

**ASOCIACIÓN DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS CYP3A5 Y ABCB1/MDR1 Y LA
FARMACOCINÉTICA DE TACROLIMUS EN PACIENTES TRASPLANTADOS HEPÁTICOS DEL
HOSPITAL SAN VICENTE FUNDACIÓN RIONEGRO.**

TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

(Para optar al título de Magíster en Ciencias Básicas Biomédicas- Énfasis en Farmacología)

Presentado por

ERIKA FERNANDA LINDARTE RINCÓN, MICROBIÓLOGA

Tutor

JEFFERSON ANTONIO BUENDÍA RODRÍGUEZ, M.Sc. Ph.D

Profesor Facultad de Medicina

Universidad de Antioquia

Grupo de investigación en Farmacología y Toxicología (INFARTO)

Comité Tutorial

GONZALO DE JESÚS VÁSQUEZ PALACIO, Esp. M.Sc.

CARLOS MARIO MUÑETÓN PEÑA, M.Sc.

CARLOS RODRÍGUEZ, M.Sc. D.Sc.

CORPORACIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS BIOMÉDICAS

FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE ANTIOQUIA

MEDELLÍN – ANTIOQUIA

2023

Tabla de contenido

RESUMEN.....	6
ABSTRACT.....	7
1. INTRODUCCIÓN.....	8
2. MARCO TEÓRICO.....	10
Trasplantes en Colombia.....	10
2.1. Trasplante hepático.....	12
2.2. Indicaciones, evaluación y complicaciones de los pacientes de trasplante hepático.....	13
2.3. Tratamiento inmunosupresor: inhibidores de la calcineurina.....	15
2.4. Polimorfismos genéticos en el gen <i>CYP3A5</i> y el gen <i>ABCB1/MDR1</i>	17
2.4.1. Polimorfismos en el gen <i>CYP3A5</i>	18
2.4.2. Polimorfismos en el gen <i>ABCB1/MDR1</i>	20
2.5. Antecedes de asociación de variantes genéticas y la respuesta a tacrolimus.....	22
3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	24
4. OBJETIVOS.....	26
5. METODOLOGÍA.....	27
5.1. Población en estudio.....	27
5.2. Selección y tamaño de la muestra.....	27
5.3. Criterios de inclusión.....	27
5.4. Criterios de exclusión.....	28
5.5. Monitoreo plasmático de Tacrolimus.....	28
5.6. Medición de rechazo agudo del injerto.....	28
5.7. Presencia de eventos adversos.....	28
5.8. Recopilación de datos del paciente.....	29
5.9. Extracción de ADN y genotipificación de <i>CYP3A5*3</i> , <i>ABCB1-C3435T</i> y <i>ABCB1-G2677T</i>	29
5.9.1. Toma de muestras embebido en parafina y extracción de DNA.....	29
5.9.2. Selección de pacientes.....	29
5.10. Genotipificación.....	30
5.11. Análisis estadísticos.....	31
5.11.1. Análisis descriptivo.....	31
5.11.2. Análisis de asociación.....	32
5.12. Aspectos éticos.....	32

6. RESULTADOS	33
6.1. Evaluar la frecuencia de los polimorfismos genéticos del gen CYP3A5 y ABCB1 en receptores trasplantados de hígado.....	33
6.2. Estimar las concentraciones plasmáticas del Tacrolimus en el tiempo de los pacientes trasplantados.....	35
6.3. Determinar la asociación de los polimorfismos y la variabilidad farmacocinética de las concentraciones de tacrolimus en pacientes trasplantados hepáticos	38
7. DISCUSIÓN.....	41
8. CONCLUSIONES	47
9. PERSPECTIVAS	48
10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	49

Tabla de figuras

Figura 1. Representación esquemática de la farmacocinética y farmacodinamia del metabolismo de tacrolimus y ciclosporina. Tomado de [26].....	17
Figura 2. Distribución de mutaciones en el gen CYP3A5 y su nomenclatura. Tomado de [33]	18
Figura 3. Gráficos circulares que muestran las frecuencias de los alelos de CYP3A5 en diferentes poblaciones. ALL: Todos los individuos de la fase 3 del proyecto de 1000 genomas. AFR: Africanos. AMR: Americanos EAS: Este de Asia. EUR: Europeos. SAS: Sur de Asia.....	20
Figura 4. Distribución de variantes en el gen ABCB1. Modificado de [40]	21
Figura 5. Gráficos circulares que muestran las frecuencias de los alelos de ABCB1 en diferentes poblaciones. ALL: Todos los individuos de la fase 3 del proyecto de 1000 genomas. AFR: Africanos. AMR: Americanos EAS: Este de Asia. EUR: Europeos. SAS: Sur de Asia.....	21
Figura 6. Diagrama que muestra la eliminación de pacientes que no cumplían con criterios de inclusión o que no se encontraron bloques de parafina para su análisis.....	30
Figura 7. Cromatograma que presenta los polimorfismos identificados en los genes CYP3A5 y ABCB1. A. Polimorfismo de transición A>G en el intrón 3 del gen CYP3A5 que genera un splicing alternativo de la proteína. B. Polimorfismo de transversión c.2677 T>G del gen.....	34

Índice de tablas

Tabla 1. Número de trasplantes por tipo de órgano. Colombia, septiembre de 2021. Tomado de [1].....	4
Tabla 2.Indicaciones del trasplante hepático en el adulto (Modificado de [8])	6
Tabla 3. Fenotipo, implicaciones y recomendaciones terapéuticas de los genotipos de CYP3A5 [16] ...	16
Tabla 4. Secuencias de los primers de los genes analizados y el tamaño en pares de bases (pb) del fragmento amplificado por PCR.	24
Tabla 5. Genotipos de las variantes de los genes ABCB1 y CYP3A5.	26
Tabla 6. Información de los genotipos para cada paciente secuenciado durante el estudio.....	27
Tabla 7. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes captados en el estudio.	28
Tabla 8. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes tratados con tacrolimus.	29
Tabla 9. Variables sociodemográficas de los pacientes fallecidos incluidos en el estudio.....	30
Tabla 10. Variables sociodemográficas de pacientes vivos incluidos en el estudio.....	31
Tabla 11. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes secuenciados para el gen CYP3A5.	31
Tabla 12. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes secuenciados para el rs 2032582 del gen ABCB1	32
Tabla 13. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes secuenciados para el rs 1045642 del gen ABCB1	33
Tabla 14. Comparación de alelos en el rs 776746 del gen CYP3A5 y las frecuencias genotípicas reportadas en la base de datos de mil genomas. Tomada y modificada de [91].....	37

RESUMEN

Tacrolimus es un fármaco inmunosupresor ampliamente utilizado en el trasplante de órganos para prevenir el rechazo. Este medicamento actúa inhibiendo la actividad del sistema inmunológico, reduciendo la respuesta del cuerpo a los órganos trasplantados. Sin embargo, la eficacia y los efectos secundarios de tacrolimus pueden variar considerablemente entre los pacientes, y la farmacogenética ha surgido como un campo de estudio importante para comprender estas diferencias individuales en la respuesta al fármaco.

Por otro lado, la individualización terapéutica se basa en adaptar la inmunosupresión a las características intrínsecas de cada receptor de trasplante, como la edad, el sexo, el genotipo y las comorbilidades, con el objetivo de aumentar la supervivencia y reducir los eventos adversos. Específicamente, se buscan polimorfismos de un solo nucleótido en genes relacionados con la absorción, distribución y mecanismo de acción de los fármacos.

