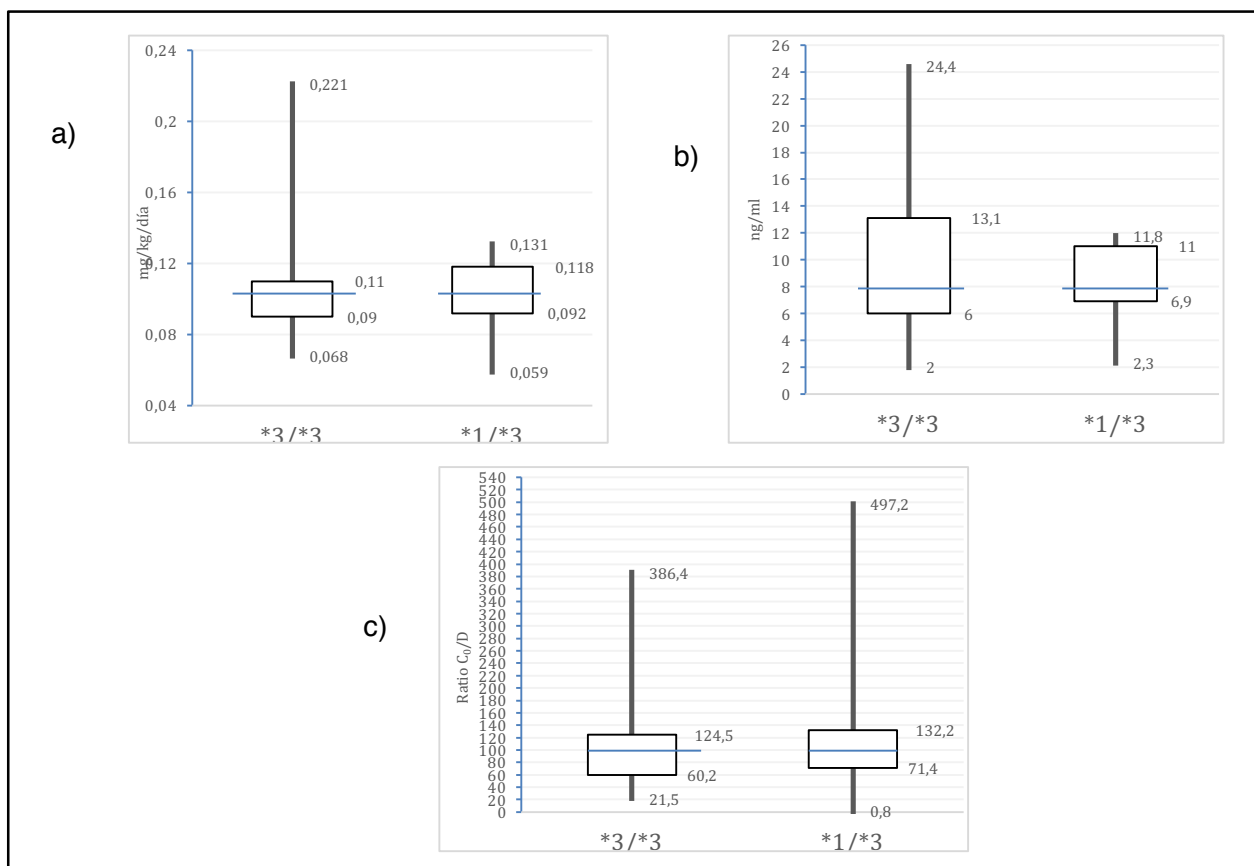


Figura 15.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 30 para el grupo de receptores: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 4:

Tras la cuarta visita (día 30 postTH) la dosis de Tac administrada en ambos grupos fue muy similar (1,02 mayor en los expresores). Como se representa en la figura 15a, el grupo expresor presentó valores más agrupados con unos valores extremos menos elevados que el grupo no expresor.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,03 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,701$). En la figura 15b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos menos elevados en el grupo expresor.

La ratio C/D fue 1,05 veces más alta en el grupo no expresor ($p=0,372$). Los valores medianos y la dispersión de datos fueron similares en ambos grupos, sin embargo, el grupo no expresor reveló valores extremos máximos más altos (figura 15c).

Al mes postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis, concentración sanguínea de Tac y ratio C/D son muy similares entre ambos grupos.

6.2.1.5. Visita 5: día 90 (receptores)

Dosis de tacrolimus: en el grupo mutante, no expresor, *3/*3 la dosis mediana alcanzada fue de 0,068mg/kg/día. En el grupo de expresores la mediana fue de 0,102mg/kg/día.

Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 8,4 ng/ml, mientras que para los expresores (*1/*1, *1/*3) fue de 7,6 mg/ml.

Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 123,5 frente a 74,5 en el caso de los expresores (Tabla 30, figura 16).

Tabla 30.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo CYP3A5, en la quinta visita (día 90).

n=98	*3/*3 (n=84)	*1/*3 (n=14)	*1/*1 (n=0)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.068 (0.051-0.083)	0.102 (0.047-0.131)		0.321
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, rango)	8.4 (1.5-23.2)	7.6 (6.3-10.1)		0.550
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	123.5 (29.0-340.0)	74.5 (37.3-257.0)		0.372

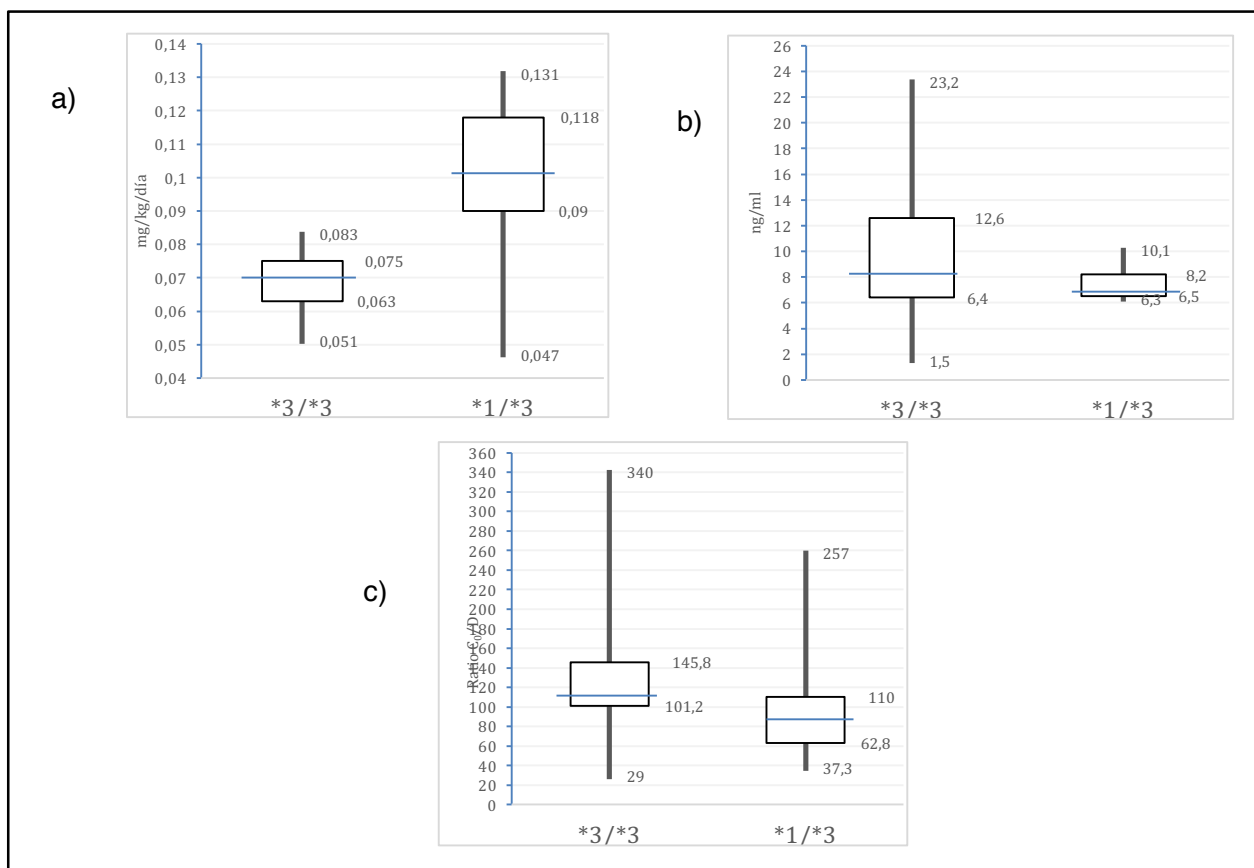


Figura 16.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 90 para el grupo de receptores: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 5:

Tras la última visita de seguimiento (día 90 postTH) la dosis de Tac administrada en ambos grupos fue diferente (1,50 veces mayor en los expresores). Como se representa en la figura 16a, el grupo expresor presentó valores más dispersos con unos valores extremos más elevados que el grupo no expresor.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,20 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,550$). En la figura 16b, se aprecia un comportamiento menos disperso en el grupo expresor.

La ratio C/D fue 1,66 veces más alta en el grupo no expresor ($p=0,372$). Los valores medianos fueron más altos en el grupo no expresor; por otro lado la dispersión de datos fue similares en ambos grupos, sin embargo, el grupo no expresor reveló valores extremos máximos más altos (figura 16c).

A los tres meses postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis de Tac y ratio C/D son diferentes entre ambos grupos, comportándose los niveles sanguíneos en valores aproximados.

6.2.2. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 según el genotipo del donante en la concentración/dosis de tacrolimus

6.2.2.1. Visita 1: día 3 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo no expresor, *3/*3, la dosis mediana alcanzada fue de 0,080mg/kg/día, mientras que en el grupo de expresores la mediana fue de 0,090mg/kg/día.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 8,1 ng/ml, mientras que para los expresores (*1/*1, *1/*3) fue de 7,0 mg/ml.

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 101,3 frente a 77,8 en el caso de los expresores (Tabla 31, figura 17).

Tabla 31.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo CYP3A5, en la primera visita (día 3).

n=88	*3/*3 (n=74)	*1/*3 (n=12)	*1/*1 (n=2)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.080 (0.069-0.093)	0.090 (0.079-0.101)		0.910
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	8.1 (3.1-15.2)	7.0 (2.9-17.1)		0.338
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	101.3 (65.3-411.7)	77.8 (54.6-139.5)		0.808

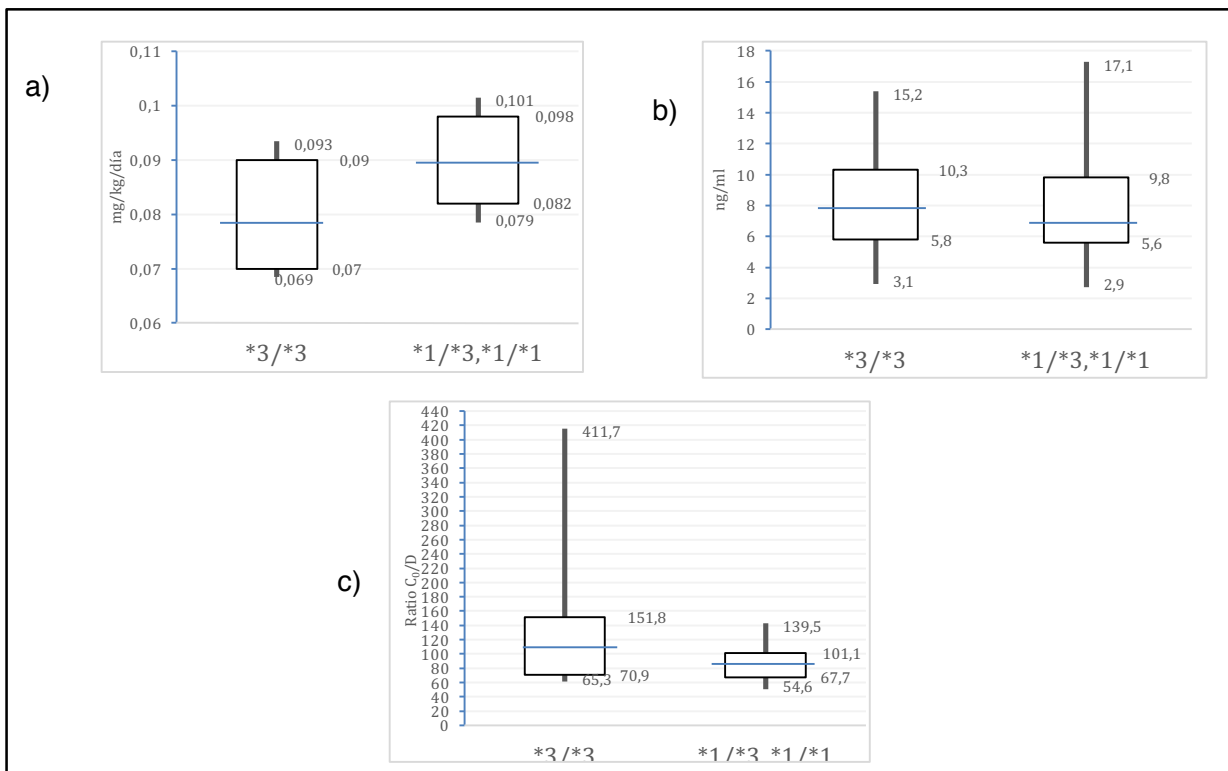


Figura 17.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 3 para el grupo de donantes: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 1:

Tras la primera visita (día 3 postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac similares en ambos grupos, 1,12 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,910$). Como se representa en la figura 17a, el grupo expresor presentó valores medios más elevados, sin embargo la dispersión de datos respecto a la media así como los valores máximos y mínimos fueron similares.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,15 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,338$). En la figura 17b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos.

La ratio C/D fue 1,29 veces más alta en el grupo no expresor ($p=0,808$). Los valores medianos y la dispersión de datos fue similar en ambos grupos, sin embargo, el grupo no expresor reveló valores extremos máximos más acusados (figura 17c).

En definitiva, a día 3 postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis y concentración sanguínea de Tac fueron similares, siendo la ratio C/D menos homogénea entre ambos grupos.

6.2.2.2. Visita 2: día 7 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo no expresor, *3/*3, la dosis mediana alcanzada fue de 0,085mg/kg/día mientras que en el grupo de expresores la mediana fue de 0,097mg/kg/día.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 9,1 ng/ml. Para los expresores (*1/*1, *1/*3) la concentración en sangre fue de 7,6 mg/ml.

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 107,0 frente a 77,8 en el caso de los expresores (Tabla 32, figura 18).

Tabla 32.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo CYP3A5, en la segunda visita (día 7).

n=88	*3/*3 (n=74)	*1/*3 (n=12)	*1/*1 (n=2)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.085 (0.071-0.098)	0.097 (0.083-0.106)		0.120
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	9.1 (3.9-18.6)	7.6 (4.9-21.1)		0.393
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	107.0 (67.3-411.7)	77.8 (54.6-139.5)		0.111

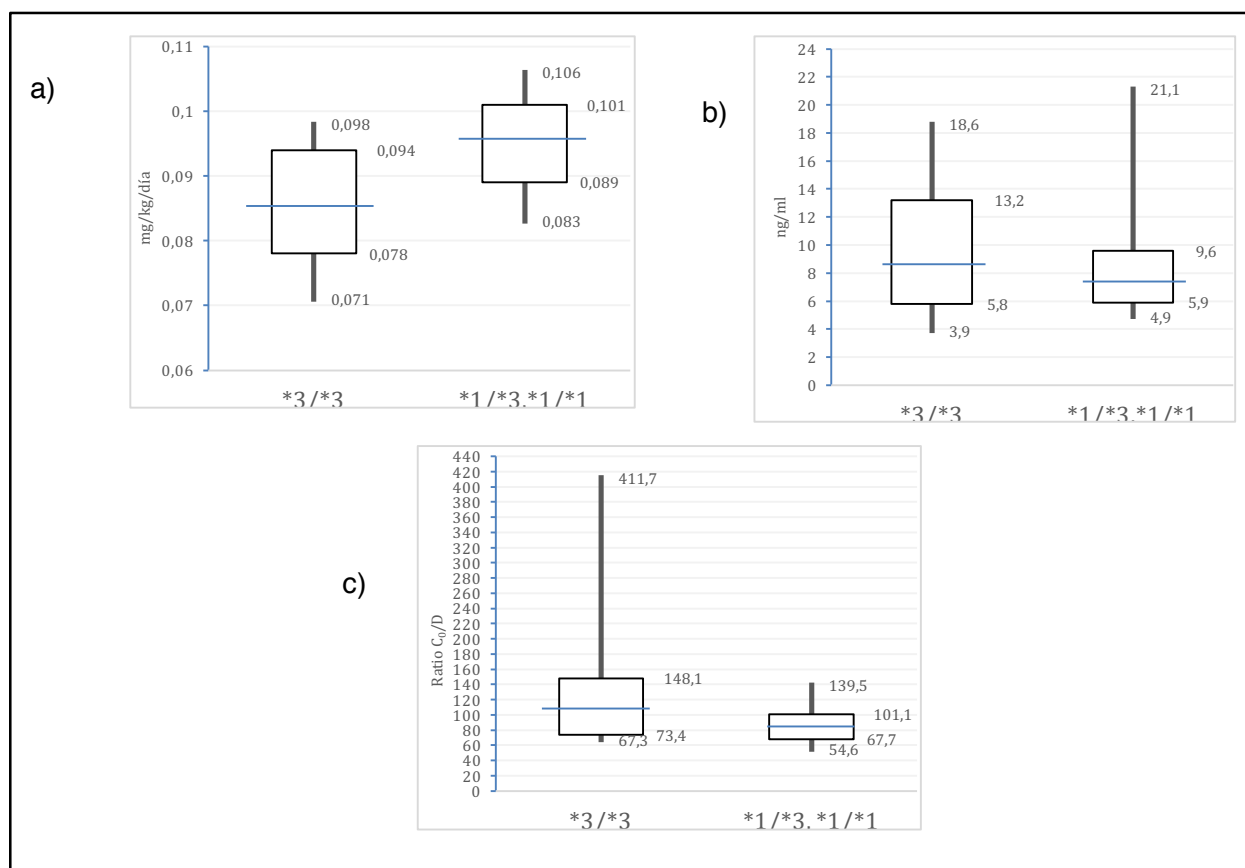


Figura 18.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 7 para el grupo de donantes: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 2:

Tras la segunda visita (día 7 postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac similares en ambos grupos, 1,14 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,120$). Como se representa en la figura 18a, el grupo expresor presentó valores medios más elevados, sin embargo la dispersión de datos respecto a la media así como los valores máximos y mínimos fueron similares.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,19 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,393$). En la figura 18b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos, si bien los datos están más agrupados en el grupo expresor.

La ratio C/D fue 1,37 veces más alta en el grupo no expresor ($p=0,111$). El grupo expresor presenta valores menos dispersos con extremos menos acusados (figura 18c).

En definitiva, a día 7 postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis y concentración sanguínea de Tac fueron similares, siendo la ratio C/D menos homogénea entre ambos grupos.

6.2.2.3. Visita 3: día 14 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo no expresor, *3/*3, la dosis mediana alcanzada fue de 0,094mg/kg/día mientras que en el grupo de expresores la mediana fue de 0,100mg/kg/día.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 8,3 ng/ml. Para los expresores (*1/*1, *1/*3) la concentración en sangre fue de 8,9 mg/ml.

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 82,3 frente a 89,0 en el caso de los expresores (Tabla 33, figura 19).

Tabla 33.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo CYP3A5, en la tercera visita (día 14).

n=88	*3/*3 (n=74)	*1/*3 (n=12)	*1/*1 (n=2)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.094 (0.073-0.241)	0.100 (0.069-0.152)		0.412
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, rango)	8.3 (2.0-16.4)	8.9 (2.9-16.0)		0.750
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	82.3 (0.8-614.3)	89.0 (29.3-686.4)		0.646

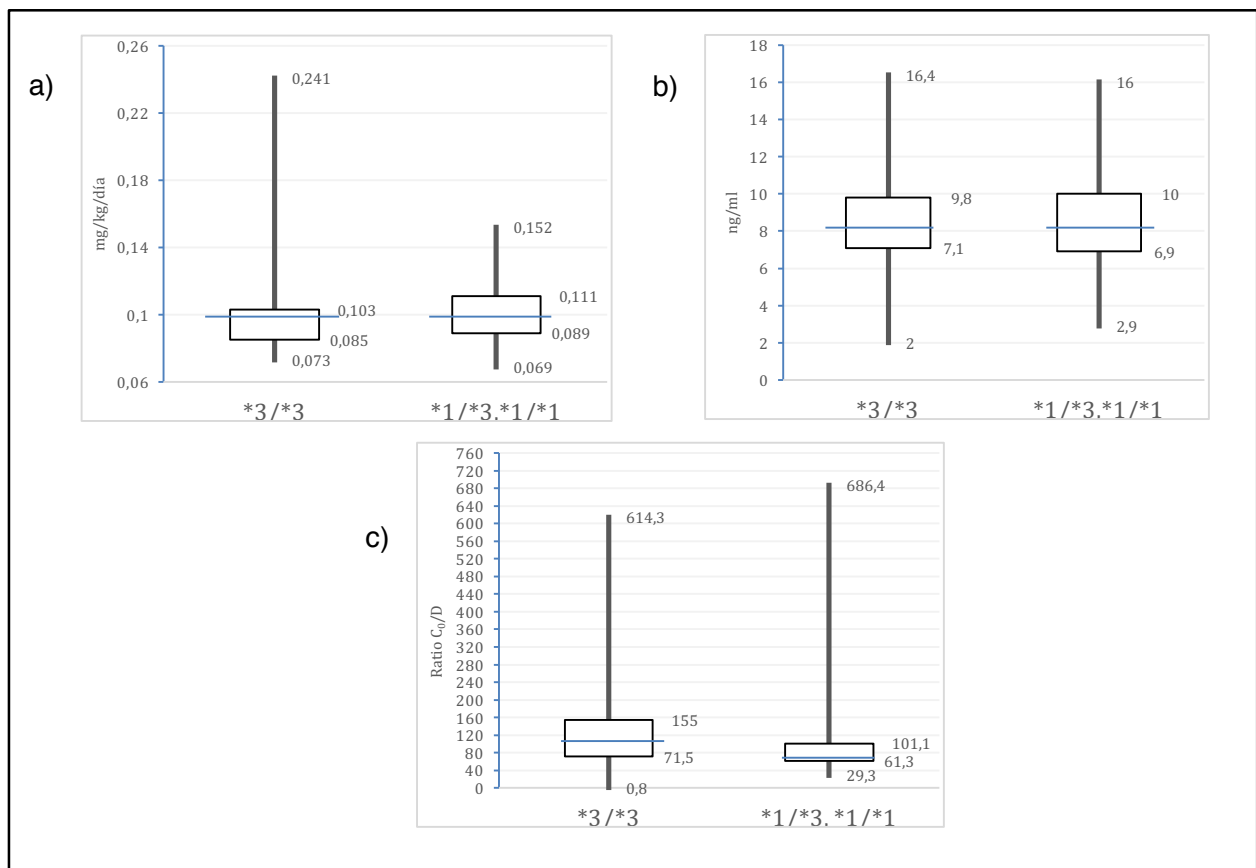


Figura 19.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 14 para el grupo de donantes: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 3:

Tras la tercera visita (día 14 postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac similares en ambos grupos, 1,06 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,412$). Como se representa en la figura 19a, el grupo expresor presentó valores medios más elevados, sin embargo la dispersión de datos respecto a la media fueron similares. El grupo no expresor presentó valores extremos máximos más elevados.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,07 más elevados que el grupo no expresor ($p=0,750$). En la figura 19b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos.

La ratio C/D fue 1,08 veces más alta en el grupo expresor ($p=0,646$). El grupo expresor presenta valores menos dispersos con extremos más acusados (figura 19c).

A día 14 postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis, concentración sanguínea de Tac y ratio C/D fueron similares entre ambos grupos.

6.2.2.4. Visita 4: día 30 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo no expresor, *3/*3, la dosis mediana alcanzada fue de 0,102 mg/kg/día mientras que en el grupo de expresores la mediana fue de 0,125mg/kg/día.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 9,2 ng/ml. Para los expresores (*1/*1, *1/*3) la concentración en sangre fue también de 9,2 mg/ml.

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 90,2 frente a 73,6 en el caso de los expresores (Tabla 34, figura 20).

Tabla 34.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo CYP3A5, en la cuarta visita (día 30).

n=88	*3/*3 (n=74)	*1/*3 (n=12)	*1/*1 (n=2)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.102 (0.050-0.221)	0.125 (0.095-0.190)		0.477
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	9.2 (4.0-23.2)	9.2 (1.5-19.5)		0.097
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	90.2 (29.1-271.5)	73.6 (48.6-102.4)		0.120

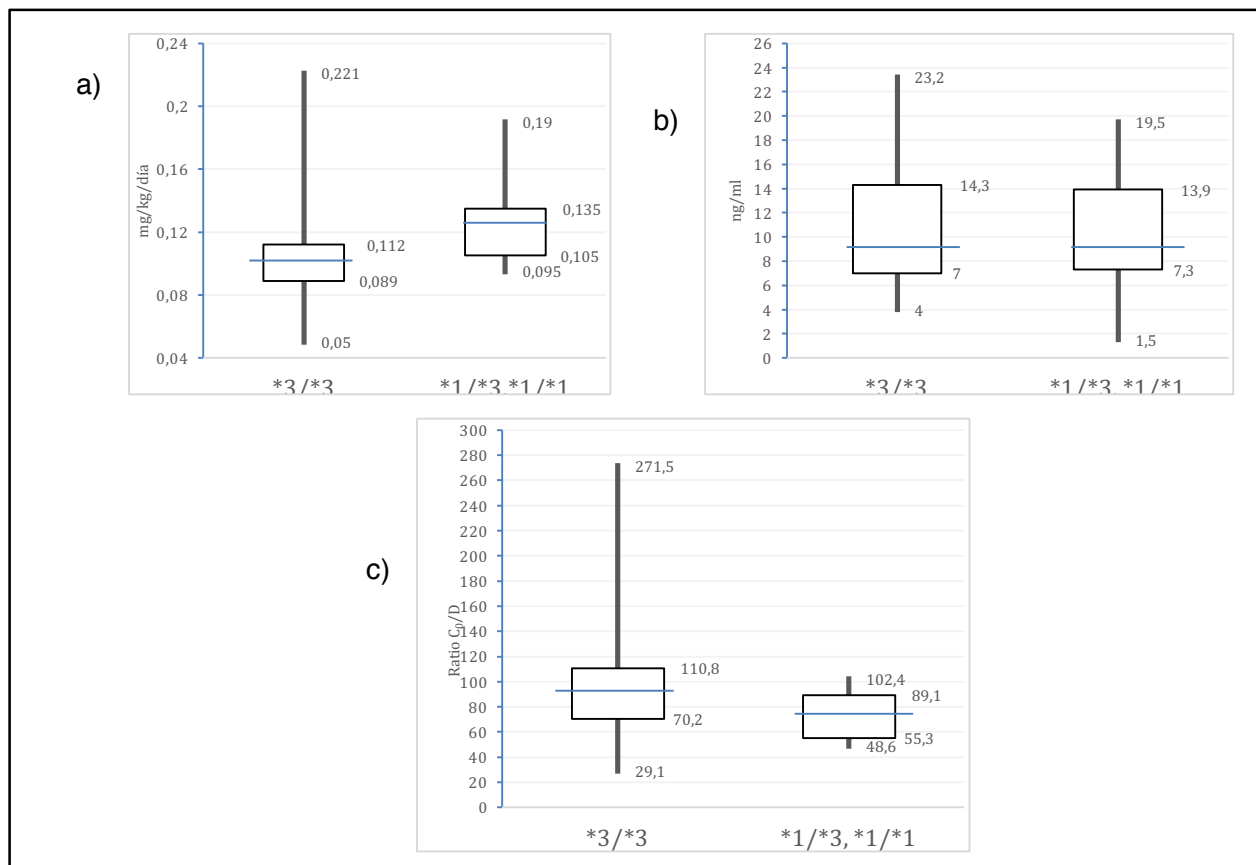


Figura 20.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 30 para el grupo de donantes: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Resumen visita 4:

Tras la cuarta visita (un mes postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac similares en ambos grupos, 1,20 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,477$). Como se representa en la figura 20a, el grupo expresor presentó valores medios más elevados, sin embargo la dispersión de datos respecto a la media fueron similares en ambos grupos. El grupo no expresor presentó valores extremos más acusados.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron idénticos (9,2 ng/ml) en ambos grupos ($p=0,097$). En la figura 19b, se aprecia un comportamiento similar en ambos grupos en cuanto a dispersión de datos y valores extremos.

La ratio C/D fue 1,22 veces más alta en el grupo no expresor ($p=0,120$). El grupo expresor presenta valores menos dispersos con extremos más acusados (figura 19c).

En definitiva, al mes postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis, concentración sanguínea de Tac y ratio C/D fueron similares entre ambos grupos.

6.2.2.5. Visita 5: día 90 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: en el grupo mutante, *3/*3, la dosis mediana administrada fue de 0,063mg/kg/día. En el grupo de expresores la mediana fue de 0,115mg/kg/día. (p=0,031).

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración mediana para el genotipo *3/*3 fue de 8,1 ng/ml, mientras que para los expresores (*1/*1, *1/*3) fue de 7,7 mg/ml (p=0,019).

*Ratio C/D: en el grupo de no expresores la ratio fue de 128,6 frente a 67,0 en el caso de los expresores (p=0,023) (Tabla 35, figura 21).

Tabla 35.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo CYP3A5, en la quinta visita (día 90).

n=88	*3/*3 (n=74)	*1/*3 (n=12)	*1/*1 (n=2)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.063 (0.042-0.074)	0.115 (0.081-0.128)		0.031
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	8.1 (4.8-15.7)	7.7 (5.3-11.7)		0.019
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	128.6 (67.1-344.0)	67.0 (42.6-162.1)		0.023

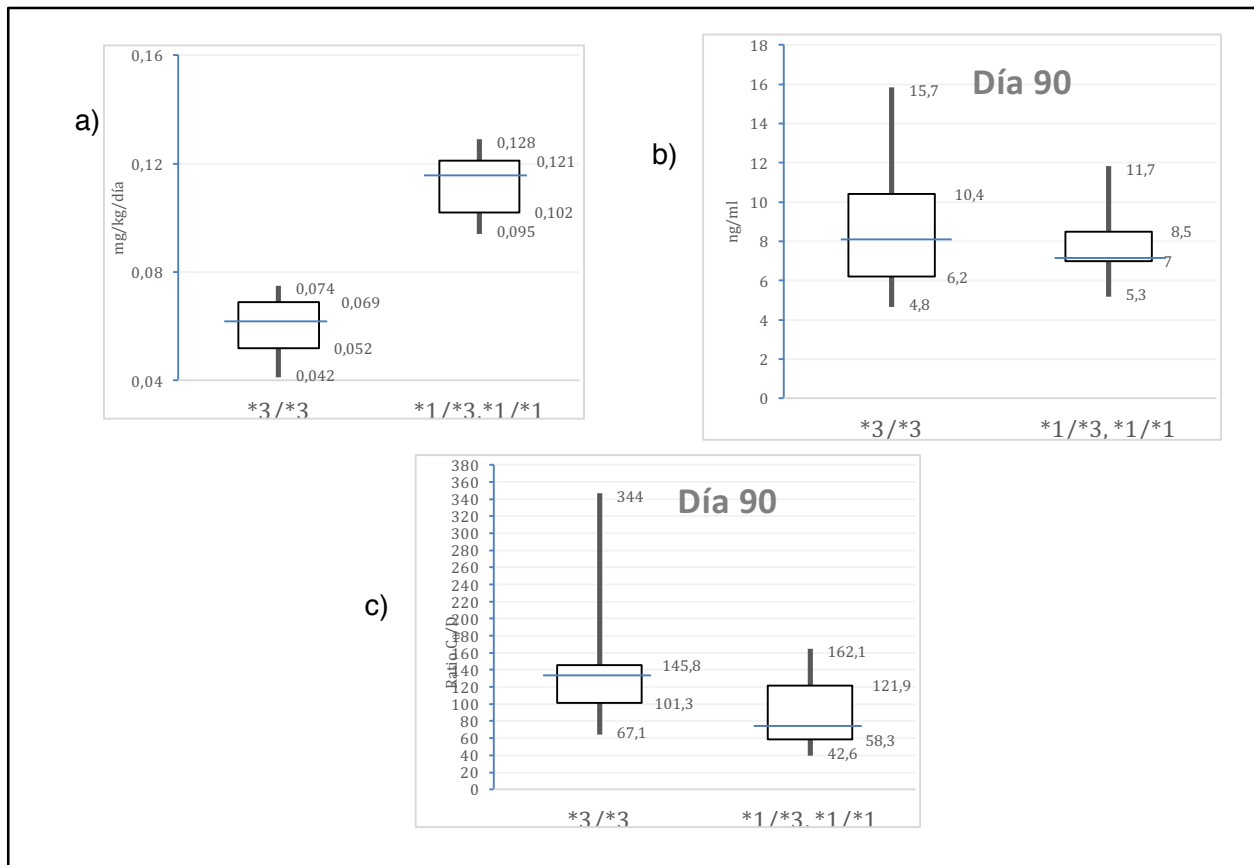


Figura 21.- Diagrama de máximos y mínimos en el día 90 para el grupo de donantes: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

Ante los resultados estadísticamente significativos se realizó una análisis de correlación bilateral entre las distintas variables mediante el test Rho de Spearman.

Para el grupo del alelo *3/*3 el coeficiente de correlación entre la dosis de Tac y los niveles sanguíneos fue de 0,919 ($p=0,0001$); mientras que para la dosis y la ratios C/D fue de 0,906 ($p=0,003$); para los niveles y la ratio C/D de 0,925 ($p=0,0001$) (Tabla 36). En la figura 21 se representa la dispersión de los resultados de concentración de Tac respecto a la dosis administrada.

En el alelo *1/*3 el coeficiente de correlación obtenido para la dosis de Tac y los niveles sanguíneos fue de 0,710 ($p=0,002$); mientras que para la dosis y la ratios C/D fue de 0,595 ($p=0,008$); para los niveles y la ratio C/D fue de 0,817 ($p=0,0009$) (Tabla 37). En la figura 22 se representa la dispersión de los valores de concentración respecto a dosis de Tac.

Tabla 36.- Coeficientes de correlación de los datos continuos en el día 90 para el grupo de donantes con alelo *3/*3.

Rho de Spearman (*3/*3) (día 30)		Dosis de Tac	Concentración	Ratio C/D
Dosis	Coeficiente	1	0,919	0,906
	p		0,0001	0,003
Concentración	Coeficiente	0,919	1	0,925
	p	0,0001		0,0001
Ratio C/D	Coeficiente	0,906	0,925	1
	p	0,003	0,0001	

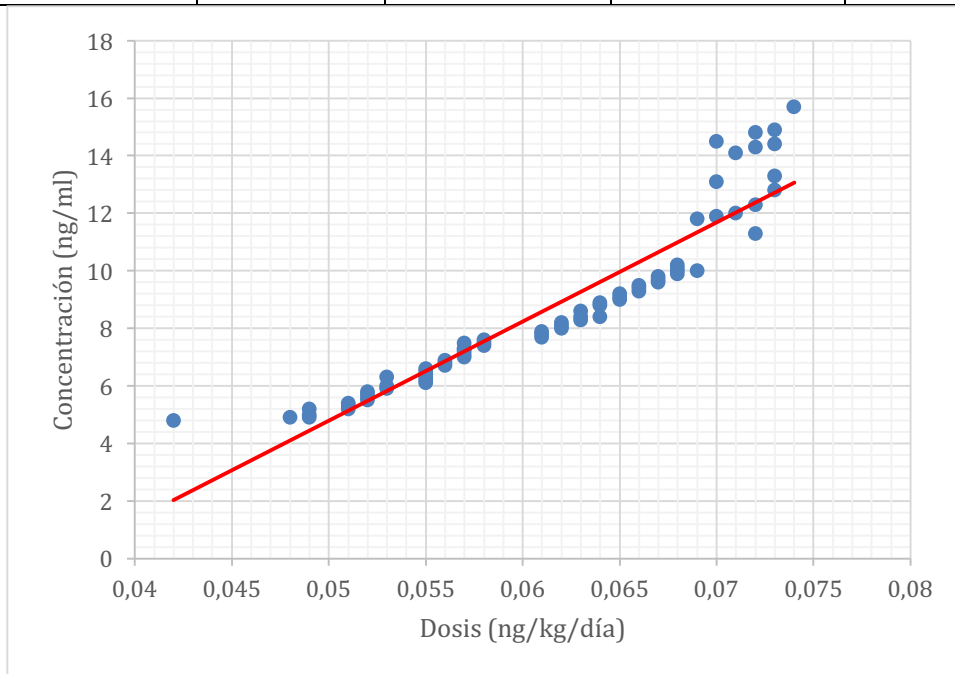


Figura 21.- Gráfico de dispersión de los valores concentración (eje Y) / dosis (eje X) para el alelo *3/*3 según genotipo del donante en el día 90.

Tabla 37.- Coeficientes de correlación de los datos continuos en el día 90 para el grupo de donantes con alelo *1/*3.

Rho de Spearman (*1/*3) (día 90)		Dosis de Tac	Concentración	Ratio C/D
Dosis	Coeficiente	1	0,710	0,595
	<i>p</i>		0,002	0,008
Concentración	Coeficiente	0,710	1	0,817
	<i>p</i>	0,002		0,0009
Ratio C/D	Coeficiente	0,595	0,817	1
	<i>p</i>	0,008	0,0009	

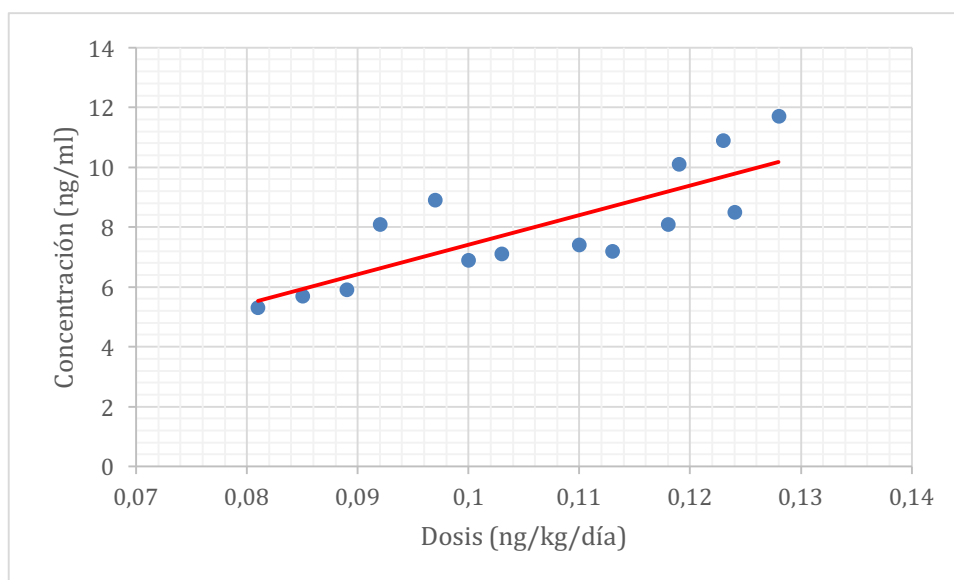


Figura 22.- Gráfico de dispersión de los valores concentración (eje Y) / dosis (eje X) para el alelo *1/*3, *1/*1 según donantes en el día 90.

