

## Contenido

INTRODUCCIÓN.....	3
PRINCIPALES POLIMORFISMOS IMPLICADOS EN LA FARMACOGENETICA DEL TRASPLANTE.....	7
1.- Genes que codifican proteínas transportadoras.....	7
2.- Genes que codifican enzimas metabólicas.....	9
3.- Genes que codifican receptores o dianas terapéuticas.....	10
FARMACOGENETICA DE LOS INMUNOSUPRESORES MÁS UTILIZADOS EN LA TERAPIA DEL TRASPLANTE.....	12
TACRÓLIMUS.....	12
1.- Genes que codifican proteínas transportadoras.....	12
2.- Genes que codifican enzimas metabólicas.....	16
CICLOSPORINA.....	16
SIROLIMUS Y EVEROLIMUS.....	17
CORTICOIDES.....	18
ÁCIDO MICOFENÓLICO.....	19
METOTREXATO.....	20
AZATIOPRINA.....	20
CICLOFOSFAMIDA Y BUSULFÁN.....	21
BIBLIOGRAFÍA.....	23

## **MÓDULO 4**

### **Tema 7- Farmacogenética en el trasplante de órganos**

AUTORES:

**Dra. María José Herrero Cervera**

**IIS La Fe**

**Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia**

**Dra. María Remedios Marqués Miñana**

**Servicio de Farmacia**

**Hospital Universitario y Politécnico La Fe de Valencia**

**Dra. Noemí Rebollo Díaz**

**F.E.A. Farmacia Hospitalaria.**

**Hospital Santos Reyes. Aranda de Duero (Burgos).**

# INTRODUCCIÓN

El éxito del trasplante de órganos ha sido posible gracias a una selección rigurosa de los receptores, a una mejor técnica quirúrgica y anestésica, a los cuidados postoperatorios y a la incorporación de nuevos y más potentes fármacos inmunosupresores. Sin embargo, transcurrido el primer año, el éxito del trasplante no ha mejorado sustancialmente, lo que ha sido atribuido al hecho de que los inmunosupresores presentan un estrecho margen terapéutico y considerables diferencias farmacocinéticas interindividuales (1-7).

Un aspecto crucial del trasplante de órganos es conseguir una adecuada inmunosupresión, minimizando el riesgo de rechazo con una tolerabilidad aceptable de los fármacos empleados. Sin embargo, los intervalos que separan la toxicidad de estos fármacos y el efecto inmunosupresor deseado son muy estrechos, por lo que la individualización del tratamiento mediante un ajuste y correcto manejo de las dosis necesarias es fundamental. De hecho, la toxicidad de estos fármacos supone en la actualidad un alto porcentaje de la morbilidad del paciente trasplantado (8). Las reacciones adversas más frecuentemente asociadas al tratamiento inmunosupresor son las siguientes:

- Reacciones adversas leves: Aumento de peso, sudoración, incremento de cifras de tensión arterial, acné, hinchazón de cara y del abdomen, pérdida de masa muscular, hiperplasia gingival, molestias gastrointestinales, cambios repentinos de humor, temblor de manos.
- Reacciones adversas graves: Infecciones, neurotoxicidad, insuficiencia renal, hipertensión, diabetes, neoplasias.

Además, recientemente se han notificado algunos casos de leucoencefalopatía multifocal progresiva ( enfermedad grave desmielinizante relacionada con estados de inmunosupresión) en pacientes tratados con ácido micofenólico y con sirolimus (9, 10).

Por otra parte, la aparición de episodios de rechazo, tanto agudo como crónico, en pacientes con concentraciones sanguíneas de inmunosupresores dentro del margen terapéutico ha llevado también a considerar la importancia de la aplicación de la farmacogenética en la práctica clínica, con el fin de reducir el porcentaje de pacientes que no responden de forma adecuada al tratamiento farmacológico (8, 11). Cabe señalar

que en los pacientes trasplantados la respuesta inadecuada al fármaco puede dar lugar a resultados irreversibles de fatal desenlace por lo que la búsqueda y validación de criterios objetivos que permitan el uso racional de la terapia inmunosupresora es una prioridad y una exigencia ineludible para los profesionales sanitarios responsables del tratamiento (13, 14).

A diferencia de los factores ambientales, que son circunstanciales e identificables mediante una buena anamnesis farmacológica, los factores genéticos que modifican la respuesta del paciente a los fármacos se caracterizan por ser permanentes y difícilmente identificables o crípticos, es decir, requieren para su identificación un estudio genético previo. Hasta la fecha, varios estudios retrospectivos han demostrado la influencia que tienen ciertos polimorfismos genéticos sobre la actividad y la farmacocinética de los agentes inmunosupresores. Sin embargo, es necesario llevar a cabo estudios prospectivos bien diseñados, con el fin de validar criterios objetivos que permitan hacer un uso racional de estos medicamentos en base a esas diferencias interindividuales (14, 15).

En la farmacogenética del trasplante, como en otras áreas de la terapéutica, se han identificado tres grupos de genes especialmente implicados en la respuesta al tratamiento inmunosupresor: los genes que codifican proteínas **transportadoras** del fármaco hacia el interior o hacia el exterior de las células, los que codifican enzimas **metabólicas** implicadas en la biotransformación del fármaco y aquellos que codifican **receptores o dianas** farmacológicas. A pesar de que gran mayoría de los fármacos inmunosupresores son transportados y metabolizados por un conjunto limitado de enzimas cuyos genes y polimorfismos se conocen en su mayor parte, la interpretación de las respuestas observadas en pacientes trasplantados resulta en ocasiones complicada. Uno de los motivos es que en esta población se recurre habitualmente a la politerapia, por lo que las interacciones, tanto a nivel farmacocinético como farmacodinámico, pueden tener gran relevancia y condicionar la respuesta al tratamiento inmunosupresor.

Otro aspecto importante a considerar a la hora de interpretar la respuesta observada es el hecho de que en cada paciente conviven dos entidades genéticas diferentes, la del donante y la del receptor. Este fenómeno cobra especial relevancia cuando los órganos trasplantados son el hígado o el riñón. En estos tipos de trasplante hay que tener en cuenta que los fármacos administrados al receptor serán eliminados por el órgano

trasplantado procedente del donante. De hecho, diversos estudios consideran ya la farmacogenética del donante y del receptor al evaluar la respuesta al tratamiento (15-18).

Por otra parte, uno de los principales problemas de los estudios farmacogenéticos es la dificultad de reclutar el número de pacientes necesario para conseguir suficiente poder estadístico y demostrar de forma concluyente la existencia de diferencias significativas entre los distintos genotipos. Esto es debido a la distribución desigual de frecuencias alélicas en la población, que dificulta poder reunir un alto número de individuos para estudiar los genotipos minoritarios. Además, la distribución de frecuencias alélica en algunos genes varía según la raza/etnia. En la tabla 1 se muestran las frecuencias poblacionales de algunos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) del gen ABCB1, según el grupo étnico. Los datos obtenidos en distintos estudios sobre la frecuencia poblacional de cada SNP son fácilmente accesibles a través de bases de datos de carácter público como SNP database (Pubmed). Dentro de un mismo SNP (rs), existen diferentes estudios (ss) sobre frecuencia poblacional de cada variante. Es interesante observar dentro de cada estudio, las diferencias en frecuencia de cada genotipo para cada etnia estudiada. Existen SNPs con frecuencias genotípicas bastante conservadas entre razas, pero hay otros donde las diferencias son relevantes y hemos de tenerlas en cuenta en nuestros estudios.