El conocimiento de estos polimorfismos de ABCB1 y CYP3A5 es relevante para la práctica clínica, ya que puede ayudar a personalizar las dosis de tacrolimus para optimizar la eficacia y minimizar los efectos adversos en los pacientes trasplantados. La determinación genética de estos polimorfismos puede ser útil para guiar las decisiones terapéuticas y ajustar las dosis de tacrolimus de acuerdo con las características individuales de cada paciente.

Este estudio es pionero en Colombia y tiene como objetivo caracterizar genéticamente a pacientes sometidos a trasplante de hígado en relación con los polimorfismos que pueden afectar el metabolismo de los inmunosupresores, especialmente el tacrolimus. Se tomaron biopsias de tejidos embebidos en parafina del hospital San Vicente fundación de Rionegro, se extrajo el ADN y se secuenció para conocer el genotipo del hígado del paciente trasplantado.

Aunque este estudio no contó con muestras de donantes, se pudo evaluar el genotipo de los receptores, lo que permite comprender cómo afecta la absorción del medicamento. Además, se compararon las frecuencias alélicas encontradas en los pacientes colombianos con otras poblaciones, mostrando similitudes con las poblaciones americanas y diferencias con otras poblaciones como la egipcia o china.

El conocimiento del genotipo es importante para prevenir y reconocer los riesgos de efectos adversos, como el rechazo agudo del trasplante. También se observaron diferencias en las variables demográficas y las concentraciones de tacrolimus entre esta población colombiana y otras poblaciones estudiadas, lo que resalta la importancia de investigar específicamente en la población local.

ABSTRACT

Tacrolimus is an immunosuppressive drug widely used in organ transplantation to prevent rejection. This medication works by inhibiting the activity of the immune system, reducing the body's response to transplanted organs. However, the effectiveness and side effects of tacrolimus can vary considerably among patients, and pharmacogenetics has emerged as an important field of study to understand these individual differences in drug response.

Therapeutic individualization is based on adapting immunosuppression to the intrinsic characteristics of each transplant recipient, such as age, sex, genotype, and comorbidities, with the aim of increasing survival and reducing adverse events. Specifically, single nucleotide polymorphisms in genes related to drug absorption, distribution, and mechanism of action are sought.

Knowledge of these ABCB1 and CYP3A5 polymorphisms is relevant to clinical practice, as it can help personalize tacrolimus doses to optimize efficacy and minimize adverse effects in transplant patients. Genetic determination of these polymorphisms can be useful in guiding therapeutic decisions and adjusting tacrolimus doses according to the individual characteristics of each patient.

This study is pioneering in Colombia and aims to genetically characterize liver transplant patients in relation to polymorphisms that may affect the metabolism of immunosuppressants, especially tacrolimus. Paraffin-embedded tissue biopsies were taken from the San Vicente Foundation Hospital in Rionegro, DNA was extracted, and sequencing was performed to determine the genotype of the transplanted liver.

Although this study did not have samples from donors, the genotype of the recipients could be evaluated, allowing an understanding of how drug absorption is affected. In addition, allele frequencies found in Colombian patients were compared to other populations, showing similarities with American populations and differences from other populations such as Egyptian or Chinese.

Knowledge of genotype is important for preventing and recognizing the risks of adverse effects, such as acute transplant rejection. Differences in demographic variables and tacrolimus concentrations were also observed between this Colombian population and other studied populations, highlighting the importance of specific research in the local population.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, agradezco a Dios por estar presente en cada camino de mi vida, ser luz y fuerza, porque sin su presencia nada tendría sentido.

Agradezco a mi madre quien con su empuje y dedicación en amor me ha impulsado siempre a lograr mis metas y nunca abandonarlas frente a las adversidades, ella logra que cada día me esfuerce en demostrarle que su amor me ha llevado a cumplir mis sueños y los de ella, así como también mis objetivos personales y académicos.

Agradezco a mi hijo por entenderme y estar presente con tanto amor cada día a pesar de la distancia, él es un motivo más para ver brillar la vida, sus palabras de amor me mantuvieron tranquila en momentos en los que creía no ser capaz de continuar.

Agradezco a mi tutor el Doctor Jefferson Antonio Buendía, por su paciencia, sin sus correcciones precisas no hubiese podido lograr llegar a esta instancia tan anhelada. Agradezco al profesor Gonzalo Vásquez por su dedicación, gracias por su guía y todos sus consejos, los llevaré grabados para siempre en mi memoria, al profesor Carlos Mario Muñetón por estar pendiente y atento a cada paso de este proceso.

Agradezco profundamente a Jazmín Celeste Calvo Álvarez, su apoyo incondicional, sus palabras, su guía y su gran amistad me permitieron ver que todo con entrega y mucho cariño sale adelante.

Agradezco a todo el equipo del Laboratorio LIME, especialmente al grupo de Genética, y al director el profesor ANDREZ ZULUAGA.

Por último, agradezco a la Corporación de Ciencias Básicas Biomédicas, especialmente a la profesora Eliana Restrepo quien siempre me dio consejos y estuvo muy atenta a dar solución a cualquier impedimento que se presentara en el camino, Agradezco a cada directivo por su trabajo y por su gestión, sin lo cual no estarían las bases ni las condiciones para aprender conocimientos.

1. INTRODUCCIÓN

El polimorfismo CYP3A5*3/3 es un fenómeno genético que ha despertado un gran interés en el campo de la medicina y, en particular, en el ámbito de los trasplantes de hígado en Colombia. Este polimorfismo se refiere a una variante genética específica del gen CYP3A5, que codifica una enzima hepática llamada citocromo P450 3A5.

El citocromo P450 3A5 juega un papel crucial en el metabolismo de numerosos fármacos utilizados en el contexto de los trasplantes de hígado. Estos medicamentos incluyen inmunosupresores, como la ciclosporina y el tacrolimus, que son fundamentales para prevenir el rechazo del órgano trasplantado.

El polimorfismo CYP3A5*3/3 se caracteriza por una baja actividad enzimática de CYP3A5, lo que implica que los individuos portadores de esta variante genética metabolizan los fármacos de manera más lenta en comparación con aquellos que no la tienen. Esta diferencia en el metabolismo puede tener importantes implicaciones clínicas en los pacientes trasplantados de hígado.

En el contexto colombiano, donde los trasplantes de hígado son una realidad médica en constante crecimiento, el estudio del polimorfismo CYP3A5*3/3 cobra relevancia debido a sus posibles implicaciones en la farmacocinética y eficacia de los medicamentos inmunosupresores utilizados. Comprender cómo este polimorfismo influye en el metabolismo de los fármacos puede permitir un enfoque más individualizado en el uso de medicamentos inmunosupresores, lo que a su vez podría mejorar los resultados del trasplante y reducir los efectos adversos asociados.

En resumen, el polimorfismo CYP3A5*3/3 se presenta como un factor genético clave a tener en cuenta en los trasplantes de hígado en Colombia. Su influencia en el metabolismo de los medicamentos inmunosupresores podría tener implicaciones significativas en la práctica clínica, y su estudio continuo puede abrir nuevas perspectivas en la optimización de los tratamientos y resultados en los pacientes trasplantados.