Resumen visita 5:

Tras la última visita (tres meses postTH) se apreciaron unos requerimientos de dosis de Tac diferentes entre ambos grupos, 1,82 veces superiores para el genotipo expresor ($p=0,031$). Como se representa en la figura 21a, el grupo expresor presentó valores más elevados aunque con una dispersión y unos valores extremos similares entre ambos grupos.

Los niveles sanguíneos medianos obtenidos en el grupo expresor fueron 1,05 veces inferiores que en el grupo no expresor ($p=0,019$). En la figura 21b, se aprecian valores más agrupados y menos extremos para el grupo expresor.

La ratio C/D fue 1,91 veces más elevada en el grupo no expresor ($p=0,023$). La dispersión de datos fue similar en ambos grupos, sin embargo, el grupo no expresor reveló valores extremos máximos más altos (figura 21c).

Al analizar la correlación entre concentración y dosis de Tac mediante es la Rho de Spearman, se apreció una asociación alta para ambos grupos (Tabla 36 y 37), sin embargo dicha asociación fue más elevada en el caso de los no expresores, con una pendiente de la curva con mayor tendencia al 1 (figura 21 y 22).

En definitiva, a los tres meses postTH los valores medianos obtenidos en cuanto a dosis y concentración sanguínea de Tac son diferentes entre ambos grupos, siendo la diferencia en la ratio C/D el parámetro que mostró mayor diferencias entre ambos.

6.2.3. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 en la concentración/dosis de tacrolimus. Resultados globales y análisis multivariante.

En la Tabla 40 se recogen, agrupados, los datos durante los 90 días de seguimiento tanto para el grupo según genotipo receptor como donante.

Se representa en la Figura 23 el evolutivo de la ratio C/D en el grupo de los receptores según la expresión del CYP3A5. Los requerimientos de Tac en cuanto a dosis fueron más altos para el grupo expresor durante todo el seguimiento, para unos niveles sanguíneos más bajos. Se aprecian en el día 7 de seguimiento resultados estadísticamente significativos.

En la Figura 24 se recoge el evolutivo de la ratio C/D en el grupo de los donantes según la expresión del CYP3A5. Los valores de dosis de Tac se mantuvieron elevados durante los 90 días de seguimiento, con unos niveles sanguíneos de Tac más bajos en el casos del grupo no expresor. Se aprecia en el día 90 de seguimiento resultados estadísticamente significativos.

Se realizó un análisis multivariante para los datos que obtuvieron significación estadística en el univariante. Para el genotipo del receptor expresor (*1/*3) en el día 7 se obtuvo un coeficiente de correlación de 1,93 [1,03-7,14] para la dosis de Tac administrada ($p=0,003$); para la concentración sanguínea de Tac de 2,15 [1,91-6,72] ($p=0,041$); y en el caso de la ratio C/D de 2,99 [2,12-9,13] ($p=0,023$). En el grupo donde comparamos según el genotipo expresado por el donante el coeficiente obtenido fue de 2,03 [1,63-7,55] para la dosis administrada de Tac ($p=0,012$); para los niveles sanguíneos de Tac fue de 1,35 [1,17- 5,19] ($p=0,019$); y para la ratio C/D de 3,04 [1,42-8,81] ($p=0,038$).

Tabla 38.- Análisis multivariante para los valores según el genotipo del receptor en el día 7. Variable dependiente: expresión del CYP3A5.

	Coeficiente	Intervalo de confianza	p
Dosis de Tac	1,93	[1,03-7,14]	0.003
Concentración en sangre de Tac	2,15	[1.91-6,72]	0.041
Ratio concentración/dosis	2,99	[2,12-9,13]	0.023

Tabla 39.- Análisis multivariante para los valores según el genotipo del donante en el día 90. Variable dependiente: expresión del CYP3A5.

	Coeficiente	Intervalo de confianza	p
Dosis de Tac	2,03	[1,63-7,55]	0.012
Concentración en sangre de Tac	1,35	[1,17- 5,19]	0.019
Ratio concentración/dosis	3,04	[1,42-8,81]	0.038

Tabla 40.- Global en ambos grupos, genotipo CYP3A5, durante el seguimiento.

	CYP3A5 Genotipos				
	RECEPTORES			DONANTES	
	*3/*3 (n=84)	*1/*3 (n=14)	*1/*1 ----	*3/*3 (n=74)	*1/*3 (n=12)
<i>Visita 1: día 3</i>					
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.081 (0.071-0.090)	0.095 (0.073-0.118)		0.080 (0.069-0.093)	0.090 (0.079-0.101)
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	8.3 (5.3-22.0)	6.7 (2.9-19.3)		8.1 (3.1-15.2)	7.0 (2.9-17.1)
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	102.3 (46.0-297.0)	70.5 (29.0-129.0)		101.3 (65.3-411.7)	77.8 (54.6-139.5)
<i>Visita 2: día 7</i>					
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.082 (0.074-0.095)	0.109 (0.088-0.126)		0.085 (0.071-0.098)	0.097 (0.083-0.106)
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	10.1 (3.3-21.0)	6.3 (2.9-16.3)		9.1 (3.9-18.6)	7.6 (4.9-21.1)
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	123.2 (39.0-397.0)	57.8 (29.0-129.0)		107.0 (67.3-411.7)	77.8 (54.6-139.5)
<i>Visita 3: día 14</i>					
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.092 (0.089-0.241)	0.103 (0.063-0.131)		0.094 (0.073-0.241)	0.100 (0.069-0.152)
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	8.5 (2.0-24.4)	8.9 (2.3-11.8)		8.3 (2.0-16.4)	8.9 (2.9-16.0)
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	92.4 (21.5-386.4)	86.4 (0.8-497.2)		82.3 (0.8-614.3)	89.0 (29.3-686.4)
<i>Visita 4: día 30</i>					
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.100 (0.068-0.221)	0.102 (0.059-0.125)		0.102 (0.050-0.221)	0.125 (0.095-0.190)
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	9.7 (1.5-23.2)	9.4 (4.6-12.8)		9.2 (4.0-23.2)	9.2 (1.5-19.5)
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	97.0 (29.1-371.5)	92.2 (47.1-413.6)		90.2 (29.1-271.5)	73.6 (48.6-102.4)
<i>Visita 5: día 90</i>					
Dosis de Tac (mg/Kg/día, rango)	0.068 (0.051-0.083)	0.102 (0.047-0.131)		0.063 (0.042-0.074)	0.115 (0.081-0.128)
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, rango)	8.4 (1.5-23.2)	7.6 (6.3-10.1)		8.1 (4.8-15.7)	7.7 (5.3-11.7)
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), rango]	123.5 (29.0-340.0)	74.5 (37.3-257.0)		128.6 (67.1-344.0)	67 (42.6-162.1)

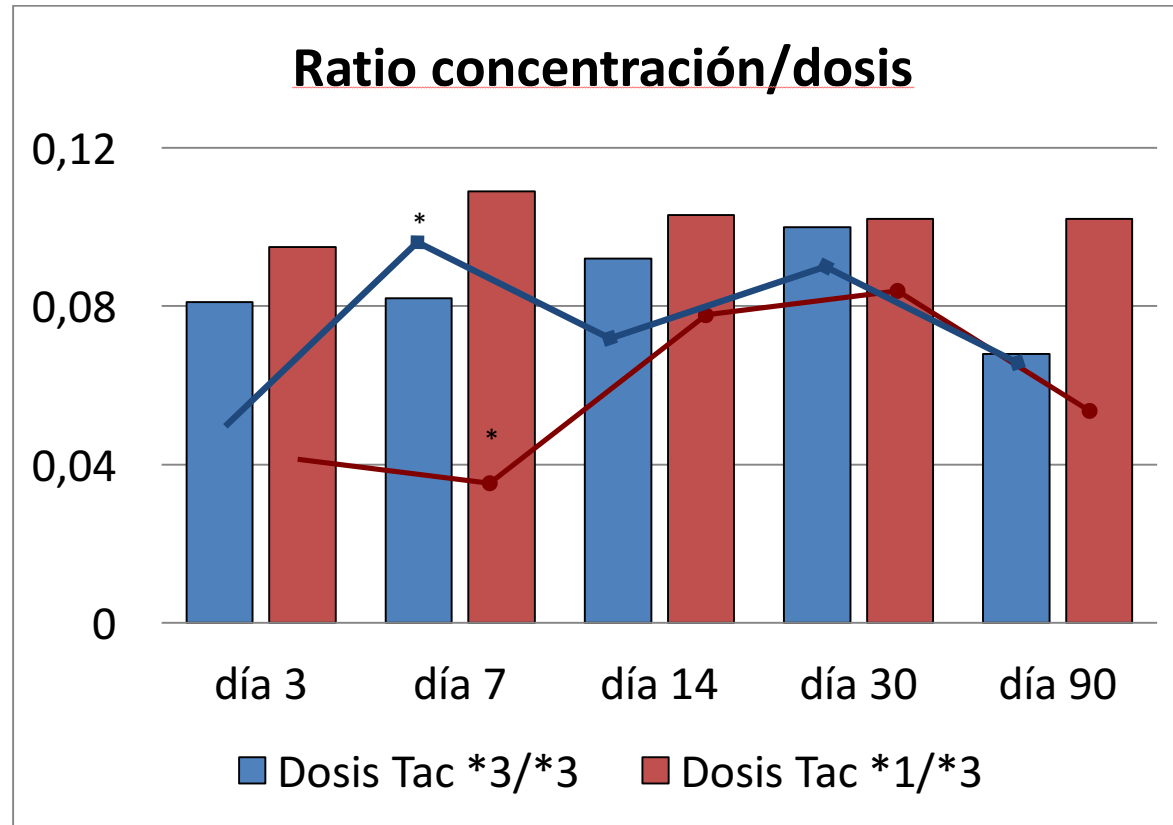


Figura 23.- Efecto del polimorfismo CYP3A5 (receptor) en la dosis y niveles de tacrolimus. Representación grafica.
**En el día 7, se alcanzan diferencias estadísticamente significativas.*

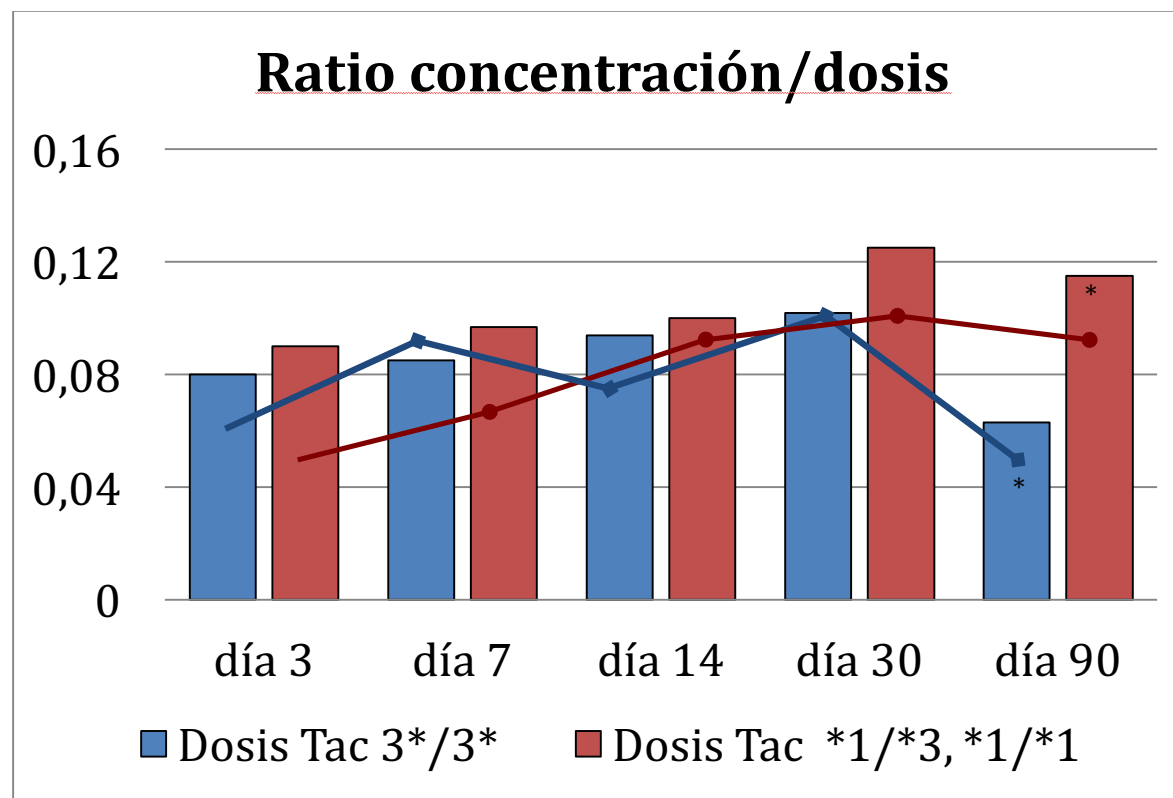


Figura 24.- Efecto del polimorfismo CYP3A5 (donante) en la dosis y niveles de tacrolimus. Representación grafica.

**En el día 90, se alcanzan diferencias estadísticamente significativas*

6.3. EFECTO DE LOS POLIMORFISMOS ABCB1 EN LA CONCENTRACIÓN/DOSIS DE TACROLIMUS

Se desarrollan a continuación las dosis de tacrolimus empleadas en cada día de la visita de seguimiento, así como los niveles del fármaco medidos en sangre, y la relación C/D₀. Se recogen los datos para los distintos SNPs del ABCB1 en día 3, 7 y 14, así como al mes y tres meses de seguimiento.

Se analizan de la misma forma los datos para el grupo de receptores como de donantes.

Se recogen las medias por genotipo, analizando a los heterocigotos y homocigotos expresores en distintos grupos. Posteriormente se agruparon por fenotipo (wild-type, expresores y mutantes, no expresores).

6.3.1. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (1236C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del receptor

El tamaño muestral del grupo según el genotipo del receptor fue de n=98. Se recogieron las medias \pm DS por genotipo, agrupando en homocigotos "wild-type", aquellos que expresan la proteína transportadora de Tac, homocigotos salvajes (no expresores) y heterocigotos (no expresores).

6.3.1.1. Visita 1: día 3 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la primera visita para el grupo expresor fue de 0.098 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.091 y 0.086 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 7.30 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,6 y 7,88 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 73.88, mientras que para los no expresores fue de 83,55 y 91,20 según genotipo CT o TT.

Tabla 41.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 1236 C>T, en la primera visita (día 3).

n=98	CC (n=38)	CT (n=41)	TT (n=19)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.098 \pm 0.039	0.091 \pm 0.032	0.086 \pm 0.028	0.422
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, \pm DS)	7.30 \pm 2.64	7.62 \pm 3.68	7.88 \pm 3.42	0.119
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	73.88 \pm 10.99	83.55 \pm 20.59	91.20 \pm 21.90	0.533

En resumen en la Tabla 41 se recogen los resultados según el genotipo 1236C>T. La concentración en sangre, así como la ratio C/D fue más baja para el SNP CC homocigoto expresor, a pesar de unas dosis mayores de Tac.

6.3.1.2. Visita 2: día 7 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la segunda visita para el grupo expresor fue de 0.096 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.092 y 0.087 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 7.38 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,74 y 8,10 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 76,39, mientras que para los no expresores fue de 84,31 y 92,25 según genotipo CT o TT.

Tabla 42.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 1236 C>T, en la segunda visita (día 7).

n=98	CC (n=38)	CT (n=41)	TT (n=19)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.096 ± 0.035	0.092 ± 0.035	0.087 ± 0.032	0.132
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	7.38 ± 2.60	7.74 ± 3.43	8.10 ± 3.36	0.340
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	76.39 ± 20.59	84.31 ± 21.30	92.25 ± 24.00	0.512

En definitiva, en la segunda visita, referente al gen 1236 C>T, el grupo CC con dosis mayores de Tac, obtuvo niveles menores en sangre y ratio C/D por debajo que para el fenotipo no expresor. (Tabla 42).

6.3.1.3. Visita 3: día 14 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la tercera visita para el grupo expresor fue de 0.099 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.089 y 0.086 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 7.24 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,72 y 7,50 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 73,42, mientras que para los no expresores fue de 86,93 y 87,20 según genotipo CT o TT.

Tabla 43.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 1236 C>T, en la tercera visita (día 14).

n=98	CC (n=38)	CT (n=41)	TT (n=19)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.099 ± 0.037	0.089 ± 0.032	0.086 ± 0.028	0.533
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	7.24 ± 2.38	7.72 ± 3.40	7.50 ± 3.36	0.710
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	73.42 ± 20.21	86.93 ± 21.40	87.20 ± 19.28	0.232

En resumen, en el día 14 (Tabla 43), el fenotipo expresor (wild-type) obtuvo niveles de Tac menores en sangre y ratio C/D por inferiores que el genotipo mutante (CT,TT).

6.3.1.4. Visita 4: día 30 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la cuarta visita para el grupo expresor fue de 0.100 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.088 y 0.089 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 7.12 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,86 y 7,71 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 72,80, mientras que para los no expresores fue de 89,52 y 86,45 según genotipo CT o TT.

Tabla 44.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 1236 C>T, en la cuarta visita (día 30).

n=98	CC (n=38)	CT (n=41)	TT (n=19)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.100 ± 0.035	0.088 ± 0.039	0.089 ± 0.032	0.196
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	7.12 ± 2.91	7.86 ± 3.44	7.71 ± 3,35	0.098
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	72.80 ± 14.78	89.52 ± 22.20	86.45 ± 15.29	0.296

En resumen, al mes de seguimiento (Tabla 44), para dosis mayores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron inferiores para el SNP CC homocigoto, expresor.

6.3.1.5. Visita 5: día 90 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la última visita para el grupo expresor fue de 0.102 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.090 y 0.086 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 7,42 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,56 y 7,58 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 72,88, mientras que para los no expresores fue de 85,11 y 87,52 según genotipo CT o TT.

Tabla 45.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo 1236 C>T, en la quinta visita (día 90).

n=98	CC (n=38)	CT (n=41)	TT (n=19)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.102 ± 0.039	0.90 ± 0.036	0.086 ± 0.032	0.422
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	7.42 ± 2.38	7.66 ± 3.44	7.58 ± 3.39	0.122
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	72.88 ± 20.18	85.11 ± 17.31	87.52 ± 20.91	0.217

En definitiva, durante la visita final de seguimiento (Tabla 45), para dosis mayores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron más bajos para el SNP CC homocigoto, expresor.

Resumen del seguimiento según la expresión del gen 1236 C>T en el receptor:

De forma general, los valores obtenidos fueron muy homogéneos en cada una de las visitas de seguimiento.

Para los pacientes no expresores (CT, TT) los requerimientos de Tac fueron prácticamente superponibles durante los 3 meses de seguimiento, mientras que para el grupo expresor fueron discretamente superiores (>0,010 mg/kg/día) (figura 25a).

Como se aprecia en la figura 25 b, la concentración sanguínea de Tac se mantuvo en valores aproximados en los tres grupos de análisis durante los tres meses de seguimiento.

La ratio C/D fue discretamente inferior para los expresores con valores más agrupados y valores menos extremos máximos y mínimos (Figura 25c).

En definitiva, salvo en la dosis administrada que fue 0,010 mg/kg/día superior para los receptores que expresaron el gen 1236 C>T, los valores obtenidos fueron bastante equiparables entre los grupos de análisis.

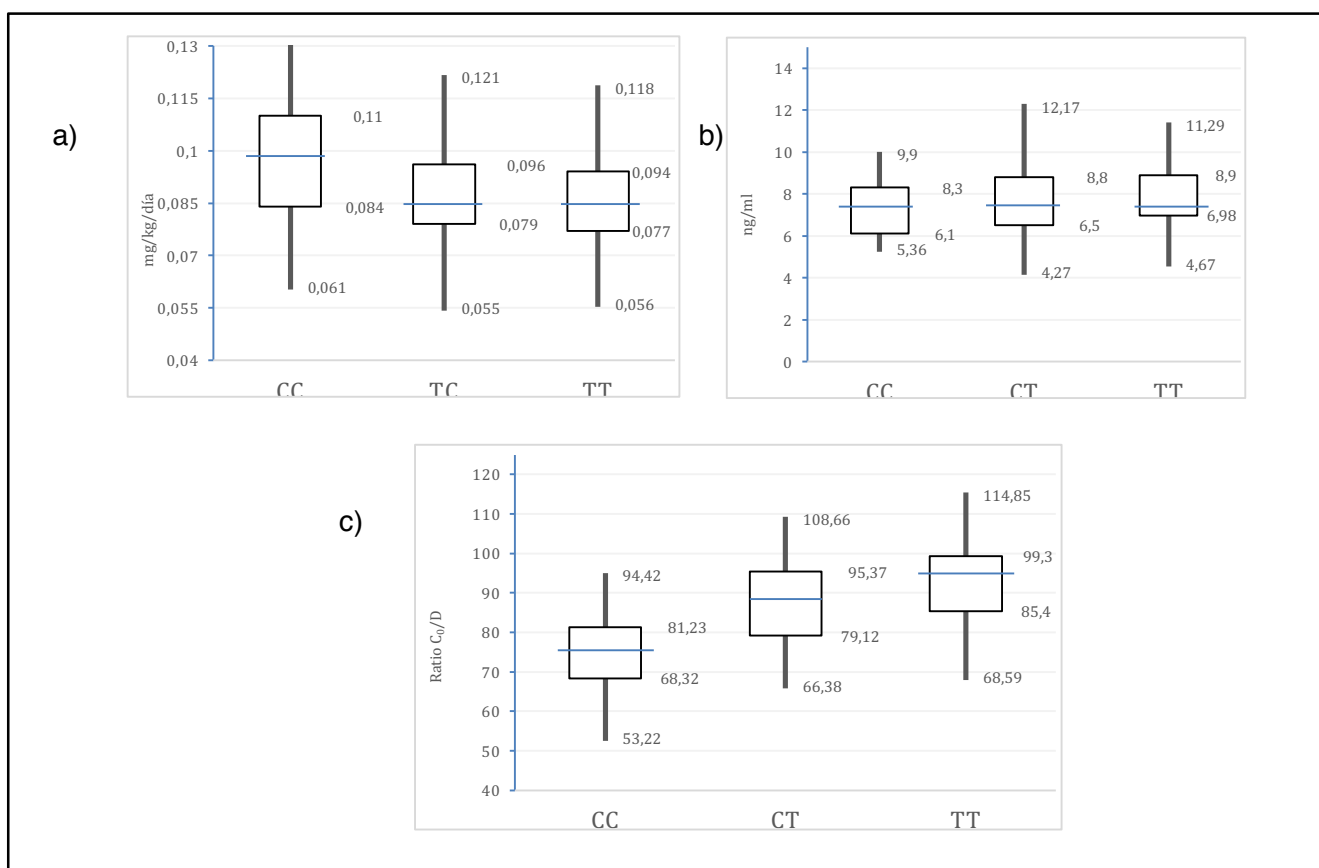


Figura 25.- Diagrama de máximos y mínimos del seguimiento según la expresión del gen 1236 C>T en el receptor: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

6.3.2. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (3435C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del receptor

6.3.2.1. Visita 1: día 3 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la primera visita para el grupo expresor fue de 0,098 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.086 y 0.084 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,48 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 6,46 y 6,07 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 86,53, mientras que para los no expresores fue de 74,76 y 72,11 según genotipo CT o TT.

Tabla 46.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 3435 C>T, en la primera visita (día 3).

n=98	CC (n=30)	CT (n=41)	TT (n=27)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.098 \pm 0.033	0.086 \pm 0.035	0.084 \pm 0.022	0.367
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	8.48 \pm 2.86	6.46 \pm 3.35	6.07 \pm 2.61	0.466
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	86.53 \pm 26.12	74.76 \pm 21.89	72.11 \pm 15.39	0.401

En resumen, en la Tabla 46 se recogen los resultados en la primera visita, según genotipo 3435C>T. La concentración en sangre, así como la ratio C/D fue más elevada para el SNP CC homocigoto, expresor, además de unas dosis mayores de Tac recibidas.

6.3.2.2. Visita 2: día 7 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la segunda visita para el grupo expresor fue de 0,097 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.088 y 0.083 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,28 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 6,34 para ambos SNPs.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 84,39, mientras que para los no expresores fue de 71,88 y 76,75 según genotipo CT o TT.

Tabla 47.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 3435 C>T, en la segunda visita (día 7).

n=98	CC (n=30)	CT (n=41)	TT (n=27)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.097 ± 0.034	0.088 ± 0.036	0.083 ± 0.032	0.300
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.28 ± 2.90	6.34 ± 3.39	6.34 ± 2.41	0.133
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	84.39 ± 21.20	71.88 ± 21.12	76.75 ± 10.66	0.422

En la segunda visita, se puede sintetizar que el grupo CC (expresor) con dosis mayores de Tac, obtuvo niveles superiores y ratio C/D por encima que el fenotipo no expresor (Tabla 47).

6.3.2.3. Visita 3: día 14 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la tercera visita para el grupo expresor fue de 0,098 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.087 y 0.084 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,34 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 6,57 y 6,41 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 84,58, mientras que para los no expresores fue de 75,76 y 75,99 según genotipo CT o TT.

Tabla 48.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 3435 C>T, en la tercera visita (día 14).

n=98	CC (n=30)	CT (n=41)	TT (n=27)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.098 ± 0.031	0.087 ± 0.034	0.084 ± 0.034	0.211
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.34 ± 2.88	6.57 ± 3.22	6.41 ± 2.46	0.134
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	84.58 ± 18.19	75.76 ± 25.19	75.99 ± 18.21	0.322

En resumen, en la tercera visita, el grupo CC obtuvo niveles sanguíneos superiores y ratio C/D por encima que el fenotipo no expresor, con dosis más altas de Tac (Tabla 48).

6.3.2.4. Visita 4: día 30 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la cuarta visita para el grupo expresor fue de 0,098 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.088 y 0.084 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,18 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,03 y 6,38 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 83,46, mientras que para los no expresores fue de 83,66 y 75,48 según genotipo CT o TT.

Tabla 49.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo 3435 C>T, en la cuarta visita (día 30).

n=98	CC (n=30)	CT (n=41)	TT (n=27)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.098 \pm 0.029	0.088 \pm 0.036	0.084 \pm 0.036	0.610
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	8.18 \pm 2.91	7.03 \pm 3.42	6.38 \pm 2.61	0.344
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	83.46 \pm 21.87	83.66 \pm 25.97	75.48 \pm 20.89	0.876

En definitiva, al mes de seguimiento (Tabla 49), para dosis mayores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP CC homocigoto, expresor.

6.3.2.5. Visita 5: día 90 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la última visita para el grupo expresor fue de 0,097 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.087 y 0.083 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,18 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 6,90 y 6,34 mg/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 83,64, mientras que para los no expresores fue de 78,76 y 75,65 según genotipo CT o TT.

Tabla 50.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo 3435 C>T, en la quinta visita (día 90).

n=98	CC (n=30)	CT (n=41)	TT (n=27)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.097 ± 0.032	0.087 ± 0.039	0.083 ± 0.036	0.189
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.18 ± 3.18	6.90 ± 3.82	6.34 ± 2.42	0.301
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	83.64 ± 25.83	78.76 ± 23.20	75.65 ± 20.45	0.344

Por lo tanto en la visita final de seguimiento (Tabla 50), para dosis mayores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron más altos para el SNP CC homocigoto, expresor.

Resumen del seguimiento según la expresión del gen 3435 C>T en el receptor:

De forma general, los valores obtenidos fueron poco heterogéneos en cada una de las visitas de seguimiento.

Para los pacientes no expresores (CT, TT) los requerimientos de Tac fueron muy aproximados entre ambos grupos durante los 3 meses de seguimiento, mientras que para el grupo expresor fueron discretamente superiores (>0,012 mg/kg/día) (figura 26a).

Como se aprecia en la figura 26b, la concentración sanguínea de Tac se mantuvo en valores aproximados en los dos grupos mutantes (CT y TT), mientras que el grupo expresor presentó niveles sanguíneos más altos durante los tres meses de seguimiento.

La ratio C/D fue discretamente superior para los expresores con valores más dispersos y valores más extremos máximos y mínimos (Figura 26c).

En definitiva, la dosis administrada fue 0,012 mg/kg/día superior para los receptores que expresaron el gen 3435 C>T, con unos niveles sanguíneos de Tac y una ratio C/D más elevados.

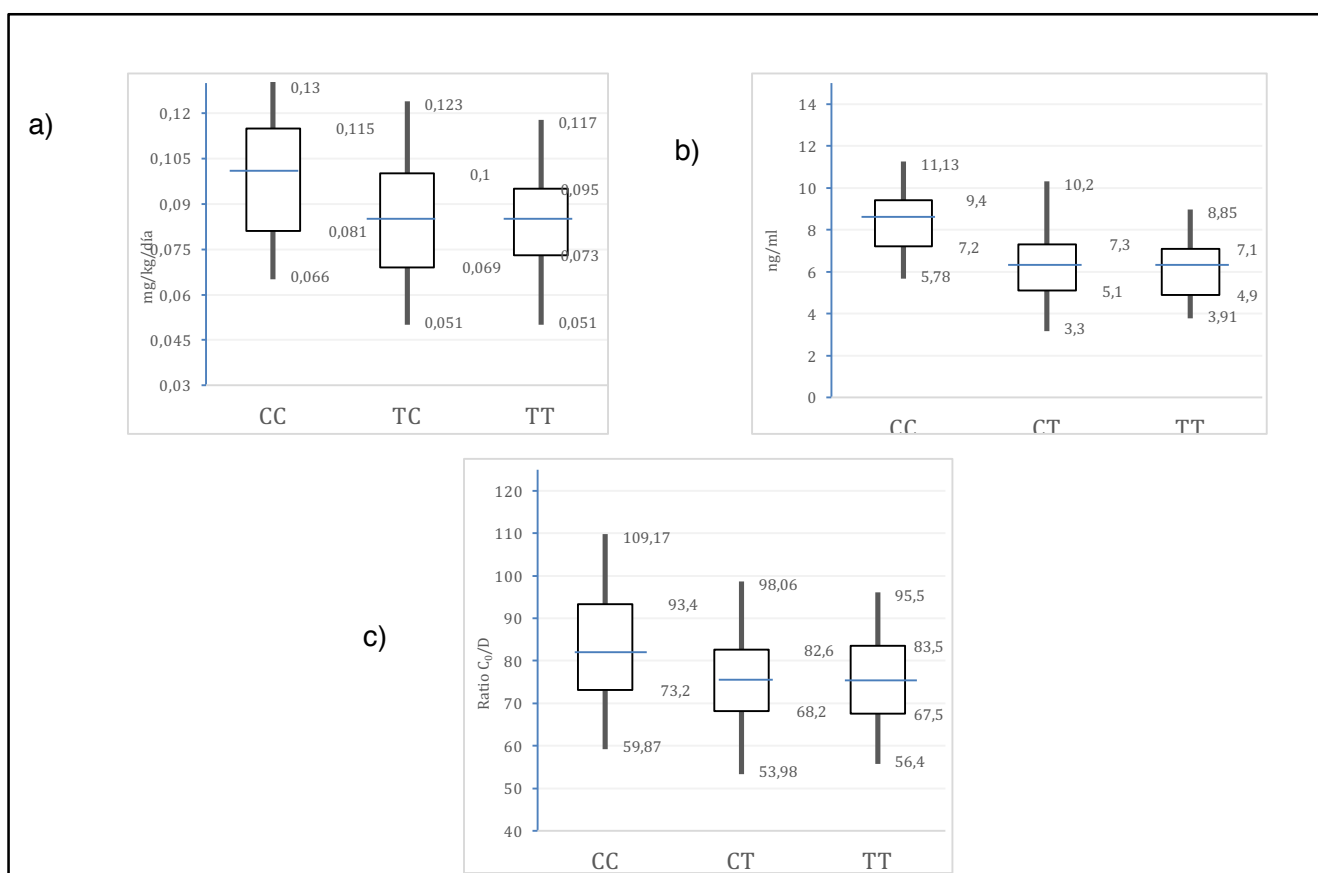


Figura 26.- Diagrama de máximos y mínimos del seguimiento según la expresión del gen 3435 C>T en el receptor: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

6.3.3. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (2677G>T/A) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del receptor

6.3.3.1. Visita 1: día 3 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la primera visita para el grupo expresor fue de 0,098 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.083 y 0.086 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 8,04 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 5,48 y 6,18 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 81,54, mientras que para los no expresores fue de 65,48 y 67,23 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 51.- Ratio C/D en grupo de receptores, genotipo 2677 G>T/A, en la primera visita (día 3).

	GG (n=35)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=20)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.098 \pm 0.027	0.083 \pm 0.034	0.086 \pm 0.038	0.123
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	8.04 \pm 2.07	5.48 \pm 2,60	6.18 \pm 3,37	0.244
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	81.54 \pm 22.64	65.48 \pm 21.33	67.23 \pm 23.26	0.150

En resumen, en la Tabla 51 se recogen los resultados en la primera visita según genotipo 2677G>T/A. La concentración en sangre, así como la ratio C/D fueron más elevados para el SNP GG homocigoto, expresor, a expensas de unas dosis mayores de Tac.

6.3.3.2. Visita 2: día 7 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la segunda visita para el grupo expresor fue de 0,097 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.084 y 0.086 ng/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 8,24 mg/ml, mientras que para los no expresores fue de 5,97 y 6,44 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 85,83, mientras que para los no expresores fue de 70,82 y 74,96 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 52.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo 2677 G>T/A, en la segunda visita (día 7).

	GG (n=35)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=20)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.097± 0.031	0.084 ± 0.039	0.086 ± 0.035	0.329
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	8.24 ± 2.53	5.97 ± 2.60	6.44 ± 3.80	0.207
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	85.83 ± 20.82	70.82 ± 21.45	74.96 ± 24.13	0.243

Durante la visita del día 7 (Tabla 52), los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP GG homocigoto salvaje, a expensas de una dosis mayor de Tac diaria.

6.3.3.3. Visita 3: día 14 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la tercera visita para el grupo expresor fue de 0,097 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.083 y 0.085 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 7,86 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 5,54 y 6,28 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 80,86, mientras que para los no expresores fue de 66,11 y 73,53 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 53.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo 2677G>T/A, en la tercera visita (día 14).

	GG (n=35)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=20)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.097 ± 0.033	0.083 ± 0.022	0.085 ± 0.037	0.134
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	7.86 ± 2.94	5.54 ± 2.23	6.28 ± 3.53	0.611
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	80.86 ± 25.82	66.11 ± 21.59	73.53 ± 21.22	0.087

En resumen, durante la visita del día 14 (Tabla 53), los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP GG homocigoto salvaje, con una dosis mayor de Tac diaria.

6.6.3.4. Visita 4: día 30 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la cuarta visita para el grupo expresor fue de 0,098 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.087 y 0.086 ng/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 8,54 mg/ml, mientras que para los no expresores fue de 5,76 y 6,20 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 86,61, mientras que para los no expresores fue de 68,89 y 71,59 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 54.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo 2677G>T/A, en la cuarta visita (día 30).

	GG (n=35)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=20)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.098 ± 0.028	0.087 ± 0.022	0.086 ± 0.035	0.114
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.54 ± 3.28	5.76 ± 2.60	6.20 ± 3,06	0.290
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	86.61 ± 25.82	68.89 ± 21.59	71.59 ± 21.22	0.398

Por lo tanto al mes de seguimiento (Tabla 54), para dosis mayores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP GG homocigoto, expresor.

6.6.3.5. Visita 5: día 90 (receptores)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la quinta visita para el grupo expresor fue de 0,098 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.083 y 0.086 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 8,18 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 6,04 y 6,38 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 83,46, mientras que para los no expresores fue de 72,24 y 74,01 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 55.- Ratio C/D en el grupo de receptores, genotipo 2677G>T/A, en la quinta visita (día 90).

	GG (n=35)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=20)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.098 \pm 0.029	0.083 \pm 0.024	0.086 \pm 0.035	0.187
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	8.18 \pm 2.28	6.04 \pm 2.60	6.38 \pm 3.28	0.217
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	83.46 \pm 20.82	72.24 \pm 22.59	74.01 \pm 21.22	0.225

En resumen, en la visita final de seguimiento (Tabla 55), para dosis mayores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron más altos para el SNP GG homocigoto, expresor. Sin significación estadística.

Resumen del seguimiento según la expresión del gen 2677 G>T/A en el receptor:

De forma general, los valores obtenidos fueron heterogéneos en cada una de las visitas de seguimiento.

Para los pacientes no expresores (TG, AT, AG, TT) los requerimientos de Tac fueron muy aproximados entre ambos grupos durante los 3 meses de seguimiento, con valores más extremos en el homocigoto mutante; mientras que para el grupo expresor los valores fueron discretamente superiores ($>0,014$ mg/kg/día) (figura 27a).

Como se aprecia en la figura 27b, la concentración sanguínea de Tac se mantuvo en valores aproximados en los dos grupos mutantes, mientras que el grupo expresor presentó niveles sanguíneos más altos durante los tres meses de seguimiento. La dispersión y los valores extremos fueron similares en los 3 grupos.

La ratio C/D fue discretamente superior para los expresores con una dispersión de datos respecto a la media similar en los 3 grupos (Figura 27c).

En definitiva, la dosis administrada fue 0,014 mg/kg/día superior para los receptores que expresaron el gen 2677 G>T/A, con unos niveles sanguíneos de Tac y una ratio C/D más elevados.