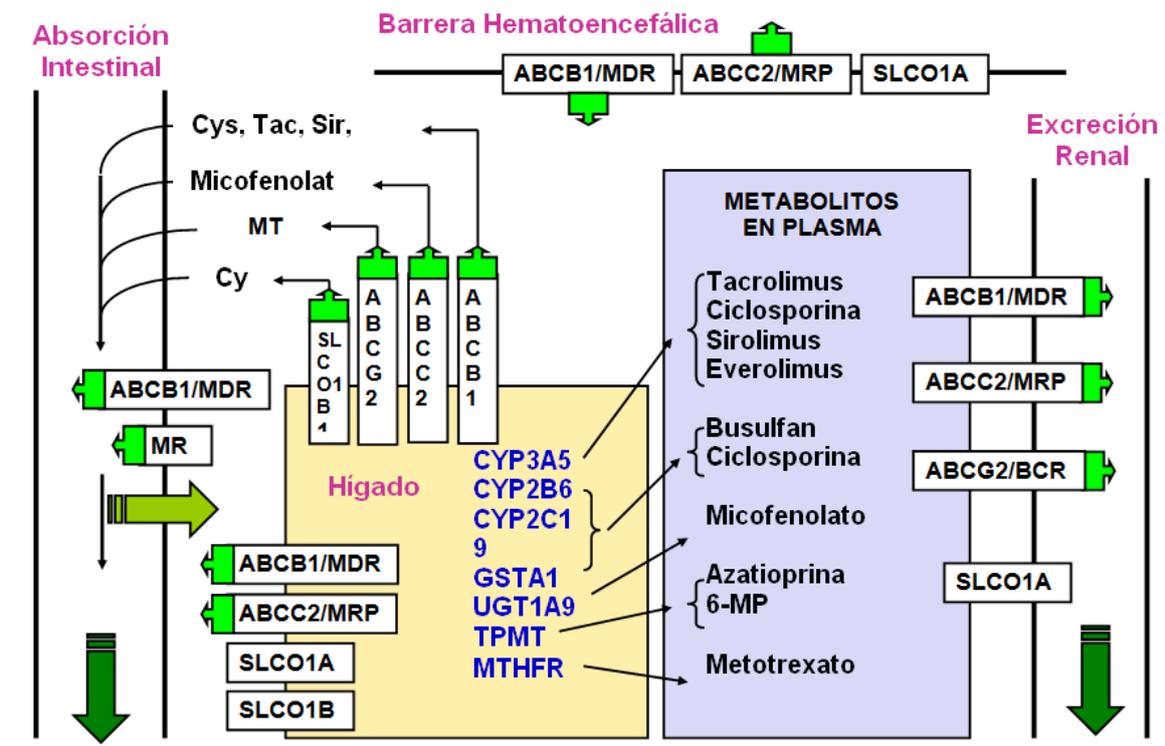
Tabla 1- Frecuencias genotípicas y alélicas de algunos polimorfismos del gen ABCB1. (Fuente: PubMed, SNP database). rs, código numérico de designación del SNP; ss, código numérico en referencia a la muestra estudiada; Panel o Consorcio, hace referencia al grupo investigador que realizó el estudio. Las frecuencias de cada genotipo o alelo están expresadas en referencia al 1% como valor absoluto.

GEN	rs#	Polimorfismo	ss#	Panel Consorcio	° Grupo étnico	Genotipos											
ABCB1	rs9282564					A/A	A/G	G/G	HWP	A	G						
						0.92	0.07	0.01	0.10	0.96	0.04						
										CAUC1	0.90	0.07	0.032	0.02	0.94	0.07	
										AFR1	0.96	0.04		1.00	0.98	0.02	
										HISP1	0.87	0.13		0.75	0.94	0.07	
								ss12674822		PAC1	0.96	0.04		1.00	0.98	0.02	
										SubSaharan							
										EGP_YORUB-	African	1.00				1.00	
										EGP_HISP-	Hispanic	0.86	0.14		0.75	0.93	0.07
										EGP_CEPH-	European	0.62	0.38		0.29	0.81	0.19
										EGP_AD-	AfrAmerican	1.00				1.00	
								ss35071955		EGP_ASIAN-	Asian	1.00				1.00	
												C/T	T/T			C	T
								rs3213619							HWP		
										AFDEUR	European	0.13	0.88		0.75	0.06	0.94
										AFDAFR	AfrAmerican	0.09	0.91		1.00	0.04	0.96
										AFDCHN	Asian	0.13	0.88		0.75	0.06	0.94
										SubSaharan							
								ss24526376		EGPYORUB	African	0.33	0.67		0.53	0.17	0.83
										EGP_HISP-	Hispanic	0.09	0.91		1.00	0.05	0.96
				EGP_CEPH-	European	0.09	0.91		1.00	0.05	0.95						
				EGP_AD-	AfriAmerican	0.20	0.80		0.75	0.10	0.90						
				EGP_ASIAN-	Asian	0.13	0.88		0.75	0.06	0.94						
		ss35071949															

A lo largo de este capítulo se revisará el papel de los distintos polimorfismos en la respuesta a algunos de los fármacos más utilizados en los pacientes trasplantados. La visión integrada de todos los factores genéticos puede aportar una información relevante acerca de por qué un determinado paciente puede requerir una dosis mayor o inferior a la habitual, o incluso un fármaco diferente, ayudando en la toma de decisiones terapéuticas que contribuyan al uso seguro y eficaz de los medicamentos.

# PRINCIPALES POLIMORFISMOS IMPLICADOS EN LA FARMACOGENETICA DEL TRASPLANTE

La Figura 1 muestra, a modo de resumen, un esquema integrador con los genes mejor conocidos que codifican proteínas transportadoras y enzimas implicadas en el metabolismo de algunos de los fármacos habitualmente utilizados en este grupo de pacientes.



**Figura 1. Esquema farmacogenético integrador de transporte y metabolismo en el trasplante** (Fuente: ref. 19, ©Astellas Pharma S.A. y Master Line & Prodigio S.L.). El esquema muestra una visión amplia de la localización e influencia de los transportadores y enzimas metabólicas sobre los principales fármacos inmunosupresores utilizados en el trasplante. La visión integrada de todos los factores genéticos que influyen en la consecución de niveles plasmáticos terapéuticos y estacionarios del fármaco, debe permitir una mejor interpretación de los datos farmacogenéticos y así mismo, contribuir a mejorar el uso seguro y eficaz del medicamento.

## 1.- Genes que codifican proteínas transportadoras

Como ya se ha comentado en anteriores capítulos, el producto del gen ABCB1 (MDR1) es la glicoproteína P (gp-P), un transportador de membrana cuya actividad es dependiente de ATP. La gp-P funciona como una bomba de expulsión, de tal modo que

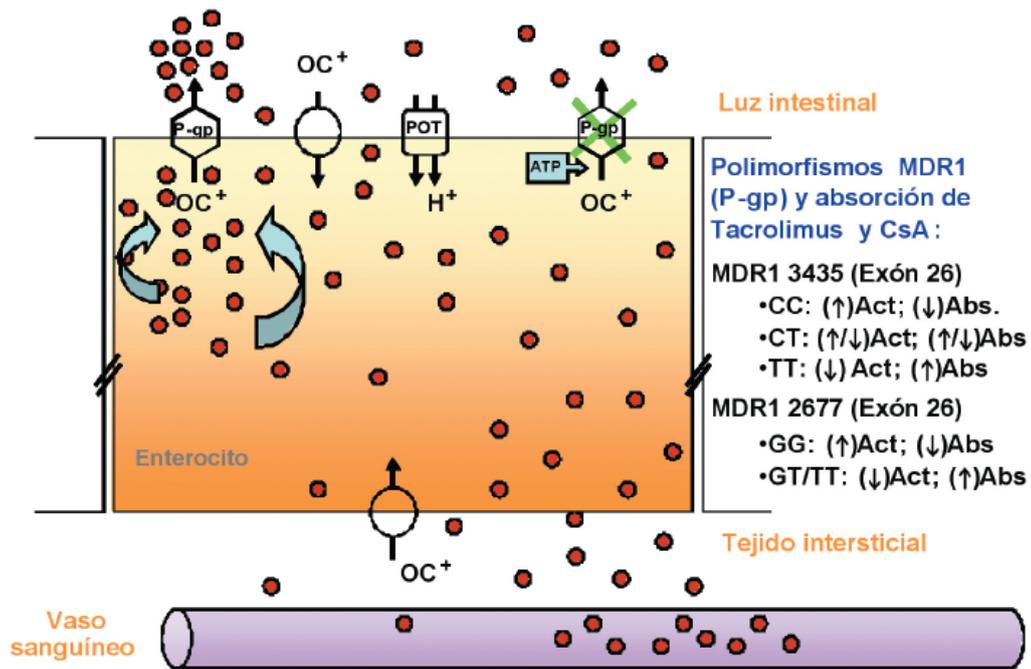
elimina del citoplasma diversas sustancias, tanto endógenas como exógenas, y las envía al espacio extracelular. Se localiza principalmente en el polo apical de la membrana de las células del epitelio intestinal (donde debe expulsar las sustancias hacia la luz intestinal), así como en los túbulos renales (expulsa hacia orina), canalículos biliares (extrae las sustancias hacia la bilis) y endotelios de la barrera hematoencefálica. Como se observa en la figura 1, entre sus sustratos se incluyen un número importante de los fármacos inmunosupresores utilizados en pacientes trasplantados.