2. MARCO TEÓRICO

Trasplantes en Colombia:

Los trasplantes de órganos y tejidos son procedimientos médicos que han demostrado su eficacia Mejorando la calidad de vida o evitando la muerte de muchos colombiano. En el país, la regulación propuesta por el Ministerio de Salud (2022) garantiza la donación altruista, voluntaria y desinteresada de órganos y tejidos para los procedimientos de trasplantes a los pacientes que lo necesitan [1]

Este procedimiento se define como el reemplazo de un órgano en un paciente (receptor) crónicamente enfermo por otro órgano sano proveniente de un donante en muerte cerebral o, en casos específicos, de un donante vivo. Entre los órganos que pueden donarse y trasplantarse están: el corazón, los pulmones, el hígado, el páncreas y los riñones. También pueden realizarse trasplantes de tejidos como córneas, globos oculares, huesos, piel, válvulas cardiacas y tejido osteotendinoso (músculos, hueso, tendones, cartílago) [2]. En el territorio nacional se realizan todos los tipos de trasplantes que, en la actualidad, han demostrado su eficacia y seguridad, tanto de órganos como de tejidos , o células madre hematopoyéticas [1].

En la actualidad, en el país más de 2500 colombianos requieren de un trasplante para seguir viviendo o para mejorar su calidad de vida y el 20% puede fallecer esperándolo. En la actualidad la realización de estos procedimientos por la pandemia fueron limitados; los trasplantes con donante cadavérico también se han visto afectados, pues el virus Covid19 no permite utilizar los órganos por la infección y el miedo de los donantes vivos a contagiarse, han incrementado las listas de espera [2].

Con el aumento en Colombia de la expectativa de vida también aumenta la prevalencia de las enfermedades crónicas y por tanto la cantidad de pacientes. En Bogotá, a corte del tercer trimestre de 2022, se encuentran un total 2.107 personas en Listas de Espera de Donación de Órganos y Tejidos oculares, reflejando un aumento del 5.7 % con relación a la lista que se tenía en diciembre 2021, momento en el cual se encontraban 1.993 personas. De estas 2.107 personas 1.950 (92.5%) esperan para donación un órgano y 157 (7.5 %) un tejido ocular. El órgano con mayor demanda es el riñón con 1.798 personas en espera (92.2 %) ; 95 (4,8 %) personas esperan un hígado, 35 (1,8 %) personas esperan donación de pulmón, 15 (0,8 %) personas esperan un corazón y 7 (0,4 %) personas esperan una donación combinada de Riñón-Hígado [3]

En Colombia, hasta septiembre de 2021, según el INS se han obtenido 188 donantes de órganos y 977 donantes de tejidos; se han realizado 515 trasplantes con donante cadavérico y 145 con donante vivo (Tabla 1) [1]

Según los datos presentados en la tabla 1, el trasplante hepático ocupa el tercer lugar entre los más comunes, lo que resalta su importancia.

Tabla 1. Número de trasplantes por tipo de órgano. Colombia, septiembre de 2021. Tomado de [1]

Órgano	Donante cadavérico	Donante vivo	Total
Riñón	330	96	426
Corazón	52		52
Hígado	106	49	155
Pulmón	14		14
Intestino	1		1
Páncreas	1	49	1
Riñón – corazón	1	0	0
Riñón – hígado	3		3
Riñón – páncreas	8		8
Total	515	145	660

2.1. Trasplante hepático.

El hígado es el centro de numerosos procesos fisiológicos; estos incluyen el metabolismo de macronutrientes, regulación de volumen sanguíneo, apoyo al sistema inmune, control endocrino de vías de señalización de crecimiento, lípidos y homeostasis del colesterol, además del metabolismo de compuestos xenobióticos, incluidas una gran cantidad de medicamentos [4]

El trasplante de hígado se considera actualmente el tratamiento principal para la insuficiencia hepática crónica, la falla hepática aguda de mal pronóstico, tumores hepáticos primarios y algunas enfermedades por errores en el metabolismo [5]. Se han presentado grandes avances desde 1963 cuando el Dr. Thomas Starzl realizó el primer trasplante hepático en humanos [6]. Al inicio con resultados decepcionantes pero que en la actualidad han mejorado por el perfeccionamiento de las técnicas quirúrgicas, mejores cuidados perioperatorios, la utilización de nuevos y medicamentos inmunosupresores más efectivos, la adecuada selección de los pacientes han consolidado este procedimiento en una alternativa terapéutica de eficacia demostrada [5]. En el mundo se han presentado cifras de mortalidad perioperatoria menores a 10%, con tasas de supervivencia a 5 años que superan 75% en muchos programas [7].

El trasplante hepático ortotópico consiste en la extirpación de un hígado enfermo y su sustitución, en la misma localización, por un hígado sano, procedente generalmente de un donante cadavérico que cumple con una serie de requisitos específicos en talla, peso y compatibilidad con el receptor, es un procedimiento sumamente complejo que requiere de un seguimiento minucioso [8] Entre este seguimiento se encuentra la monitorización de la función hepática y del tratamiento inmunosupresor, el diagnóstico, seguimiento y tratamiento de infecciones y recientemente el estudio farmacogenético de los fármacos inmunosupresores en los pacientes. Como se puede ver las cifras presentadas anteriormente para trasplantes en el país, el trasplante de hígado se encuentra entre los tres más comunes, lo que muestra su importancia. Thuluvath y colaboradores (2010) mostraron resultados de centros americanos a largo plazo (información OPTN/SRTR), donde se encontró que la supervivencia de pacientes a 1, 5 y 10 años es de 88.4, 73.8 y 60% respectivamente [9]

Santos y colaboradores (2019) en su estudio en un centro médico de la ciudad de Medellín, entre los años 2004 y 2010 se realizaron 241 trasplantes hepáticos, mientras que entre los años 2011 y 2016 fueron 160 trasplantes de hígado. En el primer lapso de tiempo reportado,

la supervivencia a un año fue del 82% y a 5 años fue del 72%, donde la principal causa de muerte fue la sepsis [10]

2.2. Indicaciones, evaluación y complicaciones de los pacientes de trasplante hepático

Las principales indicaciones de trasplante hepático fueron cirrosis por alcohol, cirrosis criptogénica y cirrosis por hepatitis autoinmune, con una disminución de los casos de hepatitis B y C en la serie 2. El 30 % de los pacientes tenía hepatocarcinoma. Las principales causas de muerte fueron: cáncer, enfermedad cardiovascular y sepsis. Existió un incremento significativo en las complicaciones biliares, sin diferencias en las complicaciones infecciosas, vasculares y el rechazo celular entre los dos períodos [10]

Tabla 2. Indicaciones del trasplante hepático en el adulto (Modificado de [8])

Indicaciones comunes	Indicaciones inusuales
Cirrosis hepática Viral (hepatitis B y C) Etílica Autoinmune Criptogénica	Enfermedades hereditarias y metabólicas Hemocromatosis hereditaria Enfermedad de Wilson Déficit de la alfa-1-antitripsina Esteatohepatitis no alcohólica Polineuroatía amiloidótica familiar Enfermedad de Caroli Enfermedad por depósito de colágeno tipo 1 Fibrosis quística (mucoviscidosis) Enfermedad poliquística Hiperoxaluria primaria Protoporfiria
Hepatopatías colestásicas crónicas Cirrosis biliar primaria Colangitis esclerosante primaria Cirrosis biliar secundaria	2. Tumores hepáticos Primarios: hepatocarcinoma, carcinoma hepatocelular, fibrolamelar, hemangioendotelioma Metástasis de tumores neuroendocrinos.