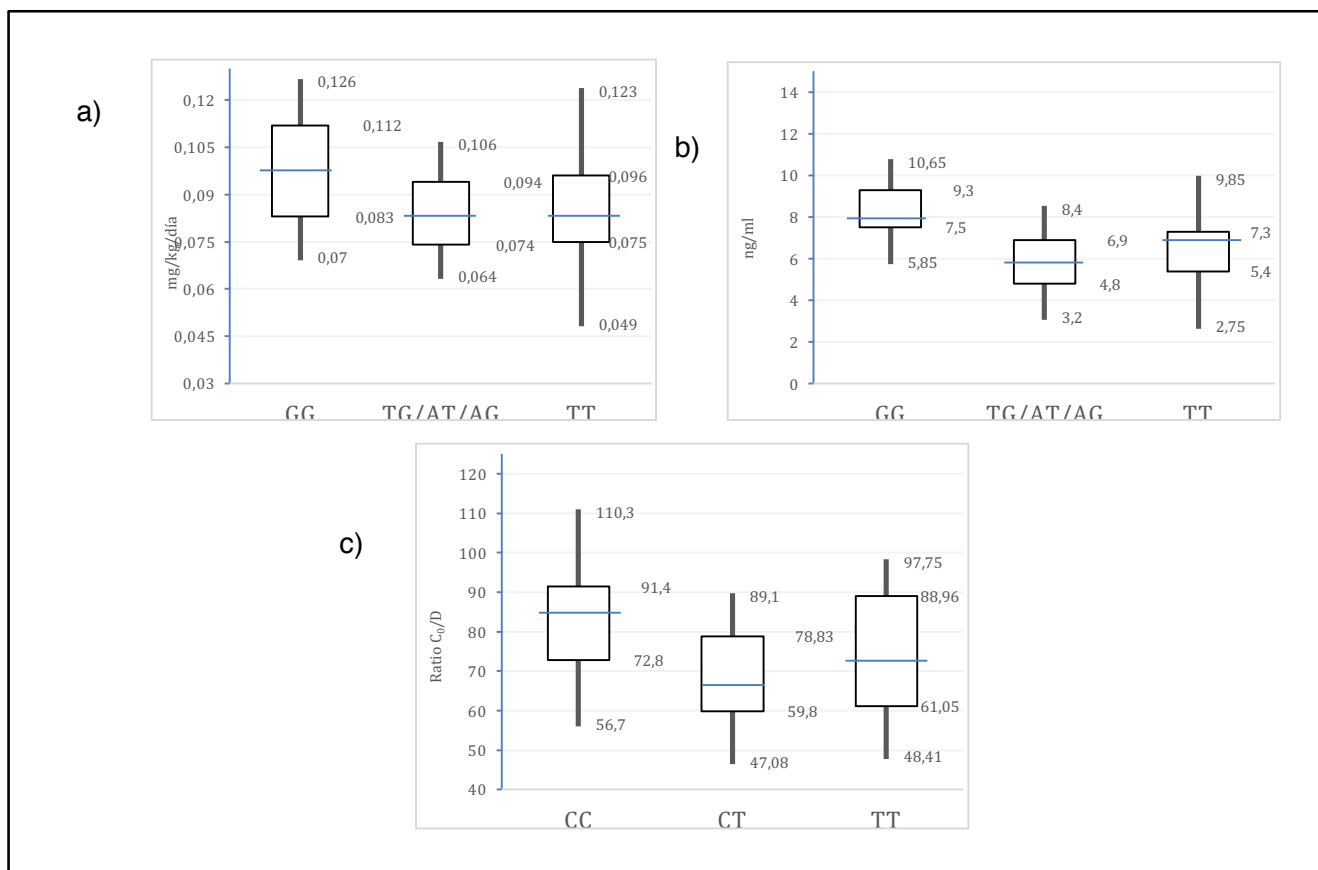


Figura 27.- Diagrama de máximos y mínimos del seguimiento según la expresión del gen 2677 G>T/A en el receptor: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

6.3.4 Efecto de los polimorfismos ABCB1 (1236C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del donante

El tamaño muestral del grupo según el genotipo del donante fue de n=88. Se recogieron las medias \pm DS por genotipo, agrupando en homocigotos “wild-type”, aquellos que expresan la proteína transportadora de Tac, homocigotos salvajes (no expresores) y heterocigotos (no expresores).

6.3.4.1. Visita 1: día 3 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la primera visita para el grupo expresor fue de 0,092 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.098 y 0.095 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,26 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,46 ng/ml para ambos SNPs mutantes.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 83,46, mientras que para los no expresores fue de 83,66 y 75,48 según genotipo CT o TT.

Tabla 56.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 1236 C>T, en la primera visita (día 3)

n=88	CC (n=23)	CT (n=47)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.092 \pm 0.029	0.098 \pm 0.036	0.095 \pm 0.037	0.230
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	8.26 \pm 3,35	7.46 \pm 2.98	7,46 \pm 3,05	0.345
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	89.78 \pm 115.11	75.81 \pm 18.86	78.19 \pm 19.14	0.333

En resume, en la Tabla 56 se recogen los resultados en la primera visita según genotipo 1236C>T del donante. La concentración en sangre, así como la ratio C/D fue más elevada para el SNP CC homocigoto, expresor, a pesar de unas dosis menores de Tac.

6.3.4.2. Visita 2: día 7 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la segunda visita para el grupo expresor fue de 0,080 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0.095 y 0.100 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,12 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,58 y 7,38 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 100,99, mientras que para los no expresores fue de 79,78 y 73,35 según genotipo CT o TT.

Tabla 57.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 1236 C>T, en la segunda visita (día 7).

n=88	CC (n=23)	CT (n=47)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.080 ± 0.039	0.095 ± 0.038	0.100 ± 0.040	0.320
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	8.12 ± 3.38	7.58 ± 3.01	7.38 ± 3.06	0.511
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	100.99 ± 13.55	79.78 ± 18.07	73.35 ± 10.34	0.229

Durante la visita del día 7 (Tabla 57), los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP CC homocigoto salvaje, a pesar de una dosis menor de Tac diaria. Sin significación estadística.

6.3.4.3. Visita 3: día 14 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la tercera visita para el grupo expresor fue de 0,084 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,096 y 0,098 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,40 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,62 y 7,44 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 99,76, mientras que para los no expresores fue de 79,37 y 70,07 según genotipo CT o TT.

Tabla 58.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 1236 C>T, en la tercera visita (día 14).

n=88	CC (n=23)	CT (n=47)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.084 ± 0.031	0.096 ± 0.033	0.098 ± 0.035	0.190
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	8.40 ± 3.09	7.62 ± 2.99	7.44 ± 3.04	0.422
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	99.76 ± 18.89	79.37 ± 12.01	70.07 ± 21.49	0.219

En definitiva, en la tercera visita, el grupo CC obtuvo niveles sanguíneos superiores y ratio C/D por encima que el fenotipo no expresor, con dosis más altas de Tac (Tabla 58).

6.3.4.4. Visita 4: día 30 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la cuarta visita para el grupo expresor fue de 0,084 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,097 y 0,099 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,26 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,42 y 7,36 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 97,40, mientras que para los no expresores fue de 76,33 y 73,74 según genotipo CT o TT.

Tabla 59.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 1236 C>T, en la cuarta visita (día 30).

n=88	CC (n=23)	CT (n=47)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.084 ± 0.032	0.097 ± 0.035	0.099 ± 0.036	0.632
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	8.26 ± 3.26	7,42 ± 3.18	7.36 ± 3,03	0.299
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	97.40 ± 17.11	76.33 ± 13.12	73.74 ± 18.98	0.701

Al mes de seguimiento (Tabla 59), para dosis inferiores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP CC homocigoto, expresor.

6.3.4.5. Visita 5: día 90 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la última visita para el grupo expresor fue de 0,083 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,097 y 0,098 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,22 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,58 y 7,44 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 98,09, mientras que para los no expresores fue de 78,14 y 75,45 según genotipo CT o TT.

Tabla 60.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 1236 C>T, en la quinta visita (día 90).

n=88	CC (n=23)	CT (n=47)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.083 ± 0.036	0.097 ± 0.034	0.098 ± 0.037	0.186
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.22 ± 3.25	7.58 ± 3.07	7.44 ± 3.04	0.098
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	98.09 ± 16.66	78.14 ± 17.78	75.45 ± 11.90	0.126

En resumen, en la visita final de seguimiento (Tabla 60), para dosis menores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron más altos para el SNP CC homocigoto, expresor.

Resumen del seguimiento según la expresión del gen 1236 C>T en el donante:

Para los pacientes no expresores (CT, TT) los requerimientos de Tac fueron muy aproximados entre ambos grupos durante los 3 meses de seguimiento, con valores extremos y dispersión respecto a la media aproximados; mientras que para el grupo expresor (CC) los valores fueron discretamente inferiores (<0,013 mg/kg/día) (figura 28a).

Como se aprecia en la figura 28b, la concentración sanguínea de Tac se mantuvo en valores aproximados en los dos grupos mutantes, mientras que el grupo expresor presentó niveles sanguíneos discretamente más elevados durante los tres meses de seguimiento. La dispersión y los valores extremos fueron similares en los 3 grupos.

La ratio C/D fue discretamente superior para los expresores con una dispersión de datos respecto a la media menor en el grupo homocigoto mutante (TT) (Figura 28c).

En definitiva, la dosis administrada fue 0,013 mg/kg/día superior para los donantes que no expresaron el gen 1236 C>T, con unos niveles sanguíneos de Tac y una ratio C/D más bajos.

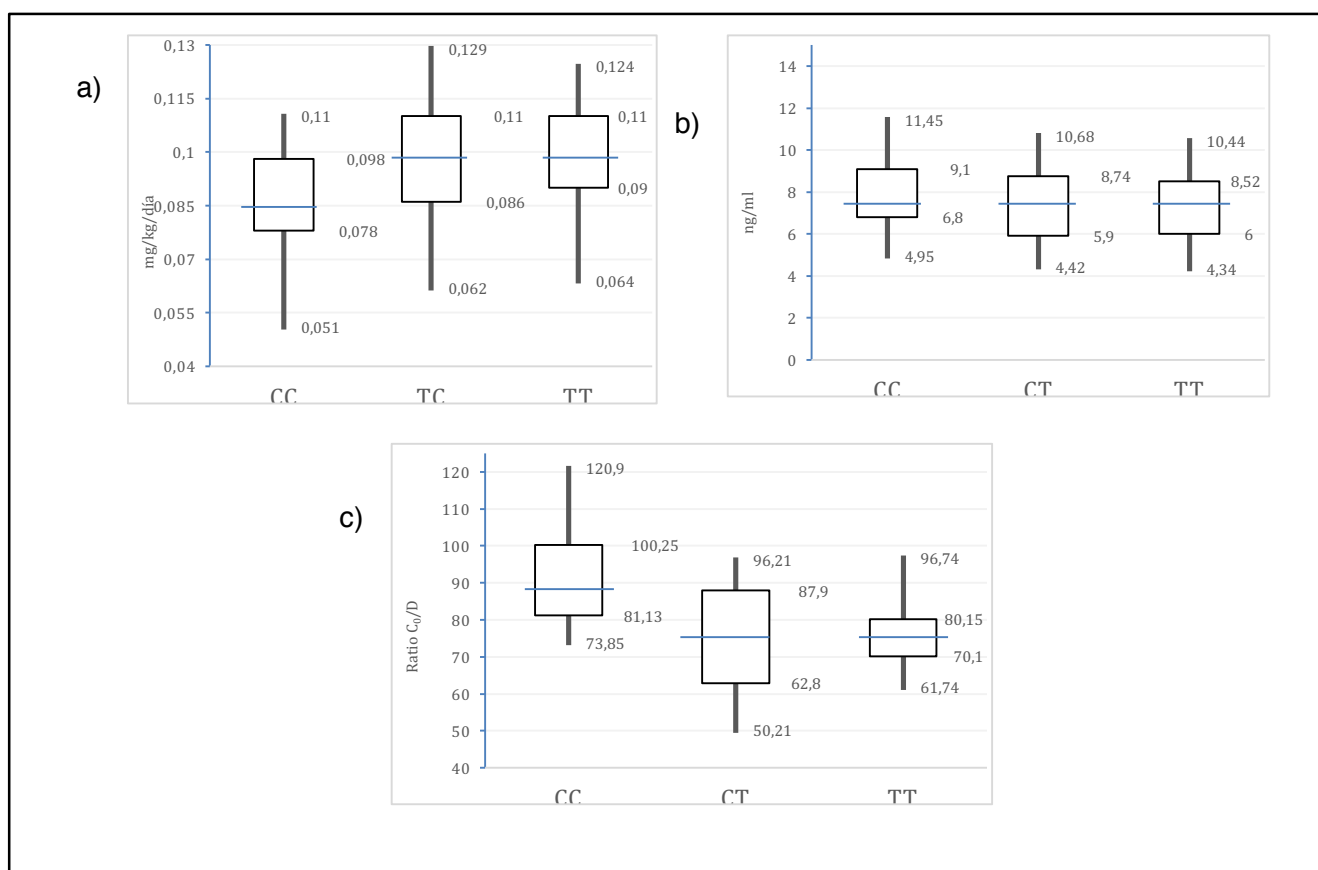


Figura 28.- Diagrama de máximos y mínimos del seguimiento según la expresión del gen 1236 C>T en el donante: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

6.3.5. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (3435C>T) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del donante

6.3.5.1. Visita 1: día 3 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la primera visita para el grupo expresor fue de 0,078 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,092 y 0,094 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,20 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,48 y 6,98 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 105,40, mientras que para los no expresores fue de 81,30 y 73,94 según genotipo CT o TT.

Tabla 61.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 3435 C>T, en la primera visita (día 3).

n=88	CC (n=27)	CT (n=33)	TT (n=28)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.078 \pm 0.033	0.092 \pm 0.036	0.094 \pm 0.38	0.103
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	8.20 \pm 2.85	7.48 \pm 3.28	6.98 \pm 3.59	0.654
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	105.40 \pm 20.13	81.30 \pm 9.38	73.94 \pm 11.44	0.199

En resumen, en la Tabla 61 se recogen los resultados en la primera visita, según genotipo 3435C>T del donante. La concentración en sangre, así como la ratio C/D fue más elevada para el SNP CC homocigoto, expresor, a pesar de unas dosis menores de Tac.

6.3.5.2. Visita 2: día 7 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la segunda visita para el grupo expresor fue de 0,076 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,094 y 0,095 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,10 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,58 y 7,04 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 106,86, mientras que para los no expresores fue de 80,63 y 73,64 según genotipo CT o TT.

Tabla 62.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 3435 C>T, en la segunda visita (día 7).

n=88	CC (n=27)	CT (n=33)	TT (n=28)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.076 ± 0.028	0.094 ± 0.034	0.095 ± 0.025	0.432
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.10 ± 2.97	7.58 ± 3.22	7.04 ± 3.52	0.122
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	106.86 ± 12.88	80.63 ± 15.42	73.64 ± 9.44	0.601

En resumen, durante la visita del día 7 (Tabla 62), los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP CC homocigoto salvaje, a pesar de una dosis menor de Tac diaria. Sin significación estadística.

6.3.5.3. Visita 3: día 14 (donantes)

***Dosis de tacrolimus:** la dosis media de Tac en la tercera visita para el grupo expresor fue de 0,076 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,092 y 0,094 mg/kg/día respectivamente.

***Concentración en sangre de Tac (C_{min}):** la concentración media para el genotipo CC fue de 8,06 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,48 y 7,14 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

***Ratio C/D:** en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 105,77, mientras que para los no expresores fue de 80,95 y 75,79 según genotipo CT o TT.

Tabla 63.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 3435 C>T, en la tercera visita (día 14).

n=88	CC (n=27)	CT (n=33)	TT (n=28)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.076 ± 0.036	0.092 ± 0.034	0.094 ± 0.038	0.327
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.06 ± 2.83	7.48 ± 32.66	7.14 ± 3.50	0.411
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	105.77 ± 19.31	80.95 ± 21.05	75.79 ± 10.19	0.255

En definitiva, en la tercera visita, el grupo CC obtuvo niveles sanguíneos superiores y ratio C/D por encima que el fenotipo no expresor, con dosis más bajas de Tac. Sin significación estadística (Tabla 63).

6.3.5.4. Visita 4: día 30 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la cuarta visita para el grupo expresor fue de 0,074 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,092 y 0,095 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,18 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,58 y 7,08 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 108,48, mientras que para los no expresores fue de 82,39 y 74,52 según genotipo CT o TT.

Tabla 64.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 3435 C>T, en la cuarta visita (día 30).

n=88	CC (n=27)	CT (n=33)	TT (n=28)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.074 ± 0.029	0.092 ± 0.035	0.095 ± 0.036	0.501
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, ± DS)	8.18 ± 2.91	7.58 ± 3.28	7.08 ± 3.52	0.396
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	108.48 ± 24.33	82.39 ± 16.92	74.52 ± 11.82	0.133

Al mes de seguimiento, el grupo CC obtuvo niveles sanguíneos superiores y ratio C/D por encima que el fenotipo no expresor, con dosis más bajas de Tac (Tabla 64).

6.3.5.5. Visita 5: día 90 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la última visita para el grupo expresor fue de 0,075 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores CT y TT fue de 0,093 y 0,095 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo CC fue de 8,18 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,54 y 7,18 ng/ml para el SNP CT y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (CC) la ratio fue de 108,49, mientras que para los no expresores fue de 80,90 y 75,57 según genotipo CT o TT.

Tabla 65.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 3435 C>T, en la quinta visita (día 90).

n=88	CC (n=27)	CT (n=33)	TT (n=28)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.075 ± 0.029	0.093 ± 0.034	0.095 ± 0.039	0.299
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.18 ± 2.92	7.54 ± 3.26	7.18 ± 3.50	0.421
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	108.49 ± 19.73	80.90 ± 13.16	75.57 ± 18.21	0.257

En resumen, en la visita final de seguimiento (Tabla 65), para dosis menores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron más altos para el SNP CC homocigoto, expresor.

Resumen del seguimiento según la expresión del gen 3435 C>T en el donante:

Para los pacientes no expresores (CT, TT) los requerimientos de Tac fueron muy aproximados entre ambos grupos durante los 3 meses de seguimiento, mientras que para el grupo expresor fueron discretamente inferiores (>0,020 mg/kg/día) (figura 29a).

Como se aprecia en la figura 29b, la concentración sanguínea de Tac se mantuvo en valores aproximados en los dos grupos mutantes (CT y TT), mientras que el grupo expresor presentó niveles sanguíneos discretamente más altos durante los tres meses de seguimiento.

La ratio C/D fue superior para los expresores con valores menos dispersos y valores menos extremos máximos y mínimos. La ratio C/D en los grupos mutantes fue muy similar entre si (Figura 29c).

En definitiva, la dosis administrada fue 0,020 mg/kg/día inferior para los donantes que expresaron el gen 3435 C>T, con unos niveles sanguíneos de Tac y una ratio C/D más elevados.

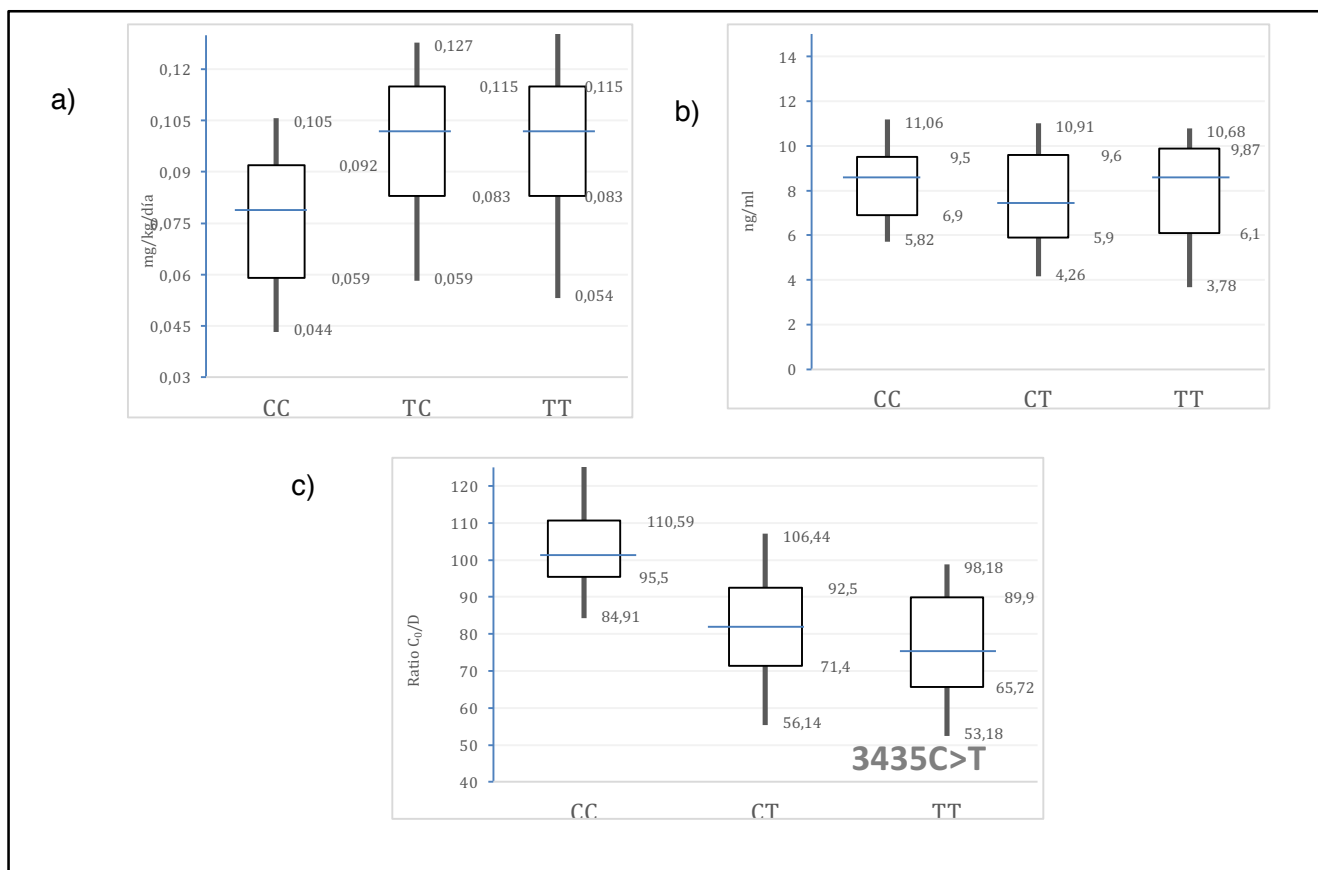


Figura 29.- Diagrama de máximos y mínimos del seguimiento según la expresión del gen 3435 C>T en el donante: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

6.3.6. Efecto de los polimorfismos ABCB1 (2677G>T/A) en la concentración/dosis de tacrolimus según el genotipo del donante

6.3.6.1. Visita 1: día 3 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la primera visita para el grupo expresor fue de 0,084 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.094 y 0.093 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 7,78 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,96 y 7,76 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 92,40, mientras que para los no expresores fue de 84,50 y 83,26 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 66.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 2677 G>T/A, en la primera visita (día 3).

n=88	GG (n=27)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.084 \pm 0.031	0.094 \pm 0.035	0.093 \pm 0.034	0.409
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	7.78 \pm 3.41	7.96 \pm 2.77	7.76 \pm 3.16	0.078
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	92.40 \pm 18.53	84.50 \pm 20.82	83.26 \pm 21.77	0.190

En resumen, en la Tabla 66 se recogen los resultados en la primera visita, según genotipo 2677G>T/A del donante. La concentración en sangre, así como la ratio C/D fue más elevada para el SNP GG homocigoto, expresor, a pesar de unas dosis menores de Tac.

6.3.6.2. Visita 2: día 7 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la segunda visita para el grupo expresor fue de 0,082 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.093 y 0.091 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 7,88 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,84 y 7,66 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 95,86, mientras que para los no expresores fue de 84,12 y 85,11 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 67.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 2677 G>T/A, en la segunda visita (día 7).

n=88	GG (n=27)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.082 ± 0.032	0.093 ± 0.035	0.091 ± 0.034	0.411
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	7.88 ± 3.38	7.84 ± 2.96	7.66 ± 3.11	0.200
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	95.86 ± 21.33	84.12 ± 18.25	85.11 ± 26.53	0.155

Durante la visita del día 7 (Tabla 67), los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron superiores para el SNP GG homocigoto salvaje, a pesar de una dosis menor de Tac diaria.

6.3.6.3. Visita 3: día 14 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la tercera visita para el grupo expresor fue de 0,084 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.092 y 0.096 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 7,82 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,98 y 7,64 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 92,55, mientras que para los no expresores fue de 86,92 y 79,74 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 68.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 2677G>T/A, en la tercera visita (día 14).

n=88	GG (n=27)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.084 ± 0.034	0.092 ± 0.033	0.096 ± 0.036	0.198
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	7.82 ± 3.02	7.98 ± 2.81	7.64 ± 3.18	0.227
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	92.65 ± 25.11	86.92 ± 20.85	79.74 ± 21.50	0.135

En resumen, en la tercera visita, el grupo GG obtuvo niveles sanguíneos superiores y ratio C/D por encima que el fenotipo no expresor, con dosis más bajas de Tac. Sin significación estadística (Tabla 62).

6.3.6.4. Visita 4: día 30 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la cuarta visita para el grupo expresor fue de 0,083 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.094 y 0.093 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 7,98 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 7,94 y 7,80 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 95,22, mientras que para los no expresores fue de 84,46 y 84,05 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 69.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 2677G>T/A, en la cuarta visita (día 30).

n=88	GG (n=27)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, \pm DS)	0.083 \pm 0.030	0.094 \pm 0.034	0.093 \pm 0.034	0.102
Concentración en sangre de Tac C_{min} (ng/ml, \pm DS)	7.98 \pm 3.44	7.94 \pm 2.93	7.80 \pm 3.10	0.277
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), \pm DS]	95.22 \pm 20.11	84.46 \pm 18.36	84.05 \pm 24.77	0.723

En definitiva, al mes de seguimiento, el grupo GG obtuvo niveles sanguíneos superiores y ratio C/D por encima que el fenotipo no expresor, con dosis más bajas de Tac (Tabla 69).

6.3.6.5. Visita 5: día 90 (donantes)

*Dosis de tacrolimus: la dosis media de Tac en la quinta visita para el grupo expresor fue de 0,085 mg/kg/día; mientras que para los grupos no expresores TG/AT/AG y TT fue de 0.095 y 0.094 mg/kg/día respectivamente.

*Concentración en sangre de Tac (C_{min}): la concentración media para el genotipo GG fue de 8,08 ng/ml, mientras que para los no expresores fue de 8,06 y 7,60 mg/ml para el SNP TG/AT/AG y TT respectivamente.

*Ratio C/D: en el grupo de expresores (GG) la ratio fue de 94,83, mientras que para los no expresores fue de 84,66 y 80,85 según genotipo mutante heterocigoto y homocigoto respectivamente.

Tabla 70.- Ratio C/D en el grupo de donantes, genotipo 2677G>T/A, en la quinta visita (día 90).

n=88	GG (n=27)	TG/AT/AG (n=43)	TT (n=18)	p
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.085 ± 0.036	0.095 ± 0.033	0.094 ± 0.036	0.398
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.08 ± 3.18	8.06 ± 2.78	7.60 ± 3.12	0.289
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	94.83 ± 20.85	84.66 ± 20.89	80.85 ± 20.57	0.166

En resumen, en la visita final de seguimiento (Tabla 70), para dosis menores de Tac, los niveles sanguíneos y la ratio C/D fueron más altos para el SNP CC homocigoto, expresor.

Resumen del seguimiento según la expresión del gen 2677 G>T/A en el donante:

De forma general, los valores obtenidos fueron heterogéneos en cada una de las visitas de seguimiento.

Para los pacientes no expresores (TG, AT, AG, TT) los requerimientos de Tac fueron muy aproximados entre ambos grupos durante los 3 meses de seguimiento, con valores más extremos en el homocigoto mutante; mientras que para el grupo expresor los valores fueron discretamente superiores ($>0,010$ mg/kg/día) (figura 30a).

Como se aprecia en la figura 30b, la concentración sanguínea de Tac se mantuvo en valores aproximados en los dos grupos mutantes, mientras que el grupo expresor presentó niveles sanguíneos más altos durante los tres meses de seguimiento. La dispersión y los valores extremos fueron similares en los 3 grupos.

La ratio C/D fue discretamente superior para los expresores con una dispersión de datos respecto a la media similar en los 3 grupos (Figura 30c).

En definitiva, la dosis administrada fue $0,010$ mg/kg/día superior para los receptores que expresaron el gen 2677 G>T/A, con unos niveles sanguíneos de Tac y una ratio C/D más elevados.

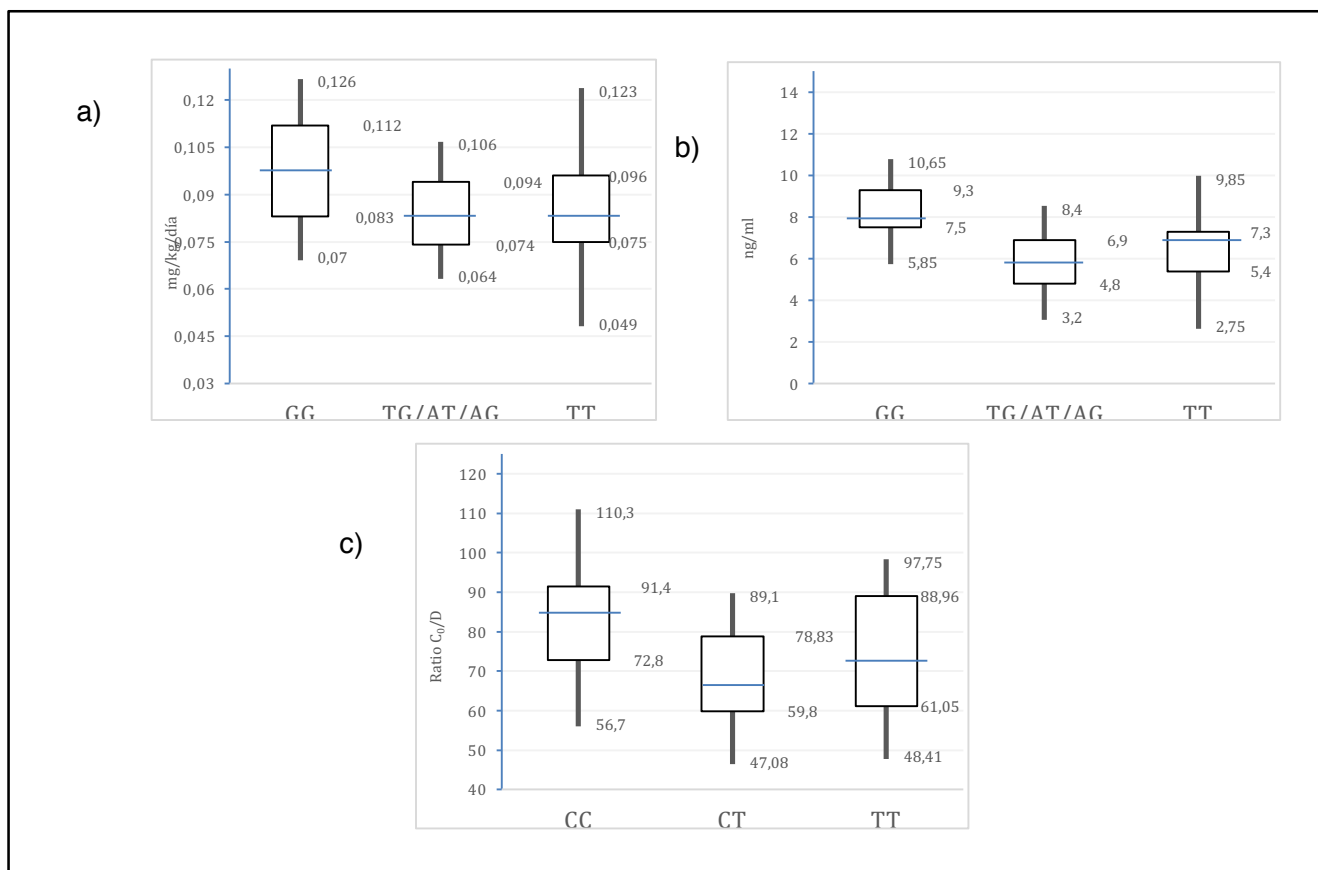


Figura 30.- Diagrama de máximos y mínimos del seguimiento según la expresión del gen 2677 G>T/A en el donante: a) dosis, b) concentración en sangre y c) ratio C/D.

6.3.7. Efecto de los polimorfismos ABCB1 en la concentración/dosis de tacrolimus. Resultados globales.

En la Tabla 71 se recogen, agrupados, los datos durante los 90 días de seguimiento para el grupo receptor en los 3 SNPs analizados. Posteriormente, en la tabla 72, se recogen los mismos datos, habiendo excluido previamente a los pacientes que expresaron CYP3A5 *1/*3, para evitar la influencia hepática en el análisis.

En la Tabla 73 se recogen los datos para el genotipo del donante, durante los 90 días de seguimiento divididos en los 3 SNPs analizados. Posteriormente, en la tabla 74, se recogen los mismos datos, habiendo excluido previamente a los pacientes que expresaron CYP3A5 *1/*3, para evitar el sesgo que podría surgir de la influencia del metabolismo hepático de Tac.

Los resultados globales (datos medios de las 5 visitas) tienen un comportamiento estadístico superponible a los datos desglosados de los apartados anteriores.

Tabla 71- Global el en el grupo de receptores, genotipos ABCB1, durante el seguimiento.

Genotipos	ABCB1 RECEPTORES		
	CC (n=38)	TC (n=41)	TT (n=19)
1236 C>T			
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.098 ± 0.037	0.088 ± 0.033	0.087 ± 0.031
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	7.22 ± 2.58	7.72 ± 3.45	7.98 ± 3.31
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	73.82 ± 20.60	87.52 ± 21.14	91.72 ± 23.13
3435 C>T			
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.098 ± 0.032	0.087 ± 0.036	0.084 ± 0.033
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.30 ± 2.87	6.66 ± 3.36	6.38 ± 2.47
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	84.52 ± 24.65	76.02 ± 22.04	75.95 ± 19.55
2677 G>T/A			
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.098 ± 0.028	0.084 ± 0.022	0.086 ± 0.037
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.20 ± 2.35	5.72 ± 2.58	6.30 ± 3.55
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	83.50 ± 26.80	68.09 ± 21.01	73.08 ± 24.67

Tabla 72- Global el en el grupo de receptores con genotipos ABCB1, durante el seguimiento, excluyendo los paciente con genotipo CYP3A5 *1 (n=14).

Genotipos	ABCB1 RECEPTORES			p
	CC (n=34)	TC (n=34)	TT (n=16)	
1236 C>T				
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.091 ± 0.040	0.083 ± 0.029	0.085 ± 0.034	0.160
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	7.12 ± 2.58	7.58 ± 3.45	7.14 ± 3.31	0.229
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	78.24 ± 21.05	91.32 ± 25.46	84.00 ± 24.15	0.098
3435 C>T				
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.096 ± 0.037	0.089 ± 0.039	0.085 ± 0.031	0.701
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.45 ± 2.91	7.09 ± 3.24	6.98 ± 2.34	0.513
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	88.02 ± 23.31	79.66 ± 20.67	82.11 ± 21.32	0.297
2677 G>T/A				
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.096 ± 0.031	0.089 ± 0.025	0.082 ± 0.038	0.093
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.34 ± 2.24	6.12 ± 2.90	6.41 ± 3.25	0.433
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	86.87 ± 26.85	68.76 ± 21.90	78.17 ± 23.92	0.632

Tabla 73.- Global el en el grupo de donantes, genotipos ABCB1, durante el seguimiento.

	Genotipos	ABCB1 DONANTES		
		CC (n=23)	TC (n=47)	TT (n=18)
	1236 C>T			
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)		0.084 ± 0.033	0.096 ± 0.034	0.099 ± 0.035
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)		8.2 ± 3.25	7.54 ± 3.12	7.38 ± 3.04
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]		97.15 ± 23.75	78.21 ± 28.00	74.24 ± 12.50
	3435 C>T			
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)		0.075 ± 0.031	0.093 ± 0.034	0.095 ± 0.038
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)		8.14 ± 2.92	7.56 ± 3.28	7.16 ± 3.52
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]		108.24 ± 23.33	81.29 ± 25.15	75.68 ± 22.50
	2677 G>T/A			
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)		0.084 ± 0.034	0.094 ± 0.033	0.093 ± 0.034
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)		7.96 ± 3.31	7.97 ± 2.92	7.72 ± 3.11
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]		93.86 ± 20.85	84.32 ± 19.36	83.01 ± 23.53

Tabla 74- Global el en el grupo de donantes con genotipos ABCB1, durante el seguimiento, excluyendo los paciente con genotipo CYP3A5 *1, y *1/*3 (n=12+2).

Genotipos	ABCB1 DONANTES			p
	CC (n=20)	TC (n=40)	TT (n=14)	
1236 C>T				
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.081 ± 0.029	0.089 ± 0.031	0.091 ± 0.033	0.089
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.6 ± 3.25	7.10 ± 2.99	7.58 ± 3.50	0.123
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	106.17 ± 27.13	79.77 ± 29.01	83.29 ± 13.61	0.345
3435 C>T				
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.080 ± 0.028	0.091 ± 0.030	0.090 ± 0.041	0.912
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	8.10 ± 2.98	7.51 ± 3.31	7.21 ± 3.53	0.981
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	101.25 ± 26.03	83.44 ± 22.98	80.11 ± 23.65	0.321
2677 G>T/A				
Dosis de Tac (mg/Kg/día, ± DS)	0.088 ± 0.044	0.091 ± 0.037	0.090 ± 0.031	0.119
Concentración en sangre de Tac C _{min} (ng/ml, ± DS)	7.99 ± 3.38	7.71 ± 2.12	7.82 ± 3.36	0.853
Tac Ratio concentración/dosis [(ng/ml)/(mg/kg/día), ± DS]	90.79 ± 19.53	84.72 ± 19.69	86.88 ± 22.93	0.201

6.4. RECHAZO AGUDO CELULAR

La frecuencia de desarrollo de RAC en el grupo según el genotipo de los receptores fue de 10,2%; en el grupo según el genotipo del donante fue de 10,2% también, y se recoge en la tabla 75.

Tabla 75.- Rechazo agudo celular en ambos grupos de la muestra.

	Receptores (n=98)	Donantes (n=88)
Libre de rechazo agudo	88	79
Rechazo agudo	10	9

6.4.1. Efecto de los polimorfismos CYP3A5 en el desarrollo de rechazo agudo celular

En el caso del CYP3A5, los resultados se representan en función al SNP expresado por genotipo de receptores y donantes. En primer lugar se recogen los resultados cualitativos (rechazo Si/No), para continuar posteriormente con los resultados del tiempo de aparición y gravedad del RAC.