En el gen ABCB1, de entre todos los SNPs descritos se han identificado dos con especial relevancia sobre la cinética de los fármacos inmunosupresores (20, 21):

- Una variación silenciosa (*silent or synonymous variant*) en el exón 26 (3435C>T), es decir un SNP que no origina cambios en la secuencia de aminoácidos de la gp-P, pero que se asocia con una expresión variable del transportador. Se ha estimado que en pacientes homocigotos para el alelo T la expresión duodenal de la gp-P es menos de la mitad que en pacientes con genotipo CC (forma salvaje).
- Una variación no sinónima (*non-synonymous variant*) en el exón 21 (2677G>T/A) que conduce a un cambio de aminoácido (Ala893Ser), aparentemente alterando la función de la gp-P.

El SNP 3435C>T se encuentra en desequilibrio de ligamiento con el SNP 2677G>T/A, es decir, los dos polimorfismos se presentan en la forma variada simultáneamente con una frecuencia mayor de la esperada por azar (22).

En la figura 2 se representa el diferente grado de absorción del fármaco en función de las variaciones polimórficas del gen ABCB1/MDR1 en la población. Las formas salvajes (izquierda), 3435CC y/o 2677GG, se asocian con una mayor función de la bomba, una mayor expulsión del fármaco hacia la luz intestinal y, por tanto, una menor absorción. Por el contrario, otras variantes genéticas (derecha) tienen como consecuencia una menor expresión o una menor funcionalidad de la gp-P y, por tanto, se han relacionado con una mayor absorción del fármaco ya que éste es expulsado en menor grado hacia el exterior de la célula.



**Figura 2. Influencia de la actividad funcional de gp-P en el transporte de tacrólimus.** OC: catión orgánico; POT: transportador de protones orgánicos. (Fuente: ref. 19, ©Astellas Pharma S.A. y Master Line & Prodigio S.L.) Diferente grado de absorción, y por tanto diferente nivel de fármaco en sangre, según los polimorfismos presentes en el gen ABCB1/MDR1. Las variantes 3435 TT y/o 2677 TT presentan menor actividad (Act) del transportador producto del gen, la gp-P, y por tanto mayor absorción del fármaco. En cambio, las variantes más frecuentes de estos polimorfismos, 3435CC y/o 2677GG, presentan una mayor expulsión del fármaco fuera de la célula, lo que provoca una disminución del nivel del fármaco en sangre, una menor absorción.

El papel de los polimorfismos de otros transportadores como ABCC2/MRP2, ABCG2/BCRP, SLCO1B1 y SLCO1A2 en la respuesta al tratamiento en los pacientes trasplantados, es menos conocido.

## 2.- Genes que codifican enzimas metabólicas

Se conocen más de 30 familias de enzimas implicadas en el metabolismo de fármacos en humanos. Entre ellas, el sistema de citocromos P450 (CYP) juega un papel clave en el metabolismo oxidativo de los fármacos inmunosupresores. Se trata de una superfamilia constituida por múltiples isoenzimas que se clasifican en familias y subfamilias. La subfamilia CYP3A supone entre el 30 y 70% del total de CYP en hígado e intestino, respectivamente. El CYP3A4 y el CYP3A5 son las principales isoenzimas dentro de esta subfamilia y presentan una alta variabilidad interindividual, tanto en la expresión como en la funcionalidad, ligada principalmente a factores de tipo genético. Se ha estimado que este tipo de factores podrían explicar entre el 70 y el 90%

de la variabilidad interindividual (23); el resto podría atribuirse a otro tipo de factores patológicos, hormonales y dietéticos o a la administración de fármacos inductores o inhibidores de los CYP.

Se han identificado varios SNPs farmacogenéticamente relevantes tanto para el CYP3A4 como para el CYP3A5. En este último caso, el SNP CYP3A5\*3 (22893A>G) en el intrón 3, da lugar a una proteína truncada con pérdida de expresión del gen. De hecho, se ha observado que los pacientes con el alelo \*3 tienen menor actividad del CYP3A5 que los pacientes con al menos un alelo \*1 (forma salvaje). Dicho en otras palabras, los pacientes con genotipos \*1/\*1 y \*1/\*3 requieren mayores dosis de fármaco que aquellos con genotipo \*3/\*3 (pacientes que no expresan el CYP3A5). Por otra parte, el alelo CYP3A5\*6 (30597G>A) se asocia con una reducción de la actividad catalítica.

Cabe señalar la existencia de grandes diferencias en la frecuencia de expresión de los distintos genotipos en función del grupo étnico (24). Así, la frecuencia alélica del CYP3A5\*3 es muy baja en la raza blanca mientras que llega, según estudios, hasta cerca del 90% en afroamericanos. Estas diferencias en la expresión del CYP3A5 podrían explicar los peores resultados obtenidos hasta la fecha en los trasplantes realizados en este último grupo de población (25).

### **3.- Genes que codifican receptores o dianas terapéuticas**

La información disponible sobre este ámbito de la farmacogenética del trasplante es muy limitada, por lo que la relación entre los distintos polimorfismos de las dianas farmacológicas (como FKBP1A, mTOR, calcineurina y ciclofilina B) y la respuesta al tratamiento inmunosupresor aún no está bien establecida. Sin embargo, como se explica con mayor detalle en el tema correspondiente, la expresión de todos los genes está sujeta al mecanismo regulador de la metilación y la expresión de los genes que codifican estas dianas farmacológicas no es una excepción. Estudiar el grado de metilación de cualquier gen de los que hemos mencionado hasta ahora sería de interés, sin lugar a dudas, ya que el hecho de que la expresión del gen se encuentre “apagada o encendida” en base a este mecanismo de regulación queda por encima de que a otros niveles inferiores del flujo de información, la proteína final pueda verse afectada por la existencia o no de SNPs. Este mecanismo regulador de la metilación, que puede

valorarse en el laboratorio, al igual que valoramos los SNPs, puede ser de máxima importancia en los casos de los genes donde todavía no conocemos bien la correlación entre los SNPs existentes y su efecto fisiológico, ofreciéndonos una vía alternativa de evaluación de la funcionalidad del gen en un paciente. Así pues, la expresión de estas dianas farmacológicas podría verse modificada por el grado de metilación de las correspondientes agrupaciones de secuencias CpG presentes en los genes de todas ellas (85, 60, 23 y 69, respectivamente) en la región 5' corriente arriba del gen.

Por otra parte, cada vez se conocen mejor los mecanismos moleculares implicados en el rechazo, donde las citoquinas desempeñan un papel esencial como mediadores de la respuesta inmunitaria. Entre las citoquinas de mayor relevancia cabe destacar el factor de necrosis tumoral alfa (TNF $\alpha$ ), la interleuquina 10 (IL10), la interleuquina 6 (IL6) y el interferón alfa (IFN $\alpha$ ).