Carcinoma hepatocelular	3. Enfermedades vasculares hepáticas Síndrome de Budd-Chiari Enfermedad veno-oclusiva hepática
Insuficiencia hepática aguda grave (fallo hepático fulminante)	4. Otros Cirrosis biliar secundaria Retrasplante

Al ser evaluados los pacientes, tradicionalmente se ha utilizado la clasificación de Child-Pugh (CP) para establecer pronóstico en cirrosis, el rango de esta escala varía entre 5 y 15 puntos, basado en la presencia de ascitis, encefalopatía y parámetros de laboratorio (bilirrubina, albúmina y protrombina), estableciéndose las clases A, B y C [11].

Se trata de un modelo iniciado en el año 1964 por Child y Turcotte con el objetivo de estratificar el riesgo quirúrgico en pacientes con descompensación portal. Posteriormente fue modificada por Pugh en el año 1972 al cambiar el parámetro de estatus nutricional por el tiempo de protrombina, siendo esta escala la vigente en la actualidad [12]. Este es un 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 usa ahora para determinar el pronóstico, así como la necesidad de un trasplante de hígado [12]

Malinchoc y cols 2000. Establecieron la clasificación de MELD (Model for End-Stage Liver Disease), para predecir sobrevida en pacientes con cirrosis hepática sometidos a la instalación de un TIPS (Transjugular Intrahepatic Portosystemic Shunt). A partir del 2002, esta escala comienza a ser usada en Estados Unidos de Norteamérica (EE.UU.) para la asignación y priorización de órganos en TH13-16. Este modelo predictivo (MELD) se ha extendido y ha sido utilizado para el pronóstico de sobrevida en cirrosis de cualquier etiología [11]

Debido a que existe un desequilibrio entre la oferta y la demanda de hígados para trasplante, es imprescindible que sean exhaustivamente evaluados y valorados con el fin de detectar cualquier condición que pueda dificultar la evolución del paciente, llevando a la pérdida del injerto. Por ejemplo, una persona con adicción activa a alcohol y drogas, tumores extrahepáticos, enfermedad cardíaca, pulmonar o neurológica grave, entre otros, son contraindicaciones del trasplante hepático [13].

Según Argudo-Ramírez (2016), la calidad de la función inicial del injerto es muy importante y determinante en el futuro clínico del paciente, así como la corrección de las complicaciones inmediatas, son de gran interés clínico [8,14]

Se pueden presentar complicaciones quirúrgicas, como hemorragia postoperatoria o complicaciones vasculares y biliares, rechazo agudo, complicaciones infecciosas e insuficiencia renal, entre otros, y a largo plazo se puede generar complicaciones metabólicas entre otros [8]. A pesar de los resultados favorables del procedimiento para la calidad de vida de los involucrados, los pacientes sometidos a este procedimiento pueden presentar este tipo de complicaciones que pueden llevar incluso a la muerte [10].

Por lo anterior es fundamental buscar el equilibrio entre la máxima efectividad para evitar el rechazo y obtener una supresión del sistema inmune que mantenga el control contra infecciones y neoplasias, evitando a la vez la toxicidad directa de los agentes inmunosupresores. Como consecuencia de la evolución de los protocolos de inmunosupresión, la incidencia del rechazo agudo del injerto ha disminuido progresivamente [15].

2.3. Tratamiento inmunosupresor: inhibidores de la calcineurina

Con los avances de la terapia inmunosupresora han reducido la tasa de rechazo agudo, y a pesar de sus efectos adversos, ha aumentado la supervivencia postrasplante; uno de los fármacos más importantes son los inhibidores de la calcineurina, los cuales se convirtieron en la primera línea de tratamiento en la mayoría de los casos de trasplante [15]. El objetivo de estos medicamentos es evitar el rechazo, ya sea agudo o crónico. Esta inmunosupresión se asocia siempre a cierto riesgo para el receptor, ya que afecta la capacidad de defensa del paciente frente a las infecciones y al desarrollo de tumores. El equilibrio en los regímenes inmunosupresores son claves para disminuir el rechazo y evitar la aparición de efectos adversos, así, debe adaptarse según la etapa post-trasplante: En un primer momento o de inducción, donde la capacidad del paciente es máxima, las dosis también deben ser máximas; posteriormente se pasa a una etapa de mantenimiento, pudiéndose disminuir las dosis del inmunosupresor al mínimo, habitualmente a partir del tercer mes [8].

La ciclosporina y el tacrolimus, también conocido como FK506 son la base de la terapia inmunosupresora, aunque posteriormente hayan surgido otros fármacos como los mTOR, generalmente estos últimos no se utilizan en los primeros meses después del trasplante. El

tacrolimus es un fármaco inmunosupresor del grupo de los macrólidos inhibidores de la calcineurina [8,16]. Su mecanismo de acción se basa en la inhibición de la activación de los linfocitos T al unirse a su receptor citoplasmático FKBP12 ubicado en los linfocitos T. Este complejo se une a la calcineurina lo que previene la desfosforilación de esta enzima. Este evento evita que la calcineurina reclute el factor nuclear encargado de la activación de las células T, principales responsables del rechazo del implante, y también evita la proliferación de células B así como la formación de citoquinas (como las interleucinas 2, 3 e -interferón y la expresión del receptor de la interleucina-2) [17,18]. Por su parte, ciclosporina presenta un mecanismo de acción similar; no obstante, tacrolimus presenta efectos a concentraciones 100 veces más bajas que las de ciclosporina.

La farmacocinética del tacrolimus tras su administración oral, en la cual es absorbido rápidamente en algunos pacientes, alcanzando las concentraciones máximas en plasma en 30 minutos y en otros, tarda más tiempo en ser absorbido, el equilibrio de las concentraciones tras la administración oral se alcanza en un plazo de 3 días. La dosis recomendada es de 0,15-0,30 mg/kg/día vía oral, dividida en dos tomas separadas por 12 horas [19]

La glicoproteína p (Gp-P) es un transportador tipo eflujo encargado de la absorción del tacrolimus mediante difusión facilitada. Una vez el tacrolimus es absorbido a nivel intestinal y entra en el sistema hepático portal para llegar al hígado, su metabolismo es llevado a cabo por los citocromos CYP3A4 y CYP3A5, los cuales son las principales enzimas responsables de la bioactivación hepática de este medicamento, siendo la hidroxilación y desmetilación las principales rutas metabólicas [20]. Una vez el fármaco original es transformado a su forma activa en el hígado este llega a circulación sistémica y luego ingresa a los eritrocitos donde posteriormente se une a su blanco terapéutico. Este proceso de biotransformación del tacrolimus comprende la formación de 4 metabolitos diferentes los cuales son eliminados por la bilis, la orina y las heces [21-22]. De este proceso metabólico se pueden formar hasta 15 metabolitos distintos de los cuales quien comprende la mayor actividad inmunosupresora, comparable a tacrolimus, es 31-O-desmetiltacrolimus. El tacrolimus sufre de una gran metabolización, por lo que menos del 1% del fármaco original llega de forma inalterada a orina y heces [23-24].