6.4.1.1. Rechazo agudo celular (CYP3A5, receptores)

La frecuencia de RAC para el SNP *3/*3 (no expresor) fue del 9,4% (8), mientras que para el SNP *1/*3 fue del 14,3% (2) (Tabla 76, Figura 31)

Tabla 76.- Rechazo agudo celular en el grupo de receptores

	*3/*3 (n=84)	*1/*3, *1/*1 (n=14)	p
Libre de rechazo agudo	76	12	0,622
Rechazo agudo	8	2	

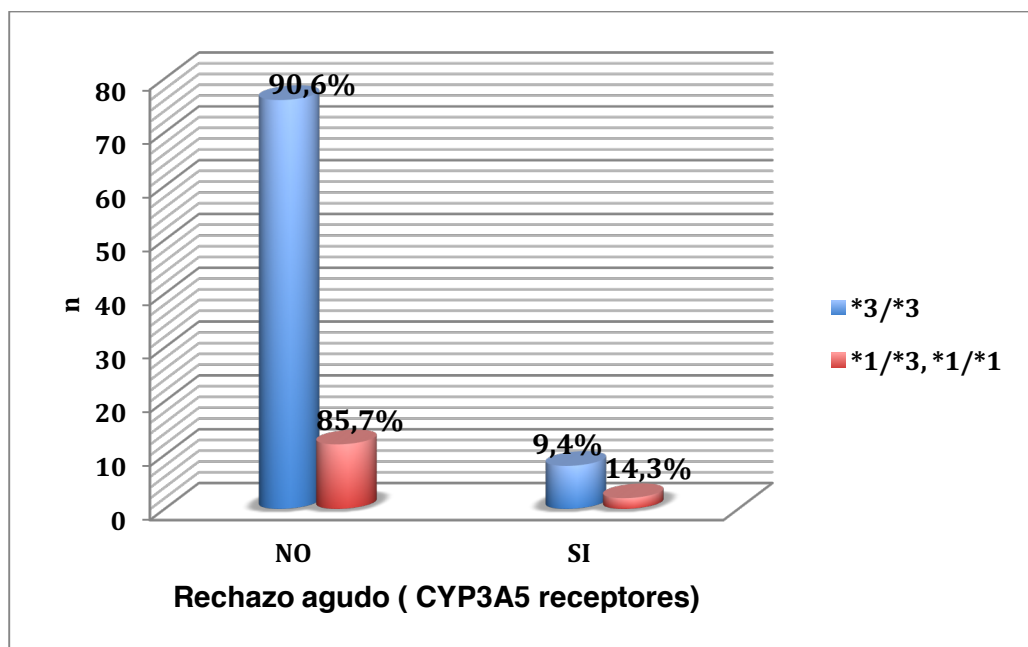


Figura 31.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de receptores.

6.4.1.2. Rechazo agudo celular (CYP3A5, donantes)

La frecuencia de RAC para el SNP *3/*3 (no expresor) fue del 9,5% (7), mientras que para el SNP *1/*3 y *1/*1 fue del 14,3% (2). (Tabla 77, Figura 32)

Tabla 77.- Rechazo agudo en el grupo de donantes.

	*3/*3 (n=74)	*1/*3, *1/*1 (n=14)	p
Libre de rechazo agudo	67	12	0,613
Rechazo agudo	7	2	

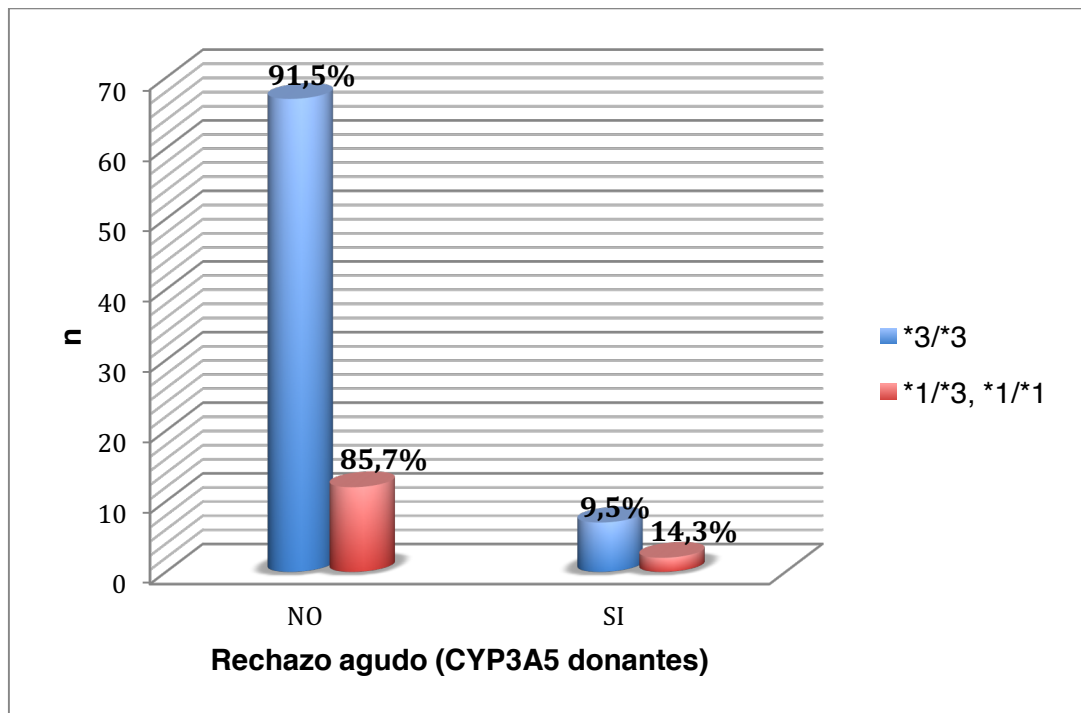


Figura 32.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de donantes.

6.4.1.3. Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (CYP3A5, receptores)

El tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP *3/*3 fue de 41,38±26,83 días. Para los expresores el tiempo medio fue de 17,00±1,41 días (p=0,042) (Tabla 78).

Tabla 78.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo celular en el grupo de receptores.

	*3/*3 (n=8)	*1/*3, *1/*1 (n=2)	p
Tiempo medio (días)	41,38	17,00	0,042
Desviación típica	26,83	1,41	

6.4.1.4. Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (CYP3A5, donantes)

El tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP *3/*3 fue de 42,43±28,47 días. Para los expresores el tiempo medio fue de 26,00±15,55 días. No se alcanzaron diferencias estadísticas (Tabla 79).

Tabla 79.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo celular en el grupo de donantes.

	*3/*3 (n=7)	*1/*3, *1/*1 (n=2)	p
Tiempo medio (días)	42,43	26,00	0,098
Desviación típica	28,47	15,55	

6.4.1.5. Grado de rechazo agudo celular para el CYP3A5

La frecuencia es la representada en la Tabla 80. El 100% (2) de los RAC ocurridos en el grupo expresor fueron moderados. En el grupo no expresor el 50% (4) fueron moderados y un 37,5% (3) graves (p=0,651).

Tabla 80.- Grado de rechazo agudo celular según criterios de Banff.

	*3/*3 (n=8)	*1/*3, *1/*1 (n=2)
Leve	1	0
Moderado	4	2
Severo	3	0

6.4.2. Efecto de los polimorfismos ABCB1 en el desarrollo de rechazo agudo celular

En el caso del gen ABCB1, los resultados se representan en función al SNP expresado por receptores y donantes. En primer lugar se recogen los resultados cualitativos (rechazo Si/No), para continuar posteriormente con los resultados del tiempo de aparición y gravedad del RAC.

6.4.2.1. Rechazo agudo celular (ABCB1, receptores)

La frecuencia de RAC para el alelo 1236C>T en el SNP CC (wild-type) fue del 10,5% (4), para los SNPs mutantes CT y TT fue del 12,2% (5) y del 5,2% (1) respectivamente (Tabla 81, Figura 33)

Tabla 81.- Rechazo agudo celular en el grupo de receptores (1236 C>T).

1236 C>T	CC (n=38)	CT (n=41)	TT (n=19)	p
Libre de rechazo agudo	34	36	18	0,709
Rechazo agudo	4	5	1	

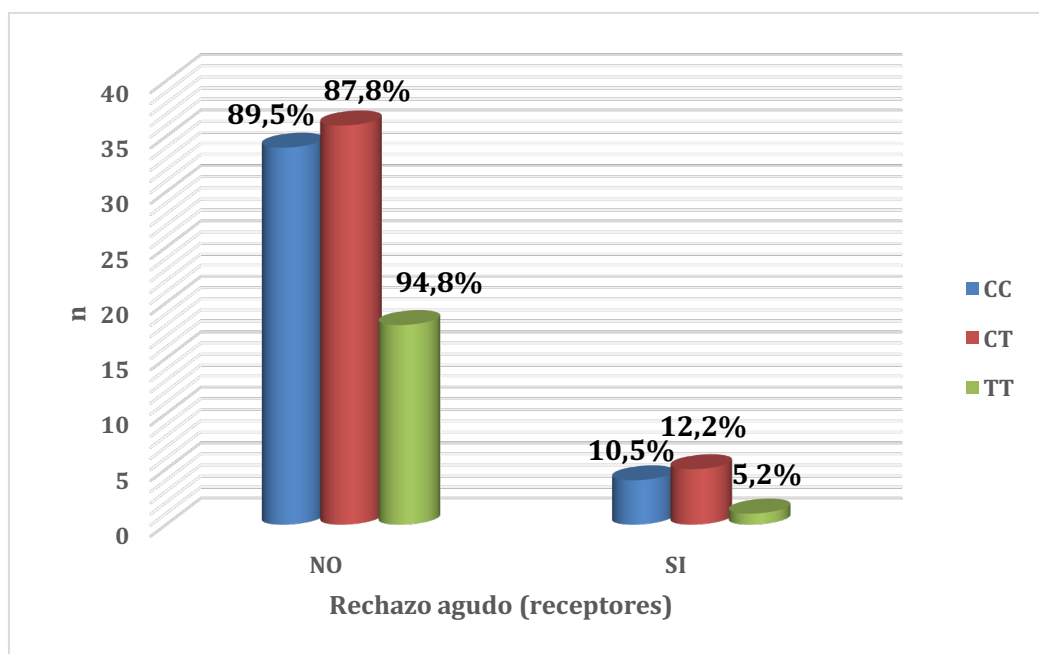


Figura 33.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de receptores (1236C>T).

Apareció RAC para el alelo 3435 C>T en el SNP CC (wild-type) en un 10% (3), mientras que para los SNPs mutantes CT y TT fue del 3,6% (2) y del 18,5% (5) respectivamente (Tabla 82, Figura 34)

Tabla 82.- Rechazo agudo celular en el grupo de receptores (3435 C>T)

3435 C>T	CC (n=30)	CT (n=41)	TT (n=27)	p
Libre de rechazo agudo	27	39	22	0,191
Rechazo agudo	3	2	5	

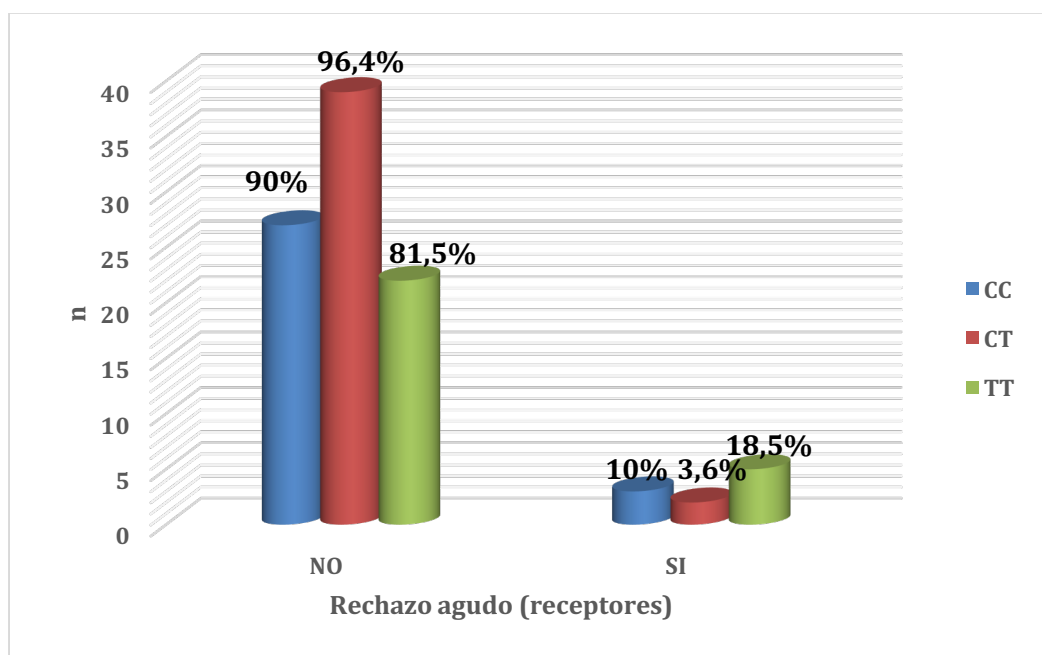


Figura 34.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de receptores (3435 C>T).

La frecuencia de RAC para el alelo 2677 G>T/A en el SNP GG (wild-type) fue del 16,7% (4), mientras que para los SNPs mutantes GT/AT/AG y TT fue del 10,7% (4) y del 5,2% (1) respectivamente (Tabla 83, Figura 35).

Tabla 83.- Rechazo agudo celular en el grupo de receptores (2677 G>T/A)

2677 G>T/A	GG (n=35)	GT/AT/AG (n=43)	TT (n=20)	p
Libre de rechazo agudo	30	39	19	0,666
Rechazo agudo	5	4	1	

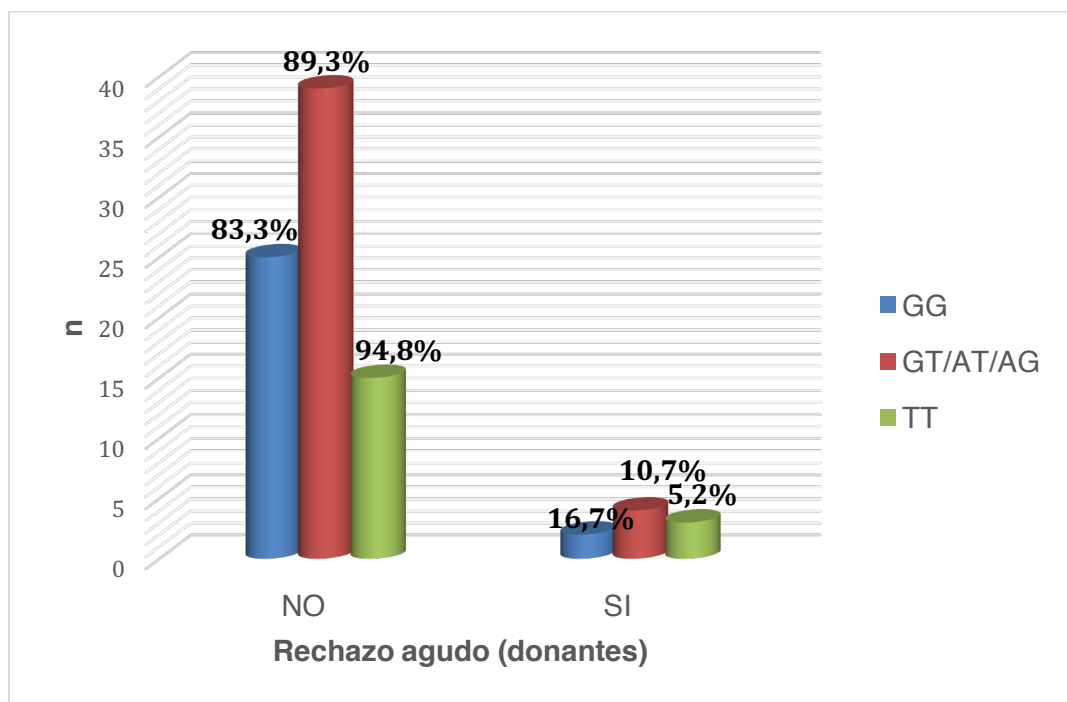


Figura 35.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de receptores (2677 G>T/A)

6.4.2.2. Rechazo agudo celular (ABCB1, donantes)

La frecuencia de RAC para el alelo 1236C>T en el SNP CC (wild-type) fue del 17,3% (4), mientras que para los SNPs mutantes CT y TT fue del 6,3% (3) y del 11,1% (2) respectivamente (Tabla 84, Figura 36).

Tabla 84.- Rechazo agudo celular en el grupo de donantes (1236 C>T).

1236 C>T	CC (n=23)	CT (n=47)	TT (n=18)	p
Libre de rechazo agudo	19	44	16	0,357
Rechazo agudo	4	3	2	

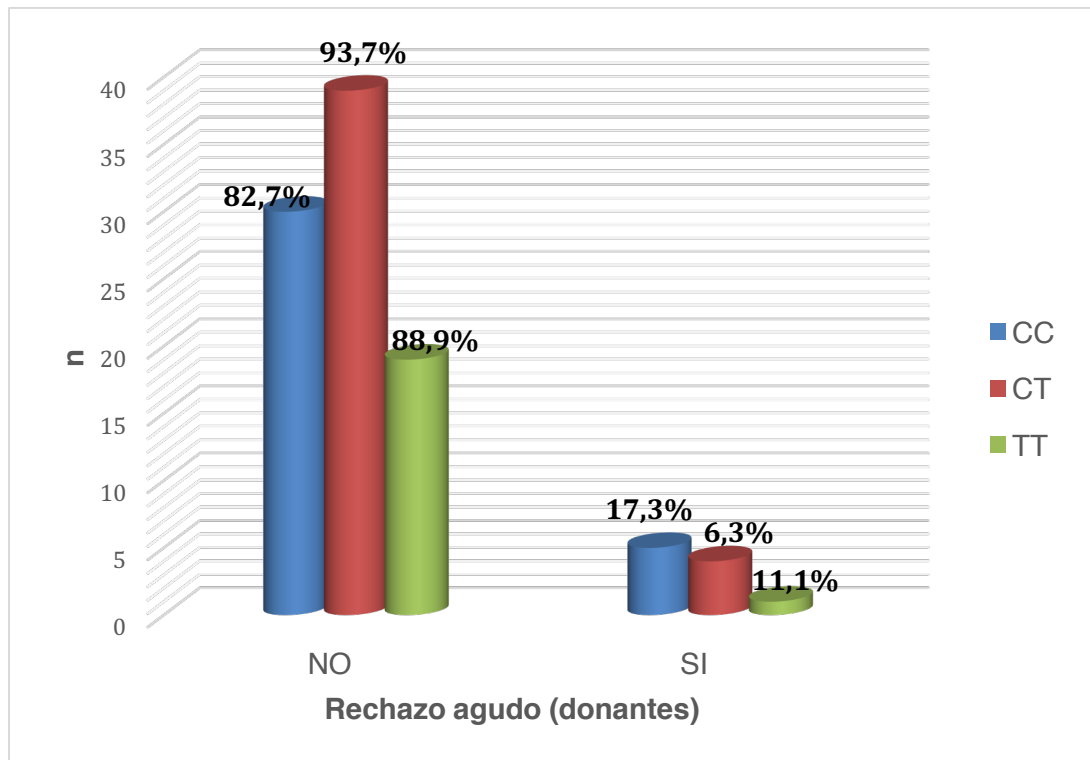


Figura 36.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de donantes (1236 C>T).

Apareció RAC para el alelo 3435 C>T en el SNP CC (wild-type) en un 7,4% (2), mientras que para los SNPs mutantes CT y TT fue del 15,2% (5) y del 7,1% (2) respectivamente (Tabla 85, Figura 37)

Tabla 85.- Rechazo agudo celular en el grupo de donantes (3435 C>T)

3435 C>T	CC (n=27)	CT (n=33)	TT (n=28)	p
Libre de rechazo agudo	25	28	26	0,496
Rechazo agudo	2	5	2	

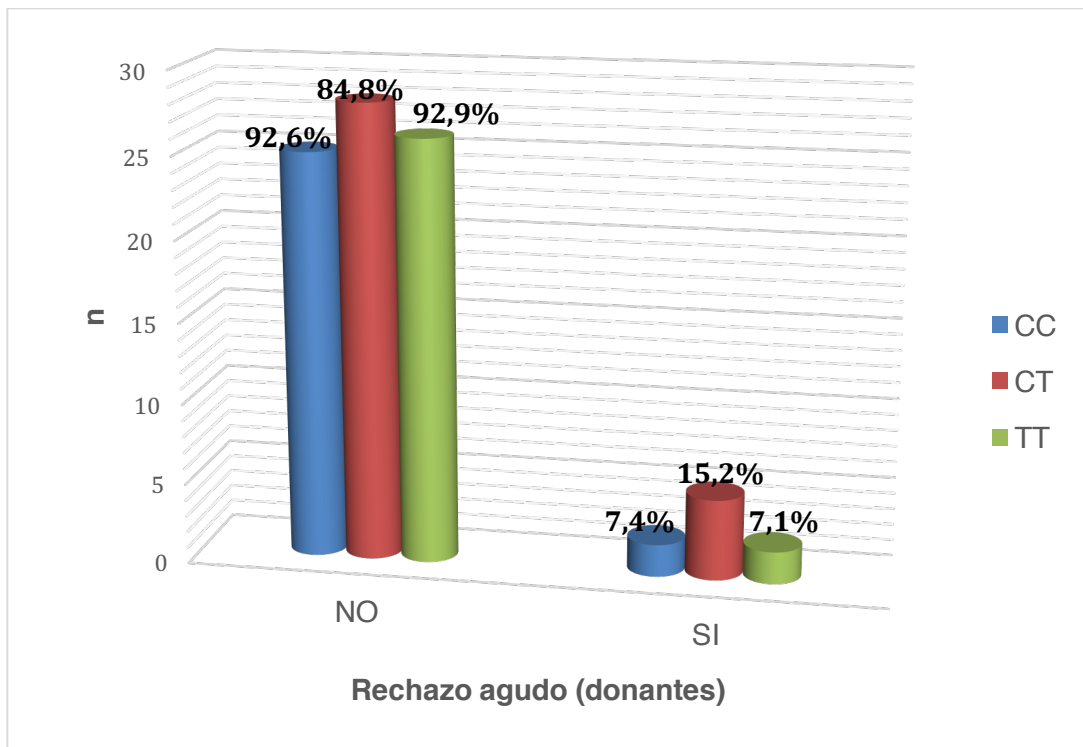


Figura 37.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de donantes (3435 C>T).

La frecuencia de RAC para el alelo 2677 G>T/A en el SNP GG (wild-type) fue del 7,4% (2), mientras que para los SNPs mutantes GT/AT/AG y TT fue del 9,3% (4) y del 16,6% (1) respectivamente (Tabla 86, Figura 38).

Tabla 86.- Rechazo agudo celular en el grupo de donantes (2677 G>T/A).

2677 G>T/A	GG (n=27)	GT/AT/AG (n=43)	TT (n=18)	p
Libre de rechazo agudo	25	39	15	0,666
Rechazo agudo	2	4	3	

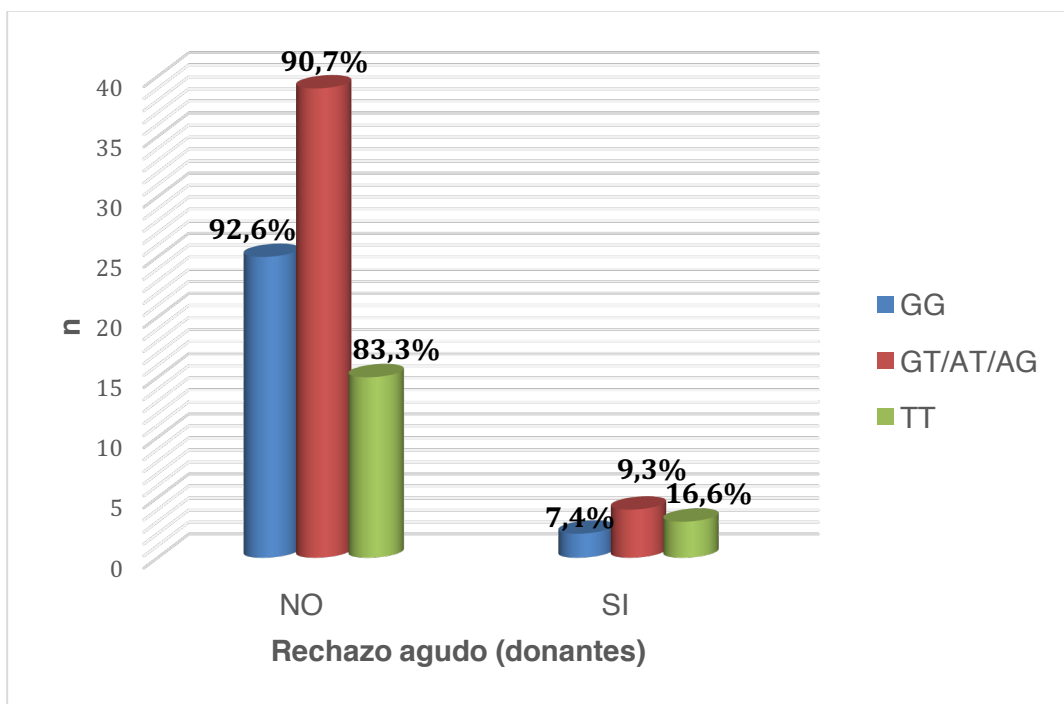


Figura 38.- Representación grafica del rechazo agudo celular en el grupo de donantes (2677 G>T/A).

En la Tabla 87 se representa la frecuencia de aparición de RAC excluyendo a aquellos pacientes expresores del CYP3A5 (*1/*1 y *1/*3). La finalidad de excluir un genotipo del CYP3A5 fue evitar el sesgo por influencia del metabolismo hepático del fármaco. No se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.

Tabla 87.- Rechazo agudo celular en ambos grupos (receptor, donante) excluyendo los paciente con genotipo CYP3A5 *1, y *1/*3 (n=14).

RECEPTORES	1236 C>T	CC (n=34)	CT (n=34)	TT (n=16)	p
	Libre de rechazo agudo	30	30	16	0,714
	Rechazo agudo	4	4	0	
	3435 C>T	CC (n=27)	CT (n=33)	TT (n=24)	p
	Libre de rechazo agudo	24	31	19	0,943
	Rechazo agudo	3	2	3	
	2677 G>T/A	GG (n=31)	GT/AT/AG (n=36)	TT (n=14)	p
	Libre de rechazo agudo	27	33	13	0,198
Rechazo agudo	4	3	1		
DONANTES	1236 C>T	CC (n=20)	CT (n=40)	TT (n=14)	p
	Libre de rechazo agudo	16	38	13	0,098
	Rechazo agudo	4	2	1	
	3435 C>T	CC (n=21)	CT (n=28)	TT (n=25)	p
	Libre de rechazo agudo	19	25	23	0,324
	Rechazo agudo	2	3	2	
	2677 G>T/A	GG (n=23)	GT/AT/AG (n=36)	TT (n=15)	p
	Libre de rechazo agudo	22	33	12	0,134
Rechazo agudo	1	3	3		

6.4.2.3. Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (ABCB1, receptores)

Para el alelo 1236 C>T el tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP CC (wild-type) fue de 35,77±29,41 días. Para los mutantes (CC,TT) el tiempo medio fue de 28,45±13,21 días (Tabla 88)

Tabla 88.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo celular en el grupo de receptores (1236 C>T).

1236 C>T	CC	CT/TT	p
Tiempo medio (días)	35,77	28,45	0,122
Desviación típica	29,41	13,23	

En el caso del alelo 3435 C>T el tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP CC (wild-type) fue de 28,01±13,14 días. Para los mutantes (CC,TT) el tiempo medio fue de 31,88±22,18 días (Tabla 89)

Tabla 89.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo celular en el grupo de receptores (3435 C>T).

3435 C>T	CC	CT/TT	p
Tiempo medio (días)	28,01	31,88	0,393
Desviación típica	13,14	22,18	

Para el alelo 2677G>T/A el tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP GG (wild-type) fue de 33,12±26,93 días. Para los mutantes (GT/AT/AG/TT) el tiempo medio fue de 26,85±14,02 días (Tabla 90).

Tabla 90.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo en el grupo de receptores (2677 G>T/A).

2677 G>T/A	GG	GT/AT/AG/TT	p
Tiempo medio (días)	33,12	26,85	0,761
Desviación típica	26,93	14,02	

6.4.2.4. Tiempo hasta aparición rechazo agudo celular (ABCB1, donantes)

Para el alelo 1236 C>T el tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP CC (wild-type) fue de 41,20±21,40 días. Para los mutantes (CC,TT) el tiempo medio fue de 27,75±12,91 días (Tabla 91)

Tabla 91.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo celular en el grupo de donantes (1236 C>T).

1236 C>T	CC	CT/TT	p
Tiempo medio (días)	41,20	27,75	0,902
Desviación típica	21,40	12,91	

En el caso del alelo 3435 C>T el tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP CC (wild-type) fue de 35,38±21,87 días. Para los mutantes (CC,TT) el tiempo medio fue de 29,43±27,27 días (Tabla 92)

Tabla 92.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo celular en el grupo de donantes (3435 C>T).

3435 C>T	CC	CT/TT	p
Tiempo medio (días)	35,38	29,43	0,751
Desviación típica	21,87	27,27	

Para el alelo 2677G>T/A el tiempo medio hasta desarrollar un RAC en el grupo del SNP GG (wild-type) fue de 31,07±12,98 días. Para los mutantes (GT/AT/AG/TT) el tiempo medio fue de 39,81±21,73 días (Tabla 93)

Tabla 93.- Tiempo medio de aparición de rechazo agudo celular en el grupo de donantes (2677 G>T/A).

2677 G>T/A	GG	GT/AT/AG/TT	p
Tiempo medio (días)	31,07	39,81	0,662
Desviación típica	12,98	21,73	

6.4.2.5. Grado de rechazo agudo celular para el ABCB1

La frecuencia es la representada en la Tabla 94. Para el alelo 1236 C>T expresor un 75% (3) fueron RAC moderados y un 25% (1) graves; mientras que para los no expresores el 50% (3) desarrollaron RAC moderado, 33% (2) grave y un 17% (1) leve (p=0,192).

Para el alelo 3435 C>T expresor el 100% (3) de los casos fueron RAC moderados; mientras que para los no expresores un 43% (3) fueron RAC moderados, otro 43% graves y un 14% (1) RAC leves (p=0,832)

En el caso del gen 2677 G>T/A expresor un 80% (4) desarrollaron RAC moderado y un 20% (1) leve; mientras que los no expresores desarrollaron un 60% (3) de RAC graves y un 40% (2) moderados.

Tabla 94.- Grado de rechazo agudo celular según criterios de Banff.

1236 C>T	CC (n=4)	CT/TT (n=6)
Leve	0	1
Moderado	3	3
Severo	1	2
3435 C>T	CC (n=3)	CT/TT (n=7)
Leve	0	1
Moderado	3	3
Severo	0	3
2677 G>T/A	GG (n=5)	GT/AT/AG/TT (n=5)
Leve	1	0
Moderado	4	2
Severo	0	3

6.4.3. Análisis multivariante del rechazo agudo celular

Se llevó a cabo un análisis multivariante con el RAC como variable dependiente (Tabla 95). La expresión del CYP3A5 como enzima activo resultó como variable independiente para el desarrollo de RAC con un coeficiente de 1,81 [1,32-3,01] ($p=0,045$). Las demás variables independientes no se relacionaron con la aparición de RAC.

Tabla 95.- Análisis multivariante para los el rechazo agudo celular.

	Coeficiente	Intervalo de confianza	p
CYP3A5 expresor	1,81	[1,32-3,01]	0,045
1236C>T expresor	1,12	[0,88-1,25]	0,892
3435 C>T expresor	0,89	[0,66-1,29]	0,565
2677 G>T/A expresor	0,92	[0,74-1,54]	0,124
Dosis de Tac	1,08	[0,23-2,13]	0.312
Concentración en sangre de Tac	1,98	[0.91-6,72]	0.122
Ratio concentración/dosis	3,10	[1,27-7,31]	0.713

6.5. FUNCIÓN HEPÁTICA

Los datos recogidos se distribuyen en dos tablas diferenciando ambos grupos de estudio (receptores/donantes). Se analiza en cada caso los parámetros analíticos de función hepática agrupados para ambos genes (CYP3A5 y ABCB1) y los SNPs que pueden expresar.

Se recogen las medias \pm DS de GOT (UI/l) [10-40 UI/l], GPT UI/l) [7-40 UI/l], FA (UI/l) [60-300 UI/l], GGT(UI/l) [6-50 UI/l], Bt (mg/dl) [0,2-1,2mg/dl]. Entre corchetes se muestran los valores normales.

6.5.1. Grupo de receptores

Se recogen los datos siguientes en la tabla 96.

6.5.1.1. CYP3A5

GOT: para los no expresores los valores de GOT durante los 90 días de seguimiento presentaron niveles medios más bajos que para el grupo expresor, sin alcanzar diferencias estadísticas, salvo en el día 7. La primera medición (día 3) presentó valores medios más elevados que en las visitas sucesivas en ambos grupos.

GPT: los niveles de GPT en el día 7, 14,30 y 90 arrojaron valores medios más elevados en el grupo expresor (*1/*3) que en el SNP *3/*3. En el día 1, el grupo no expresor presentaron niveles más altos de GPT, sin significación estadística.

FA: en los días 3, 14, 30 y 90 el grupo de expresores mantienen niveles medios de FA más elevados, hallando significación estadística para los valores del día 14. En el día 7, el grupo con la FA media más alta fue el de los no expresores, sin hallar diferencias.

GGT: se mantuvieron valores medios más elevado en el grupo no expresor en los días 3, 7 y 90. Mientras que en los días 14 y 30, fueron los no expresores los que presentaron valores más altos. No se alcanzó significación estadística.

Bilirrubina total: en todas las visitas, salvo en el día 14, los niveles medios de Bt fueron superiores en el grupo expresor, *1/*3. La medición del día 14 arrojó valores estadísticamente significativos.

6.5.1.2. ABCB1

a) 1236C>T

GOT: se obtuvieron valores medios más elevados para el grupo mutante (CT,TT) en los días 3, 7 y 90. No se alcanzaron valores significativamente estadísticos.

GPT: en los días 3, 30 y 90 los niveles más altos de GPT los presentaron los pacientes mutantes para el alelo 1236. En el día 14 se alcanzó significación, para niveles más elevados en el grupo wild-type.

FA: los niveles medios de FA fueron más altos en el grupo wild-type (CC) en el día 3 y 30 frente a los mutantes. No hubo diferencias en ninguno de los días de seguimiento.

GGT: se obtuvieron valores medios más elevados para los mutantes en los

días 3, 7 y 90. No se alcanzaron diferencias.

Bilirrubina total: salvo en el día 30, los niveles medios de Bt fueron superiores en el grupo wild-type. No se hallaron diferencias estadísticas.

b)3435C>T

GOT: excepto en la primera visita (día 3) los niveles medios de GOT se mantuvieron más altos en el grupo de mutantes (CT,TT). No se alcanzaron diferencias estadísticas.

GPT: salvo en el día 3, los niveles sanguíneos medios de GPT estuvieron por encima en el grupo wild-type. Sin diferencias estadísticas.

FA: en los días 3, 14 y 30 los niveles medios más altos de FA fueron presentados por el grupo wild-type, sin diferencias estadísticas.

GGT: durante todo el seguimiento los niveles medios de GGT estuvieron por encima en el grupo mutante. No hubo diferencias estadísticas.

Bilirrubina total: para el grupo mutante en los días 3, 30 y 90 los niveles medios de Bt fueron más elevados que para el grupo salvaje. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

c)2677G>T/A

GOT: durante todo el seguimiento el nivel medio de GOT se mantuvo más elevado en el grupo salvaje (GG). Los niveles de la primera visita se mantienen muy por encima que en la revisiones sucesivas para ambos grupos. No se alcanzaron diferencias.

GPT: en los días 3 y 14 el grupo wild-type presentó valores medios de GPT más altos que en el grupo mutante (GT, AT, AG, TT). En el día 3 se alcanzaron valores estadísticamente significativos.

FA: salvo en la visita del día 14, el grupo mutante presentó valores medios de FA más altos, sin llegar a alcanzar diferencias estadísticas.

GGT: en los días 3,14 y 90 los mutante tienen valores medios de GGT más elevados que los salvajes. Sin significación estadística.

Bilirrubina total: los niveles medios de Bt fueron más altos en en el grupo wild-type (GG) en los días 3, 24 y 90. No se apreciaron diferencias estadísticas.

6.5.2. Grupo de donantes

Se recogen los datos siguientes en la tabla 97.

6.5.2.1. CYP3A5

GOT: para los no expresores los niveles de GOT durante los primeros 7 días se recogen valores medios más bajos que para el grupo expresor, sin alcanzar diferencias estadísticas. La primera medición (día 3) presentó valores medios más elevados que en las visitas sucesivas en ambos grupos.

GPT: los niveles de GPT en el día 3, 7, 30 y 90 arrojaron valores medios más elevados en el grupo expresor (*1/*3) que en el SNP *3/*3. En el día 14, el grupo no expresor se presentaron niveles medios más altos de GPT, sin significación estadística.

FA: en los días 14, 30 y 90 el grupo de expresores mantienen niveles medios de FA más elevados, no hallando significación estadística en ninguna de las mediciones.

GGT: se mantuvieron valores medios más elevados en el grupo expresor durante todo el seguimiento. No se alcanzó significación estadística.

Bilirrubina total: en los días 3 y 30, los niveles medios de Bt fueron superiores en el grupo expresor, *1/*3. Ninguna medición arrojó valores estadísticamente significativos. (tabla

6.5.2.2. ABCB1

a) 1236C>T

GOT: se obtuvieron valores medios más elevado para el grupo mutante (CT, TT) en los días 3, 7 y 90. No se alcanzaron valores significativamente estadísticos.

GPT: sólo en el día 3 se presentaron niveles medios más altos de GPT para los pacientes mutantes. Se alcanzó significación estadística en la medición del día 3.

FA: los niveles medios de FA fueron más altos en el grupo mutante (CT, TT) en todo el seguimiento. No hubo diferencias en ninguno de los días de seguimiento.

GGT: se obtuvieron valores medios más elevados para los mutantes en los días 3, 14, 30 y 90. No se alcanzaron diferencias.

Bilirrubina total: los niveles medios de Bt fueron superiores en el grupo wild-type en los días 3 y 14. En el día 14 los valores obtenidos arrojan diferencias estadísticas.

b) 3435C>T

GOT: durante los primeros 7 días del seguimiento el nivel medio de GOT se mantuvo más elevado en el grupo mutante (CT, TT). No se alcanzaron diferencias estadísticas.

GPT: salvo en el día 3, los niveles sanguíneos medios de GPT estuvieron por encima en el grupo mutante. Sin diferencias estadísticas.

FA: en los días 3, 7 y 90 los niveles medios más altos de FA fueron presentados por el grupo mutantes, sin diferencias estadísticas.

GGT: en los días 7, 30 y 90 los niveles medios de GGT estuvieron por encima en el grupo wild-type (CC). No hubo diferencias estadísticas.