En el caso del TNF $\alpha$ , se ha descrito un polimorfismo en la posición -308 del gen. cuyos genotipos G/A y A/A presentan una producción elevada de esta citoquina mientras que el genotipo G/G se asocia a una baja producción de la misma y se ha relacionado con una mínima incidencia de rechazo en pacientes pediátricos con trasplante cardíaco (26).

Para la IL10, se conocen distintos SNP en las posiciones -1082, -1819, -592, de modo que las secuencias GCC/GCC, GCC/ACC y ACC/ACC se asocian con una producción elevada, intermedia y baja de citoquina, respectivamente. En un estudio realizado en pacientes con trasplante pulmonar se observó que en el grupo de pacientes con alta producción de IL10 la incidencia de rechazo fue menor que en el caso de los genotipos de producción intermedia o baja (26). Sin embargo, los niveles elevados de IL10 (e IL6) se han asociado con un mayor riesgo de rechazo en pacientes con trasplante renal, por lo que el impacto de los polimorfismos de la IL10 podría ser distinto en función del órgano trasplantado.

Por su parte, en la posición -174 del gen de la IL6 también se han descrito distintas variantes. Los genotipos G/G, G/C se relacionan con una elevada producción de IL6, mientras que el C/C se ha asociado con una baja producción de la misma. En un estudio llevado a cabo en pacientes con trasplante de pulmón se observó que el grupo con genotipo G/C presentó mayor propensión al rechazo agudo que aquél con genotipo G/G (27).

Por último, se ha encontrado una relación entre el desarrollo de síndrome de bronquiolitis obliterante tras el trasplante pulmonar y los fenotipos con alta producción de IFN $\alpha$ , T/T y T/A en la posición 874, al comparar los resultados obtenidos en estos grupos con los observados en pacientes con genotipo (A/A) de baja producción (28).

Existen, además, otros factores que desempeñan una función importante en el rechazo del injerto. Entre ellos, cabe señalar los sistemas quimiotácticos de atracción de las células del sistema inmunitario hacia el órgano transplantado, las moléculas de adhesión (ICAM-1, selectina) y los factores de crecimiento del endotelio vascular (VEGF). En un estudio realizado en pacientes con trasplante renal se genotiparon 5 SNPs en el gen de la ICAM-1, la E-selectina y la L-selectina y se encontró que la variante alélica ICAM R241 era más frecuente en el grupo de pacientes que desarrollaron fallo crónico del aloinjerto que entre los pacientes con mayor supervivencia a largo plazo. Por otra parte, la variante ICAM E469 se asoció con un fallo más rápido del injerto (29).

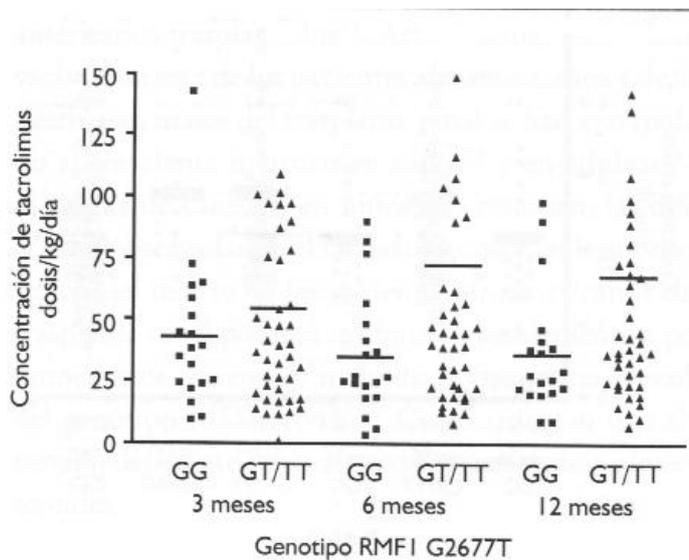
En otro estudio llevado a cabo en pacientes con trasplante cardiaco se realizó un genotipado de los donantes y se evaluó su posible relación con la aparición de arteriopatía coronaria (30). La presencia del alelo ICAM E469 se asoció con la ausencia de desarrollo de dicha patología durante los dos primeros años tras el trasplante, así como con una menor frecuencia de episodios de rechazo agudo.

## **FARMACOGENETICA DE LOS INMUNOSUPRESORES MÁS UTILIZADOS EN LA TERAPIA DEL TRASPLANTE TACRÓLIMUS**

### **1.- Genes que codifican proteínas transportadoras**

El papel de los SNPs localizados en el gen MDR1 sobre la cinética de tacrólimus ha sido evaluado en varios estudios con diversas poblaciones de pacientes transplantados (24). En algunos de estos estudios se ha encontrado una relación significativa entre los polimorfismos y los requerimientos de tacrólimus. Así, en pacientes con trasplante intestinal se observó correlación entre la cinética de absorción de tacrólimus y la expresión de ABCB1 (31, 32). En otro estudio llevado a cabo en pacientes sometidos a

trasplante renal se encontró una asociación débil entre los polimorfismos de este gen y las concentraciones sanguíneas a los tres meses, así como las dosis ajustadas en función de los resultados de la monitorización (33). Por otra parte, en la figura 3 se muestran los resultados de un estudio llevado a cabo en niños con trasplante cardiaco (34) donde se puede observar cómo los pacientes con genotipo 2677 GG (salvaje) necesitaron, en comparación con los otros genotipos (GT y TT), dosis más altas para alcanzar concentraciones dentro del margen terapéutico. Estas diferencias en la concentración ajustada por dosis entre el grupo de individuos con genotipo salvaje y aquellos con genotipo GT ó TT agrupados, fue estadísticamente significativa a los 6 ( $p= 0,017$ ) y los 12 meses ( $p= 0,014$ ). Los resultados fueron similares al comparar dicho parámetro en los pacientes con genotipo ABCB1 3435 CC (tipo salvaje) con el de aquellos con genotipo CT/TT.



*Figura 3- Concentración sanguínea de tacrólimus (ng/ml) ajustada por dosis (mg/kg/día) a los 3, 6 y 12 meses postrasplante cardiaco en una población pediátrica en función del genotipo en el SNP G2677T en el gen ABCB1(RMF1), agrupando GG versus GT/TT. (Fuente: refs. 8, 34). Aunque la diferencia no era significativa a los tres meses ( $p= 0,26$ ), los pacientes GG presentaron una concentración significativamente menor de tacrólimus que los pacientes GT/TT a los 6 ( $p= 0,017$ ) y los 12 meses ( $p= 0,014$ ).*

Sin embargo, otros estudios no han conseguido confirmar el efecto de los polimorfismos en el gen MDR1 y las concentraciones del fármaco. En un estudio realizado en pacientes adultos con trasplante de pulmón (35) no se observó relación

alguna entre las dosis de tacrólimus y los genotipos del gen. Estos resultados, en principio contradictorios, no implican necesariamente que la relación no exista sino que puede estar enmascarada por la existencia de otros factores como los polimorfismos en el citocromo P450, que interfieran en el metabolismo del fármaco. En consecuencia, la actividad de la gp-P gastrointestinal podría modular la contribución de las enzimas del CYP3A al metabolismo de tacrólimus.

Por otra parte, en un estudio realizado en pacientes con trasplante hepático procedente de donante vivo se observó que la expresión del ABCB1 intestinal condicionaba tanto la farmacocinética del tacrólimus como la supervivencia del paciente (36). Acorde con estos resultados, en otros estudios realizados en este grupo de población se ha encontrado un menor índice de supervivencia y una mayor incidencia de rechazo en pacientes con alta expresión del gen ABCB1 (34, 37-41).

Por lo que se refiere a la influencia de los factores genéticos en la toxicidad del fármaco, se ha encontrado una relación entre los genotipos en ABCB1 y la nefrotoxicidad asociada a tacrólimus. En un estudio llevado a cabo en pacientes con trasplante de pulmón (42) en tratamiento con tacrólimus durante un año, se encontraron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de creatinina sérica en los grupos con genotipo 2677 GG y GT/TT, por lo que se concluyó que la nefrotoxicidad asociada a este fármaco podría estar relacionada, al menos parcialmente, con la acumulación del fármaco en las células renales en pacientes con baja expresión de gp-P (Fig. 4).