Además, el tacrolimus tiene un volumen de distribución aparentemente pequeño ($V_d=1$ a $1,5$ L/kg) porque se une en gran medida (99%) a los eritrocitos y las proteínas del plasma sanguíneo. La excreción de tacrolimus se realiza principalmente por vía biliar, y el 97% del tacrolimus se elimina en las heces [25]

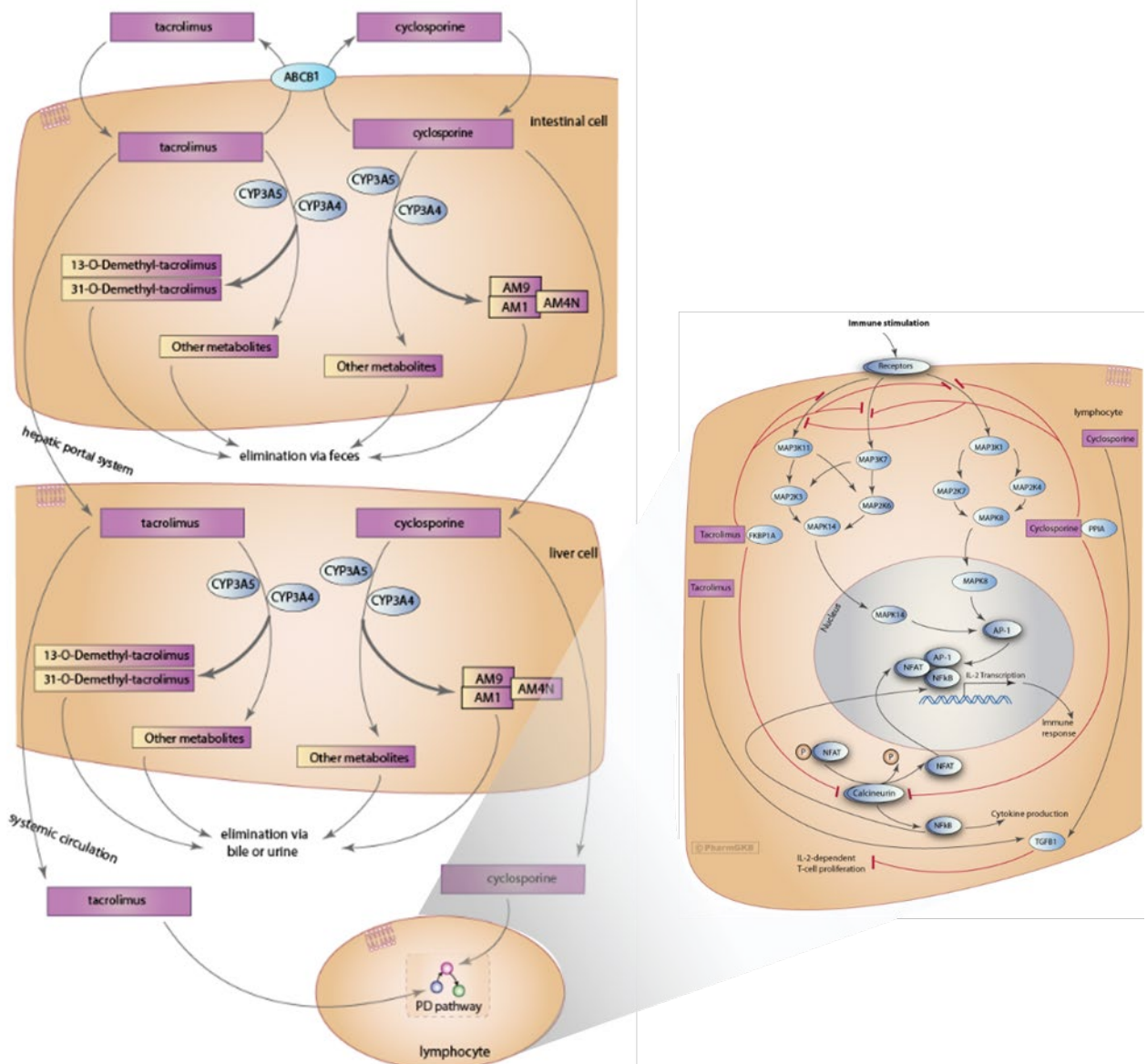


Figura 1. Representación esquemática de la farmacocinética y farmacodinamia del metabolismo de tacrolimus y ciclosporina. Tomado de [26]

2.4. Polimorfismos genéticos en el gen CYP3A5 y el gen ABCB1/MDR1

La variabilidad farmacocinética del tacrolimus se explica en parte por la presencia de polimorfismo en genes que codifican proteínas importantes para la bioactivación de este fármaco. Entre estos polimorfismos destacan las variantes 6986A>G (rs776746) en el gen CYP3A5 y 3435C>T (rs1045642) en el gen MDR1/ABCB1 [27-28]

2.4.1. Polimorfismos en el gen *CYP3A5*

El gen *CYP3A5* comprende más de 500 variantes genéticas tipos SNPs de los cuales, solo unos pocos han sido clasificados como alelos de pérdida de función tales como *3, *6 y *7, sin embargo, *CYP3A5**3 ha sido la variante más asociada con mayores requerimiento de dosis del medicamento (figura 2) [29]. Esta variante genética tipo SNP consiste en una sustitución de A>G en la posición 6986 ubicada en el intrón 3, la cual se identifica en la base de datos de NCBI con el ID rs776746. El alelo silvestre para este gen se conoce como *CYP3A5**1 también conocido como alelo “wild-type” [30]. La variante *CYP3A5**3 afecta el evento postranscripcional del pre-RNAm ya que evita la unión adecuada el exón 3 y 4. El RNAm maduro tendrá una secuencia alterada haciendo inestable y será eliminada por la célula por lo cual no se llegará a traducir los por ribosomas para sintetizar la proteína encargada de la bioactivación del tacrolimus. Los genotipos *CYP3A5**1/*1 y *CYP3A5**1/*3 expresan altos niveles de la enzima *CYP3A5* y se conocen como expresadores o expresores, por lo que hay un elevado aclaramiento y baja biodisponibilidad del tacrolimus. Por otra parte, el genotipo homocigoto para el alelo *CYP3A5**3 (*CYP3A5**3/*3) es clasificado como “no expresador o no expresor” los cuales están asociados con muy bajos o indetectables niveles de la proteína funcional *CYP3A5* y por tanto, no metabolizarán a sus sustratos de forma efectiva [31-32]

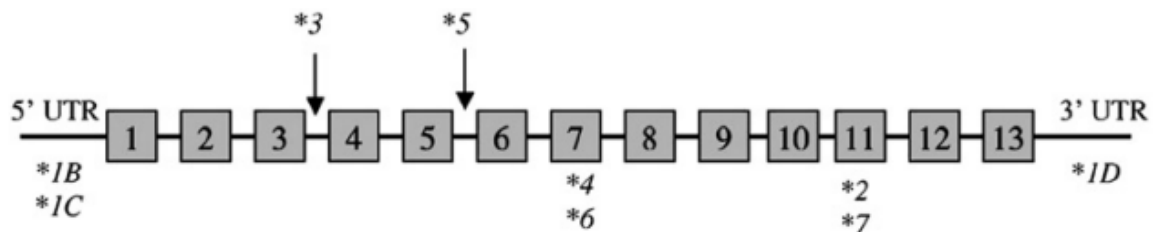


Figura 2. Distribución de mutaciones en el gen *CYP3A5* y su nomenclatura. Tomado de [33]