Bilirrubina total: para el grupo mutante en los días 3, 14 y 30 los niveles medios de Bt fueron más elevados que para el grupo salvaje. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

c)2677G>T/A

GOT: en los días 3 y 14 los niveles medios de GOT se mantuvieron más elevados en el grupo salvaje (GG). No se alcanzaron diferencias.

GPT: durante todo el seguimiento el grupo wild-type presentó valores medios de GPT más altos que en el grupo mutante (GT, AT, AG, TT). No se alcanzaron valores estadísticamente significativos.

FA: el grupo mutante presentó valores medios de FA más altos en los días 7 y 90, sin llegar a alcanzar diferencias estadísticas.

GGT: en los días 7, 30 y 90 los mutante tienen valores medios de GGT más elevados que los salvajes. Sin significación estadística.

Bilirrubina total: los niveles medios de Bt fueron más altos en el grupo mutante en todas las visitas, salvo en el día 14. No se apreciaron diferencias estadísticas.

Tabla 96.- Perfil hepático según genotipo del receptor

RECEPTORES

	CYP3A5			ABCB1								
	*3/*3	*1/*3,*1/*1	p	1236 C>T			3435 C>T			2677 G>T/A		
				CC	CT, TT	p	CC	CT,TT	p	GG	GT,AT,AG,TT	p
GOT ₃	61,10±34,61	59,73±38,01	0.145	71,42±31,80	81,35±41,72	0.077	73,83±29,91	70,18±31,85	0.334	77,59±38,93	72,91±41,01	0.099
GOT ₇	10,53±20,31	14,72±29,91	0.045	19,87±26,42	21,66±30,77	0.057	12,33±11,31	23,11±20,14	0.198	21,76±20,41	19,61±22,12	0.912
GOT ₁₄	12,01±22,71	19,22±31,71	0.125	16,91±29,88	11,73±34,27	0.097	17,33±31,31	21,12±12,05	0.665	18,75±28,13	11,61±30,05	0.500
GOT ₃₀	17,99±25,42	21,42±32,47	0.082	19,61±32,01	16,09±31,47	0.198	22,09±23,98	29,20±19,96	0.129	21,64±22,21	20,44±33,12	0.210
GOT ₉₀	19,73±32,74	21,42±29,03	0.811	17,07±22,38	19,99±34,26	0.233	18,82±29,10	22,14±29,52	0.509	21,43±22,60	19,09±34,91	0.076
GPT ₃	77,90±55,73	81,24±39,01	0.988	69,19±33,89	77,61±41,93	0.901	68,23±42,34	71,14±39,91	0.455	77,45±50,91	63,62±41,59	0.049
GPT ₇	19,42±29,91	22,78±39,64	0.337	21,18±33,91	18,03±35,37	0.705	20,55±34,01	19,12±19,51	0.880	21,95±33,51	22,99±32,56	0.152
GPT ₁₄	23,89±31,33	24,02±36,02	0.923	22,72±21,10	19,03±30,07	0.039	26,41±32,71	25,03±29,72	0.714	24,00±29,91	21,34±28,77	0.314
GPT ₃₀	18,66±28,37	23,75±31,03	0.105	21,77±29,61	22,21±21,99	0.907	25,41±30,91	24,65±31,72	0.235	21,74±31,62	23,32±31,99	0.488
GPT ₉₀	19,33±31,45	24,22±29,70	0.095	20,90±31,78	21,63±31,17	0.729	19,35±33,01	18,06±31,66	0.925	19,44±21,14	23,77±34,02	0.951
FA ₃	393±422,04	412,82±399,66	0.988	460,71±429,58	381,73±349,27	0.097	432,55±431,51	399,21±433,32	0.653	421,75±428,33	433,41±450,57	0.931
FA ₇	90,31±100,91	88,30±110,32	0.245	88,73±109,81	101,32±94,77	0.088	97,10±107,99	100,40±123,77	0.305	99,77±121,39	111,931±99,21	0.900
FA ₁₄	81,45±91,30	89,26±103,99	0.024	79,98±99,13	83,75±94,27	0.072	91,03±98,75	90,13±101,76	0.712	91,45±99,08	87,731±91,46	0.913
FA ₃₀	79,77±102,41	89,34±92,03	0.065	86,71±99,83	83,48±94,71	0.971	97,13±100,65	89,14±110,51	0.635	91,99±81,22	98,43±105,43	0.789
FA ₉₀	88,19±102,34	94,26±103,55	0.185	89,71±91,09	91,35±94,79	0.794	87,35±91,91	91,02±92,53	0.717	89,95±89,09	91,61±100,12	0.676
GGT ₃	71,21±41,90	85,35±41,72	0.044	69,73±42,31	81,14±59,91	0.055	79,52±37,60	87,38±41,82	0.977	83,03±49,01	90,98±41,58	0.124
GGT ₇	19,70±29,22	21,36±31,32	0.471	21,45±31,91	29,02±29,16	0.480	19,97±32,32	26,74±31,90	0.537	21,43±14,71	19,41±30,54	0.798
GGT ₁₄	15,16±27,21	14,35±33,75	0.687	20,11±27,13	16,63±28,43	0.104	16,16±26,89	21,60±31,67	0.397	18,66±32,21	19,45±26,95	0.235
GGT ₃₀	18,61±28,51	17,22±31,01	0.938	18,11±25,17	17,95±29,20	0.942	16,71±24,11	18,99±27,33	0.595	20,19±31,93	16,21±28,90	0.291
GGT ₉₀	15,19±25,98	18,37±29,93	0.133	17,43±23,44	19,95±29,76	0.325	16,14±26,35	18,91±24,36	0.533	17,42±31,33	20,40±21,03	0.599
Bt ₃	1,41±2,91	1,52±3,05	0.273	1,91±3,98	1,53±3,17	0.073	1,63±4,31	1,89±3,95	0.697	1,75±4,06	1,41±3,95	0.331
Bt ₇	0,99±4,71	1,02±4,53	0.761	0,98±3,98	0,93±4,29	0.197	1,06±4,61	0,93±4,25	0.235	1,01±3,93	1,21±3,05	0.520
Bt ₁₄	0,98±3,71	0,71±2,99	0.029	0,91±2,82	0,83±3,27	0.997	0,93±3,19	0,92±3,05	0.065	0,95±3,31	0,81±3,22	0.312
Bt ₃₀	0,89±2,07	0,92±3,01	0.331	0,87±2,91	0,93±2,20	0.823	0,83±3,16	0,92±2,96	0.332	0,85±2,44	0,91±2,12	0.532
Bt ₉₀	0,79±2,33	0,82±3,04	0.511	0,81±2,98	0,80±2,07	0.123	0,75±3,83	0,82±3,05	0.703	0,85±2,05	0,78±3,15	0.122

Tabla 97.- Perfil hepático según genotipo donantes

	DONANTES											
	CYP3A5			ABCB1								
	*3/*3	*1/*3,*1/*1	p	1236 C>T			3435 C>T			2677 G>T/A		
CC				CT, TT	p	CC	CT,TT	p	GG	GT,AT,AG,TT	p	
GOT ₃	69,73±42,31	81,14±59,91	0.235	71,21±41,90	85,35±41,72	0.044	69,73±42,31	81,14±59,91	0.055	61,10±34,61	59,73±38,01	0.145
GOT ₇	21,45±31,91	29,02±29,16	0.789	19,70±29,22	21,36±31,32	0.471	21,45±31,91	29,02±29,16	0.480	21,95±33,51	22,99±32,56	0.152
GOT ₁₄	26,41±32,71	25,03±29,72	0.676	20,11±27,13	16,63±28,43	0.104	26,41±32,71	25,03±29,72	0.714	24,00±29,91	21,34±28,77	0.314
GOT ₃₀	25,41±30,91	24,65±31,72	0.073	18,11±25,17	17,95±29,20	0.942	25,41±30,91	24,65±31,72	0.235	17,99±25,42	21,42±32,47	0.082
GOT ₉₀	19,35±33,01	18,06±31,66	0.197	17,43±23,44	19,95±29,76	0.325	19,35±33,01	18,06±31,66	0.925	19,73±32,74	21,42±29,03	0.811
GPT ₃	79,52±37,60	87,38±41,82	0.997	83,03±49,01	90,98±41,58	0.029	73,83±29,91	70,18±31,85	0.334	77,59±38,93	72,91±41,01	0.099
GPT ₇	21,95±33,51	22,99±32,56	0.823	21,43±14,71	19,41±30,54	0.798	12,33±11,31	23,11±20,14	0.198	21,76±20,41	19,61±22,12	0.912
GPT ₁₄	24,00±29,91	21,34±28,77	0.123	26,41±32,71	25,03±29,72	0.714	17,33±31,31	21,12±12,05	0.665	18,75±28,13	11,61±30,05	0.065
GPT ₃₀	21,74±31,62	23,32±31,99	0.697	25,41±30,91	24,65±31,72	0.235	22,09±23,98	29,20±19,96	0.129	21,64±22,21	20,44±33,12	0.185
GPT ₉₀	19,44±21,14	23,77±34,02	0.235	19,35±33,01	18,06±31,66	0.925	18,82±29,10	22,14±29,52	0.509	21,43±22,60	19,09±34,91	0.145
FA ₃	432,55±431,51	399,21±433,32	0.997	393±422,04	412,82±399,66	0.097	421,75±428,33	433,41±450,57	0.931	460,71±429,58	381,73±349,27	0.097
FA ₇	90,31±100,91	88,30±110,32	0.823	91,99±81,22	98,43±105,43	0.305	99,77±121,39	111,931±99,21	0.900	97,10±107,99	100,40±123,77	0.125
FA ₁₄	81,45±91,30	89,26±103,99	0.123	89,95±89,09	91,61±100,12	0.712	91,45±99,08	87,731±91,46	0.913	91,03±98,75	90,13±101,76	0.082
FA ₃₀	91,99±81,22	98,43±105,43	0.055	79,77±102,41	89,34±92,03	0.971	97,13±100,65	89,14±110,51	0.635	86,71±99,83	83,48±94,71	0.811
FA ₉₀	89,95±89,09	91,61±100,12	0.480	88,19±102,34	94,26±103,55	0.794	87,35±91,91	91,02±92,53	0.717	89,71±91,09	91,35±94,79	0.331
GGT ₃	79,52±37,60	87,38±41,82	0.714	71,21±41,90	85,35±41,72	0.076	83,03±49,01	90,98±41,58	0.124	77,45±50,91	63,62±41,59	0.520
GGT ₇	16,16±26,89	21,60±31,67	0.235	16,91±29,88	11,73±34,27	0.152	22,72±21,10	19,03±30,07	0.129	21,95±33,51	22,99±32,56	0.065
GGT ₁₄	16,71±24,11	18,99±27,33	0.925	12,01±22,71	19,22±31,71	0.314	21,77±29,61	22,21±21,99	0.665	24,00±29,91	21,34±28,77	0.332
GGT ₃₀	16,14±26,35	18,91±24,36	0.977	17,99±25,42	21,42±32,47	0.665	20,11±27,13	16,63±28,43	0.129	17,33±31,31	21,12±12,05	0.703
GGT ₉₀	17,43±23,44	19,95±29,76	0.152	19,73±32,74	21,42±29,03	0.129	18,11±25,17	17,95±29,20	0.509	22,09±23,98	29,20±19,96	0.676
Bt ₃	1,66±4,31	1,99±3,95	0.314	1,85±4,06	1,61±3,95	0.273	1,81±3,98	1,83±3,17	0.073	1,81±2,91	1,92±3,15	0.073
Bt ₇	1,06±4,61	0,93±4,25	0.488	1,01±3,93	1,21±3,05	0.761	0,98±3,98	0,93±4,29	0.197	0,92±4,71	1,12±4,33	0.197
Bt ₁₄	0,99±2,82	0,83±3,27	0.951	0,98±3,19	0,87±3,05	0.032	0,85±3,31	0,91±3,22	0.312	0,98±3,71	0,71±2,19	0.314
Bt ₃₀	0,83±2,91	0,93±2,20	0.988	0,81±3,16	0,92±2,96	0.331	0,86±2,94	0,91±2,12	0.532	0,89±2,07	0,96±3,21	0.082
Bt ₉₀	0,91±2,98	0,80±2,07	0.245	0,75±3,83	0,82±3,05	0.511	0,89±2,35	0,78±3,15	0.122	0,75±2,33	0,85±3,14	0.823

6.5.3. Función hepática y rechazo agudo celular

Se analizó la función hepática diferenciando pacientes que habían presentado RAC durante el estudio.

Se obtienen valores de GOT, GPT y Bt estadísticamente significativos para aquellos pacientes que presentaron RAC en el grupo de receptores (Tabla 98). Los valores de GOT son hasta 6 veces superiores en el grupo con RAC, mientras que la GPT se eleva al doble en dicho grupo, al igual que la Bt.

Para el grupo de donantes aparecieron diferencias estadísticamente significativas para los valores de GOT, GPT, GGT y Bt, más elevados en aquellos pacientes con RAC (Tabla 99). En el grupo con RAC la GOT se encuentra elevada hasta en 6 veces los valores de los pacientes que no lo desarrollan. La GPT, GGT y Bt están duplicadas en el grupo con RAC.

Tabla 98.- Perfil hepático en el grupo receptor según aparición o no de rechazo agudo celular.

	Rechazo (n=10)	No rechazo (n=88)	<i>p</i>
GOT	89,66±91,45	14,45±39,15	0.045
GPT	52,22±45,90	23,01± 23,19	0.035
FA	123,10± 25,79	88,32±30,66	0.061
GGT	35,91±27,48	18,10±31,75	0.082
Bt	1,73±2,74	0,82±0,93	0.011

Tabla 92.- Perfil hepático en el grupo donante según aparición o no de rechazo agudo celular.

	Rechazo (n=9)	No rechazo (n=79)	<i>p</i>
GOT	87,55 ± 93,57	16,33 ± 38,00	0.022
GPT	53,20 ± 44,70	20,34 ± 24,18	0.041
FA	133,12 ± 23,90	89,16 ± 31,75	0.051
GGT	39,10 ± 37,69	17,23 ± 30,72	0.002
Bt	1,90 ± 2,81	0,79 ± 0,91	0.030

6.6. FUNCIÓN RENAL

Los datos recogidos se distribuyen en dos tablas diferenciando ambos grupos de estudio (receptores/donantes). Se analiza en cada caso los parámetros analíticos de función hepática agrupados para ambos genes (CYP3A5 y ABCB1) y los SNPs que pueden expresar.

Se empleó el test no-paramétrico de Mann-Whitney para comparar la medias de los diferentes parámetros entre los grupos de comparación. Se recogen las medias \pm DS de Cr (mg/dl) [0.6-1,10 mg/dl], Urea (mg/dl) [7-20 UI], ACr (ml/min) [88-128 ml/min], FG (ml/min/1.73 m²) [90-120 ml/min/1.73 m²].

6.6.1. Grupo de receptores

Se recogen los datos siguientes en la tabla 100.

6.6.1.1. CYP3A5

Cr: salvo en la medición del día 14, los niveles medios de Cr son más altos en el grupo no expresor (*1/*3). En el día 3 (primera visita) se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.

Urea: excepto en la tercera medición, día 14, los niveles medios de urea se encuentran por encima en el grupo de expresores. No se hallaron diferencias.

ACr: durante todo el periodo de seguimiento los niveles de ACr están reducidos en el grupo expresor, con diferencia estadísticas en las cinco visitas de control.

FG: a lo largo del seguimiento los niveles medios de FG están por debajo en el grupo expresor, alcanzándose diferencias estadísticas sólo en la primera visita (día 3).

6.6.1.2. ABCB1

a) 1236C>T

Cr: los niveles medios de Cr se mantienen más altos en el grupo wild-type (CC) durante los 90 días de seguimiento. Se alcanzaron diferencias estadísticas para los valores obtenidos en el día 14.

Urea: salvo en el día 30, los niveles medios de urea se presentan más elevados en el grupo wild-type. No hubo diferencias estadísticamente significativas.

ACr: los valores de ACr fueron más altos en el grupo wild-type (CC) durante todo el seguimiento, excepto la medición del día 14. Se alcanzaron diferencias para los valores obtenidos en los días 7 y 30.

FG: excepto en el día 14, los niveles de FG fueron inferiores en el grupo mutante. No hubo diferencias estadísticas.

b)3435C>T

Cr: los niveles medios de Cr se mantienen más altos en el grupo wild-type (CC) durante los 3 primeros días de seguimiento, para presentarse por debajo de los del grupo mutante, en las demás mediciones del seguimiento. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

Urea: salvo en el día 14 y 90, los niveles medios de urea se presentan más elevados en el grupo wild-type. No hubo diferencias estadísticamente significativas.

ACr: los valores de ACr fueron más altos en el grupo wild-type (CC) durante todo el seguimiento, excepto la medición del día 90. Se alcanzaron diferencias para los valores obtenidos en los días 7, 14 y 30.

FG: excepto en el día 3 y 90, los niveles de FG fueron inferiores en el grupo mutante. Se alcanzaron diferencias estadísticas en los días 14 y 30.

c)2677G>T/A

Cr: los niveles medios de Cr se mantienen más altos en el grupo mutante (GT, AT, AG, TT) durante todo el seguimiento salvo en la medición del día 90. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

Urea: durante todo el periodo de seguimiento los niveles medios de urea se presentan más elevados en el grupo mutante. Hubo diferencias estadísticamente significativas para los valores obtenidos en los días 30 y 90.

ACr: los valores de ACr fueron más altos en el grupo wild-type (CC) durante todo el seguimiento, excepto la medición del día 3. Se alcanzaron diferencias para los valores obtenidos en los días 7, 14, 30 y 90.

FG: excepto en el día 90, los niveles de FG fueron inferiores en el grupo mutante. Se alcanzaron diferencias estadísticas en los días 7 y 30.

6.9.2. Grupo de donantes

Se recogen los datos siguientes en la tabla 101.

6.9.2.1. CYP3A5

Cr: salvo en la medición del día 30, los niveles medios de Cr son más altos en el grupo no expresor (*1/*3). No se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.

Urea: excepto en la primera medición, día 3, los niveles medios de urea se encuentran por encima en el grupo de no expresores. No se hallaron diferencias.

ACr: durante todo el periodo de seguimiento los niveles de ACr están reducidos en el grupo expresor, con diferencia estadísticas en las cinco visitas de seguimiento.

FG: a lo largo del seguimiento los niveles medios de FG están por debajo en el grupo expresor, alcanzándose diferencias estadísticas sólo en la primera visita (día 3).

6.9.2.1. ABCB1

b) 1236C>T

Cr: los niveles medios de Cr se mantienen más altos en el grupo wild-type (CC) en los días 3 y 14 de seguimiento. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

Urea: en el día 3, 7 y 90 los niveles medios de urea se presentan más elevados en el grupo wild-type. No hubo diferencias estadísticamente significativas.

ACr: los valores de ACr fueron más altos en el grupo mutante (CC) durante todo el seguimiento. No se alcanzaron diferencias para los valores analizados.

FG: excepto en el día 7, los niveles de FG fueron inferiores en el grupo salvaje. No hubo diferencias estadísticas.

b)3435C>T

Cr: los niveles medios de Cr se mantienen más altos en el grupo wild-type (CC) durante todo el seguimiento salvo en la medición del día 7. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

Urea: salvo en el día 7, los niveles medios de urea se presentan más elevados en el grupo mutante (CT, TT). No hubo diferencias estadísticamente significativas.

ACr: los valores de ACr fueron más altos en el grupo wild-type (CC) durante todo el seguimiento, excepto la medición del día 7. No se alcanzaron diferencias para los valores estudiados.

FG: excepto en el día 7, los niveles de FG fueron inferiores en el grupo mutante. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

c)2677G>T/A

Cr: los niveles medios de Cr se mantienen más altos en el grupo mutante (GT, AT, AG, TT) durante todo el seguimiento. No se alcanzaron diferencias estadísticas.

Urea: durante todo el periodo de seguimiento los niveles medios de urea se presentan más elevados en el grupo salvaje (GG). Hubo diferencias estadísticamente significativas para los valores obtenidos en los días 7 y 14.

ACr: los valores de ACr fueron más bajos en el grupo wild-type (CC) durante todo el seguimiento, excepto la medición del día 3. No se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas.

FG: durante todo el periodo los niveles de FG fueron inferiores en el grupo wild-type. No se alcanzaron diferencias estadísticas en el análisis.

Tabla 100.- Perfil renal según genotipo del receptor.

	RECEPTORES											
	CYP3A5			ABCB1								
	*3/*3	*1/*3,*1/*1	p	1236 C>T			3435 C>T			2677 G>T/A		
				CC	CT, TT	p	CC	CT,TT	p	GG	GT,AT,AG,TT	p
Cr₃	0,81±0,20	1,01±0,25	0,039	0,92 0,24	0,83±0,22	0,087	0,82±0,23	0,79±0,15	0,533	0,81±0,19	0,87±0,25	0,264
Cr₇	1,08±0,39	1,14±0,35	0,569	1,35±0,45	0,94±0,25	0,088	0,96±0,39	0,98±0,21	0,558	1,08±0,43	1,15±0,36	0,256
Cr₁₄	1,01±0,31	0,91±0,18	0,539	1,05±0,33	0,99±0,21	0,011	0,99±0,43	1,01±0,33	0,816	1,04±0,20	1,19±0,46	0,403
Cr₃₀	1,08±0,34	1,16±0,45	0,487	1,32±0,46	1,00±0,17	0,593	0,75±0,10	0,99±0,07	0,832	1,04±0,24	1,16±0,35	0,409
Cr₉₀	1,10±0,37	1,12±0,24	0,575	1,28±0,41	1,02±0,30	0,587	0,97±0,46	0,99±0,17	0,324	1,01±0,19	0,99±0,24	0,104
Urea₃	35,01±19,71	41,64±10,52	0,887	39,39±14,76	37,00±23,56	0,370	39,03±28,89	31,02±9,22	0,125	30,94±9,13	38,78±15,06	0,084
Urea₇	46,82±28,08	54,86±18,83	0,569	69,34±32,22	38,05±4,87	0,377	51,66±42,14	39,85±15,11	0,876	44,09±21,51	54,90±34,91	0,188
Urea₁₄	48,98±21,67	46,75±19,87	0,223	58,47±26,16	36,79±11,79	0,173	32,69±9,62	37,17±11,70	0,916	43,66±21,85	47,74±24,62	0,147
Urea₃₀	43,01±22,34	47,67±15,66	0,071	44,02±25,13	45,32±21,77	0,169	41,14±37,27	39,40±14,40	0,196	36,56±14,06	46,44±28,30	0,009
Urea₉₀	42,47±26,8	51,40±20,50	0,306	50,36±30,83	43,41±25,62	0,166	40,42±31,78	41,12±17,79	0,152	39,76±30,19	42,01±32,12	0,007
ACr₃	126,89±36,45	78,93±10,55	0,036	119,99±39,91	108,89±30,83	0,171	125,26±39,50	120,95±36,28	0,103	105,66±28,13	116,25±36,43	0,117
ACr₇	99,80±36,97	72,80±18,43	0,041	106,10±39,10	75,75±23,29	0,040	109,99±40,41	98,15±32,84	0,018	84,77±29,51	77,51±23,84	0,007
ACr₁₄	96,99±32,89	75,43±29,84	0,051	83,44±33,12	99,45±29,12	0,041	128,86±37,81	93,28±22,65	0,019	82,20±21,99	76,26±26,65	0,049
ACr₃₀	97,57±33,33	70,48±16,64	0,032	95,43±25,00	78,46±27,41	0,207	113,35±47,70	98,10±32,40	0,027	84,86±24,37	77,33±29,92	0,050
ACr₉₀	99,69±37,74	72,10±16,02	0,045	96,54±31,89	83,67±35,98	0,123	89,73±41,16	91,27±39,90	0,813	90,12±39,12	82,18±27,21	0,037
FG₃	106,08±28,45	84,43±23,69	0,023	103,51±26,97	92,24±29,52	0,283	104,27±26,61	108,46±25,71	0,867	109,17±25,66	96,20±26,97	0,106
FG₇	81,14±23,23	74,08±28,47	0,325	89,56±21,74	61,92±17,12	0,912	91,52±26,74	85,83±18,42	0,636	83,06±24,30	73,05±20,00	0,017
FG₁₄	82,25±22,92	70,42±14,92	0,408	74,94±15,16	82,11±23,15	0,906	106,44±20,45	83,85±12,45	0,041	81,61±19,99	75,46±19,83	0,060
FG₃₀	80,60±23,57	71,30±21,35	0,089	84,39±18,15	67,94±20,51	0,910	96,62±27,07	82,86±19,06	0,018	84,89±19,03	71,59±20,34	0,048
FG₉₀	80,98±22,77	73,46±23,12	0,130	86,31±17,75	63,52±18,45	0,100	71,12±19,12	78,45±19,77	0,193	72,14±18,72	73,19±21,68	0,663

Tabla 101.- Perfil renal según genotipo del donante.

	DONANTES											
	CYP3A5			ABCB1								
	*3/*3	*1/*3,*1/*1	p	1236 C>T			3435 C>T			2677 G>T/A		
				CC	CT, TT	p	CC	CT,TT	p	GG	GT,AT,AG,TT	p
Cr₃	0,79±0,20	0,97±0,13	0,217	0,88±0,17	0,79±0,23	0,099	0,78±0,17	0,86±0,21	0,106	0,81±0,23	0,79±0,20	0,687
Cr₇	1,07±0,41	1,22±0,26	0,103	1,06±0,29	1,10±0,46	0,067	1,18±0,52	0,98±0,28	0,101	1,17±0,40	1,05±0,44	0,693
Cr₁₄	1,06±0,33	1,19±0,37	0,248	1,19±0,40	1,06±0,33	0,698	1,02±0,27	1,08±0,38	0,069	1,14±0,36	1,00±0,25	0,299
Cr₃₀	1,11±0,39	1,07±0,25	0,305	1,09±0,27	1,12±0,42	0,652	1,05±0,31	1,05±0,37	0,082	1,18±0,41	1,05±0,40	0,293
Cr₉₀	1,03±0,95	1,04±0,20	0,774	1,05±0,30	1,08±0,49	0,189	1,04±0,41	1,06±0,56	0,516	1,09±0,32	1,06±0,38	0,072
Urea₃	35,11±20,58	36,00±7,72	0,702	33,96±7,12	38,45±25,02	0,227	30,24±12,98	38,24±24,51	0,516	39,00±18,40	33,89±24,37	0,084
Urea₇	47,00±29,50	44,75±10,23	0,882	42,22±13,02	49,87±34,36	0,832	49,89±41,39	38,45±11,77	0,982	59,89±37,71	40,78±22,59	0,015
Urea₁₄	42,94±23,50	42,09±8,79	0,784	52,33±27,31	40,61±21,10	0,792	39,60±18,02	43,52±26,68	0,982	45,56±20,58	36,74±17,59	0,025
Urea₃₀	42,92±28,51	38,56±6,60	0,795	42,00±10,20	42,92±31,57	0,403	38,89±16,60	42,11±30,16	0,121	44,96±29,94	41,38±29,67	0,364
Urea₉₀	40,23±31,14	39,12±12,19	0,62	41,99±12,34	43,03±10,13	0,259	41,32±12,99	43,85±21,07	0,109	45,60±28,04	42,67±31,08	0,343
ACr₃	130,60±36,33	88,96±8,22	0,017	101,02±27,58	138,86±35,02	0,307	130,37±36,36	114,66±38,23	0,134	133,77±33,55	131,87±37,32	0,274
ACr₇	102,27±37,62	73,45±17,56	0,032	86,98±29,28	106,70±39,08	0,184	94,61±38,84	103,34±43,04	0,167	95,05±25,94	106,08±43,41	0,274
ACr₁₄	99,91±34,08	76,00±17,33	0,500	74,92±19,53	104,93±33,02	0,078	103,75±41,26	90,97±31,12	0,545	94,72±25,31	106,47±35,73	0,09
ACr₃₀	102,26±39,15	81,28±14,92	0,042	81,91±13,91	105,09±40,09	0,117	107,28±47,42	97,37±34,24	0,546	94,87±31,57	111,58±47,84	0,096
ACr₉₀	100,24±41,13	83,14±16,12	0,041	85,31±14,12	100,14±41,45	0,922	105,33±41,20	99,14±35,98	0,693	99,45±34,60	107,00±42,11	0,682
FG₃	108,95±28,85	85,42±16,60	0,008	98,65±25,59	107,26±30,06	0,877	112,38±26,81	101,45±26,07	0,689	103,89±33,46	109,43±26,38	0,682
FG₇	82,49±24,28	75,00±19,13	0,636	82,00±22,74	81,89±25,62	0,923	79,28±24,50	88,03±22,17	0,104	74,30±24,97	84,97±22,51	0,835
FG₁₄	83,02±23,05	75,90±18,20	0,641	72,35±18,01	83,78±22,19	0,812	85,76±27,37	81,54±19,17	0,103	78,36±20,24	87,58±23,90	0,832
FG₃₀	81,94±24,22	74,89±17,06	0,178	74,08±16,82	81,63±25,38	0,036	90,94±29,41	80,21±17,85	0,407	74,09±20,19	89,87±27,56	0,244
FG₉₀	84,44±25,72	75,89±19,12	0,193	76,35±16,99	79,94±22,13	0,022	91,12±25,34	85,23±18,48	0,404	75,34±21,11	84,72±29,55	0,210

6.7. ACONTECIMIENTOS ADVERSOS RELACIONADOS CON TACROLIMUS

Los resultados de este apartado (cualitativos) se agrupan en tablas de contingencia. Se consideraron aquellos efectos indeseables descritos en la literatura como habituales por uso de tacrolimus. Los efectos adversos raros o excepcionales no se tuvieron en cuenta en este análisis, aunque en el caso de aparecer si fueron recogidos en el CRD y comunicados de forma pertinente.

6.7.1. Efectos adversos globales

Se analizan tanto los efectos secundarios derivados de la sobrexposición del tacrolimus, así como los desarrollados por el uso crónico del mismo. Se excluyeron las enfermedades infecciosas oportunistas, por no estar contempladas en las variables objetivo del estudio.

Se recogen los efectos secundarios globales “brutos”, teniendo en cuenta que algunos pacientes ya presentaban algún desorden antes de recibir la inmunosupresión.

En total, 40 pacientes (40,9%) desarrollaron uno o más alteraciones relacionadas con la inmunosupresión con tacrolimus (Tabla 102).

6.7.1.1. Alteraciones neurológicas

Se considero como “alteración neurológica” el temblor fundamentalmente, cefaleas y desordenes mayores tales como desorientación, cuadros confusionales y mareos graves. La incidencia global fue del 32,7% (32).

6.7.1.2. Diabetes mellitus

La incidencia de DM fue del 24,5% (24), con una prevalencia en nuestro análisis del 39,8% (39), dado que 15 pacientes presentaban dicha patología a la hora de la inclusión en el estudio.

6.7.1.3. Hipercolesterolemia

La incidencia de hipercolesterolemia fue del 8,2% (8), con una prevalencia en nuestro estudio del 18,4% (18), dado que 10 pacientes presentaban dicha patología a la hora de la inclusión en el estudio.

6.7.1.4. Hipertensión arterial

La incidencia de HTA fue del 12,2% (12), con una prevalencia en nuestro estudio del 28,6% (28), dado que 16 pacientes presentaban dicha patología a la hora de la inclusión en el estudio.

6.7.1.5. Insuficiencia renal

La incidencia de insuficiencia renal fue del 14,3% (14), con una prevalencia en nuestro estudio del 20,4% (20), dado que 6 pacientes presentaban dicha patología a la hora de la inclusión en el estudio.

Tabla 102.- Efectos secundarios por empleo de tacrolimus

	n (bruto)	n (preTH)	n (real)
Alteración neurológica	32	0	32
Diabetes mellitus	39	15	24
Hipercolesterolemia	18	10	8
Hipertensión arterial	28	16	12
Insuficiencia renal	20	6	14

6.7.2. Influencia de los polimorfismos genéticos CYP3A5 y ABCB1 en la aparición de efectos adversos por tacrolimus

Para el análisis según genotipos se tomó la incidencia (n real, Tabla 102) de efectos adversos, excluyendo aquellas patologías presentes antes de la introducción de Tac. No se incluyeron los genotipos según donante para el ABCB1, dado que esta enzima no se expresa a nivel hepático (Tabla 103)

6.7.2.1. CYP3A5

a) Grupo receptor

- a.** Alteración neurológica: un 33,3% (4) de los expresores desarrollaron algún tipo de alteración neurológica, mientras que en grupo no expresor la incidencia fue también del 33,3% (28) ($p=0,932$)
- b.** Diabetes mellitus: un 33% (4) de los expresores desarrollaron DM de novo. Los no expresores desarrollaron DM en un 23,8% (20) ($p=0,801$)
- c.** Hipercolesterolemia: un 21,4% (3) de los expresores desarrollaron hipercolesterolemia, mientras que el 5,9% (5) de los no expresores la presentaron ($p=0,088$).
- d.** HTA: los expresores del CYP3A5 desarrollaron HTA en el 14,3% (2), mientras que los no expresores la desarrollaron en el 11,9% (10) ($p=0,720$)
- e.** Insuficiencia renal: un 33,3% (4) de los expresores evolucionaron hasta la IRC, mientras que el 11,9% (10) de los no expresores así lo hicieron ($p=0,129$)

b) Grupo donante

- a.** Alteración neurológica: un 21,4% (3) de los expresores desarrollaron algún tipo de alteración neurológica, mientras que en grupo no expresor la incidencia fue del 39,2% (29) ($p=0,187$)
- b.** Diabetes mellitus: un 35,7% (5) de los expresores desarrollaron DM de novo. Los no expresores desarrollaron DM en un 25,7% (20) ($p=0,433$)
- c.** Hipercolesterolemia: un 14,3% (2) de los expresores desarrollaron hipercolesterolemia, mientras que el 8,1% (6) de los no expresores la presentaron ($p=0,449$)
- d.** HTA: los expresores del CYP3A5 desarrollaron HTA en el 14,3% (2), mientras que los no expresores la desarrollaron en el 13,5% (10) ($p=0,588$)
- e.** Insuficiencia renal: un 21,4% (3) de los expresores evolucionaron hasta la IRC, mientras que el 14,9% (11) de los no expresores así lo hicieron ($p=0,129$)

6.7.2.2. ABCB1

a) Alelo 1236C>T

- a.** Alteración neurológica: un 36,8% (14) de los wild-type (CC) desarrollaron algún tipo de alteración neurológica, mientras que en grupo mutante (CT, TT) la incidencia fue del 30% (18) ($p=0,834$)
- b.** Diabetes mellitus: un 23,6% (9) de los wild-type desarrollaron DM de novo. Los mutantes desarrollaron DM en un 31,7% (16) ($p=0,772$)
- c.** Hipercolesterolemia: un 8,8% (3) de los wild-type desarrollaron hipercolesterolemia, mientras que el 8,3% (5) de los mutantes la presentaron ($p=0,910$)
- d.** HTA: los salvajes del gen ABCB1 desarrollaron HTA en el 14,7% (5), mientras que los mutantes la desarrollaron en el 11,6% (7) ($p=0,319$)
- e.** Insuficiencia renal: un 29,4% (7) de los wild-type evolucionaron hasta la IRC, mientras que el 11,6% (11) de los no expresores así lo hicieron ($p=0,089$)

b) Alelo 3435C>T

- a.** Alteración neurológica: un 43,3,8% (13) de los wild-type (CC) desarrollaron algún tipo de alteración neurológica, mientras que en grupo mutante (CT, TT) la incidencia fue del 25% (17) ($p=0,933$)
- b.** Diabetes mellitus: un 33,3% (10) de los wild-type desarrollaron DM de novo. Los mutantes desarrollaron DM en un 20,6% (14) ($p=0,198$)
- c.** Hipercolesterolemia: un 13,3% (4) de los wild-type desarrollaron hipercolesterolemia, mientras que el 5,9% (4) de los mutantes la presentaron ($p=0,128$).
- d.** HTA: los salvajes del gen ABCB1 desarrollaron HTA en el 13,3% (4), mientras que los mutantes la desarrollaron en el 11,7% (8) ($p=0,865$)

- e. Insuficiencia renal: un 30% (9) de los wild-type evolucionaron hasta la IRC, mientras que el 7,4% (5) de los no expresores así lo hicieron (p=0,039)
- c) Alelo 2677G>T/A
- Alteración neurológica: un 14,3% (5) de los wild-type (GG) desarrollaron algún tipo de alteración neurológica, mientras que en grupo mutante (GT, AT, AG, TT) la incidencia fue del 42,9% (27) (p=0,004)
 - Diabetes mellitus: un 31,4% (11) de los wild-type desarrollaron DM de novo. Los mutantes desarrollaron DM en un 20,6% (13) (p=0,828)
 - Hipercolesterolemia: un 11,4 % (4) de los wild-type desarrollaron hipercolesterolemia, mientras que el 6,4% (4) de los mutantes la presentaron (p=0,349)
 - HTA: los salvajes del gen ABCB1 desarrollaron HTA en el 14,3% (5), mientras que los mutantes la desarrollaron en el 11,1% (7) (p=0,250)
 - Insuficiencia renal: un 22,8% (8) de los wild-type evolucionaron hasta la IRC, mientras que el 9,5% (6) de los no expresores así lo hicieron (p=0,045)

Tabla 103.- Efectos secundarios agrupados por genotipo.

	Receptor CYP3A5		Donante CYP3A5		Receptor ABCB1					
	*3/*3	*1/*3, *1/*1	*3/*3	*1/*3, *1/*1	1236C>T		3435C>T		2677G>T/A	
					CC	CT, TT	CC	CT, TT	GG	GT,AG AT,TT
Alteración neurológica (n=32)	28	4	29	3	14	18	13	17	5	27
Diabetes mellitus (n=24)	20	4	19	5	9	16	10	14	11	13
Hipercolesterolemia (n=8)	5	3	6	2	3	5	4	4	4	4
Hipertensión arterial (n=12)	10	2	10	2	5	7	4	8	5	7
Insuficiencia renal (n=14)	10	4	11	3	7	7	9	5	8	6

7. Discusión

7.1. JUSTIFICACIÓN DEL ANÁLISIS FARMACOGENÉTICO EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO

El trasplante hepático es, actualmente, el único tratamiento posible para la enfermedad hepática terminal. Como terapia limitada que es, debido a la escasez de donantes, se deben optimizar los recursos para minimizar las pérdidas de órganos. De todos los procedimientos técnicos, farmacológicos y tecnológicos, el conocimiento de la farmacogenética en el paciente trasplantado, se presenta como una herramienta pionera para las terapias dirigidas e individualizadas en pro de un mejor aprovechamiento de los injertos de los que se disponen.

Por otro lado, el paciente trasplantado, se diferencia del resto de los pacientes crónicos, en que requiere de por vida una medicación inmunosupresora no exenta de efectos adversos graves. Además, dicha medicación inmunosupresora, a diferencia de otros fármacos, tiene una estrecha ventana terapéutica, por lo que es necesaria una monitorización de sus niveles en sangre. Todo ello condiciona que el paciente trasplantado ha de ser controlado de por vida.