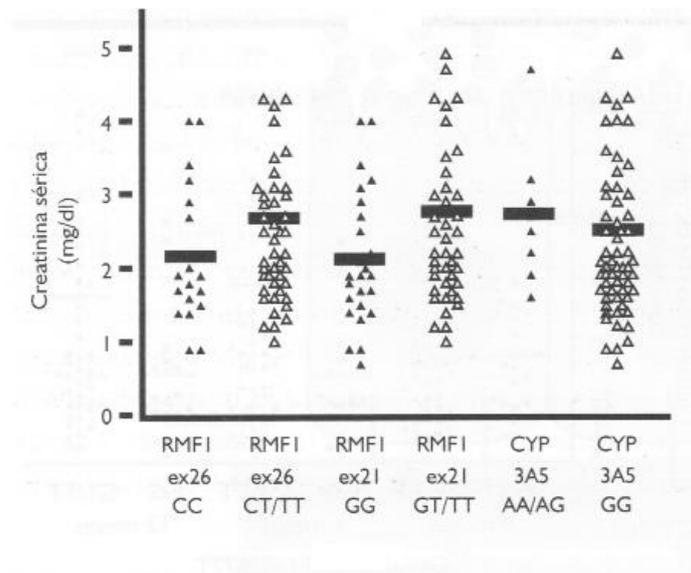


Figura 4. Creatinina sérica durante el primer año postrasplante en los grupos de pacientes con trasplante pulmonar con genotipos en ABCB1(RMF1) 3435, 2677 y CYP3A5 \*1 (A), \*3 (G). (Fuente: refs. 8, 42). La única correlación significativa se halló en el SNP 2677 de ABCB1, diferenciando los pacientes GG de los GT/TT.

Estos resultados concuerdan con los obtenidos en otro estudio, realizado en pacientes con trasplante hepático (43), con un periodo de seguimiento de tres años tras el trasplante, donde se observó un menor porcentaje de pacientes con disfunción renal, definida por creatinina sérica igual o inferior a 1,6 mg/dL, en el grupo con genotipo 2677 TT.

Por lo que se refiere a la neurotoxicidad asociada a tacrólimus, que se relaciona con la capacidad de transportar el fármaco al cerebro, atravesando la barrera hematoencefálica, un estudio realizado en roedores reveló que este efecto adverso está relacionado con su acumulación en el sistema nervioso central. Los ratones con una depleción del gen ABCB1 presentaban una mayor concentración cerebral de tacrólimus y una mayor neurotoxicidad (44). Estos resultados fueron acordes con los obtenidos en un estudio realizado en 17 pacientes sometidos a trasplante hepático donde se observó una asociación de las concentraciones sanguíneas, la función hepática, el peso del injerto y los polimorfismos G2677T y C3435T en ABCB1 con la neurotoxicidad inducida por tacrólimus (45).

## **2.- Genes que codifican enzimas metabólicas**

Estudios prospectivos llevados a cabo recientemente en pacientes con trasplante renal han puesto de manifiesto la utilidad de genotipar CYP3A5 antes del inicio de la terapia con tacrólimus con el fin de establecer, en cada caso, la dosis de inicio más adecuada. Se ha propuesto comenzar con una dosis inicial de tacrólimus de 0,15 mg/kg/ día en los pacientes con genotipo CYP3A5\*3 y con 0,30mg/kg/día en los pacientes con al menos un alelo de tipo salvaje CYP3A5\*1. De hecho, la determinación del genotipo se ha asociado a la obtención precoz de concentraciones dentro del margen terapéutico y a un menor número de ajustes de dosis (46).

Cabría plantearse si el rápido alcance de valores terapéuticos en las concentraciones sanguíneas se asocia con mayor éxito terapéutico, sin embargo, este aspecto aún no ha quedado perfectamente dilucidado. En un estudio prospectivo randomizado no se encontró correlación entre genotipo y la incidencia de rechazo agudo o de toxicidad asociada a tacrólimus (47).

Por todo ello, podemos concluir que la determinación del genotipo CYP3A5 es útil en la elección de la dosis inicial de tacrólimus, al menos en los pacientes sometidos a trasplante renal, si bien todavía no existe evidencia sobre sus efectos clínicos.

Por otra parte, estudios realizados en pacientes pediátricos con trasplante cardíaco (34) y pacientes adultos con trasplante de pulmón (20) y renal (38-40) revelaron que los pacientes expresadores del CYP3A5 (genotipos \*1/\*1 y \*1/\*3) precisaron durante el primer año tras el trasplante dosis mayores de tacrólimus que los pacientes que no expresan la enzima (genotipos \*3/\*3).

Otro aspecto importante a tener en cuenta es que la metabolización del tacrólimus tiene lugar tanto a nivel hepático como intestinal. Por ello, algunos autores postulan que en pacientes con trasplante de estos órganos debería genotiparse no sólo al receptor, sino también al donante (48).

### **CICLOSPORINA**

El papel que juegan los polimorfismos genéticos en la farmacocinética de ciclosporina en pacientes trasplantados está aún por dilucidar. La mayor parte de los estudios publicados se refieren a pacientes con trasplante renal. Un estudio realizado en esta población, no logró demostrar que las concentraciones sanguíneas mínimas de

ciclosporina difirieran en función de los genotipos ABCB1 3435, a pesar de que este fármaco es un sustrato y un potente inhibidor de la glicoproteína P (49). En otro estudio llevado a cabo en 14 individuos sanos se observó que la concentración máxima de ciclosporina, así como el área bajo la curva en el grupo con genotipos ABCB1 3435 CT y TT fueron superiores a las del grupo con genotipo CC, aunque estas diferencias tampoco alcanzaron significación estadística (50). Se ha planteado que estos resultados podrían deberse a que la falta de funcionalidad de ABCB1 por causa genética puede ser compensada por la actividad inducible de CYP3A4, por ello una vez más se hace patente que sólo el estudio conjunto de haplotipos de ABCB1 junto con otras variables tanto genéticas como ambientales podrá dar resultados fiables y reproducibles sobre la farmacocinética clínica.

Por otra parte, los resultados obtenidos en los estudios sobre la influencia de los polimorfismos del CYP3A5 sobre la farmacocinética de ciclosporina tampoco son concluyentes. Algunos autores defienden que la relación entre los genotipos de ABCB1 y los de CYP3A5 no parece ser crucial en la absorción de ciclosporina, como sí parece serlo con tacrólimus, ya que este proceso está condicionado por otros factores externos, como los solubilizadores empleados en las preparaciones orales del fármaco, que afectan directamente a la función de la glicoproteína P (51).

## **SIROLIMUS Y EVEROLIMUS**

Al igual que los inhibidores de la calcineurina, estos fármacos son sustratos de la subfamilia CYP3A y, tras la administración oral, presentan un extenso metabolismo hepático e intestinal. La baja biodisponibilidad también se atribuye a la expulsión por la gp-P intestinal.

En relación a los polimorfismos del CYP3A, se ha observado que la concentración ajustada por dosis es menor en pacientes que expresan el CYP3A5, portadores del alelo CYP3A5\*1, que en aquellos con genotipo CYP3A5\*3/3\*. Es decir, los pacientes con genotipo CYP3A5\*1/1\* presentan un mayor metabolismo hepático e intestinal y, por tanto, requieren mayores dosis para conseguir concentraciones dentro del margen terapéutico. No obstante, este efecto de tipo genético podría verse enmascarado en la práctica clínica por las interacciones farmacocinéticas. Estos resultados fueron

confirmados en una población de 47 pacientes sometidos a trasplante renal en tratamiento con sirolimus donde se encontraron valores de los ratios AUC/dosis, C<sub>max</sub>/dosis y C<sub>min</sub>/dosis en el estado de equilibrio significativamente menores en pacientes que expresaban el CYP3A5 (52). Por otra parte, se ha encontrado también una asociación entre el polimorfismo CYP3A4\*1/1\* y la concentración ajustada por dosis. Sin embargo, la significación real de la presencia de este SNP sobre la actividad de la enzima es aún objeto de debate (53).