Birdwell y colaboradores (2015), mediante una revisión sistemática de más de 50 trabajos de investigación evaluaron la asociación entre los genotipos de la variante *CYP3A5**3 con la falla terapéutica del tacrolimus han evidenciado que las concentraciones sanguíneas de la forma activa de este medicamento están fuertemente influenciadas por las formas genotípicas derivadas de la variante *CYP3A5**3. Por ejemplo, se observó que aquellos pacientes con trasplante hepático que tenían los genotipos *CYP3A5**1/*1 y *CYP3A5**1/*3 comprenden requerimientos mínimos de tacrolimus significativamente más altos (1.5-2 veces mayor dosis) que pacientes que tienen el genotipo *CYP3A5**3/*3 para tener concentraciones en sangre similares; los resultados de más de 50 estudios en esta revisión para diferentes tipos de trasplante como riñón, corazón y pulmones y estudios como el realizado por Haufroid, y

colaboradores (2004) permitieron evidenciar que estas variantes pueden llegar a explicar hasta el 45% de la variabilidad en la dosificación del tacrolimus [16,29,34]

Otros trabajos como el de Rojas y colaboradores (2014) realizaron un metaanálisis en el que se analizaron 37 estudios relacionados con la presencia de polimorfismo y el rechazo agudo y nefrotoxicidad crónica en pacientes receptores de trasplante de hígado, de etnia caucásica y asiática principalmente, evidenciaron que pacientes que eran homocigóticos para el alelo no expresor *CYP3A5*3* (*CYP3A5*3/*3*) con respecto a la forma homocigota *CYP3A5*1* y heterocigota influye en la *razón de concentración/dosis* (C/D) de tacrolimus y afecta el riesgo de nefrotoxicidad crónica. Los pacientes con el genotipo “no expresor” mostraron una relación C/D de 1,8 a 2,5 veces mayor que los pacientes con los genotipos que expresan *CYP3A5* durante el primer año después del trasplante, lo que indica que la forma genotípica “*CYP3A5*3/*3*” tienen influencia en el metabolismo del tacrolimus dentro de los días posteriores al trasplante y que los pacientes con esta forma genotípica requieren dosis más bajas (dosis estandarizadas para el tratamiento) para lograr las concentraciones sanguíneas deseadas [29]

Li y colaboradores (2014), en un estudio retrospectivo analizó 240 pacientes asiáticos quienes fueron receptor de trasplante hepático, evidenciaron una asociación significativa entre las formas genotípicas *CYP3A5*3/*3*, *CYP3A4*1/*1* y *CYP3A4-CC* con C/D en diferentes momentos después del trasplante [35]. Estudios como el de Staatz y colaboradores (2010), al igual que los estudios antes mencionados, han identificado que pacientes con alelos de pérdida de función en el gen *CYP3A5* tienen un requerimiento de dosis menor de hasta el 50% con respecto a variantes que tienen el alelo silvestre [36]

Todas las variantes presentes en el gen *CYP3A5* son altamente polimórficas entre los distintos grupos étnicos. En el caso del alelo *CYP3A5*1*, este se encuentra presente en 18% de la población africana, 80% en amerindios, 71% en asiáticos del este, 94% en europeos y 67% en el sudeste asiático (Figura 3) [37]

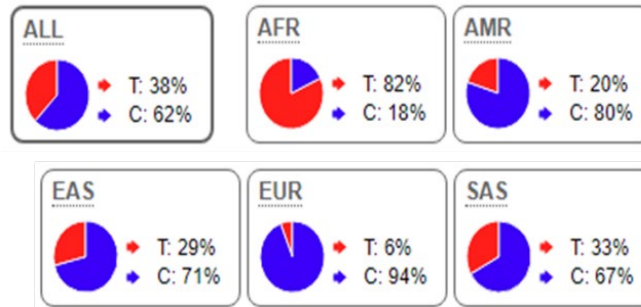


Figura 3. Gráficos circulares que muestran las frecuencias de los alelos de CYP3A5 en diferentes poblaciones. ALL: Todos los individuos de la fase 3 del proyecto de 1000 genomas. AFR: Africanos. AMR: Americanos EAS: Este de Asia. EUR: Europeos. SAS: Sur de Asia.

La función fisiológica de CYP3A5 permanece sin esclarecer. Mientras que los metabolizadores bajos de CYP3A4 son escasos, la ausencia de función de CYP3A5, con su alelo *3 es común en muchas poblaciones. Resalta, por ejemplo, en la población caucásica que entre el 80-85% es homocigota para el variante del alelo (CYP3A5*3). Este fenómeno parece producirse por presiones de selección en poblaciones que se encuentran cercanas al ecuador, y una pérdida de la presión de selección positiva cuando se migra lejos del ecuador [16].

2.4.2. Polimorfismos en el gen ABCB1/MDR1

Se han identificado cerca de 50 SNPs en este gen de los cuales 3 han sido los más vinculados con alteraciones de la estructura y función de la glicoproteína G (Gp-P) como es el caso de 3435C>T (rs1045642), 1236T>C (rs1128503) y 2677G>T/A (rs2032582) (Wolf et al., 2011). Estas 3 variantes se encuentran en regiones codificantes del gen ABCB1 y se ha demostrado su asociación con una reducción significativa de la actividad de la Gp-P cuando se comparan con los alelos nativos (Figura 4) . Entre estas, la variante 3435C>T es la más asociada con el fenotipo antes mencionado y comprende una sustitución tipo SNP de C>T en la posición 3435 del gen ABCB1 en el exón 26 [38-39] Estas variantes son altamente polimórficas entre las poblaciones de diferente origen étnico (Figura 5)

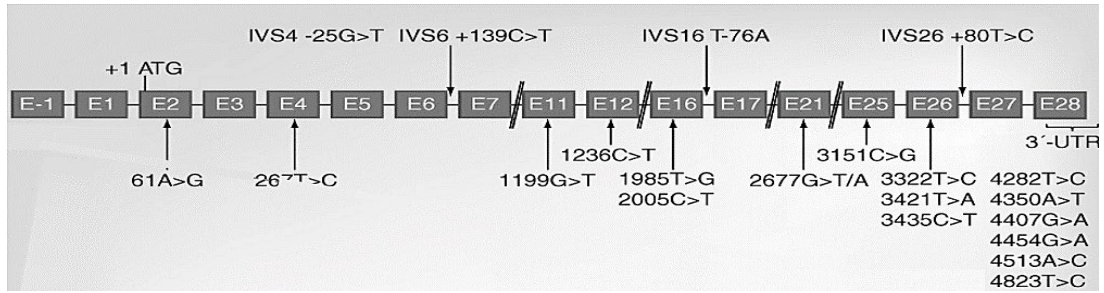


Figura 4. Distribución de variantes en el gen ABCB1. Modificado de [40]

Existe gran controversia respecto a la potencial asociación de la variante 3435C>T con requerimientos de dosis mínima de tacrolimus y eventos clínicos adversos en pacientes con trasplante hepático y renal. Algunos estudios han demostrado su asociación con dichos desenlaces y otros reportan todo lo contrario como es el caso de Herrero y colaboradores (2010) y otros autores, quienes informan en sus estudios que la forma homocigota de la variante ABCB1 3435TT presenta una C/D más alta que pacientes homocigotos y heterocigotos para el alelo silvestre [41-43]. Este mismo escenario es mucho más incierto para la variante 2677G>T/A donde para tacrolimus los resultados entre estudios no han sido comparables [34, 44-46].