Hoy en día la pérdida de injertos a corto plazo de los pacientes trasplantados hepáticos ha mejorado, suponiendo menos del 7% a los 3 meses en los últimos años (6). Nos encontramos por tanto con pacientes que cada vez sobreviven más tiempo, expuestos de forma crónica a unos fármacos inmunosupresores, que influyen en los resultados de supervivencia del injerto y del receptor así como en su calidad de vida. La farmacogenética pretende identificar las variantes genéticas que se expresan de una forma estable en un individuo, y que pueden utilizarse como variables predictivas de las propiedades farmacocinéticas o farmacodinámicas de un fármaco concreto. Existen muy pocos estudios que analicen el impacto de los polimorfismos genéticos en el trasplante hepático, quizás por la heterogeneidad de los protocolos de inmunosupresión y diferencias en la categorización de causas de enfermedad hepática, lo que ha dejado en muchas ocasiones en un segundo plano la implicación de dichos SNPs.

Los SNPs que han presentado más relación con el metabolismo de los ICN, y particularmente con el Tac, han sido el CYP3A5 (97,104-107) y, en cuanto al transporte intestinal, el gen ABCB1 (113, 118, 119). Otras enzimas analizadas, como el CYP3A4 (97), no han podido demostrar una implicación tan evidente como las proteínas objeto de nuestro análisis.

La mayoría de los artículos publicados que analizan los polimorfismos en el TH son fruto del estudio en poblaciones asiáticas (113, 133, 160). En poblaciones caucásicas los estudios se centran en su mayoría en trasplante renal (101).

Es por ello, que el diseño de este trabajo pretende analizar los los polimorfismos genéticos del CYP3A5 y del ABCB1 en los pacientes trasplantados en nuestro país, en una población caucásica, y ver su implicación en el metabolismo del tacrolimus.

La ausencia de estudios en población caucásica, con una población suficiente para obtener resultados estadísticamente relevantes, considerando las particularidades étnicas de esta raza, en un entorno con unas indicaciones de TH en parte diferentes a las enumeradas en la mayoría de estudios sobre polimorfismos, justificaría la realización de este estudio. Es muy importante además, la implicación que tiene conocer la expresión de polimorfismos que están involucrados en el metabolismo del Tac para hacer un tratamiento dirigido, personalizado y a la carta con el fin de evitar efectos adversos y, en definitiva, optimizar los recursos.

7.2. ¿CUÁL ES LA PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL CYP3A5 EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA?

En términos generales, la bibliografía (94,98) estima que la isoenzima CYP3A5 está sólo presente en un 10-30% de los individuos, consecuencia de la mutación del alelo CYP3A5*3 que provoca una pérdida de la transcripción del gen CYP3A5, disminuyendo su actividad metabólica. Esta mutación es la que se expresa generalmente en la población caucásica (82).

Las poblaciones que presentan mayor expresión del gen no mutado (CYP3A5*1) son los afroamericanos, habitantes del sureste asiático, de islas del Pacífico e indios americanos del suroeste, lo que les confiere un metabolismo más rápido de los sustratos del CYP3A (83).

La mayoría de los estudios se han desarrollado en trasplante renal, y algunos en trasplante cardiaco y pulmonar (101, 113, 133, 160). El trasplante hepático va a suponer en el paciente un cambio de genotipo y fenotipo a nivel del CYP3A5 (salvo que donante y receptor sean isogenotípicos).

En nuestro análisis de resultados con una muestra de raza caucásica (tanto donantes como pacientes receptores) se observa una distribución muy similar con **una prevalencia del genotipo CYP3A5*3 de un 84% tanto en los receptores como en los donantes, lo que significa que la isoenzima metabólicamente activa (*1) sólo está presente en un 16% en la población caucásica** (Tabla 106).

MacPhee y cols. (101), analiza la prevalencia del genotipo para el CYP3A5 en los grupos étnicos más numerosos. En es estudio se recogen 186 pacientes de diversas etnias, con una distribución de 118 pacientes de raza caucásica con un 12,7% de prevalencia del SNP salvaje (CYP3A5*1 o *1/*3) Tabla 104. Estos resultados son muy concordantes con los obtenidos en nuestro análisis; si bien la población de estudio es de trasplantados renales.

Tabla 104.- Distribución racial del CYP3A5 según McPhee y cols. (101).

Genotipo	Condición alélica	Frecuencia GLOBAL n=186	Afroamericanos	Europeos	Africanos	Asiáticos
CYP 3A5 6986G>A (Intrón 3)	G/G (CYP3A5*3/3)	158 (85%)	50%	87,3%	27%	75%
	A/G (CYP3A5*1/3)	26 (13.9%)	-	12.7%	-	-
	A/A (CYP3A5*1/1)	2 (1.1%)	7%		-	-

En el TH la mayoría de los análisis se llevan a cabo sobre poblaciones asiáticas. Como se aprecia en la Tabla 98, en las poblaciones chinas Wei-Lin y Songfeng (113) registran una prevalencia del CYP3A5 mutado en un 37-38%; ambos estudios desarrollan sus resultados sobre una n de 100 individuos, ajustándose a la población necesaria para obtener datos consistentes. Goto y Fukudo (133, 160) en población japonesa, reportan una prevalencia de un 58-59% para el CYP3A5 mutado, no funcional. En la raza caucásica, Hesselink, Bach y Mourad (78, 105, 113,) en

pacientes trasplantados renales, muestran prevalencias en torno al 80% del CYP3A5 mutado. Se aprecia así una variabilidad étnica importante, con unos valores aproximados a los de nuestra serie cuando se trata de poblaciones caucásicas (Tabla 105)

Tabla 105- Distribución racial del CYP3A5, otros autores.

Referencia	Trasplante	Raza	n	CYP3A5 (%)		
				*1/*1	*1/*3	*3/*3
<i>Wei-lin et al Liver Transplant 2006;12 (5):775</i>	Hígado	China	100	13	50	37
<i>Songfeng Y et al. Transplantation 2006;81:46</i>	Hígado	China	100	11,3	50,9	37,8
<i>Goto M et al Pharmacogenetics 2004;14(7):471</i>	Hígado	Japonesa	70	3	38	59
<i>Fukudo M et al. Clin Pharmacol Ther 2006;80:331</i>	Hígado (pediátrico)	Japonesa	130	3	38	58
<i>Hesselink DA et al. Clin Pharmacol Ther 2003;74:245</i>	Riñón	Caucásica	100	1,6	17,5	81
<i>Bach et al.Pharmacogenetics Submitted</i>	Riñón	Caucásica	125	2	18	80
<i>Mourad M et al. Clin Chem Lab Med 2006;44(10):1192</i>	Riñón	Caucásica	90	1	19	80

Tabla 106. Prevalencia del genotipo CYP3A5 en la población española

Genotipo	Condición alélica	Frecuencia GLOBAL n=186
CYP 3A5 6986G>A (Intrón 3)	G/G (CYP3A5*3/3)	158 (85%)
	A/G (CYP3A5*1/3)	26 (13.9%)
	A/A (CYP3A5*1/1)	2 (1.1%)

7.3. ¿CÓMO INFLUYEN LOS POLIMORFISMOS DEL CYP3A5 EN EL METABOLISMO DEL TACROLIMUS?

El mecanismo de acción del Tac es la inhibición de la producción de linfoquinas, incluida la IL- 2 cuyo papel es fundamental en la diferenciación y proliferación de los linfocitos T citotóxicos. Su lugar de unión es la proteína denominada FKBP, estructural y funcionalmente parecida a la ciclofilina, diana de la CsA. La única diferencia entre ambos fármacos es la potencia inmunosupresora, mayor en el caso de tacrolimus, entre 10 y 100 veces superior in vitro (101). Este hecho, junto con una disminución en algunos efectos que son habituales en el uso de CsA como la HTA o la hipertrofia gingival, han convertido al Tac en el inmunosupresor de elección en la actualidad. El aclaramiento se realiza principalmente por oxidación hepática a través del citocromo P450, isoenzima 3A4 y 3A5. Los metabolitos son eliminados principalmente por la bilis, algunos de ellos pueden tener cierta actividad inmunosupresora.

El CYP3A se encuentra fundamentalmente en el hígado e intestino delgado (dos tercios proximales), aunque también se expresa en riñón, placenta, pulmón y cerebro. Es en el hígado donde se desarrolla su mayor actividad metabólica, si bien su presencia en el intestino es relevante para fármacos que poseen un elevado efecto de primer paso, y que se administran por vía oral como son la ciclosporina, el tacrolimus o el midazolam.

La concentración de Tac es inferior en los expresores de CYP3A5, tanto en trasplante renal (97,104-107), como cardíaco (108) y pulmonar (109). A pesar del uso de la monitorización terapéutica de Tac, los expresores de CYP3A5 tienen unos niveles valle de Tac significativamente inferiores durante las dos primeras semanas postrasplante (renal), alcanzando los niveles objetivo más tarde (111).

En trasplante hepático Wang (168) publica un estudio en el año 2015 sobre 60 pacientes de nacionalidad china sometidos a TH; el análisis estadístico y el diseño del estudio es muy similar al nuestro, si bien, en este caso, se estudian los 60 receptores de un injerto hepático, así como los 60 genotipos de los donantes, realizando visitas de seguimiento a las semanas 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 12; los resultados arrojan diferencias estadísticas en ambos grupos para la ratio C/D durante todo el seguimiento. A diferencia de nuestro estudio, estas diferencias son constantes y sin diferencias entre genotipo de los receptores y de los donantes a lo largo del tiempo, no observando la evolución que se aprecia en nuestro trabajo, en cuanto a predominio del genotipo del receptor al inicio del TH, y el posterior protagonismo del genotipo del donante.

Los receptores de un injerto hepático de nuestro análisis presentan un comportamiento similar al de los estudios mencionados (97, 104-109, 111, 168). Analizando la dosis ajustada al peso, junto con los niveles sanguíneos de Tac, se estableció una ratio C/D que nos permitió equiparar a los individuos según los polimorfismos.

En el grupo de los receptores se aprecia a lo largo de todo el seguimiento una ratio C/D más elevada en el grupo de no expresores (CYP3A5*3/*3) frente a los expresores. Esto se traduce en unos niveles sanguíneos de tacrolimus más bajos, a pesar de una dosis de tacrolimus por peso mayor para el grupo expresor. En el análisis multivariante se hace patente esta relación, con un coeficiente de 3,04 en relación a la ratio C/D.

Este comportamiento en el grupo que expresa el citocromo, **predispone a una mayor exposición al fármaco y a sus efectos colaterales, con una**

disminución de su efecto “inmunosupresor” tras su metabolización. Hay que sumar a esta exposición elevada al fármaco, los cambios y ajustes de dosis al alza, cuando el facultativo incrementa la dosis, dados los niveles valle bajos durante el seguimiento, fruto de un metabolismo más activo de tacrolimus por el citocromo del paciente (o del hígado donante).

Si bien las diferencias clínicas se mantienen durante todo el periodo de seguimiento, sólo aparecen diferencias estadísticamente significativas en la primera semana con una ratio de 123 (ng/ml)/(mg/kg/día) en el grupo no expresores (*3/*3) frente a 58 (ng/ml)/(mg/kg/día) en los expresores (*1/*3). De la misma forma, se aprecian unos requerimientos de al menos 0,037 mg/kg/día (0,082 vs. 0,109) de dosis de tacrolimus en esta primera semana en el grupo *1/*3; resultando en unos niveles sanguíneos apropiados en el caso del grupo *3/*3 (10,1 ng/ml), los cuales no pudieron conseguirse en el grupo *1/*3, cuyo media fue de 6,3 ng/ml, muy por debajo de los niveles recomendados para los primeros 45 días postrasplante.

La relación entre dosis y concentración (Rho de Spearman) es fuerte en nuestro estudio, alcanzando un coeficiente de correlación de 0,933 para el grupo no expresor y de 0,843 para el grupo expresor, lo que pone de manifiesto que el efecto de la dosis es más directo en cuanto a niveles sanguíneos en el caso del citocromo no funcionante

Considerando que en **la primera semana el injerto hepático es funcionalmente deficiente, cobra una mayor importancia el metabolismo intestinal por el CYP3A5.** Como veremos, el genotipo del receptor parece cobrar importancia en el metabolismo del tacrolimus en los primeros días postrasplante, dado que el organismo se encuentra en un periodo de adaptación al nuevo órgano. Sin embargo, y dado que el mayor volumen de citocromo CYP3A5 se encuentra en el hígado, vemos como con el paso de los días, la condición alélica del receptor va perdiendo importancia, igualándose las ratios, prácticamente, a partir de las dos semanas de seguimiento. Este hallazgo, no se había constatado en el trabajo de Wang (168) cuya metodología es muy similar a nuestro estudio, aunque en población asiática.

La repercusión clínica más destacable surge de que a pesar de los controles exhaustivos de los niveles sanguíneos del fármaco, se hace difícil mantener los niveles ajustados sobre todo en las dos primeras semanas, apareciendo igualmente diferencias estadísticas significativas en cuanto a dosis administrada de tacrolimus (mayor en los expresores), así como en los niveles sanguíneos (menores en los expresores).

Analizando los resultados en el grupo de donantes vemos como el comportamiento es similar a lo publicado en la bibliografía en cuanto a necesidad de incremento de dosis y niveles bajos en sangre en el caso de los injertos hepáticos expresores (104-111). Sin embargo, no se había registrado en estos estudios el hallazgo que surge en nuestro análisis a lo largo de los 3 meses de seguimiento, apreciándose **una ratio C/D en las primeras semanas que depende del genotipo del receptor hepático (metabolismo intestinal), mientras que con el paso de las semanas, este va perdiendo predominancia a favor de una ratio C/D más definida por el injerto hepático donante.** Es por ello que finalmente se considera al genotipo de éste el responsable final del metabolismo del Tac.

Al igual que ocurre en el grupo de los receptores de un injerto hepático se aprecia a lo largo de todo el seguimiento una ratio C/D más elevada en el grupo de no expresores, traduciéndose en que el grupo de pacientes expresores obtiene unos niveles sanguíneos de Tac más bajos a pesar de la dosis de Tac ajustadas al peso.

Estas diferencias clínicas se mantienen prácticamente durante todo el periodo de seguimiento, aunque sólo aparecen diferencias estadísticamente significativas en la visita de seguimiento del día 90, con una ratio de 129 (ng/ml)/(mg/kg/día) en el grupo no expresor (*3/*3) frente a 67 (ng/ml)/(mg/kg/día) en los expresores (*1/*3, *1/*1).

Como ocurría en el grupo de los receptores, la asociación entre la dosis de Tac y los niveles sanguíneos es fuerte, con un coeficiente de correlación de 0,910 para los no expresores frente a un coeficiente de 0,710, poniendo de manifiesto un relación más potente en el caso de se portador de un citocromo metabólicamente inactivo

Podemos entender que **el injerto comienza a tener un papel más activo como metabolizador del tacrolimus a partir de los 3 meses postrasplante**. Es a partir de este momento cuando la influencia de citocromo del receptor puede tener menor relevancia según el análisis estadístico de nuestro estudio, con el consiguiente impacto clínico. En ambos grupos, se aprecia como las determinaciones en las visitas 3 y 4, arrojan valores clínicamente similares, incluso contradictorios (visita 4 del grupo donantes) donde se invierten las ratios de C/D. En esos días postrasplante (1 mes aproximadamente) se puede proponer que el citocromo del receptor va perdiendo predominancia a favor del citocromo del injerto hepático procedente del donante, poco a poco, se va adaptando a la nueva situación, sugiriendo que entre los días 20-50 del postrasplante hepático se establece un solapamiento entre los genotipos del receptor y del injerto hepático lo que obligaría a establecer estrategias terapéuticas individualizadas, si bien finalmente se acabará imponiendo el genotipo del hígado procedente del donante.

De la misma forma cabe destacar que en ambos grupos los pacientes portadores del alelo no mutado *1 no alcanzan los niveles objetivo en sangre de tacrolimus en las primeras dos semana (objetivo 8-13 ng/ml los primeros 45 días), dato que refrenda una actividad metabólica excesiva del citocromo en estos pacientes.

Los hallazgos anteriores corroboran que **los pacientes españoles de raza caucásica beneficiarios de un trasplante hepático con al menos un alelo CYP3A5*1 tienen requerimientos de dosis de tacrolimus más altos que los que no lo expresan**. Aunque las diferencias estadísticamente significativas entre expresores (ratio más baja de tacrolimus C/D; $p=0.002$; $n=14$) y no expresores ($n=84$) fueron solamente alcanzadas en el día 7, la consistencia general de los resultados entre expresores y no expresores sugiere fuertemente que los primeros requieren dosis superiores de tacrolimus para alcanzar las concentraciones mínimas terapéuticas.

Esta interpretación es también válida para expresores ($n=14$) y no expresores ($n=74$) en el grupo definido como genotipo de los donantes, es decir, la del hígado trasplantado, aunque la significación estadística de nuevo sólo se logró en una ocasión: por aumento de la dosis ($p=0,031$) y menor proporción de C/D ($p=0,019$) en el día 90. El hecho de que esto ocurra mucho más tarde que en el grupo de receptores coincide con la idea de que los niveles de tacrolimus están fuertemente influidos por el polimorfismo CYP3A5 intestinal a principios del periodo postrasplante, pero que el CYP3A5 hepático se vuelve más importante con el tiempo.

Nuestros resultados coinciden con los reportados en pacientes trasplantados hepáticos con injerto de donante vivo publicado por Uesugi et al (153), en los que la producción de mRNA del CYP3A5 intestinal por los pacientes con el alelo *1, aparentemente tiene un efecto más dominante en la farmacocinética de tacrolimus poco después del trasplante, mientras que con el tiempo, la relación de C/D de tacrolimus disminuye significativamente en el grupo de los donantes expresores, atribuyendo el retraso a la influencia del genotipo del donante sobre la regeneración del injerto. Por otro lado, Yu et al (112) encontró un efecto más evidente del genotipo

del donante a las dos semanas después del trasplante en receptores de trasplante hepáticos de nacionalidad china (n=53). En cualquier caso, la importancia relativa de los genotipos de los receptores y de los donantes durante el período postrasplante temprano es de particular importancia con respecto a la identificación pretrasplante de los pacientes que requieren dosis más alta tacrolimus, ya que el riesgo de rechazo del injerto es más alto en este periodo.

Ninguno de estos estudios evaluó el impacto de los polimorfismos CYP3A5 sobre la incidencia rechazo agudo.

7.4. ¿INFLUYEN LOS POLIMORFISMOS DEL CYP3A5 EN LA APARICIÓN DE RECHAZO AGUDO CELULAR EN EL PACIENTE TRASPLANTADO HEPÁTICO?

En estudios sobre población caucásica en trasplante renal, Hesselink et al (101), demostraron una asociación relevante entre la expresión del CYP3A5 y una necesidad incrementada de dosis de Tac, con unos niveles sanguíneos disminuidos.

Resultados similares surgieron a partir de estudios previos en población asiática (132,133) donde se aprecia el mismo patrón entre los receptores de riñón japoneses y caucásicos (102, 154), aunque en ninguno de estos estudios se asoció la incidencia de RAC con el genotipo CYP3A5. Por otra parte, en un estudio prospectivo de pacientes con injerto renal que comparó los efectos de la dosis de tacrolimus estándar frente a una dosis ajustada al genotipo del paciente; donde el grupo de dosis genotipo-adaptado logró niveles objetivo más precozmente y con menos ajustes de dosis que el grupo dosis-estándar, aunque los dos grupos no difirieron significativamente en la incidencia de RAC (155). Una excepción a este patrón general es proporcionado por estudio de Min et al. en pacientes coreanos con injerto renal, donde encontró no sólo una mayor exigencia de tacrolimus en los pacientes con CYP3A5*1, sino también una mayor asociación de RAC (155).

Recientemente el grupo de Hesselink (169) publica un ensayo clínico sobre pacientes trasplantados renales en el cual se aprecian las diferencias desarrolladas previamente entre expresores y no expresores, sin embargo la tasa de RAC es similar en ambos grupos.

Centrándose en los receptores de trasplante hepático, y en vista de las discrepancias entre los distintos informes de la influencia del genotipo CYP3A5 sobre la exposición tacrolimus y la incidencia de RAC, debe recordarse que la proporción de pacientes con “discrepancia” entre genotipos receptor-donante con necesidad de compensación sobre el metabolismo de tacrolimus es baja en nuestro medio, y que junto a la eficiencia en la monitorización terapéutica de rutina de tacrolimus, podrían derogar en parte el impacto clínico del CYP3A5*1 en la exposición al fármaco y el rechazo agudo del injerto.

Hasta el año 2014, no existían estudios de impacto sobre la aparición de RAC y su relación con los SNPs del citocromo P450. En dicho año, Uesugi (170) analizó la relación entre el CYP3A5 y el desarrollo de RAC sobre pacientes sometidos a TH de donante vivo, llevando a cabo biopsias intestinales y hepáticas para el análisis del polimorfismo; el genotipo CYP3A5 en el intestino nativo no tuvo ningún efecto significativo en la aparición de RAC entre los días 14 y 23 postoperatorios en los casos isogrupo ABO o compatibles (11,5% para el alelo CYP3A5*1 frente a 7,4% para CYP3A5 *3/*3, $p = 0,264$), aunque la relación de C/D de tacrolimus fue significativamente mayor en los pacientes con el CYP3A5 intestinal *3/*3 que en aquellos con el alelo CYP3A5*1 durante 5 semanas post-TH. Sin embargo, los pacientes que recibieron un injerto hepático con el alelo CYP3A5*1 mostraron una mayor tasa de RAC que los que recibieron un injerto hepático con el genotipo CYP3A5*3/*3 (14,5 vs. 5,7%, $p = 0,0134$). El riesgo relativo de RAC asociado al alelo CYP3A5*1 fue de 2,629 ($p = 0,018$, modelo de regresión de Cox). En consecuencia, el injerto hepático con genotipo CYP3A5*1 podría aumentar el riesgo de RAC después del TH de donante vivo.

En nuestro estudio **la incidencia RAC en los primeros 3 meses fue mayor (14,6%) entre los expresores (portadores del alelo 1) que entre los no expresores (9,4%)** correspondientes a ambos grupos, aunque la diferencia no fue

estadísticamente significativa en el análisis univariante. A pesar de que no se encontró significación estadísticas, estos hallazgos son clínicamente relevantes, sin embargo debemos tener en cuenta lo limitado de la muestra para este análisis, ya que solamente 10 pacientes desarrollaron RAC.

EN el análisis multivariante parece haber una relación directa con la expresión del CYP3A5 activo, si bien, el coeficiente de correlación es de 1,81. Es posible que gran parte de estos resultados estén influenciados por el control exhaustivo de los niveles sanguíneos de Tac y la monitorización intensiva de la aparición de indicios RAC en las pruebas rutinarias.

Otras variables que pudieran tener impacto en la tasa de RAC, están relacionadas con los niveles de albúmina (157), por su relación en el transporte del fármaco, así en población pediátrica y en pacientes con edades más avanzadas se han descrito estos efectos (158).

Por último, la posibilidad de interacciones entre 6986G>A y otros SNPs no puede ser descartada. En particular, se ha comprobado que la metabolización del midazolam por el CYP3A se reduce en presencia de IL10 (159), por ello cualquier SNPs que influya en la expresión del gen de la IL10 podría en principio afectar a la actividad del CYP3A5.

En cuanto al tiempo hasta el rechazo agudo no hay recogido en la literatura estudios a este respecto. En nuestros resultados **hemos hallado no solo un porcentaje mayor de RAC en el grupo de los expresores, si no que se aprecia una mayor precocidad en la aparición de este evento** (expresores: 17 días, no expresores: 41,38 días). Esto hace pensar, que independientemente del genotipo del hígado donante, al día 17, aún “predomina” el genotipo receptor, estando el metabolismo del fármaco a cargo del CYP3A5 intestinal y del resto de localizaciones, lo que limita el aprovechamiento del fármaco, metabolizado de forma excesiva, no solo aumentando la tasa de rechazo si no de aparición más temprana.

En nuestra muestra **el genotipo CYP3A5 parece no influir en el grado histológico de rechazo agudo**, ya que la distribución en grado leve, moderado o grave no arroja ninguna significación clínica ni estadística. Las limitaciones para estos hallazgos podrían estar relacionadas con una muestra de pacientes con RAC escasa (n=10) y como se ha mencionado anteriormente, el seguimiento estrecho de estos pacientes, agrupando la mayor parte de RA en leves y moderados, siendo escasos los casos de RA grave (n=3). No existen estudios a este respecto en la bibliografía por lo que no podemos establecer, ante un valor de referencia, si existe una relación entre los SNPs y el grado de RAC.

7.5. ¿CUÁL ES LA PREVALENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL ABCB1 EN LA POBLACIÓN ESPAÑOLA?

Históricamente el primer SNPs estudiado en relación con la actividad de la P-gp fue el C3435T, que presenta un genotipo salvaje (CC) y mutante (TT), con una prevalencia de ambos genotipos muy diferente entre los distintos grupos étnicos: los individuos de raza negra expresan el genotipo CC en el 50-80% de los casos, mientras que, en otros grupos étnicos, la prevalencia es inferior al 30% (133,135). Por lo que respecta a la mutación TT, está prácticamente ausente de forma homocigótica en la población africana, aunque aparece de forma heterocigótica en el 20-40% de la población (99).

No se ha descrito en la literatura la prevalencia de este genotipo ni de sus sinónimos (C1236T, G2677T) en la población caucásica de forma específica. Es cierto que analizar un receptor que se expresa fundamentalmente en intestino delgado, túbulos contorneados y membrana hematoencefálica, en donantes de hígado, solo nos servirá para desentrañar y aportar más población al cálculo de la prevalencia de estos genotipos, ya que estas proteínas no se expresan en el hígado.

Según los resultados de nuestra población de estudio, aproximadamente **un tercio de la población expresaría de forma homocigota el alelo salvaje (CC, GG) y por lo tanto, la proteína sería funcionante como bomba de expulsión del fármaco. La mayor proporción de individuos serían heterocigotos (40% aproximadamente) con una proteína no funcionante.** Por último, la menor parte quedaría reservada para el alelo homocigoto mutante, TT (Tabla 23).

7.6. ¿CÓMO INFLUYEN DE LOS POLIMORFISMOS DEL ABCB1 EN EL METABOLISMO DEL TACROLIMUS?

En pacientes trasplantados renales, MacPhee y cols. (138) describieron cómo los pacientes homocigóticos para CC presentan una concentración de Tac significativamente inferior que los pacientes con genotipo C3435T TT y Anglicheau y cols. (139) en otro estudio realizado en 85 receptores de un trasplante renal, encontraron una correlación significativa entre la dosis diaria de Tac y el cociente C/D para los pacientes con el SNP G2677T.

En contraposición a estos datos existen otros estudios tanto en trasplante hepático como renal, en los que no se ha podido establecer la correlación entre el genotipo de ABCB1 y la concentración de Tac (97,107,140); y al igual que nuestros resultados no revelaron ninguna asociación significativa entre estos genotipos y los requisitos dosis de tacrolimus y de la relación C_0/D .

En el caso del trasplante de intestino además de establecerse una buena correlación entre la concentración de Tac y la expresión de ABCB1 se ha descrito una peor supervivencia en los pacientes con una expresión elevada de ABCB1 (132).

Sin embargo, a lo largo del seguimiento los valores C_0/D de tacrolimus en los genotipos "wild-type", con actividad en el receptor P-gp, presenta valores más bajos frente a los mutados, no activos; tanto para el alelo C3435T, como para sus sinónimos C1236T, G2677T. Estos hallazgos, aunque no son estadísticamente significativos, concuerdan con los descrito para el trasplante hepático por Wei-Lin y cols. (113), donde se apreció que la presencia del genotipo homocigótico 3435CC, cuando se comparaba con los genotipos CT y TT, se correlacionaba con valores más bajos para el cociente C/D de Tac, en cualquier momento durante el primer mes postrasplante.

Nuestro estudio confirma que **los polimorfismos ABCB1 para los alelos C3435T, C1236T, G2677T influyen en el requerimiento de tacrolimus en receptores de un trasplante hepático**. Sin embargo, como se ha dicho, la mayoría de los estudios no han podido detectar esta influencia de genotipos ABCB1 individuales sobre la farmacocinética de tacrolimus; entre los pocos que han observado una influencia tal, algunos reportan que el alelo de tipo salvaje se asocia con una exigencia mayor tacrolimus, como ocurre en nuestro análisis.

A modo de evitar el sesgo que podría resultar de la influencia del metabolismo hepático por el CYP3A5 en algunos pacientes (expresores), y con el fin de un análisis estadístico más discriminatorio, realizamos un subanálisis excluyendo a los pacientes expresores del citocromo activo (*1). De igual forma, analizando de forma exclusiva la influencia del gen ABCB1 en el metabolismo del Tac, los resultados son similares a los globales. Se aprecian diferencias en los niveles de Tac en sangre para los genotipos mutados, así como requerimientos de dosis más altos para estos individuos. Sin embargo estas diferencias son menos acusadas que cuando analizamos la influencia del citocromo P450, por lo que consideramos que si bien el gen ABCB1 tiene su influencia en el metabolismo del Tac, probablemente no sea tan importante como lo hace el citocromo a nivel hepático.

En cuanto a la influencia del genotipo ABCB1 en el grupo donante, los resultados obtenidos, no arrojan ninguna relevancia ni clínica ni estadística, ya que esta proteína no se expresa en el hígado. El único interés de estos hallazgos radica en el análisis de la prevalencia de los diversos genotipos discutidos en el apartado anterior.

7.7. ¿INFLUYEN LOS POLIMORFISMOS DEL ABCB1 EN LA APARICIÓN DE RECHAZO AGUDO CELULAR EN EL PACIENTE TRASPLANTADO HEPÁTICO?

En la bibliografía, los datos obtenidos manifiestan un baja asociación entre los SNPS del gen ABCB1 y el desarrollo de RAC, si bien, nuestro análisis no puede ser comparado íntegramente con lo publicado ya que el régimen de inmunosupresión no es idéntico en todos los estudios. Así, Masuda et al. (161) analiza los mismos parámetros que en nuestro estudio, pero no incluye el MMF en su terapia inmunosupresora. Este hecho, sumado a una tasa de rechazo diferente en nuestra población (10%), así como una frecuencia distinta de los SNPs debido a poblaciones étnicamente diferentes (ABCB1: exón mutado 12, 21 y 26 son el 50-60% de raza caucásica, y el 30% en población asiática) y teniendo en cuenta una población limitada en nuestro caso, hace difícil la comparación con un estándar establecido.

En un estudio publicado por nuestro autor en el año 2013 (171), se analizó la relación entre RAC y los SNPs del gen ABCB1; se apreciaron niveles C/D más elevados en los pacientes mutantes frente a los salvajes, sin significación estadística, y el desarrollo de RAC fue similar tanto para los mutantes como para los wild-type, concluyendo que no hubo asociación entre los SNPs del gen ABCB1 y el RAC.

En pacientes japoneses los altos niveles intestinales de P-glicoproteína se asocian con un menor valor C/D de tacrolimus y un alto riesgo de rechazo poco después del trasplante (160,161).

Nuestros datos son similares a los publicados por algunos autores (136), encontrándonos para el caso del alelo 1236 C>T unos resultados dispares; con un 10,5% de RAC para la proteína funcionante (CC), frente a un 12,2% y 5,2% para las no funcionante, CT y TT respectivamente. Esto nos lleva a pensar, que la asociación entre la actividad del MDR1 y el desarrollo de RAC, es escasa.

Para el alelo 3435 C>T los datos son de nuevos contradictorios, concentrando el porcentaje más elevado de RAC en los homocigotos mutantes (TT) con un 18,5%, siendo los heterocigotos los que menos proporción de RA desarrollan. Se corrobora así, la falta de asociación entre la proteína intestinal y el desarrollo de RAC, ya que lo esperable clínicamente, es que los individuos con una proteína activa (GG), que expulsan el tacrolimus a la luz intestinal, debieran desarrollar más RAC.

De la misma forma, para el alelo 2677 G>T/A, la distribución es similar al grupo anterior.

Esta falta de consistencia en cuanto a la asociación de los SNPs del gen ABCB1 y la aparición de RAC puede estar auspiciada por un predominio del CYP3A5 en cuanto al metabolismo del tacrolimus, a un control exhaustivo de los pacientes, como ya ha sido mencionado y a la influencia de otros factores a nivel intestinal que aun no conocemos. El análisis multivariante para el RAC no arrojó relación entre los distintos SNPs para el gen ABCB1 y la aparición del mismo.

A modo de intentar arrojar más luz sobre este análisis, con el objetivo de eliminar el sesgo, y teniendo en cuenta la posibilidad de que la falta de influencia de los SNPs ABCB1 en la farmacocinética de tacrolimus podría deberse a un factor de confusión con el CYP3A5, se investigó la influencia de 1236C>T, 2677G>T/A, y 3435C>T en pacientes que eran no expresores para el CYP3A5, tanto en el intestino como en el injerto (se excluyeron los pacientes con CYP3A5*1). Se obtuvieron unos resultados similares a los del análisis global, por lo que **podemos considerar una baja asociación clínica en el transportador intestinal MDR1 y el RAC en el trasplante hepático.**

Sin embargo, a pesar de que los resultados no son concluyentes con respecto a la influencia del polimorfismo en cuanto a la aparición de RAC, cabe señalar que estos resultados se obtuvieron en una población que recibe terapia triple con una inusualmente baja incidencia de RAC (10%) en el TH. Esto sugiere que es demasiado pronto para descartar la posibilidad de que las terapias inmunosupresoras y los resultados clínicos puedan beneficiarse al conocer los genotipos ABCB1 de cara a realizar terapias dirigidas en los pacientes TH .

Se necesitan más estudios prospectivos para evaluar el impacto de estos polimorfismos genéticos en la farmacocinética y la farmacodinámica de tacrolimus y determinar si el análisis de rutina de Y de esta forma justificar si el análisis de rutina de los genotipos del receptor podría acercarnos a realizar un tratamiento inmunosupresor personalizado.

En el caso del genotipo donante para los diversos alelos, como se explicó en el apartado anterior, los datos se analizaron, pero la relevancia clínica en cuanto a la aparición de RAC es nula.

En cuanto al tiempo de aparición del RAC no se aprecia correlación clínica ni estadística, ya que en ambos grupos y en todos los alelos el rechazo ocurre de media al mes aproximadamente. Esto concuerda con la débil asociación del receptor intestinal y el RAC. Tampoco parece haber diferencias en cuanto al grado de RAC, distribuyéndose de forma homogénea entre “wild-type” y no expresores.

7.8. ¿INFLUYEN LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES CYP3A5 Y ABCB1 EN LA FUNCIÓN HEPÁTICA DE LOS RECEPTORES DE UN TRASPLANTE HEPÁTICO?

En el postrasplante precoz, que habitualmente incluye hasta los dos primeros meses postrasplante, la alteración de la analítica hepática es la primera manifestación de disfunción hepática. Las posibles causas de disfunción del injerto en el paciente trasplantado reciente incluyen las lesiones de isquemia-reperfusión, lesiones por problemas técnicos, el rechazo agudo celular, las lesiones por infecciones víricas, en especial la hepatitis por citomegalovirus y las lesiones por recurrencia de la enfermedad de base.

La lesión por isquemia-reperfusión viene condicionada por el daño que se produce en el hígado debido a la preservación del mismo durante el período de isquemia fría con los líquidos de preservación habituales, junto al daño postreperfusión tras el implante. Suele aparecer en un 2-20% de los pacientes, inmediatamente después del TH, y no persiste más allá de una semana (172). La patogenia es multifactorial. La causa principal es la acidosis metabólica debida al metabolismo anaerobio durante la isquemia fría. La lesión por isquemia-reperfusión leve se caracteriza por la rápida normalización de las transaminasas tras el incremento inicial; no requiere tratamiento específico. Si la lesión es grave, se produce la llamada disfunción primaria del injerto (DPI) que se manifiesta por cifras muy elevadas de transaminasas, tiempos de pro-trombina prolongados, ausencia de producción de bilis por el tubo de Kehr, en el caso de que lo haya, y signos clínicos de insuficiencia hepática como encefalopatía, hipoglucemia y acidosis láctica. La alternativa terapéutica es el retrasplante urgente. Diversos factores, tales como tiempos de isquemia fría y caliente prolongados, donantes añosos, injertos reducidos y órganos con esteatosis macrovesicular superior al 60% son factores asociados a esta grave complicación.

En cuanto a complicaciones técnicas, la trombosis de la arteria hepática es de las complicaciones más graves. Aparece en menos de un 5% de los TH (173). Cuando se produce en la primera semana post-TH, analíticamente suele manifestarse como una disfunción primaria del injerto. El diagnóstico se realiza por los hallazgos de la ecografía hepática doppler, y se confirma mediante arteriografía hepática o angio-TAC. Diversos factores, tales como calibres pequeños de la arteria hepática del donante o del receptor, problemas quirúrgicos, disparidad entre el diámetro vascular entre el donante y el receptor, trasplantes pediátricos o problemas médicos como estados de hipercoagulabilidad, infección por citomegalovirus, el tabaco o el rechazo se asocian con esta complicación. En la fase precoz, la trombosis puede resolverse mediante trombectomía y colocación de prótesis y/o angioplastia, en los casos con estenosis sin trombosis.

Las infecciones víricas, en especial la infección por citomegalovirus (CMV), suele aparecer entre el primer y cuarto mes post-TH. Cuando la infección por CMV condiciona una hepatitis por CMV, suele manifestarse por fiebre y deterioro de la analítica hepática, junto a leucotrombopenia. Desde el punto de vista microbiológico, se aprecia una elevación de la carga vírica en sangre periférica.

La mayoría de los estudios no consideran la influencia de los diversos polimorfismos directamente en la función hepática, sino que recogen la tasa de RAC como marcador de disfunción hepática (169-171). Son escasos los estudios que intentan establecer una relación de la disfunción enzimática hepática con los

polimorfismos genéticos, no encontrándose ninguna asociación al margen del RAC, como se ha desarrollado en el apartado 7.7. (174).

El CYP3A5 y el ABCB1 tienen un papel fundamental en el TH. Es por ello, que en nuestro análisis se ha querido tener en cuenta como pueden afectar las diversas condiciones genéticas en la función del órgano.

Al analizar el comportamiento de las enzimas de citólisis y colestasis, así como la evolución de la bilirrubina durante los primeros 90 días postrasplante, **no se ha hallado correlación estadística relevante que nos permitan establecer una relación entre los genotipos CYP3A5 y ABCB1 y la función hepática por sí mismos**. En las mediciones de los primeros días postrasplante, los datos medios son más elevados que con el paso del tiempo, este hecho posiblemente esté en relación con la disfunción postTH del injerto, generalmente influida por la lesión de isquemia-reperusión, que no suele tener repercusión clínica.