Aunque, como ya se ha comentado, los inhibidores de la proteína m-TOR son sustratos de la gp-P, no se ha demostrado hasta el momento una asociación entre los SNPs del gen ABCB1 y el ratio concentración/dosis de estos fármacos.

## **CORTICOIDES**

Aunque la mayoría de los agentes inmunosupresores se administran de por vida en los pacientes trasplantados, en el caso de los corticoides es frecuente la retirada progresiva con el fin de evitar los importantes efectos adversos asociados a su administración prolongada.

Se ha observado que los polimorfismos de ABCB1 podrían condicionar la duración del tratamiento con corticoides. En un estudio realizado en una población pediátrica con trasplante cardíaco se encontró un mayor porcentaje de pacientes que aún continuaba con la administración de corticoides un año después del trasplante en el grupo con genotipo 3435 CC, en comparación con aquellos con genotipos 3435 CT/TT, que requirieron su retirada con prontitud. Además se encontró una correlación similar en el caso de los genotipos en el SNP 2677, por lo que se concluyó que los pacientes con genotipos 3435 CC y 2677 GG podrían requerir un tratamiento alternativo más enérgico si se pretende suprimir los corticoides del régimen inmunosupresor, lo que es de gran interés teniendo en cuenta que la tendencia actual es la de minimizar o interrumpir rápidamente los corticoides en los pacientes trasplantados (54).

## ÁCIDO MICOFENÓLICO

Es posible que una parte significativa de la alta variabilidad tanto intra como interindividual observada en las concentraciones plasmáticas de ácido micofenólico (MPA) sea debida a diferencias en la expresión de los transportadores a nivel intestinal. En este sentido, se han descrito polimorfismos del gen *ABCC2/MRP29* (C-24T y C2972T) que podrían jugar un papel importante en la circulación enterohepática de ácido micofenólico (55), ya que su principal metabolito, el 7-O-glucurónido (MPAG), es excretado por vía biliar, con la participación de dicho transportador. También existen estudios que relacionan la farmacocinética de MPA con el gen *SLCO1B1* (56-58). El producto de este gen, el transportador *OATP1B1*, se expresa fundamentalmente en la membrana basolateral de los hepatocitos, por lo que presumiblemente su función es la de transportar sustancias de la sangre al hígado para ser posteriormente eliminadas.

En lo que se refiere al metabolismo, se han aislado varias isoformas de la enzima uridindifosfato glucuronosil transferasa (UGT) responsables de la glucuronidación de MPA y se ha postulado que parte de las diferencias interindividuales observadas en el aclaramiento de MPA podrían atribuirse, al menos en parte, a sus polimorfismos (59-61). La *UGT1A9*, presente en hígado y riñón, es la principal responsable de la transformación de MPA a MPAG, farmacológicamente inactivo. Por otra parte, la *UGT2B7* participa en la generación del metabolito acil-glucurónido que posee actividad farmacológica y se ha relacionado con la aparición de efectos adversos. En estos estudios se ha sugerido que las variantes alélicas analizadas de *UGT1A8* y *UGT2B7*, no están directamente implicadas en la variabilidad (61). Así, el mayor interés recae en el gen *UGT1A9* y especialmente en tres de sus SNPs: -2152 C>T, -275T>A y 98T>C

En un estudio realizado en 95 pacientes con trasplante renal de novo donde se evaluaba el impacto de los polimorfismos del gen *UGT1A9* en la cinética de MPA, los SNPs T-275A y C-2152T se asociaron con una menor tasa de glucuronidación *in vitro* y con una exposición al fármaco significativamente menor. Parte de este efecto podría atribuirse a la interrupción de la circulación enterohepática (62). Sin embargo, en otro estudio realizado en 72 pacientes japoneses con trasplante renal donde se analizó la influencia de los polimorfismos de *UGT1A8*, *UGT1A9* y *UGT2B7* sobre la

farmacocinética de MPA no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el AUC o Cmax ajustados por dosis entre los distintos genotipos (63).

## **METOTREXATO**

Metotrexato es un análogo estructural del ácido fólico que bloquea la actividad enzimática de la dihidrofolato reductasa (MTHFR) inhibiendo el metabolismo de las purinas así como la síntesis proteica. La relación entre los polimorfismos de esta diana enzimática, 677C>T y 1298A>C, y la respuesta a metotrexato está bien establecida. También se ha demostrado una relación con los polimorfismos de NOD2/CARD15, Arg87Trp y Gly99Arg, considerados indicadores tempranos de activación de la respuesta inmune y por tanto del fracaso de la terapia inmunosupresora con este fármaco.

Por otra parte, se ha descrito que la presencia de ciertos polimorfismos de SLC01A2, un transportador de aniones orgánicos, reducen (Glu172Asp y Arg168Cys) o anulan (Asn278Del) el transporte de metotrexato (64).

## **AZATIOPRINA**

Azatioprina es un profármaco de la 6-mercaptopurina. Ésta experimenta un metabolismo complejo por tres vías en las que participan tres enzimas claves: la xantinoxidasa, la tiopurinametiltransferasa (TPMT) y la hipoxantina fosforribosil transferasa. Este proceso, que se caracteriza por presentar una gran variabilidad interindividual, da lugar a nucleótidos de 6-tioguanina (6-TGN), responsables de sus efectos inmunosupresores y tóxicos. Se trata de un fármaco, en general bien tolerado, aunque desde el comienzo de su utilización se observó que en determinados pacientes daba lugar a importantes efectos secundarios, fundamentalmente leucopenia dosis dependiente, llegando en algunos casos a una aplasia medular que era reversible tras la suspensión del tratamiento (65, 66).

Actualmente se sabe que la acumulación celular de 6-TGN es inversamente proporcional a la actividad de la TPMT (37, 41) y que, por tanto, la toxicidad de azatioprina y 6-mercaptopurina es más frecuente en pacientes con deficiencia de esta enzima. Acorde con esta observación, en un estudio realizado en una población con trasplante cardíaco (67) se encontró que en los pacientes que presentaban la variante

TPMT\*3A, que incluye dos SNPs no sinónimos (Ala154Thr y Tyr240Cys) que provocan una disminución de actividad enzimática, el recuento de neutrófilos era significativamente inferior al del resto. Dos de esos pacientes desarrollaron incluso neutropenia grave mientras que esta reacción adversa no se produjo en ninguno de los pacientes con la variante normal del polimorfismo. En otro estudio llevado a cabo en pacientes con trasplante renal también se encontró una relación entre los polimorfismos de TPMT y la función y supervivencia del injerto (68). En dicha población se observó que en los pacientes con mayor actividad enzimática se obtuvieron mejores resultados con una supervivencia del injerto significativamente mayor.

Teniendo en cuenta que la administración de dosis completas de azatioprina en pacientes con deficiencia completa de TPMT (homocigotos) podría tener consecuencias fatales, debería disminuirse la dosis del fármaco entre 10 y 15 veces en este grupo con el fin de evitar la acumulación de 6-TGN. En pacientes heterocigotos se ha propuesto disminuir la dosis a la mitad (69). Por otra parte, dado que existe evidencia de que la eficacia de azatioprina es menor en pacientes con una alta actividad de la TPMT, también se ha propuesto la monitorización de la 6-TGN y de la actividad de la TPMT para la individualización de la dosis de azatioprina (65, 66, 70, 71).