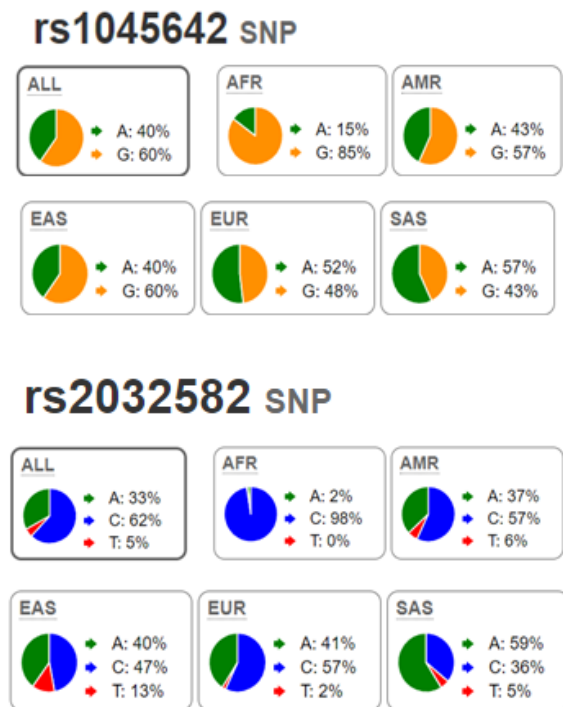


Figura 5. Gráficos circulares que muestran las frecuencias de los alelos de ABCB1 en diferentes poblaciones. ALL: Todos los individuos de la fase 3 del proyecto de 1000 genomas. AFR: Africanos. AMR: Americanos EAS: Este de Asia. EUR: Europeos. SAS: Sur de Asia.

2.5. Antecedes de asociación de variantes genéticas y la respuesta a tacrolimus

El fenotipo expresor y no expresor del CYP3A5 está relacionado con su genotipo y tiene relación con sus implicaciones en las mediciones farmacológicas y recomendaciones terapéuticas relacionadas con estos (Tabla 3)

En un metaanálisis Buendía y colaboradores (2014) evaluaron la asociación entre la variante *CYP3A5*1* con la farmacocinética de tacrolimus vinculada con dosis ajustada de este medicamento y que recolectaron información de 694 pacientes adultos receptores de trasplante hepático evidenciaron que, tanto pacientes receptores de trasplante hepático como donadores que tenían los genotipos *CYP3A5*1/*1* y *CYP3A5*1/*3*, clasificados como “*expresores*”, tenían requerimientos de concentraciones ajustadas de tacrolimus más bajas a comparación de sus pares que tenían el genotipo *CYP3A5*3/*3*, quienes fueron clasificados como “*no expresores*” [49]

Otro estudio de Buendía en el 2015 en 24 pacientes observó que los pacientes quienes recibieron un trasplante hepático (receptores) que expresaron el alelo necesitaron una dosis mayor de tacrolimus y tacrolimus-XL que los receptores que no expresaron el alelo. En cuanto a la farmacocinética según el genotipo del donante, se requería una C₀ o valle inferior y una dosis de tacrolimus más alta en los pacientes que recibieron un hígado de donante que expresaba el alelo frente a los que recibieron un hígado de un donante que no expresaba el alelo [50, 51]

Riva y colaboradores en el 2017 en un estudio de 89 pacientes pediátricos trasplantados, estudiaron el tiempo de supervivencia hasta el rechazo agudo comprobado por biopsia y las reacciones farmacológicas adversas al tacrolimus en el trasplante de hígado pediátrico donde a 72 pacientes por cumplir los criterios de inclusión se les evaluaron los polimorfismos de *CYP3A5* (*CYP3A5*1/*1*, *CYP3A5*1/3* o **3/*3* genotipos) en biopsias de hígado postrasplante (tejido de donante) de receptores de trasplante. De la población total del estudio, 56 receptores y 58 donantes fueron genotipados para polimorfismos *CYP3A5*. La supervivencia libre de reacción adversa al medicamento fue significativamente menor en el grupo de expresión de *CYP3A5* que recibía dosis más altas de tacrolimus como consecuencia de un aclaramiento más alto, los receptores que expresaban *CYP3A5* requirieron una dosis mediana (rango) de tacrolimus un 33% mayor que los que no expresaban, dependiendo del período postrasplante [52,53].

Buendía, y colaboradores en el 2020 realizaron un estudio longitudinal en 77 pacientes menores de 18 años después de un trasplante de hígado durante el período 2009-2012,

realizaron una genotipificación de *CYP3A5* se realizó en biopsias hepáticas tanto del donante como del receptor, de igual manera evaluaron el tacrolimus durante los dos primeros años después del trasplante y observaron que a 45 pacientes (58,44%) con eventos adversos asociados con tacrolimus, 51 pacientes (66,23%) tuvieron al menos un episodio de rechazo celular agudo y ocho pacientes fallecieron (10,39%) durante el seguimiento. En cuanto a la expresión de *CYP3A5**1 fue del 37,1% en los receptores y del 32,2% en los donantes [54]. No hubo desviaciones estadísticamente significativas en la distribución de polimorfismos según el principio de Hardy-Weinberg ($p > 0.05$) [33]

Tabla 3. Fenotipo, implicaciones y recomendaciones terapéuticas de los genotipos de *CYP3A5* [16]

Fenotipo <i>CYP3A5</i>	Implicaciones en las mediciones farmacológicas	Recomendaciones terapéuticas	Clasificación de las recomendaciones
Metabolizador extensivo (<i>CYP3A5</i> expresor)	Concentraciones en sangre de tacrolimus ajustadas a una dosis más baja y disminución de la probabilidad de alcanzar las concentraciones objetivo de tacrolimus	Aumentar la dosis inicial de 1.5 a 2 veces la dosis inicial recomendada. La dosis total inicial no debe superar los 0.3 mg/kg/día. Utilizar el monitoreo terapéutico de medicamentos para guiar los ajustes de dosis	Fuerte
Metabolizador intermedio (<i>CYP3A5</i> expresor)	Concentraciones en sangre de tacrolimus ajustadas a una dosis más baja y disminución de la probabilidad de alcanzar las concentraciones objetivo de tacrolimus	Aumentar la dosis inicial de 1.5 a 2 veces la dosis inicial recomendada. La dosis total inicial no debe superar los 0.3 mg/kg/día. Utilizar el monitoreo terapéutico de medicamentos para guiar los ajustes de dosis	Fuerte
Pobre metabolizador (<i>CYP3A5</i> expresor)	Concentraciones en sangre de tacrolimus ajustadas a una dosis más alta (dentro del rango 'normal') y aumento de la probabilidad de alcanzar las concentraciones objetivo de tacrolimus	Iniciar la terapia con la dosis estándar recomendada. Utilizar el monitoreo terapéutico de medicamentos para guiar los ajustes de dosis.	Fuerte

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El uso de fármacos inmunosupresores en pacientes receptores de un trasplante hepático (TH), durante los últimos 20 años, ha permitido elevar la supervivencia global de los pacientes a 1 año el 80% y a 5 años sobre el 70%; cifras que son muy superiores a la expectativa de vida de los pacientes sin trasplante, con importantes reducciones en la incidencia de rechazo agudo moderado a severo del 50% al 15-20% [55]

La clave del éxito del trasplante está en una correcta modulación de la inmunosupresión, que mantenga el difícil equilibrio entre el rechazo o la pérdida del injerto y las infecciones con riesgo de muerte que estas implican. Al respecto, el uso de inmunosupresores anticalcineurínicos, como la ciclosporina y el tacrolimus, ha mejorado significativamente la supervivencia de los receptores de un TH en los últimos 20 años. La reducción de la inmunosupresión, mediante el seguimiento clínico y MTD, es una prioridad en pacientes trasplantados, por el riesgo de efectos colaterales (alteraciones en el crecimiento en niños, insuficiencia renal, infecciones, enfermedad linfoproliferativa) [56-59].