Los valores que arrojan significación estadística (GOT al día 7, FA y Bt al día 14 en CYP3A5, GPT al día 14 en 1236 C>T, y GPT al día 3 en 2677 G>T/A) nos hacen pensar que son más bien resultados debidos al azar, que realmente datos que merezca la pena considerar por lo errático de su aparición.

En la escasa bibliografía al respecto los resultados encontrados son similares, ya que el hecho de presentar un genotipo u otro no altera la función hepática en sí, salvo en los casos en los que se desarrolle un RAC (162). El seguimiento intensivo de los pacientes, junto con una tasa baja de RAC parecen ser los responsables de la falta de asociación entre los genotipos y la variabilidad en la función hepática.

Un efecto idéntico ocurre al analizar estas variables en el grupo de donantes, donde no se aprecian diferencias destacables entre los distintos grupos.

Al llevar a cabo un análisis de subgrupo, en aquellos pacientes que han desarrollado RAC, se aprecian, diferencias con aquellos pacientes que no lo desarrollaron.

7.9. ¿INFLUYEN LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES CYP3A5 Y ABCB1 EN LA FUNCIÓN RENAL DE LOS RECEPTORES DE UN TRASPLANTE HEPÁTICO?

La función renal en el trasplante hepático es un pilar fundamental a tener en cuenta. Si bien, el desarrollo de insuficiencia renal está asociado al trasplante, son diversos los factores que influyen en su patogenia. El desarrollo de insuficiencia renal en el postrasplante, va a venir derivada por la función renal preTH, la transfusión de hemoderivados, los fármacos empleados, los desbalances hidroelectrolíticos así como de la posible malfunción hepática como de otros múltiples factores desencadenantes.

Se ha reportado una proporción de nefrotoxicidad del 52% de los pacientes trasplantados renales y de un 36-40% en los pacientes con trasplante hepático (163). La nefrotoxicidad inducida por el tacrolimus se manifiesta por un aumento de la creatinina, azoemia, fibrosis intersticial y oliguria. Los efectos nefrotóxicos se han relacionado con el efecto inhibitorio del tacrolimus sobre la calcineurina, proteína que a su vez regula los canales de calcio celulares.

Desde un punto de vista de impacto clínico, en el ámbito del trasplante hepático, Hebert y cols. (141) en un estudio retrospectivo de casos y controles, con 120 pacientes de raza blanca tratados con ICN, establecen una asociación entre la presencia de disfunción renal crónica y la homocigosis para el SNP 2677T, cuya presencia se había asociado a una baja expresión de P-gp. La incidencia global de la disfunción renal a los 3 años post-trasplante fue del 40%, y la frecuencia de la disfunción renal se redujo en los pacientes con un genotipo ABCB 12677TT, en comparación con aquellos con un genotipo 2677GG. Los sujetos con un genotipo heterocigoto se comportaron fenotípicamente como el grupo 2677GG. La comparación entre los sujetos con un genotipo 2677TT y el grupo combinado de los sujetos con un genotipo 2677GG, TG, AT o AG arrojó un OR de 0,26 (0,09-0,77) en cuanto a la probabilidad de presentar disfunción renal postrasplante; concluyendo que los pacientes trasplantados hepáticos que reciben un tratamiento con ICN y son homocigotos para el alelo ABCB1 2677T se asocian a un menor riesgo de presentar disfunción renal crónica.

Es por ello, que en nuestro estudio hemos creído fundamental el análisis de la función renal de forma pormenorizada, así como su relación con los distintos polimorfismos genéticos.

Los resultados que relacionan la expresión del CYP3A5 muestran una repercusión tanto clínica como estadística en lo que a aclaramiento de creatinina se refiere. Los pacientes **portadores del gen expresor *1, presentan un deterioro en el aclaramiento de creatinina a lo largo de todo el seguimiento de unos 20-25 ml/min**. Esto sugiere una vez establecido el tratamiento con tacrolimus que los pacientes expresores, fruto de su metabolismo elevado y de las dosis medias necesarias más altas de Tac, presentan un efecto lesivo sobre las nefronas. Si bien, clínicamente no supondría un grado de insuficiencia renal que requiriese ninguna medida especial, es importante tenerlo en cuenta como marcador de un efecto perjudicial de la sobreexposición al fármaco y que pudiera tener consecuencias a medio y largo plazo. Sin embargo, estos valores pueden estar influenciados, en este grupo, por una filtración glomerular disminuida a día 3 en el grupo expresor. Esto nos haría pensar en un sesgo al interpretar los resultados, ya que este grupo presentaba una función renal menor previa al TH.

Centrándonos en el receptor intestinal MDR1, codificado por el gen ABCB1, observamos un fenómeno similar para los tres alelos, pero más marcadamente en el

2677G>T/A, apreciándose diferencias importantes tanto en el aclaramiento de creatinina, como en la mayor parte de las mediciones de filtrado glomerular. En estos casos, **el grupo mutante tanto homocigotos como heterocigotos, presentan unos valores de aclaramiento y filtrado glomerular más bajos que los wild-type**. Estos valores se mantienen estables durante los 90 días de seguimiento, manteniendo la significación estadística en la mayoría de los casos. Esto está en relación con una menor expresión de la proteína P-gp funcionante, tanto a nivel intestinal, como en el caso del túbulo contorneado. Esto favorece una menor expulsión del fármaco circulante, con el consiguiente efecto lesivo a nivel nefrológico. Si bien es cierto, y ya se ha mencionado, la causa de insuficiencia renal en el trasplante hepático es multifactorial, sin embargo, son datos a tener en cuenta por su gran valor clínico.

En el caso del CYP3A5 en el genotipo donante, ocurre algo similar al grupo de receptores. En este caso en el grupo de expresores *1, existe un deterioro en cuanto al aclaramiento de creatinina, superponible al grupo receptor (20-25ml/min). Podría explicarse de la misma forma por un filtrado glomerular de inicio más bajo, junto a una exposición mayor al fármaco, como ocurría en el otro grupo.

Aunque no hay diferencias y en absoluto es el mejor indicador de la función renal, se aprecian unos valores de creatinina sérica superiores en ambos grupos (receptores y donantes) para el SNP CYP3A5*1. Posiblemente en relación con lo mencionado anteriormente, debido a un detrimento en la función renal, elevando los niveles séricos de creatinina.

El comportamiento de la urea en estos casos es más errático, y sin un claro patrón en ambos grupos. Dado que el hígado está involucrado en el metabolismo del ion amonio, precursor de la urea, parece lógico pensar, que estos valores no podrán definir una alteración a nivel renal por sí solos.

La proporción de pacientes afectados de insuficiencia renal fue del 21% de los trasplantados. Si bien, esta diferencia con lo publicado está en su mayoría influenciada por un corto periodo de seguimiento (90 días) así como por una monitorización intensiva de nuestros pacientes, con ajustes de dosis según niveles sanguíneos en un margen terapéutico estrecho (8-13ng/ml hasta el día 45, niveles que tras el primer mes del TH hoy en día son considerados elevados, y 5-8 ng/ml a partir del día 45).

En relación a la nefrotoxicidad de tacrolimus, influenciado por el citocromo, la proporción de pacientes en cada grupo no permiten identificar una asociación clara basándonos en números absolutos. Sin embargo, **la proporción de expresores *1 que desarrollan insuficiencia renal es del 33%, frente a un 12% en el caso de los no expresores (grupo receptor)**. De nuevo, como se comentó anteriormente, una exposición a dosis medias más altas de tacrolimus, así como un ajuste más complejo para obtener niveles óptimos en sangre, podrían influenciar en este hallazgo. En el grupo de donantes, el efecto es muy similar, motivado por las mismas causas.

En cuanto al receptor intestinal MDR1 y su influencia en el desarrollo de insuficiencia renal, los datos obtenidos son poco significativos con porcentajes de desarrollo de fracaso renal muy similar entre mutantes y salvajes. Esto nos lleva a pensar que este gen no tiene un papel determinante por sí mismo en el desarrollo de este efecto secundario, si no que actúa de forma secundaria al mantener más o menos elevados los niveles de Tac en función de su actividad. Como se expuso anteriormente existen estudios que establecen una asociación entre la insuficiencia renal y la mutación para el P 2677 G>T/A (141).

7.10. ¿INFLUYEN LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES CYP3A5 Y ABCB1 EN LA APARICIÓN DE OTRAS COMPLICACIONES ASOCIADAS AL USO DE TACROLIMUS?

7.10.1. Alteraciones neurológicas

La aparición de neurotoxicidad en el TH es una complicación habitual. Se incluyen como alteraciones neurológicas las cefaleas, el insomnio, el tremor, las parestesias y los mareos. Aproximadamente el 55% de los pacientes con trasplante de hígado experimentan algún síntoma de neurotoxicidad y otras alteraciones de las funciones motoras, mentales o sensoriales (164). Las altas concentraciones de tacrolimus están asociadas a delirio y coma y se han comunicado casos de leucoencefalopatía, así como anomalías visuales en niños y adultos tratados con tacrolimus.

Se ha descrito en la literatura una asociación entre los polimorfismos y el desarrollo de alteraciones neurológicas. Yamauchi (142), desarrolló un estudio retrospectivo en pacientes trasplantados hepáticos en tratamiento con Tac donde se asoció el genotipo 2677T de los pacientes como predictor de neurotoxicidad. Estos resultados se han relacionado con el hecho de que la expresión de esta glicoproteína se ha asociado con una menor entrada de fármaco al sistema nervioso central, motivada por una mejor barrera hematoencefálica, por lo que los bajos expresores de P-gp serían susceptibles de una mayor neurotoxicidad.

Existen pocos trabajos a este respecto, pero en 2010, se desarrolló un estudio en pacientes con trasplante de progenitores hematopoyéticos (175), analizando 63 casos de los cuales 15 desarrollaron neurotoxicidad relacionada con los ICN; en el grupo de pacientes con CsA (n = 30), la edad, hipertensión, disfunción renal, el gen ABCB1 1236C>T (p <0,001), y el gen 2677G>T/A (p = 0,014) se asociaron con neurotoxicidad, mientras que el genotipo CC en C1236T ABCB1 se asoció un mayor desarrollo de alteraciones neurológicas, pero no de forma significativa, ajustado por edad, hipertensión y disfunción renal; para el grupo de Tac (n=33), el gen CYP3A5, y el ABCB1 1236C>T se asociaron con la aparición de neurotoxicidad. Según el análisis de regresión logística (p=0,01; OR, 8,5; IC del 95%, 1,4-51,4) el alelo CYP3A5 (genotipo expresor) está fuertemente asociado con el desarrollo de neurotoxicidad.

En nuestro estudio se consideró como “alteración neurológica” el temblor fundamentalmente, cefaleas y desordenes mayores tales como desorientación, cuadros confusionales y mareos graves. Es por esto, que nuestro porcentaje de afectación neurológica es menor al descrito en la bibliografía (37%).

Llama la atención que en el caso del **SNP 2677 G>T/A hasta un 45% de los mutantes (proteína no eficaz para eliminar el fármaco), desarrollaron alteraciones neurológicas**, frente a un 13% en los funcionantes.

Referente a estas alteraciones según la expresión del CYP3A5 en ambos grupos, expresores y no expresores, el porcentaje de aparición de estos síntomas son idénticos, con un 33% para ambos grupos. Esto nos permite pensar de forma razonable, que no existe una relación directa entre la expresión del CYP3A5 y el desarrollo de complicaciones neurológicas en nuestro estudio.

Algo similar ocurre para el ABCB1 en los SNPs 1236 C>T y 3435 C>T, con porcentaje de complicaciones neurológicas similares.

7.10.2. Hipertensión arterial, diabetes mellitus e hipercolesterolemia

La hipertensión arterial es una complicación frecuente que afecta hasta el 60% de los receptores de un TH durante el seguimiento, las causas y factores para su aparición son múltiples. Según el estudio NNDIK, la edad avanzada, la diabetes y la insuficiencia renal los pacientes trasplantados hepáticos se han relacionado con la presencia de HTA condicionando una supervivencia global más pobre. La actuación diligente sobre de factores de riesgo postTH modificables como la diabetes, la hipertensión y la insuficiencia renal puede mejorar la mortalidad a largo plazo (176).

La incidencia de hipertensión arterial ha disminuido en los últimos años a raíz de los cambios en los regímenes de inmunosupresión, junto a la reducción en las dosis de corticoides (177) y el empleo de Tac como fármaco inmunosupresor fundamental, dado que el desarrollo de HTA es mucho menor que al emplear CsA (178). Estudios como el de Hricik definieron una una prevalencia de HTA 3,07 veces mayor, en pacientes TH que habían sobrevivido más de 5 años respecto a la población general.

Se han desarrollado medidas que contribuyan a evitar la HTA tras el TH, demostrando una reducción significativa de la presión arterial tras retirar los corticoides de forma temprana (178,179).

En nuestro análisis la HTA se presentó en un porcentaje mucho menor (12%), debido a que la hipertensión no es un efecto secundario inmediato, requiriendo mayor tiempo de evolución para su desarrollo en la mayoría de los casos. Este hecho fundamentalmente daría respuesta a la diferencia de resultados entre nuestro estudio y la bibliografía (176-179).

Por otro lado, **no parece haber relación entre los distintos SNP y la mayor o menor frecuencia de desarrollo de hipertensión**. Sin embargo, como decimos, hay que asumir estos datos con cautela, ya que el seguimiento es limitado en el tiempo, por lo que se deberían tener datos más consistentes en el tiempo para poder extraer conclusiones sólidas.

En el paciente que va a ser sometido a un TH se distinguen dos tipos de diabetes: diabetes mellitus pretrasplante y diabetes de novo. Los factores más habituales que se han relacionado con la aparición de diabetes en los receptores de trasplantes de órganos son: sexo masculino, raza (afroamericanos, latinos/hispanos, indígenas americanos, indígenas de Hawái, isleños del Pacífico y estadounidenses de origen asiático), edad avanzada, obesidad, historia familiar, infección por el virus de la hepatitis C y por CMV y la inmunosupresión con corticoides, con anticalcineurínicos o con inhibidores del receptor de la rapamicina (m-Tor).

En trasplante hepático, se ha observado hiperglucemia en un 33-47% de los casos, llegando a desarrollar diabetes un 25-30%. En el caso del trasplante renal, el número de pacientes insulino dependientes ha sido estimado en un 20%. El inicio de la diabetes se sitúa hacia los dos meses después del trasplante, siendo reversible en el 15% de los casos a los 12 meses tras el TH y en el 50% de los casos al cabo de 2 años. La posibilidad de desarrollar una diabetes postrasplante aumenta cuando los niveles de tacrolimus en sangre son demasiado elevados y cuando se administran al mismo tiempo corticoides (166, 167).

Estos porcentajes son variables en la literatura, generado por una falta de unanimidad a la hora de determinar el diagnóstico. Si el diagnóstico de DM se basa en la necesidad de tratamiento (antidiabéticos orales, insulina), entre un 5-15% de los pacientes serían diabéticos (180, 181). Si en cambio, el diagnóstico se lleva a cabo a través de la sobrecarga oral de glucosa el porcentaje asciende por encima del 55% (181).

En nuestro análisis, consideramos DM cuando el paciente requirió tratamiento por glucemias basales elevadas, ya fuese con antidiabéticos, insulina o medidas higiénico-dietéticas. **El desarrollo de diabetes en nuestro caso es muy próximo a lo referido en la literatura, con un 24,5% en total, desarrollándose en los primeros 90 días postrasplante, lo que concuerda con lo anteriormente descrito. No parece haber relación con los polimorfismos genéticos ABCB1 y CYP3A5.** Sin embargo existen trabajos (183) que recogen que al igual que otros fármacos, el Tac tiene varios efectos secundarios entre los que destaca su capacidad diabetogénica de tipo dosis-dependiente y que de forma adicional a este efecto, estudios de asociación del genoma completo o GWAS (Genome Wide Association Studies) han identificado varios SNPs y genes asociados al riesgo de desarrollar diabetes tipo 2 (DM2) que podrían estar a su vez estar asociados al riesgo de diabetes de novo PT (NODAT), siendo dos de estos genes son KCNQ1 y KCNJ11, (genes relacionados con canales de K+) cuya variación ha sido relacionada con el riesgo de DM2 y diabetes neonatal. No existe en la literatura estudios a cerca de la relación entre la DM y los SNPs de CYP3A5 y ABCB1.

Las alteraciones de los lípidos en el paciente trasplantado hepático son frecuentes y afectan a más del 50% de los receptores. Las causas de hipercolesterolemia son varias: edad, sexo, predisposición genética, ganancia de peso, función renal, proteinuria, diabetes, inmunosupresión y fármacos antihipertensivos.

Estudios recientes no sólo aprecian unos niveles superiores de colesterol en los trasplantados hepáticos, sino que el índice aterogénico de estos lípidos es muy superior a los de la población general (182).

En nuestro estudio un 18% desarrolló hipercolesterolemia en el posTH inmediato. Esto valores difieren del 50% recogido en la literatura (178) dado el corto periodo de seguimiento, para el desarrollo de una enfermedad que puede tardar meses en aparecer.

En cuanto a **la relación con los polimorfismos no hay evidencia científica de su implicación con la aparición de dislipemia y en nuestro estudio ningún dato nos hace pensar que exista asociación** entre los genes estudiados y el desarrollo de dicha patología.

8. Conclusiones

1. La prevalencia de los polimorfismos CYP3A5 *1/*3 y *1/*1, en los receptores de un injerto hepático de raza caucásica en la serie estudiada en España ha sido del 14% y la prevalencia de los polimorfismos no expresores del 86%.
2. La prevalencia del gen ABCB1 wild-type (CC, GG) en receptores de un injerto hepático de raza caucásica en la serie estudiada en España ha sido del 32,8% para el alelo 1236C>T, del 30,6% para el 3435C>T y del 33,3% para el 2677G>T.
3. Las dosis de tacrolimus necesarias para alcanzar niveles valle objetivo han sido más altos en los receptores y en los injertos hepáticos que expresan CYP3A5 (*1/*3 y *1/*1) que en los no expresores (*3/*3). Los polimorfismos ABCB1 no han influido en la ratio C/D de tacrolimus.
4. El rechazo agudo celular ha aparecido con mayor frecuencia y de forma más temprana en los receptores de un injerto hepático que expresaron el gen CYP3A5*1. No se ha encontrado ninguna relación entre el RAC y la expresión del gen ABCB1.
5. El deterioro de la función renal tras el trasplante hepático se ha presentado con mayor frecuencia en los receptores que expresan CYP3A5*1 y en los mutantes del gen ABCB1.
6. Se ha observado una mayor incidencia de alteraciones neurológicas en pacientes trasplantados hepáticos tratados con tacrolimus que expresan SNP 2677 G>T/A. No ha existido relación entre el desarrollo de hipertensión arterial, diabetes mellitus e hipercolesterolemia y la expresión de polimorfismos.

9. Bibliografía

1. Starzl TE, Marchioro TL, Von Kaulla KN et al. Homotransplantation of the liver in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1963; 117: 659-76
2. Starzl TE, Groth CG, Brettschneider L et al. Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Ann Surg* 1968; 392-415.
3. European Liver Transplant Registry. European Liver Transplant Association Editeurs. Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France. www.eltr.org/
4. Starzl TE, Klintmalm G, Porter K, et al. Liver transplantation with use of cyclosporine A and prednisone. *N. Engl. J. Med* 1980; 305: 266-269.
5. National Institute of Health. Consensus development conference statement: liver transplantation. June 20-23, 1983. *Hepatology* 1984; 4:107S-10S
6. Memoria de Resultados del Registro Español de Trasplante Hepático (1984 2014). <http://www.ont.es>
7. Welch CS. A note on transplantation of the whole liver in dogs. *Transplant Bull* 1995; 2:54.
8. Cannon JA. Brief report. *Transplant Bull* 1956; 3:7.
9. Benichon J, Halgrimson CG, Weill R III, Koep LJ, Starzl TE. Canine and human liver preservation for 6 to 18 hours by cold infusion. *Transplantation* 1977; 24:407-411.
10. Kalajoglu M, Sollinger WH, Strata RJ, et al. Extended preservation of the liver for clinical transplantation. *Lancet* 1988; 1:617-619.
11. Starzl TE, Iwatsuki S, Van Thiel DH, et al. Evolution of Liver Transplantation. *Hepatology* 1982; 2:614-636.
12. Schwartz R, Dameshek W. The effects of 6-mercaptopurine on homograft reactions. *J Clin Invest* 1960; 39:952-958.
13. Machioro TL, Axtell HK, Lavia MF, et al. The role of adrenacortical steroids in reversing established homograft rejection. *Surgery* 1964; 55: 412-417
14. Starzl TE, Machioro TL, Porter KA et al. The use of heterologous antilymphoid agents in canine renal and liver homotransplantation and in human renal homotransplantation. *Surg Gynecol Obstet* 1967; 124:301-318.
15. Calne RY, Rolles K, White DJ, et al. Cyclosporine A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs: 30 kidneys, 2 pancreas and 2 livers. *Lancet* 1979; 2: 1033-1036.
16. Fung JJ, Demetris AJ, Porter KA, et al. Use of OKT3 with cyclosporine and steroids for reversal of rejection of kidney allografts. *Nephron* 1987; 46 (suppl 1): 19-33.
17. Starzl TE, Todo S, Fung J et al. FK in human liver, kidney and pancreas transplantation. *Lancet* 1987; 2: 1000-4.
18. Bismuth H, Houssin D. Reduced-size orthotopic liver graft in hepatic transplantation in children. *Surgery* 1984; 95:367-372.
19. Broelsch CE, Edmond JC, Whittington PF et al. Application of reduced size liver transplants as split grafts, auxiliary orthotopic grafts and liver related segmental transplants. *Ann Surg* 1990; 212:368-377.

20. Edmond JC, Whittington PF, Thittlewaite JR, et al. Transplantation of two patients with one liver: analysis of a preliminary experience with "split liver" grafting. *Ann Surg* 1990; 212:14.
21. Tanaka K, Vemoto S, Tokunaga y, et al. Surgical techniques and innovations in living related liver transplantation. *Ann Surg* 1993; 59(2): 197-203.
22. Reddy S, Zilvetti M, Brockmann J, McLaren A, Friend P. Liver transplantation from nonheart-beating donors: current status and future prospects. *Liver Transpl* 2004; 10(10): 1223-32.
23. Rimola A. Trasplante hepático. *Med Clin (Barcelona)* 1991; 97: 388-94.
24. Gilbert JR, Pascual M, Schoenfeld DA et al. Evolving trends in liver transplantation: an outcome and charge analysis. *Transplantation* 1999; 67 (2): 246-53.
25. Bonnard AM, Heathcote EJ, Lindor KD, et al. Clinical significance of serum bilirubin levels under ursodeoxycholic acid therapy in patients with primary biliary cirrhosis. *Hepatology* 1999; 29(1): 39-43.
26. Pasha T, Heathcote J, Gabriel S, et al. Cost-effectiveness of ursodeoxycholic acid therapy in primary biliary cirrhosis. *Hepatology*; 29(1):21-6.
27. Hay JE. Liver Transplantation for primary biliary cirrhosis and primary sclerosing cholangitis: does medical treatment alter timing and selection? *Liver Transplant Surg* 1998; 4(5Suppl 1): 9-17.
28. Fabra R, Levy MF, Testa G, et al. Colon carcinoma in patients undergoing liver transplantation. *Am J Surg* 1998; 176(3):265-9.
29. Generalitat de Catalunya. Departament de Sanitat i Seguretat Social. Catalunya Transplantament (1990-1996). Servei Català de Salut. Barcelona.
30. Poynard T, Marcellín P, Lee S, et al. Randomised trial of interferon alfa 2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alfa 2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998; 352: 1426-32.
31. Wedemeyer H, Caselman WH, Manns MP. Combination therapy of chronic hepatitis C: an important step but not the final goal (editorial). *J Hepatol* 1998; 29: 1010-4.
32. Starzl TE, Demetris AJ, Van Thiel DH. Medical progress. Liver transplantation. *N Engl J Med* 1989; 321: 109-29.
33. Lake JR. Changing indications for liver transplantation. *Gastroenterol Clin N Am* 1993; 22(2): 213-229.
34. Markowitz JS, Martin P, Conrad AJ, et al. Prophylaxis against hepatitis B recurrence following liver transplantation using combination lamivudine and hepatitis B immune globulin. *Hepatology* 1998; 28(2): 585-9.
35. Tillman HL, Trautwein C, Bock T, et al. Mutational pattern of hepatitis B virus on sequential therapy with famciclovir and lamivudine in patients with hepatitis B virus reinfection occurring under HB Ig immunoglobulin after liver transplantation. *Hepatology* 1999; 30(1): 244-56.
36. Hoofnagle JH, Carithers RL Jr, Shapiro R, et al. Fulminant hepatic failure: summary of a workshop. *Hepatology* 1995; 21; 240-252.
37. M Lee. Acute liver failure. *The American Journal of Medicine* 1994; 96(Suppl 1A): 3S-9S.

38. Williams R, Gimson AES. Intensive liver care and management of acute hepatic failure. *Digestive Dis Sci* 1991; 36: 820-826.
39. Bernuan J, Rueff B, Benhamon JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definitions and causes. *Semin Liver Dis* 1986; 6: 97-106.
40. Pitre J, Soubrane O, Dousset B, et al. How valid is emergency liver transplantation for acute liver necrosis in patients with multiple organ failure? *Liver Transplant Surg* 1996; 2: 1-7.
41. Pichlmayr R, Weimann A, Ringe B. Indications for liver transplantation in hepatobiliary malignancy. *Hepatology* 1994; 20: 33S-40S.
42. Shabahang M, Franceschi D, Yamashiki N, et al. Comparison of Hepatic resection and hepatic transplantation in the treatment of hepatocellular carcinoma among cirrhotic patients. *Annals of Surgical Oncology* 2002; 9(9): 881-886.
43. Frilling A, Rogiers X, Malago M, et al. Liver transplantation in patients with liver metastasis of neuroendocrine tumors. *Transplant Proc* 1998; 30 (7): 3298-300.
44. Le Tret YP, Delpero JR, Dousset B. Results of liver transplantation in the treatment of metastatic neuroendocrine tumors. A 31 case French multicentric report. *Ann Surg* 1997; 4: 355-64.
45. Figueras J, Torras J. Metástasis hepáticas. *Manual de la Asociación española de cirugía*. Ed. Med. Panamericana 2004; 495-519.
46. Runyon BA, Mc Hutchinson JG, Antillon MR, et al. Short-course versus long-course antibiotic treatment of spontaneous bacterial peritonitis: a randomized controlled study of 100 patients. *Gastroenterology* 1991; 100: 1737-1742.
47. Rimola A, Navasa M, Rodés J, et al. Specific indications. Liver transplantation: practice and management. Neuberger J, Lucey MR, eds. London: BMJ Publishing Group 1994: 34-104.
48. American Liver Transplant Registry. OTN/SRTR 2004. Annual Report.
49. Generalitat de Catalunya. Departament de Sanitat i Seguritat Social. Anàlisi de la mortalitat a Catalunya (1988-1992). Departament de Sanitat i Seguritat Social. Barcelona.
50. Llach J, Ginés P, Arroyo V, et al. Prognostic values of arterial pressure, endogenous vasoactive systems, and renal function in cirrhotic patients admitted to the hospital for the treatment of ascitis. *Gastroenterology* 1988; 94: 482-7.
51. Sánchez-Fueyo A, Fernández-Esparrach G, Ginés P, et al. Prognostic value of free water excretion in cirrhosis with ascitis. *J Hepatol* 1996; 25(suppl. 25): 65.
52. Rimola A, Bustamante J, Navasa M, et al. Prognostic value of hepatic encephalopathy in cirrhotic patients. *J. Hepatol* 1995; 23 (suppl.1): 124.
53. Christensen E, Krintel JJ, Hansen SM, et al. Prognosis after the first episode of bleeding or coma in cirrhosis. Survival and prognostic factors. *Scand J Gastroenterol* 1989; 24: 999-1006.
54. Pagliaro L, D'Amico G, Pasta L, et al. Portal hypertension in cirrosis: natural history. *J Hepatol* 1995; 23 (Suppl 1): 36-44
55. Evans RW, Manninen DL, Dong FB, et al., eds. The national cooperative transplantation study: final report. Seattle: Battelle Seattle Research Center, 1991: 32

(An economic evaluation of LT: costs, insurance coverage and reimbursement).

56. Spanier TB, Klein RD, Nasraway SA, et al. Multiple organ failure after liver transplantation. *Crit Care Med* 1995; 23 (1): 466-473.

57. Adam R, McMaster P, O'Grady JG, Castaing D, Klempnauer JL, Jamieson N, Neuhaus P, Lerut J, Salizzoni M, Pollard S, Muhlbacher F, Rogiers X, Garcia Valdecasas JC, Berenguer J, Jaeck D, Moreno Gonzalez E; European Liver Transplant Association. Evolution of liver transplantation in Europe: report of the European Liver Transplant Registry. *Liver Transpl.* 2003 Dec;9(12):1231-43.

58. Bismuth H, Castaing D, Ericzon BG, Otte JB, Rolles K, Ringe B, Sloof M. Hepatic transplantation in Europe. First Report of the European Liver Transplant Registry. *Lancet.* 1987 Sep 19;2(8560):674-6.

59. Herrero JI, Quiroga J, Pardo F. El trasplante hepático en el año 2000. *An Sist Sanit Navar.* 2000 Sep-Dec;23(3):409-26.

60. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, Arndorfer J, Christensen L, Merion RM. et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *NEJM* 2003; 349: 931-40.

61. Ericzon B, Groth C, Bismuth H, Calne R, McMaster P, Neuhaus P, Otto G, Pichlmayr R, Williams R. Glucose metabolism in liver transplant recipients treated with FK 506 or cyclosporin in the European multicentre study. *Transpl Int.* 1994;7 Suppl 1:S11-4.

62. Berenguer M, Ferrel L, Warson J, Prieto M, Kim M, Rayon M, Cordoba J, Herola A, Ascher N, Mir J, Berenguer J, Wright TL. HCV related fibrosis progression following liver transplantation: increase in recent years. *J Hepatol* 2000; 32: 673 -84.

63. European FK506 Multicentre Liver Study Group. Randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. *Lancet* 1994; 344: 423-28.

64. The US Multicenter FK506 Liver Study Group. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *NEJM* 1994; 331:1110-5.

65. Abe T, Onoe T, Tahara H, Tashiro H, Ishiyama K, Ide K, Ohira M, Ohdan H. Risk factors for development of new-onset diabetes mellitus and progressive impairment of glucose metabolism after living-donor liver transplantation. *Transplant Proc.* 2014 Apr;46(3):865-869.

66. Wiesner R, Rabkin J, Klintmalm G, McDiarmid S, Langnas A, Punch J, McMaster P, Kalayoglu M, Levy G, Freeman A, Bismuth H, Neuhaus P, Mamelok R, Wang W: A randomized double-blind comparative study of mycophenolate mofetil and azathioprine in combination with cyclosporine and corticosteroids in primary liver transplant recipients. *Liver Transplantation* 2001; 7:442-450.

67. Wiesner RH, Shorr JS, Steffen BJ, Chu AH, Gordon RD, Lake JR. Mycophenolate mofetil combination therapy improves long-term outcomes after liver transplantation in patients with and without hepatitis C. *Liver Transpl.* 2005 Jul;11(7):750-9.

68. Fisher RA, Stone JJ, Wolfe LG et al. Four-year follow-up of a prospective randomized trial of mycophenolate mofetil with cyclosporine microemulsion or tacrolimus following liver transplantation. *Clin Transplant.* 2004 Aug;18(4):463-72.

69. Harding MW, Galat A, Uehling DE, Schreiber SL. A receptor for the

immunosuppressant FK506 is a cis-trans peptidyl-prolyl isomerase. *Nature*. 1989 Oct 26;341(6244):758-60

70. Watanabe Y, Sato M, Abe Y, Yamamoto T, Kashu Y, Horiuchi A, Hamada Y, Nakata T, Lee T, Kawachi K. Enteric absorption of FK 506: estimation by a block liver perfusion technique in rats. *Transplant Proc*. 1998 Nov;30(7):3777-8

71. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, McMichael J, Lever J, Burckart G, Starzl T. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet*. 1995 Dec;29(6):404-30

72. Wallemacq PE, Verbeeck RK. Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients *Clin Pharmacokinet*. 2001;40(4):283-95.

73. Moller A, Iwasaki K, Kawamura A, Teramura Y, Shiraga T, Hata T, Schafer A, Undre NA. The disposition of ¹⁴C-labeled tacrolimus after intravenous and oral administration in healthy human subjects. *Drug Metab Dispos*. 1999 Jun;27(6):633-6

74. Ransom JT. Mechanism of action of mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit* 1995; 17:681- 684.

75. Bullingham et al. Pharmacokinetics of Mycophenolate Mofetil (RS61443): a short review.. *Transplant Proc* 1996; 28:925-5

76. Shipkova et al. Identification of glucoside and carboxyl-linked glucuronide conjugates of Mycophenolic acid in plasma of transplant recipients treated with Mycophenolate Mofetil. *Br J Pharmacol* 1999; 126:1075-82

77. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics-drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med*. 2003 Feb 6;348(6):538-49

78. Hesselink DA, van Gelder T, van Schaik RH. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: one step closer toward individualized immunosuppression? *Pharmacogenomics*. 2005 Jun;6(4):323-37.

79. Nebert DW, Russell DW. Clinical importance of the cytochromes P450. *Lancet*. 2002 Oct 12;360(9340):1155-62.

80. Wojnowski L. Genetics of the variable expression of CYP3A in humans. *Ther Drug Monit*. 2004 Apr;26(2):192-9.

81. Shimada T, Yamazaki H, Mimura M, Inui Y, Guengerich FP. Interindividual variations in human liver cytochrome P-450 enzymes involved in the oxidation of drugs, carcinogens and toxic chemicals: studies with liver microsomes of 30 Japanese and 30 Caucasians. *J Pharmacol Exp Ther*. 1994 Jul;270(1):414-23

82. Wilkinson GR. Drug metabolism and variability among patients in drug response. *NEJM* 2005;352;2211-2221.

83. Ma MK, Woo MH, McLeod HL. Bases genéticas del metabolismo de fármacos. *Am J Health-Syst Pharm*. Ed. Esp. 2003;2:87-95.

84. Wojnowski L. Genetics of the variable expression of CYP3A in humans. *Ther Drug Monit*. 2004 Apr;26(2):192-9.

85. Kashuba ADM, Bertino JS Jr. Mechanisms of drug interactions. En: Piscitelli SC, Rodvold KA, Eds. *Drug interactions in infectious diseases*. Totowa, New Jersey:Humana Press, 2001:13-38.

86. Bertz RJ, Granneman GR. Use of in vitro and in vivo data to estimate the likelihood of metabolic pharmacokinetic interactions. *Clin Pharmacokinet* 1997;32:210-258.

87. Thummel KE, Kunze KL, Shen DD. Enzyme-catalyzed processes of first-pass hepatic and intestinal drug extraction. *Adv Drug Deliv Rev* 1997;27:99-127.
88. Soldner A, Christians U, Susanto M, Wachter VJ, Silverman JA, Benet LZ. Grapefruit juice activates P-glycoprotein-mediated drug transport. *Pharm Res* 1999;16:478-485.
89. Willson TM, Kliewer SA. PXR, CAR and drug metabolism. *Nat Rev drug discov* 2002;1:259-266.
90. Borst P, Elferink RO. Mammalian ABC transporters in health and disease. *Annu Rev Biochem* 2002;71:537-592.
91. Thummel KE, Wilkinson GR. In vitro and in vivo drug interactions involving human CYP3A. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 1998;38:389-430.
92. Ludden TM. Pharmacokinetic interactions of the macrolide antibiotics. *Clin Pharmacokinet* 1985;10:63-79.
93. Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB, Hsiao HL, Turgeon DK, Schmiedlin-Ren P, Brown MB, Guo W, Rossi SJ, Benet LZ, Watkins PB. Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther.* 1997 Sep;62(3):248-60.
94. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He YQ, Klein K, Nuessler AC, Neuhaus P, Klattig J, Eiselt R, Koch I, Zibat A, Brockmoller J, Halpert JR, Zanger UM, Wojnowski L. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics.* 2001 Dec;11(9):773-9.
95. Fredericks S, Holt DW, MacPhee IA. The pharmacogenetics of immunosuppression for organ transplantation: a route to individualization of drug administration. *Am J Pharmacogenomics.* 2003;3(5):291-301.
96. Min DI, Ellingrod VL. Association of the CYP3A4*1B 5'-flanking region polymorphism with cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther Drug Monit.* 2003 Jun;25(3):305-9.
97. Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, van der Werf M, Gregoor PJ, Lindemans J, Weimar W, van Gelder T. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and Tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther.* 2003 Sep;74(3):245-54.
98. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, Watkins PB, Daly A, Wrighton SA, Hall SD, Maurel P, Relling M, Brimer C, Yasuda K, Venkataramanan R, Strom S, Thummel K, Boguski MS, Schuetz E. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet.* 2001 Apr;27(4):383-91.
99. MacPhee IA, Fredericks S, Holt DW. Does pharmacogenetics have the potential to allow the individualisation of immunosuppressive drug dosing in organ transplantation? *Expert Opin Pharmacother.* 2005 Dec;6(15):2593-605.
100. van Schaik RH, van der Heiden IP, van den Anker JN, Lindemans J. CYP3A5 variant allele frequencies in Dutch Caucasians. *Clin Chem.* 2002 Oct;48(10):1668-71
101. MacPhee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, Goldberg L, Holt DW. The influence of pharmacogenetics on the time to achieve target Tacrolimus concentrations after kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2004 Jun;4(6):914-9.