## **CICLOFOSFAMIDA Y BUSULFÁN**

Ciclofosfamida y busulfán son agentes citotóxicos que se utilizan como parte del régimen de acondicionamiento en pacientes que van a ser sometidos a trasplante de células progenitoras hematopoyéticas y como parte de la terapia inmunosupresora. Estos fármacos son eliminados por distintas vías metabólicas, fundamentalmente a través de los CYP2B6 (72) y CYP2C19, que participan en la transformación de ciclofosfamida a su metabolito activo, y de la Glutathion-S-transferasa alfa (GSTA1). Algunos autores han descrito una relación entre distintos polimorfismos de estas enzimas (CYP2B6 Q172H y K262R; CYP2C19\*1 y \*2; GSTA1\*A y \*B) y la respuesta al tratamiento (73-76). En otros estudios, sin embargo, no se han encontrado resultados concluyentes. Esto podría deberse a que al ser fármacos susceptibles de metabolización por varias vías, el impacto de los polimorfismos en un gen concreto puede verse enmascarado al recurrir el organismo a otra de las vías alternativas. Así pues sólo en el caso de coincidir alelos defectuosos en todas o casi todas las rutas posibles, veremos un efecto claro. Por ello,

resultados concluyentes son muy difíciles de obtener si no analizamos haplotipos de varios SNPs en lugar de SNPs aislados uno a uno.

En los últimos años, se han logrado grandes avances en el conocimiento del papel que juegan distintos polimorfismos de varias enzimas y transportadores implicados en la cinética de muchos de los fármacos utilizados en el trasplante. Sin duda, queda mucho camino por recorrer, pero ya contamos con una gran base de conocimiento farmacogenético que nos permite ser optimistas en cuanto a su aplicación en la práctica clínica asistencial. En algunos casos los resultados son contradictorios o no concluyentes, probablemente debido a tamaños muestrales pequeños o a déficits en la metodología y diseño de los estudios. Por ello es fundamental la realización de estudios adecuados que nos permitan confirmar la utilidad real de los polimorfismos en las condiciones habituales del manejo del paciente trasplantado, con un enfoque prospectivo para finalmente lograr una terapia individualizada segura y eficaz.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Jonge, Kuypers. Pharmacogenetics in solid organ transplantation: current status and future directions. *Transplantation Reviews* 22, 6-20.2008
2. Mendes et al. Genetic polymorphisms in CYP3A5 and MDR1 genes and their correlations with plasma levels of tacrolimus and cyclosporine in renal transplant recipients. *Transplantation proceedings*, 41:840-2. 2009
3. Allison AC. Immunosuppressive drugs: the first 50 years and glance forward. *Immunopharmacology* 2000; 47:63-83.
4. Morris PJ. Transplantation- A medical miracle of the 20<sup>th</sup> century. *N Engl J Med* 2004; 351;26:2678-80.
5. Beckebaum S, Cicinnati V, Broelsch C. Future directions in immunosuppression. *Transplant Procc* 2004; 36:557-6.
6. Sayegh MH, Carpenter CB. Transplantation 50 years later-Progress, Challenges, and Promises. *N Engl J Med* 2004 ; pag : 2761-6.
7. Farmacoterapia en trasplantes de órganos. Monografía SEFH. Novartis transplantation & immunology. Madrid, 2003.
8. Pharmacogenomics: applications to patient care. American college of clinical pharmacy. 2004, Ed Medical trends
9. Ficha técnica Cell-Cept® (micofenolato mofetilo).Roche.
10. Ficha técnica Rapamune® (sirolimus).Wyeth Europe
11. Bodí V, Herrero MJ , Aliño SF, et al. The DD genotype of angiotensin-converting... *Thrombosis research*, 2009
13. Hardy and Singleton. Genomewide association studies and human disease. *New Engl J Med*, 2009;360:1759-68
14. MJ Herrero, MR Marqués, J Sánchez-Plumed, M Prieto, L Almenar, A Pastor, JB Galán, JL Poveda, SF Aliño. Farmacogenética/ Farmacogenómica en el trasplante. Capítulo 24, págs. 331-341. Libro: Bases para la atención farmacéutica al paciente trasplantado.2009
15. Provenzani A et al. The effect of CYP3A5 and ABCB1 single nucleotide

polymorphisms on tacrolimus dose requirements in Caucasian liver transplant patients. *Ann Transplant*, 2009; 14:23-31.

16. MJ. Herrero, L. Almenar, C. Jordán, I. Sánchez, JL. Poveda, SF. Aliño. Clinical interest of pharmacogenetic polymorphisms in the immunosuppressive treatment after heart transplantation. *Transplantation Proceedings*, 2010, 42: 3181-3182.

17. MJ. Herrero, J. Sánchez-Plumed, M. Galiana, S. Bea, MR. Marqués, SF. Aliño. Influence of the pharmacogenetic polymorphisms in the routine immunosuppression therapy after renal transplantation. *Transplantation Proceedings*, 2010, 42:3134-3136.

18. Ran Jun K, Lee W, Jang M, et al. Tacrolimus concentrations in relations to CYP3A and ABCB1 polymorphisms in solid organ transplant recipients in Korea. *Transplantation*, 2009. 87: 1225-1231.

19. MJ Herrero, SF Aliño, JL Poveda *Farmacogenética: una realidad clínica*. Mayo 2010. Ed. Master Line, Astellas Pharma, ISBN: 978-84-935901-7-8. Autores: varios

20. 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; 44: 135-140.

21. Zheng H, Schuetz E, Zeevi A, Zhang J, McCurry K, Webber S, Iacono A, Lamba J, Burckart GJ. Sequential analysis of tacrolimus dosing in adult lung transplant patients with ABCB1 haplotypes. *J Clin Pharmacol*. 2005; 45: 404-410

22. Tanabe M, Ieri I, Nagata N et al. Expression of P-glycoprotein in human placenta: relation to genetic polymorphism of the multidrug resistance (MDR)-1 gene. *J Pharmacol Exp Ther* 2001; 297: 1137

23. Ozdemir V, Kalowa W, Tang BK et al. Evaluation of the genetic component of variability in CYP3A4 activity: a repeated drug administration method. *Pharmacogenetics* 2000; 10: 373-388

24. 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; 79: 499502.

25. Kuehl P, Zhang J, Lin Y et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001; 27: 383-391
26. Zheng HX, Burckart GJ, McCurry K, Webber S, Ristich J, Iacono A, Dauber J, McDade K, Grgurich W, Zaldonis D, Pillage G, Griffith BP, Zeevi A. Interleukin-10 production genotype protects against acute persistent rejection after lung transplantation. *J Heart Lung Transplant*. 2004;23:541-546.
27. Perez Bernal JB. Actualizaciones en Trasplantes. Ed. Hospital Universitario Virgen del Rocío. Sevilla. 2004
28. Lu KC, Jaramillo A, Lecha RL et al. Interleukin-6 and interferon-gamma gene polymorphisms in the development of bronchiolitis obliterans syndrome after lung transplantation. *Transplantation* 2002; 74: 1297-1302
29. McLaren AJ, Marshall SE, Haldar NA, Mullighan CG, Fuggle SV, Morris PJ, Welsh KI. Adhesion molecule polymorphisms in chronic renal allograft failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1977-1982
30. Borozdenkova S, Smith J, Marshall S et al. Identification of ICAM-1 polymorphism that is associated with protection from transplant associated vasculopathy after cardiac transplantation. *Hum Immunol* 2001; 62: 247-255
31. Kaplan B, Lown K, Craig R et al. Low bioavailability of cyclosporine microemulsion and tacrolimus in a small bowel transplant recipient: possible relationship to intestinal P-glycoprotein activity. *Transplantation* 1999; 67: 333-335
32. Masuda S, Uemoto S, Hashida T et al. Effect of intestinal P-glycoprotein on daily tacrolimus trough level in a living-donor small bowel recipient. *Clin Pharmacol Ther* 2000; 68: 98-103
33. Macphee IA, Fredericks S, Tai T et al. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation* 2002; 74: 1486-1499
34. 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; 3:477-483