102. Min DI, Ellingrod VL, Marsh S, McLeod H. CYP3A5 polymorphism and the ethnic differences in cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther Drug Monit.* 2004 Oct;26(5):524-8.
103. Yates CR, Zhang W, Song P, Li S, Gaber AO, Kotb M, Honaker MR, Alloway RR, Meibohm B. The effect of CYP3A5 and MDR1 polymorphic expression on cyclosporine oral disposition in renal transplant patients. *J Clin Pharmacol.* 2003 Jun;43(6):555-64.
104. Thervet E, Anglicheau D, King B, Schlageter MH, Cassinat B, Beaune P, Legendre C, Daly AK. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on Tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients.
105. Haufroid V, Mourad M, Van Kerckhove V, Wawrzyniak J, De Meyer M, Eddour DC, Malaise J, Lison D, Squifflet JP, Wallemacq P. 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 Mar;14(3):147-54.
106. Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, Li Z, Ohyama C, Sato K, Suzuki T, Habuchi T, Kato T. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of Tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2004 Oct 27;78(8):1182-7.
107. Zhang X, Liu ZH, Zheng JM, Chen ZH, Tang Z, Chen JS, Li LS. Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on Tacrolimus concentration in the early stage after renal transplantation. *Clin Transplant.* 2005 Oct;19(5):638-43.
108. Zheng H, Webber S, Zeevi A, Schuetz E, Zhang J, Bowman P, Boyle G, Law Y, Miller S, Lamba J, Burckart GJ. Tacrolimus dosing in pediatric heart transplant patients is related to CYP3A5 and MDR1 gene polymorphisms. *Am J Transplant.* 2003 Apr;3(4):477-83.
109. Zheng H, Zeevi A, Schuetz E, Lamba J, McCurry K, Griffith BP, Webber S, Ristich J, Dauber J, Iacono A, Grgurich W, Zaldonis D, McDade K, Zhang J, Burckart GJ. Tacrolimus dosing in adult lung transplant patients is related to cytochrome P4503A5 gene polymorphism. *J Clin Pharmacol.* 2004 Feb;44(2):135-40.
110. Macphee IA, Fredericks S, Mohamed M, Moreton M, Carter ND, Johnston A, Goldberg L, Holt DW. Tacrolimus pharmacogenetics: the CYP3A5*1 allele predicts low dose-normalized Tacrolimus blood concentrations in whites and South Asians. *Transplantation.* 2005 Feb 27;79(4):499-502.
111. Macphee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, Goldberg L, Holt DW. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation.* 2002 Dec 15;74(11):1486-9.
112. Yu S, Wu L, Jin J, Yan S, Jiang G, Xie H, Zheng S. Influence of CYP3A5 gene polymorphisms of donor rather than recipient to Tacrolimus individual dose requirement in liver transplantation. *Transplantation.* 2006 Jan 15;81(1):46-51
113. Wei-lin W, Jing J, Shu-sen Z, Li-hua W, Ting-bo L, Song-feng Y, Sheng Y. Tacrolimus dose requirement in relation to donor and recipient ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms in Chinese liver transplant patients. *Liver Transpl.* 2006 May;12(5):775-80.
114. Court MH and Greenblatt DJ. "Molecular genetic basis for deficient acetaminophen glucuronidation by cats: UGT1A6 is a pseudogene, and evidence for

- reduced diversity of expressed hepatic UGT1A isoforms". *Pharmacogenetics*. 2000; 10 (4): 355–69
115. Bock K, Köhle C. "UDP-glucuronosyltransferase 1A6: structural, functional, and regulatory aspects". *Methods Enzymol*. 2005; 400: 57–75.
116. Picard N, Ratanasavanh D, Premaud A, Le Meur Y, Marquet P Identification of the UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in mycophenolic acid phase II metabolism. *Drug Metab Dispos*. 2005 Jan;33(1):139-46. Epub 2004 Oct 6
117. Kuypers DR, Naesens M, Vermeire S, Vanrenterghem Y. The impact of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) gene promoter region single-nucleotide polymorphisms T-275A and C-2152T on early mycophenolic acid dose-interval exposure in de novo renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther*.
118. Noguchi K., Kawahara H., Kaji A., Katayama K., Mitsuhashi J. y Sugimoto Y. (2009). "Substrate-dependent bidirectional modulation of p-glycoprotein-mediated drug resistance by erlotinib." *Cancer Sci* 100(9): 1701-1707.
119. Sarkadi B., Homolya L., Szakacs G. y Varadi A. (2006). "Human multidrug resistance abcb and abcg transporters: Participation in a chemoinmunity defense system." *Physiol Rev* 86(4): 1179-1236.
120. Higgins C.F. "ABC transporters: From microorganisms to man." *Annu Rev Cell Biol*. 1992; 8:67-113.
121. Dano K. "Active outward transport of daunomycin in resistant ehrlich ascites tumor cells." *Biochim Biophys Acta*. 1973; 323(3): 466-483.
122. Fukuda Y. y Schuetz J.D. "Abc transporters and their role in nucleoside and nucleotide drug resistance." *Biochem Pharmacol*. 2012.
123. Moussatova A., Kandt C., O'Mara M.L. y Tieleman D.P. (2008). "Atp-binding cassette transporters in escherichia coli." *Biochim Biophys Acta* 1778(9): 1757-1771.
124. Stefkova J., Poledne R. y Hubacek J.A. "Atp-binding cassette (abc) transporters in human metabolism and diseases." *Physiol Res*. 2004; 53(3): 235-243.
125. Chen Z.S. y Tiwari A.K. "Multidrug resistance proteins (mrps/abccs) in cancer chemotherapy and genetic diseases." *FEBS J*. 2011; 278(18): 3226-3245.
126. Kim Chiaw P., Eckford P.D. y Bear C.E. "Insights into the mechanisms underlying cfr channel activity, the molecular basis for cystic fibrosis and strategies for therapy." *Essays Biochem*. 2011; 50(1): 233-248.
126. Wolf A., Bauer B. y Hartz A.M. "Abc transporters and the alzheimer's disease enigma." *Front Psychiatry*. 2012; 3: 54.
127. Woodward O.M., Kottgen A. y Kottgen M. (2011). "Abcg transporters and disease." *FEBS J*.2011;278(18): 3215-3225.
128. Cascorbi I. "Role of pharmacogenetics of atp-binding cassette transporters in thepharmacokinetics of drugs." *Pharmacol Ther*. 2006; 112(2): 457-473.
129. Cui Y.J., Cheng X., Weaver Y.M. y Klaassen C.D. "Tissue distribution, genderdivergent expression, ontogeny, and chemical induction of multidrug resistance transporter genes (mdr1a, mdr1b, mdr2) in mice." *Drug Metab Dispos*. 2009; 37(1): 203-210.
130. Schinkel A.H. y Jonker J.W. (2003). "Mammalian drug efflux transporters of the atp binding cassette (abc) family: An overview." *Adv Drug Deliv Rev* 55(1): 3-29.

131. Hebert MF Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and Tacrolimus oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 1997 Sep 15;27(2-3):201-214.
132. Hashida T, Masuda S, Uemoto S, Saito H, Tanaka K, Inui K Pharmacokinetic and prognostic significance of intestinal MDR1 expression in recipients of living-donor liver transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 May;69(5):308-16.
133. Goto M, Masuda S, Saito H, Uemoto S, Kiuchi T, Tanaka K, Inui K. 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 Aug;12(6):451-7.
134. Masuda S, Uemoto S, Hashida T, Inomata Y, Tanaka K, Inui K. Effect of intestinal P-glycoprotein on daily Tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient. *Clin Pharmacol Ther.* 2000 Jul;68(1):98-103.
135. Macphee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, Goldberg L, Holt DW. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation.* 2002 Dec 15;74(11):1486-9.
136. Bonhomme-Faivre L, Devocelle A, Saliba F, Chatled S, Maccario J, Farinotti R, Picard V.MDR-1 C3435T polymorphism influences cyclosporine a dose requirement in liver-transplant recipients. *Transplantation.* 2004 Jul 15;78(1):21-5.
137. Kim RB, Leake BF, Choo EF, Dresser GK, Kubba SV, Schwarz UI, Taylor A, Xie HG, McKinsey J, Zhou S, Lan LB, Schuetz JD, Schuetz EG, Wilkinson GR. Identification of functionally variant MDR1 alleles among European Americans and African Americans. *Clin Pharmacol Ther.* 2001 Aug;70(2):189-99.
138. Macphee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, Goldberg L, Holt DW. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation.* 2002 Dec 15;74(11):1486-9.
139. Anglicheau D, Verstuyft C, Laurent-Puig P, Becquemont L, Schlageter MH, Cassinat B, Beaune P, Legendre C, Thervet E. Association of the multidrug resistance-1 gene single-nucleotide polymorphisms with the Tacrolimus dose requirements in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2003 Jul;14(7):1889-96.
140. Goto M, Masuda S, Kiuchi T, Ogura Y, Oike F, Okuda M, Tanaka K, Inui K. CYP3A5*1-carrying graft liver reduces the concentration/oral dose ratio of tacrolimus in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics.* 2004 Jul;14(7):471-8.
141. Hebert MF, Dowling AL, Gierwatowski C, Lin YS, Edwards KL, Davis CL, Marsh CL, Schuetz EG, Thummel KE. Association between ABCB1 (multidrug resistance transporter) genotype and post-liver transplantation renal dysfunction in patients receiving calcineurin inhibitors. *Pharmacogenetics.* 2003 Nov;13(11):661-74
142. Yamauchi A, Ieiri I, Kataoka Y, Tanabe M, Nishizaki T, Oishi R, Higuchi S, Otsubo K, Sugimachi K. Neurotoxicity induced by Tacrolimus after liver transplantation: relation to genetic polymorphisms of the ABCB1 (MDR1) gene. *Transplantation.* 2002 Aug 27;74(4):571-2.
143. Jorgensen K, Povlsen J, Madsen S, Madsen M, Hansen H, Pedersen A et al. C2 (2-h) levels are not superior to trough levels as estimates of the area under the curve in

tacrolimus-treated renal-transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1487-1490.

144. Noble, S; Markham, A. Cyclosporin:a review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsionbased formulation (Neoral,). *Drugs* 1995; 50: 924-941.

145. Banff schema for grading liver allograft rejection: an international consensus document. *Hepatology* 1997; 25:658.

146. International Working Party. Terminology for hepatic allograft rejection *Hepatology* 1995;22:648-654.

147. Tippner C, Nashan B, Hoshino K, Schmidt-Sandte E, Akimaru K, Boker KH, et al. Clinical and subclinical acute rejection early after liver transplantation: Contributing factors and relevance for the long-term course. *Transplantation* 2001; 72: 1122-8.

148. 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* 1998; 28: 638-45.

149. Gómez-Manero N, Herrero JI, Quiroga J, Sangro B, Pardo F, Cienfuegos JA, et al. Prognostic model for early acute rejection after liver transplantation. *Liver Transpl* 2001; 7: 246-54.

150. Mor E, Solomon H, Gibbs JF, Holman MJ, Goldstein RM, Husberg BS, et al. Acute cellular rejection following liver transplantation: Clinical pathologic features and effect on outcome. *Semin Liver Dis* 1992; 12: 28-40.

151. Hayashi M, Keeffe EB, Krams SM, Martínez OM, Ojogho ON, So SKS, et al. Allograft rejection after liver transplantation for autoimmune liver diseases. *Liver Transpl Surg* 1998; 4: 208-14.

152. Rodríguez-Ariza A, Monrobel A, Martínez-Galisteo E, Alicia Padilla C, Bárcena JA, Fraga E, et al. Factores pronósticos de complicaciones postoperatorias en el trasplante hepático. *Rev Esp Enferm Dig* 2008; 100 (3):129-38.

153. UesugiM,MasudaS,KatsuraT,OikeF,TakadaY,InuiK.Effectof intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics*. 2006;16:119–127.

154. Satoh S, Saito M, Inoue T, et al. CYP3A5*1 allele associated with tacrolimus trough concentrations but not subclinical acute rejection or chronic allograft nephropathy in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2009;65:473–481.

155. Thevert E, Lorient MA, Barbier S, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clin Pharmacol Ther*. 2010;87:721–726.

156. Min SM,Kim SY,Ahn SH,etal.CYP3A501 allele: impactson early acute rejection and graft function in tacrolimus-based renal transplant recipients. *Transplantation*. 2010;90:1394–1400.

157. Provenzani A, Notarbartolo M, Labbozzetta M. et al. Influence of CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms and other factors on tacrolimus dosing in Caucasian liver and kidney transplant patients. *Int J Mol Med*. 2011;28:1093–1102.

158. de Wildt SN, van Schaik RH, Soldin OP, et al. The interactions of age, genetics,

and disease severity on tacrolimus dosing requirements after pediatric kidney and liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*. 2011;67:1231–1241.

159. Gorski JC, Hall SD, Becker P, et al. In vivo effects of interleukin-10 on human cytochrome P450 activity. *Clin Pharmacol Ther*. 2000;67:32–41.

160. Fukudo M, Yano I, Masuda S, et al. Population pharmacokinetic and pharmacogenomic analysis of tacrolimus in pediatric living-donor liver transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;80:331–345.

161. Masuda S, Goto M, Fukatsu S, et al. Intestinal MDR1/ABCB1 level at surgery as a risk factor of acute cellular rejection in living-donor liver transplant patients. *Clin Pharmacol Ther*. 2006;79:90–102.

162. Klupp J, Holt DW, van Gelder T. How pharmacokinetic and pharmacodynamic drug monitoring can improve outcome in solid organ transplant recipient. *Transpl Immunol* 2002; 9:211-4.

163. Rajani V. Dinavahi, Anita Mehrotra, Barbara T. Murphy and Shirish Huprikar. Human immunodeficiency virus and renal transplantation. *Kidney Int* 2009.

164. Patchell R.A. Neurologic Complications of Organ Transplantation and Immunosuppressive Agents *Am Neur* 2014, 911-923

165. Wana Manitsitkul, Erin McCann, Sabrina Lee and Matthew R. Weir. Drug interactions in transplant patients: what everyone should know. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2009, 18:000-000

166. Hara Y, Kawagishi N, Nakanishi W. Prevalence and risk factors of obesity, hypertension, dyslipidemia and diabetes mellitus before and after adult living donor liver transplantation *Hepatol Res* 2015;45(7):764-770.

167. Kuypers DR1, Claes K, Bammens B, Evenepoel P, Vanrenterghem Y. Early clinical assessment of glucose metabolism in renal allograft recipients: diagnosis and prediction of post-transplant diabetes mellitus (PTDM). *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(6):2033-2042.

168. L. Wang, L.H. Liu, W.H. Tong, M.X. Wang and S.C. Lu. Effect of CYP3A5 gene polymorphisms on tacrolimus concentration/dosage ratio in adult liver transplant patients. *Genetics and Molecular Research* 2015 (4): 15148-15157.

169. Shuker N, Bouamar R, van Schaik RH, Clahsen-van Groningen MC, Damman J, Baan CC, van de Wetering J, Rowshani AT, Weimar W, van Gelder T, Hesselink DA. A Randomized controlled trial comparing the efficacy of CYP3A5 genotype-based with bodyweight-based tacrolimus dosing after living donor kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2015 Dec 29 (en prensa)

170. Uesugi M, Kikuchi M, Shinke H, Omura T, Yonezawa A, Matsubara K, Fujimoto Y, Okamoto S, Kaido T, Uemoto S, Masuda S. Impact of cytochrome P450 3A5 polymorphism in graft livers on the frequency of acute cellular rejection in living-donor liver transplantation. *Pharmacogenet Genomics*. 2014 Jul;24(7):356-366.

171. Gómez-Bravo MA¹, Salcedo M, Fondevila C, Suarez F, Castellote J, Rufian S, Pons JA, Alamo JM, Millán O, Brunet M. 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 Nov;53(11):1146-1154.
172. V. Aguilera y M. Berenguer. Protocolo diagnóstico y tratamiento del paciente con trasplante hepático reciente y alteración de las pruebas de función hepática. *Medicine*. 2008;10(12):817-20.
173. Berenguer M, Wrigh TL. Long term management and recurrence of primary liver disease. Weinstein WM, Hawkey CJ, Bosch J, editors. *Clinical gastroenterology and hepatology: the Modern Clinician's guide*. Elsevier Science; 2005. p. 793-800.
174. Ji E¹, 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 Oct 27;94(8):866-72.
175. Yanagimachi M, Naruto T, Tanoshima R, Kato H, Yokosuka T, Kajiwara R, Fujii H, Tanaka F, Goto H, Yagihashi T, Kosaki K, Yokota S. Influence of CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms on calcineurin inhibitor-related neurotoxicity after hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Transplant*. 2010 Nov-Dec;24(6):855-861.
176. Watt KD¹, 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 Jun;10(6):1420-1427.
177. Hricik D, Lautman J, Bartucci MR, Moir EJ, Mayes JT, Schulak JA. Variable effects of steroid withdrawal on blood pressure reduction in cyclosporine-treated renal transplant recipients *Transplantation*. 1992 Jun;53(6):1232-1235.
178. Neal D, Gimson A, Gibbs P, Alexander G. Beneficial effects of converting liver transplant recipients from cyclosporine to tacrolimus on blood pressure, serum lipids and weight. *Liver Transpl*. 2001 Jun;7(6):533-539.
179. Reding R. Steroid withdrawal in liver transplantation: benefits, risks, and unanswered questions. *Transplantation*. 2000 Aug 15;70(3):405-411.
180. Stockmann M, Steinmüller T, Noiting S, et al. Posttransplant diabetes mellitus after orthotopic liver transplantation. *Transplant Proc*. 2002 Aug;34(5):1571-1572 .
181. Navasa M, Bustamante J, Marroni C, et al. Diabetes mellitus after liver transplantation: prevalence and predictive factors. *J Hepatol*. 1996 Jul;25(1):64-71.
181. Blanco JJ, Herrero JI, Quiroga J, Sangro B, Gómez-Manero N, Pardo F, et al. Liver transplantation in cirrhotic patients with diabetes mellitus: mid-term results, survival and adverse events. *Liver Transpl*. 2001 Mar;7(3):226- 233.
182. Chhatrala R, Siddiqui MB, Stravitz RT, Driscoll C, Sanyal A, Sargeant C, Luketic V, Sharma A, Sterling R, Matherly S, Puri P, Siddiqui MS. Evolution of serum atherogenic risk in liver transplant recipients: Role of lipoproteins and metabolic and

inflammatory markers. *Liver Transpl.* 2015 May;21(5):623-630.

183. Tavira Iglesias, Beatriz, Coto García, Eliecer. Farmacogenética del Tacrolimus y riesgo de diabetes de novo en trasplantados renales. *Genética clínica .Investigación en medicina.* Tesis doctoral por la Universidad de Oviedo.

10. Anexos

Anexo 1.- Formulario de consentimiento informado

Yo, (nombre y apellidos) _____

He leído la hoja de información sobre el estudio denominado “*Impacto de los polimorfismos genéticos ABCB1 y CYP3A5 en los requerimientos de dosis de tacrolimus y micofenolato mofetil en el rechazo agudo en receptores caucásicos de trasplante hepático*”

→ **Se me ha informado ampliamente.**

→ **He podido hacer preguntas sobre el estudio.**

→ **He hablado con el doctor** _____
(nombre del investigador)

→ **Comprendo que mi participación es voluntaria.**

→ **Comprendo que puedo retirarme del estudio:**

- ✓ **Cuando quiera**
- ✓ **Sin tener que dar explicaciones**
- ✓ **Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos**

Entiendo que al acceder a participar en este estudio, consiento a la recogida, tratamiento, cesión y transferencia (si procede) de mis datos personales con respeto del anonimato para fines de atención sanitaria y/o investigación médica

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y que mis datos puedan ser utilizados con fines de investigación. Recibiré una copia firmada de esta hoja de información al paciente y consentimiento informado.

Firma del paciente _____ **Fecha:** _____

Día / Mes / Año

Firma del investigador: _____ **Fecha:** _____

Día / Mes / Año

Anexo 2.- Fármacos que interaccionan con Tacrolimus

Clotrimazol	Gestodén	Quinidina
Fluconazol	Zumo de pomelo	Tamoxifeno
Ketoconazol	Itraconazol	Triacetiloleandomicina
Claritromicina	Josamicina	Verapamilo/Diltiazem
Eritromicina	Lidocaína	Fenobarbital
Danazol	Mefenitoína	Fenitoína
Rifampicina	Moconazol	Carbamazepina
Bromocriptina	Midazolam	Metamizol
Dapsona	Noretindrona	Isoniazida
Ergotamina		Anticonceptivos esteroideos orales
Etinilestradiol		AINE

Anexo 3.- Esquema de Consenso Internacional de Banff

La siguiente nomenclatura y la clasificación del rechazo de aloinjerto de hígado se aplica sólo al rechazo agudo (celular). El rechazo predominantemente humoral (por ejemplo, en casos de incompatibilidad de grupo sanguíneo ABO) y el rechazo crónico no están incluidos en este esquema. Deben observarse los aspectos siguientes, antes de la aplicación de este sistema:

En primer lugar, debe evaluarse la biopsia para comprobar su idoneidad. En general, al menos deben presentarse cuatro tríadas. Sin embargo, pueden estar presentes hallazgos diagnósticos, incluso cuando se identifican menos de cuatro tríadas. Por consiguiente, la idoneidad debe determinarse según el juicio del patólogo que informe.

Cada biopsia debe clasificarse según la presencia o ausencia de rechazo agudo, basándose en los criterios expuestos en la tabla A. Después, deben puntuarse los hallazgos histopatológicos individuales enumerados en la tabla B hasta llegar a un índice de actividad de rechazo para cada biopsia.

No es infrecuente que en una biopsia esté presente más de un proceso patológico. Por ejemplo, inmediatamente tras el trasplante, pueden observarse juntos lesión de conservación y rechazo agudo. Cuando en una biopsia se produce más de un proceso patológico, el patólogo debe enumerar primero la que considere más importante, seguida por la siguiente más importante, y así sucesivamente.

Tabla A: Clasificación de rechazo agudo de aloinjerto de hígado.

Se ha establecido la evaluación global del grado de rechazo realizado sobre una revisión de biopsia y tras el diagnóstico de rechazo

Evaluación global	Criterios
Ausencia de rechazo	Ausencia de infiltrado o inflamación relacionado con una causa que no es rechazo (por ejemplo, hepatitis)
Indeterminado	Infiltrado inflamatorio portal que no cumple los criterios para el diagnóstico de rechazo agudo (véase "leve", a continuación)
Leve	Infiltrado de rechazo en una minoría de tríadas, que generalmente es leve, y está confinado en los espacios portales más, al menos, uno de los siguientes: 1. Lesión clara del conducto biliar o 2. Inflamación subendotelial de la vénula hepática o portal.
Moderado	Igual que antes, infiltrado de rechazo, que se extiende a la mayoría o a todas las tríadas.
Intenso	Igual que para la moderada, con extensión a las áreas periportales e inflamación perivenular de moderada a grave que se extiende al interior del parénquima hepático y que está asociada con necrosis de hepatocitos perivenulares.

Tabla B: Índice de actividad de rechazo (RAI).

Criterios que pueden usarse para puntuar las biopsias de aloinjerto de hígado con rechazo agudo, tal como se define en el Documento de Consenso Mundial sobre Gastroenterología

Categoría	Criterios	Puntuación
Inflamación portal	Inflamación principalmente linfocítica que afecta, pero no se extiende apreciablemente, a una minoría de las tríadas	1
	Expansión de la mayoría o de todas las tríadas, mediante un infiltrado mezclado que contiene linfocitos con blastos, neutrófilos y eosinófilos ocasionales.	2
	Expansión notable de la mayoría o de todas las tríadas mediante un infiltrado mezclado que contiene numerosos blastos y eosinófilos con extensión inflamatoria al interior del peránquima periportal	3
Lesión de inflamación del conducto biliar	Una minoría de conductos están revestidos e infiltrados por células inflamatorias y sólo muestran leves cambios reactivos, tal como un aumento de la razón citoplásmica nuclear de las células epiteliales	1
	La mayoría o todos los conductos están infiltrados por células inflamatorias. Más de un conducto ocasional muestra cambios degenerativos, tales como pleomorfismo nuclear, polaridad alterada y vacuolización citoplasmática del epitelio	2
	Igual que para 2, mostrando la mayoría o todos los conductos cambios degenerativos o interrupción focal de la luz	3
Inflamación endotelial venosa	Infiltración linfocítica subendotelial que afecta a algunas, pero no a una mayoría, de las vénulas portales y/o hepáticas	1
	Infiltración subendotelial que afecta a la mayoría o a todas las vénulas portales o hepáticas	2
	Igual que para 2, con inflamación perivenular de moderada a intensa que se extiende al interior del parénquima perivenular y que está asociada con necrosis de hepatocitos perivenulares	3
PUNTUACIÓN TOTAL (Suma de los componentes) =		

Tabla C: Diagnóstico de rechazo ductopénico (crónico) del injerto

Criterios	Grado/fase
Ausencia de evidencia de rechazo crónico	Ninguna
Atrofia/picnosis del conducto biliar (espacio nuclear irregular, conducto sólo parcialmente revestido por células epiteliales, transformación eosinofílica del citoplasma) en más de un conducto ocasional, con pérdida del conducto en <50%	Concuera con las fases iniciales del rechazo crónico
Pérdida del conducto biliar en >50% de las tríadas, normalmente acompañada por colestasis, células espumosas sinusoidales y/o esclerosis perivenular.	Concuera con el rechazo crónico
Si se diagnostica cualquiera de las categorías anteriores del rechazo crónico, rellene lo siguiente:	
Número total de tríadas presentes en la biopsia: _____	
Número total de tríadas sin conductos biliares: _____	

Anexo 4.- Notificación de Sospecha de Reacción Adversa

NOTIFICACIÓN DE SOSPECHA DE REACCIÓN ADVERSA MEDICAMENTOS AUTORIZADOS	∅. Nº DE NOTIFICACIÓN DEL LABORATORIO
	∅ a. Nº DE NOTIFICACIÓN DEL SEFV
	¿CONOCE SI ESTA REACCIÓN ADVERSA HA SIDO COMUNICADA POR OTRA VÍA? <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> SI (indicar) : <input type="checkbox"/> TARJETA AMARILLA <input type="checkbox"/> PUBLICACIÓN

I. INFORMACIÓN SOBRE LA REACCIÓN ADVERSA

1. INICIALES DEL PACIENTE	1a. PAÍS	2. FECHA DE NACIMIENTO			2a. EDAD	3. SEXO	3a. PESO	3b. TALLA	4-6. FECHA DE INICIO DE LA REACCIÓN		
		DÍA	MES	AÑO		<input type="checkbox"/> HOMBRE <input type="checkbox"/> MUJER			DÍA	MES	AÑO
7. DESCRIPCIÓN DE LA(S) REACCIÓN(ES) ADVERSA(S) (Incluyendo resultados relevantes de exploración o de laboratorio, y la fecha de finalización, si procede).									8-13b. CRITERIOS DE GRAVEDAD/ DESENLACE <input type="checkbox"/> FALLECIMIENTO <input type="checkbox"/> LA VIDA DEL PACIENTE HA ESTADO EN PELIGRO <input type="checkbox"/> HOSPITALIZACIÓN <input type="checkbox"/> PROLONGACIÓN HOSPITALIZACIÓN <input type="checkbox"/> INCAPACIDAD PERMANENTE O SIGNIFICATIVA <input type="checkbox"/> RA CLINICAMENTE RELEVANTE <input type="checkbox"/> PERSISTENCIA DE LA REACCIÓN ADVERSA <input type="checkbox"/> RECUPERACIÓN		

II. INFORMACIÓN DEL MEDICAMENTO SOSPECHOSO DEL LABORATORIO

14. MEDICAMENTO SOSPECHOSO	15. DOSIS DIARIA	16. VÍA	17. MOTIVO DE LA PRESCRIPCIÓN	18. FECHAS DE INICIO	FINAL	19. DURACIÓN DEL TRATAMIENTO
20. ¿REMITIÓ LA REACCIÓN AL SUSPENDER LA MEDICACIÓN? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NO PROCEDE		20a. ¿REMITIÓ LA REACCIÓN AL REDUCIR LA DOSIS? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NO PROCEDE		21. ¿REAPARECIÓ LA REACCIÓN AL ADMINISTRAR DE NUEVO LA MEDICACIÓN? <input type="checkbox"/> SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> NO PROCEDE		

III. MEDICAMENTOS CONCOMITANTES E HISTORIA CLÍNICA

22. MEDICAMENTOS CONCOMITANTES (Márquese con un asterisco el o los medicamentos sospechosos)	22a. DOSIS DIARIA	22b. VÍA	22c. FECHAS DE INICIO	FINAL	22d. MOTIVO DE LA PRESCRIPCIÓN
23. DATOS IMPORTANTES DE LA HISTORIA CLÍNICA (ej. diagnósticos, alergias, embarazos, etc.)					

IV. INFORME SOBRE EL LABORATORIO FARMACÉUTICO Y PROCEDENCIA DE LA NOTIFICACIÓN

24a. NOMBRE DE RFV Y DEL LABORATORIO		TEL.:		24e. EVALUACIÓN DE LA CAUSALIDAD POR PARTE DEL RFV (Opcional)	
		FAX:			
24c. FECHA DE RECEPCIÓN EN EL LABORATORIO	24d. FUENTE DE INFORMACIÓN <input type="checkbox"/> ESTUDIO POSTAUTORIZACIÓN <input type="checkbox"/> PUBLICACIÓN <input type="checkbox"/> PROFESIONAL SANITARIO / ESPONTANEA			24b. CÓDIGO DEL LABORATORIO (Nº DE LA AEM)	25a. TIPO DE INFORME <input type="checkbox"/> INICIAL <input type="checkbox"/> SEGUIMIENTO
24f. FECHA DE NOTIFICACIÓN AL SEFV	INICIALES PROFESIÓN:			25b. ORIGEN <input type="checkbox"/> HOSPITALARIO <input type="checkbox"/> EXTRAHOSPITALARIO CIUDAD / PROVINCIA	

INSTRUCCIONES GENERALES

1. Este formulario se utilizará solamente para comunicar las sospechas de reacciones adversas (RA) graves e inesperadas que ocurran con medicamentos en investigación. Se considera medicamento en investigación tanto el producto específicamente investigado como el control.
2. Las sospechas de reacciones adversas mortales o que entrañen riesgo vital (aquellas que de no haber mediado una intervención terapéutica inmediata hubieran supuesto la muerte del paciente) se comunicarán en el plazo máximo de 7 días naturales; si no se dispusiera de toda la información, ésta podrá completarse en el plazo adicional de 8 días. Las demás sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas se comunicarán en el plazo máximo de 15 días.
3. Cuando el espacio disponible sea insuficiente, se añadirá una hoja de información adicional, correctamente identificada con el nombre del promotor y el número asignado a la notificación. En esta información adicional podrá hacerse constar la evaluación de la causalidad realizada por el técnico que informa.

INSTRUCCIONES ESPECÍFICAS

1. El código de protocolo es el asignado por el promotor para identificar el estudio. El número de notificación del promotor es el que éste utiliza para su archivo. Cuando se trate de información de seguimiento se utilizará el mismo número o bien, si se modifica, se indicará el número de la notificación inicial. Se dejará sin rellenar el espacio "Nº de notificación" que aparece sombreado.
2. La edad se pondrá en años, meses, semanas o días según convenga, pero siempre indicándolo. Si no se conoce con precisión la edad debe referirse, al menos, el grupo de edad al que pertenece (p. ej.: lactante, niño, adolescente, adulto, anciano).
3. Se describirá la reacción adversa en forma completa, indicando la fecha de finalización de la misma e incluyendo los resultados de las exploraciones complementarias o pruebas de laboratorio que se consideren de interés. A esta notificación podrán acompañarse cuantos informes se estimen convenientes para la adecuada interpretación del cuadro clínico sospechoso de ser una reacción adversa.
4. Las categorías no son mutuamente excluyentes. La asistencia en un Servicio de Urgencias de un Hospital inferior a 24 horas, no se considerará hospitalización.
5. Los medicamentos en investigación se identificarán a ser posible por su nombre genérico (DOE o DCI), indicando cuando esté disponible el nombre comercial, o en su defecto, por el nombre propuesto o código de laboratorio para el producto.
6. En caso de que la administración no sea diaria se intentará describirla con alguna de las siguientes posibilidades: cíclica, semanal, mensual, anual o número de veces que se ha utilizado (poniendo en este caso la dosis de cada toma, no la total).
7. Se hará constar el proceso patológico del paciente al que va destinado el producto en investigación, o bien "voluntario sano" en caso de tratarse de tal.
8. Se hará constar la duración del tratamiento hasta el inicio de la reacción adversa.
9. Se indicará explícitamente si no se han tomado fármacos concomitantes. En el caso de considerar sospechoso alguno o algunos de los fármacos concomitantes se marcarán con un asterisco (p.ej.: * AMOXICILINA). Se excluirán los medicamentos utilizados para tratar la reacción adversa.



CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

CERTIFICA

1º. Que el CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío en su reunión del día 30/10/2015, acta 09/2015 ha evaluado la propuesta del promotor referida al estudio:

Título: Impacto de los polimorfismos genéticos ABCB1 y CYP3A5 en los requerimientos de dosis de tacrolimus en el rechazo agudo en receptores caucásicos de trasplante hepático

Código Promotor: TINOCO_1 **Código Interno:** 0425-N-15
Promotor: Investigador

1º. Considera que

- El estudio se plantea siguiendo los requisitos de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y su realización es pertinente.
- Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.
- Son adecuados tanto el procedimiento para obtener el consentimiento informado como la compensación prevista para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el estudio.
- El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.
- La capacidad de los Investigadores y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

2º. Por lo que este CEI emite un **DICTAMEN FAVORABLE**.

3º. Este CEI acepta que dicho estudio sea realizado en los siguientes CEI/Centros por los Investigadores:

CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío Dr. José Tinoco González
*(Cirugía General y Aparato Digestivo) Hospital
Universitario Virgen del Rocío*

Lo que firmo en Sevilla, a 26 de enero de 2016

Fdo:

Dr. Víctor Sánchez Margalet
Presidente del CEI de los Hospitales Universitarios Virgen Macarena y Virgen del Rocío

**ACUERDO QUE SE EMITE CON RELACION AL ESTUDIO OBSERVACIONAL
POSTAUTORIZACIÓN 0026/07 EPA EN LA SESION CELEBRADA EL 27 DE
NOVIEMBRE DE 2007**

Protocolo: 0026/07 EPA
Promotor: S.A.T.O.T.
Código: SAT-TAC-2007-01
Título: Estudio prospectivo para evaluar la prevalencia y relevancia clínica de los polimorfismos en los genes codificadores de enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de tacrolimus y mofetil micofenolato, en pacientes portadores de un trasplante hepático primario. Estudio LIVERGEN

Acuerdo: Informe Favorable

Sevilla, 28 de noviembre de 2007

El Secretario del Comité Autonómico
De Ensayos Clínicos de Andalucía

Fdo: Antonio Velázquez Martínez



DICTAMEN UNICO EN LA COMUNIDAD AUTONOMA DE ANDALUCÍA

ANTONIO VELÁZQUEZ MARTÍNEZ, COMO SECRETARIO DEL COMITÉ AUTONÓMICO DE ENSAYOS CLINICOS DE ANDALUCÍA

CERTIFICA

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor Sociedad Andaluza de Trasplantes de Organos y tejidos (S.A.T.O.T.), código de protocolo SAT-TAC-2007-01, para que se realice el estudio postautorización observacional titulado:

Estudio prospectivo para evaluar la prevalencia y relevancia clínica de los polimorfismos en los genes codificadores de enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de tacrolimus y mofetil micofenolato, en pacientes portadores de un trasplante hepático primario. Estudio LIVERGEN
Protocolo y Hoja de información al paciente y Consentimiento informado: versión 25 de enero de 2007

y considera que:

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto.

Es adecuado el procedimiento para obtener el consentimiento informado.

Y que este Comité considera, que dicho estudio puede ser realizado en los Centros de la Comunidad Autónoma de Andalucía que se relacionan:

Centro	Investigador Principal
H. U. Reina Sofía --Córdoba-	Dr. Sebastián Rufian
H. Regional Carlos Haya --Málaga-	Dr. Juan Rodrigo
H. U. Virgen del Rocío --Sevilla-	Dr. Gómez Bravo
H. U. Virgen de las Nieves --Granada-	Dr. Rafael Martín Vivaldi

para lo cual corresponde a la Dirección del Centro correspondiente determinar si la capacidad y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio.

Lo que firmo en **Sevilla**, a **veintisiete de noviembre de dos mil siete**



ANTONIO VELÁZQUEZ MARTÍNEZ, COMO SECRETARIO DEL COMITÉ AUTNÓMICO DE ENSAYOS CLINICOS DE ANDALUCÍA

CERTIFICA

Que este Comité ha ponderado y evaluado en sesión celebrada el veintisiete de noviembre de dos mil siete (Acta 10/07), y a propuesta del Promotor Sociedad Andaluza de Trasplantes de Organos y tejidos (S.A.T.O.T.), código de protocolo SAT-TAC-2007-01, para que se realice el estudio postautorización observacional titulado:

Estudio prospectivo para evaluar la prevalencia y relevancia clínica de los polimorfismos en los genes codificadores de enzimas de biotransformación y proteínas transportadoras de tacrolimus y mofetil micofenolato, en pacientes portadores de un trasplante hepático primario. Estudio LIVERGEN

Protocolo y Hoja de información al paciente y Consentimiento informado: versión 25 de enero de 2007

Que a dicha sesión asistieron los siguientes integrantes del Comité:

Sr. D. Mariano Aguayo Canela (Presidente, Medicina Interna, Hosp. Univ. Virgen Macarena, Sevilla)
Sr. D. Fernando Antúnez Estévez (Vicepresidente, Médico- Lcdo. Derecho, Delegación Prov. de Salud, Granada)
Sr. D. Antonio Velázquez Martínez (Secretario, Medicina Preventiva y Salud P. Consejería de Salud)
Sr. D. Francisco Javier Bautista Paloma (Vocal, Farmacia Hospitalaria, H. U. Virgen del Rocío, Sevilla)
Sra. D^a Encarnación Blanco Reina (Vocal, Farmacóloga Clínica, Universidad de Málaga)
Sr. D. Juan Ramón Castillo Ferrando (Vocal, Farmacología Clínica, H. U. Virgen del Rocío, Sevilla)
Sra D^a Celia Castillo Valverde (Vocal, Ldo. En Derecho, compl., Hospitalario Torrecárdenas, Almería)
Sra. D^a. Lourdes de la Colina Fernández (Vocal, Psiquiatría, Hosp. Juan Ramón Jiménez, Huelva)
Sr. D. Miguel Delgado Rodríguez (Vocal, Ajeno a la Institución, Univ. de Jaén, Médico Med. Preventiva)
Sr. D. Juan Carlos Domínguez Camacho (Vocal, Farmacéutico, Distrito Sanitario Sevilla)
Sra. D^a. Amalia Palacios Eito (Vocal, Oncología Radioterápica, H. U. Reina Sofía, Córdoba)
Sr. D^a. María Ángeles Raseró Díaz (Vocal, Ajeno a las profesiones sanitarias, Consejería de Salud)
Sra. D^a Susana Rodríguez Domínguez (Vocal, Médico de Familia, D.S. Sevilla, Sevilla)
Sr. D. Pedro Sánchez Rovira (Vocal, Oncología Médica, Hosp., Ciudad de Jaén, Jaén)
Sr. D. Rafael Vázquez García (Vocal, Cardiología, Hosp. Univ. de Valme, Sevilla.)

Que dicho Comité, está constituido y actúa de acuerdo con la normativa vigente y las directrices de la Conferencia Internacional de Buena Práctica Clínica.

Lo que firmo en **Sevilla**, a **veintisiete de noviembre de dos mil siete**