35. Wang, Zeevi, McCurry et al. Impact of ABCB1 haplotypes on tacrolimus dosing in adult lung transplant patients who are CYP3A5 \*3/\*3 nonexpressors. *Transplant Immunology* 2006, 15: 235-240.
36. 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; 69: 308-316
37. Marinaki AM et al. Adverse drug reactions to azathioprine therapy are associated with polymorphism in the gene encoding inosine triphosphate pyrophosphatase (ITPase). *Pharmacogenetics*. 2004;14:181-187.
38. Hu YF et al. Effects of genetic polymorphisms of CYP3A4, CYP3A5 and MDR1 on cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Exp. Pharmacol Physiol* 2006; 33: 1093-1098
39. Zhang X et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 polymorphisms on tacrolimus concentration in the early stage after renal transplantation. *Clin Transplant* 2005; 19: 638-643
40. Azarpira N et al. Association between cyclosporine concentration and genetic polymorphisms of CYP3A5 and MDR1 during the early stage after renal transplantation. *Exp Clin Transplant* 2006; 416-419
41. Weinshilboum R et al. Pharmacogenomics: bench to bedside. *Nat Rev Drug Discov* 2004; 3: 739-748
42. Zheng HX, Zeevi A, Lamba J et al. Tacrolimus nephrotoxicity is predicted by MDR1 Exon 21 gene polymorphism whereas dosing is predicted by cytochrome P4503A5 polymorphism in adult lung transplant patients. American Transplant congress, Washington DC. *Transplantation* 2003; 3:426
43. Hebert MF, Dowling AL, Gierwatowski C et al. Association between MDR1 genotype and after liver transplantation renal dysfunction in patients receiving calcineurin inhibitors. *Pharmacogenetics* 2003; 13:1-14
44. Kochi S, Takanaga H, Matsuo H et al. Effect of cyclosporine A or tacrolimus on the function of blood-brain barrier cells. *Eur J Pharmacol* 1999; 372: 287-295
45. 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; 74: 571-572.

46. Hauffroid V, Wallemacq P, VanKerckhove V, Elens L, De Meyer M, Eddour DC, Malaise J, Lison D, Mourad M. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *Am J Transplant* 2006; 6(11): 2706-2713.

47. Thervet E, Lorient MA, Barbier S, Buchler M, Ficheux M, Choukroun G, Toupance O, Touchard G, Alberti C, Le Pogamp P, Moulin B, Le Meur Y, Heng AE, Subra JF, Beaune P, Legendre C. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clin Pharmacol Ther*: 87(6): 721-726.

48. Uesugi M, Masuda S, Katsura T, Oike F, Takada Y, Inui K. Effect of intestinal CYP3A5 on postoperative tacrolimus trough levels in living-donor liver transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2006; 16(2): 119-127

49. Von Ahsen N, Richter M, Grupp C et al. No influence of the MDR-1 C3435T polymorphism or a CYP3A4 promoter polymorphism (CYP3A4-V allele) on dose-adjusted cyclosporine A trough concentrations or rejection incidence in stable renal transplant recipients. *Clin Chem* 2001; 47: 1048.

50. Min D, Ellingrod VL. C3435T mutation in exon 26 of the human MDR1 gene and cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 400-404

51. Wandel C, Kim RB, Stein CM. "Inactive" excipients such as Cremophor can affect in vivo drug disposition. *Clin Pharmacol Ther* 2003; 73: 394-396

52. Le Meur Y, Djebli N, Szlag JC, et al. CYP3A5\*3 influences sirolimus oral clearance in the novo and stable renal transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2006; 80:51-60.

53. Anglicheau D, Le Corre D, Lechaton S, et al. Consequences of genetic polymorphisms for sirolimus requirements after renal transplant in patients on primary sirolimus therapy. *Am J Transplant*. 2005; 6: 595-603.

54. Zheng H, Webber S, Zeevi A, Schuetz E, Zhang J, Lamba J, Bowman P, Burckart GJ. The MDR1 polymorphisms at exons 21 and 26 predict steroid weaning in pediatric heart transplant patients. *Hum Immunol*. 2002; 63: 765-770.

55. Naesens M et al. Multidrug resistance protein 2 genetic polymorphisms influence mycophenolic acid exposition allograft recipients. *Transplantation* 2006; 82: 1074-1084.
56. Picard N, Wah Yee S, Woillard JB et al. The role of organic anion-transporting polypeptides and their variants in mycophenolic acid pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther*, 2010; 87: 100-108
57. Johnson L'A, Oetting WS, Basu S et al. Pharmacogenetic effect of the UGT polymorphisms on mycophenolate is modified by calcineurin inhibitors. *Eur J clin Pharmacol*, 2008; 64: 1047-1056
58. Miura M, Satoh S, Inoue K et al. Influence of SLCO1B1, 1B3, 2B1 and ABCC2 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplanta recipients. *Eur J clin Pharmacol*, 2007; 63: 1161-1169
59. Girard H, et al. Identification of common polymorphisms in the promoter of the UGT1A9 gene: evidence that UGT1A9 protein and antivity levels are strongly genetically controlled in the liver. *Pharmacogenetics* 2004; 14: 501-515
60. Kagaya H et al. Influence of UGT1A8 and UGT2Bt genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2007; 279-288
61. Mazariegos GV, Reyes J, Webber SA, Thomson AW, Ostrowski L, Abmed M, Pillage G, Martell J, Awad MR, Zeevi A. Cytokine gene polymorphisms in children successfully withdrawn from immunosuppression after liver transplantation. *Transplantation*. 2002;73:1342-135
62. Kuypers DR, Naesens M, Vermeire S, et al. The impact of uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A9 (UGT1A9) gene promoter region single-nucleotide polymorphisms T-275A and C-2152T en early mycophenolic acid dose-interval exposure in de novo renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther*. 2005; 78: 351-61.
63. Kagaya H, Inoue K, Miura M, et al. Influence of UGT1A8 and UGTB27 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007; 63: 279-88.
64. Badagnani I et al. Interaction of methotrexate with organic-anion transporting polypeptide 1A2 and its genetic variants. *Pharmacol Exp Ther* 2006; 318: 521-529

65. Flórez J. *Farmacología Humana*. 5ª Edición. Masson 2008.
66. Therapeutic Drug Monitoring – Is it important for newer immunosuppressive agents?. *Drug the perspect* 2001;17 (22):8-12
67. Sebbag L, Boucher P, Davelu P et al. Thiopurine S-methyltransferase gene polymorphism is predictive of azathioprine-induced myelosuppression in heart transplant recipients. *Transplantation* 2000; 69: 1524-1527
68. Thervet E, Anglicheau D, toledano N et al. Long-term results of TPMT activity monitoring in azathioprine-treated renal allograft recipients. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 170-176
69. Relling MV, Hancock ML, Rivera GK, et al. Mercaptopurine therapy intolerance and heterozygosity at the thiopurine S-methyltransferase gene locus. *J Natl Cancer Inst.* 1999; 91: 2001-2008.
70. Calvo Hernández MV, Fernández de Gatta MM. Terapia farmacológica: inmunosupresores químicos. *Farmacoterapia del trasplante de órganos*. SCM 2003; pag: 7-27.
71. Carretero M. Tacrolimus. *OFFARM* 2001; pag:177-80.
72. Nakajima M, Komagata S, Fujiki Y, Kanada Y, Ebi H, Itoh K, Mukai H, Yokoi T, Minami H. Genetic polymorphisms of CYP2B6 affect the pharmacokinetics/pharmacodynamics of cyclophosphamide in Japanese cancer patients. *Pharmacogenet Genomics* 2007; 17(6): 431-445.
73. Zanger UM, et al. Polymorphic CYP2B6: molecular mechanisms and emerging clinical significance. *Pharmacogenomics* 2007; 8: 743-759
74. Timm R, et al. Association of cyclophosphamide pharmacokinetics to polymorphic cytochrome P450 2C19. *Pharmacogenomics* 2005; 5: 365-373
75. Kim I et al. Glutathione S-transferase A1 polymorphisms and acute graft-vs.-host disease in HLA-matched sibling allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Clin Transplant* 2007; 21: 207-213
76. Levesque E et al. The impact of UGT1A8, UGT1A9, and UGT2B7 genetic polymorphisms on the pharmacokinetic profile of mycophenolic acid after a single oral dose in healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 2007; 81: 392-400