El Monitoreo Terapéutico de Drogas (MTD) es una estrategia, desarrollada desde hace más de 60 años, en la cual mediante la medición de las concentraciones plasmáticas de los fármacos se busca optimizar los tratamientos farmacológicos [60]. Desde la década de los sesenta se empezaron hacer correlaciones entre las concentraciones séricas y los efectos farmacológicos (y toxicológicos) para una importante cantidad de fármacos; luego con el desarrollo de técnicas analíticas más rápidas y sencillas, la monitorización se convirtió en una práctica clínica habitual especialmente en medicamentos con estrecho margen terapéutico, medicamentos con alta variabilidad farmacocinética interindividual y medicamentos cuya respuesta terapéutica no sea la esperada [61].

El Tacrolimus es un macrólido, inhibidor de la calcineurina, que al igual que los demás inmunosupresores tiene un estrecho rango terapéutico (5-25 ng/ml para valores de C₀ ó valle) y presenta una considerable variabilidad farmacocinética intraindividual e interindividual; siendo necesario el MTD para reducir el riesgo de eventos adversos y el ajuste de los esquemas de dosificación [62].

Diferentes estudios se han realizado en poblaciones americanas y europeas caracterizando la farmacocinética del Tacrolimus en pacientes pediátricos con trasplante hepático [63-69] y adultos [70,71]. Sin embargo, en los modelos poblacionales, ninguno hasta ahora realizado en población latinoamericana, muestran gran variabilidad interindividual y variabilidad

residual, lo cual es indicativo de la presencia de factores no identificados que influyen la farmacocinética de Tacrolimus; los cuales deben ser identificados en cada una de las poblaciones en donde se utiliza este medicamento con el fin de optimizar su efecto benéfico y reducir sus eventos adversos [63, 55]. Esto ha llevado en los últimos años a la tender a la individualización terapéutica en donde la inmunosupresión se adapta a las circunstancias intrínsecas de cada receptor; es decir a características como edad, sexo, genotipo, comorbilidades, etc; con el objetivo de aumentar la sobrevida del paciente a un menor riesgo de eventos adversos [55].

La individualización terapéutica se fundamenta en que la respuesta obtenida tras la administración de una determinada dosis de un fármaco de estrecho margen terapéutico es muy variable de uno individuo a otro. Esta variabilidad es debida a factores que influyen en la relación entre la dosis administrada y la intensidad de los efectos farmacológicos que produce [61]. Esta variabilidad interindividual en la relación dosis - efecto puede determinar la necesidad de individualizar el tratamiento farmacológico, es decir de adaptarlo a cada paciente, optimizándolo [60]

La farmacogenética es el estudio de la respuesta farmacológica del individuo según el genotipo, se estudia con el propósito de conocer cuál es esa respuesta farmacológica que tienen los pacientes trasplantados según su genotipo, es por ello que la farmacocinética nos ayuda en la identificación de polimorfismos de un único nucleótido (SNPs: por sus siglas en ingles Single Nucleotide Polymorphisms) en genes involucrados en la absorción, distribución y mecanismo de acción de los fármaco [53]. Actualmente no se tienen estudios que muestren la incidencia de polimorfismos en genes importantes para la metabolización del Tacrolimus, como el CYP3A5 y el ABCB1 en población Colombiana, en especial, polimorfismos específicos que han demostrado tener una gran repercusión en la actividad y función de estas proteínas.

Este estudio es pionero en mostrar la variabilidad genética dentro de la población de pacientes de un hospital de Colombia. El presente trabajo tendrá como objetivo determinar la asociación entre la presencia de polimorfismos genéticos y la variabilidad farmacocinética de las concentraciones de Tacrolimus en pacientes adultos trasplantados hepáticos del Hospital San Vicente Fundación Rionegro.

4. OBJETIVOS

General

Determinar la asociación entre la presencia de polimorfismos genéticos y la variabilidad farmacocinética de las concentraciones de Tacrolimus en pacientes adultos con trasplantes hepáticos del Hospital San Vicente Fundación Rionegro.

Específicos

- Evaluar la frecuencia de los polimorfismos genéticos del gen CYP3A5 y ABCB1 en receptores trasplantados de hígado.
- Estimar las concentraciones plasmáticas del Tacrolimus en el tiempo de los pacientes trasplantados.
- Determinar la asociación de los polimorfismos y la variabilidad farmacocinética de las concentraciones de tacrolimus en pacientes trasplantados hepáticos.

5. METODOLOGÍA

Estudio descriptivo, retrospectivo, prospectivo. Se recolectaron datos clínicos (rechazo hepático), bioquímicos (niveles tacrolimus en sangre) y sociodemográficos de acuerdo con la práctica clínica habitual y a las guías establecidas para el monitoreo de tacrolimus. Para el estudio de las variantes alélicas se analizó en tejido de biopsias hepáticas del receptor.

5.1. Población en estudio

Pacientes mayores de 18 años con trasplante hepático en fase de inducción o mantenimiento del Hospital San Vicente Fundación Rionegro.

5.2. Selección y tamaño de la muestra

El estudio se realizó sobre toda la población de pacientes mayores de 18 años con trasplante hepático en fase de inducción o mantenimiento a quienes se les prescriba Tacrolimus, una dosis estable de tacrolimus administrada durante no menos de 6 meses o la estancia hospitalaria en el Hospital San Vicente Fundación de Rionegro entre los años 2020 y 2022.

5.3. Criterios de inclusión

- Receptores de trasplante primario de hígado con injerto completo o reducido
- Seguimiento postrasplante durante no menos de 6 meses.
- Función estable del injerto (aspartato aminotransferasa, alanina aminotransferasa ≤ 3 veces la referencia, fosfatasa alcalina ≤ 5 veces el valor de referencia, bilirrubina <3 mg / dL).
- Sin complicaciones biliares u otras complicaciones quirúrgicas en los 6 meses anteriores al estudio.
- Sin antecedentes de rechazo en los 6 meses anteriores a la encuesta.
- Terapia inmunosupresora con tacrolimus con o sin esteroides y con o sin mofetilo micofenolato.
- Disposición a participar en el estudio.
- Capacidad para firmar un consentimiento informado.
- Adherirse al régimen de tratamiento.

5.4. Criterios de exclusión:

- Receptores de un trasplante multiorgánico o de más de un injerto hepático
- Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana.
- Ingesta de fármacos que pueden alterar el metabolismo o la farmacocinética de tacrolimus.
- Diagnóstico de cáncer postrasplante, excepto los pacientes que habían recibido tratamiento para el carcinoma basocelular.
- Niveles de creatinina sérica > 3 mg / DL.
- Mujeres embarazadas o en período de lactancia, y mujeres en edad fértil instruidas para usar métodos anticonceptivos.
- Cualquier complicación médica o juicio quirúrgico del investigador que pueda interferir con los objetivos del estudio.

5.5. Monitoreo plasmático de Tacrolimus

Los resultados de las concentraciones plasmáticas de tacrolimus se obtendrán a partir de las mediciones repetidas realizadas de tacrolimus durante la estancia hospitalaria y durante el monitoreo terapéutico rutinario establecido en la guía de práctica clínica del hospital.

5.6. Medición de rechazo agudo del injerto

El monitoreo de rechazo agudo es el indicador de la eficacia del tratamiento. Esta variable se confirma mediante biopsia.

5.7. Presencia de eventos adversos

El monitoreo de eventos adversos será indicador de fallo terapéutico con tacrolimus evidenciando toxicidad. Los siguientes variables a medir serán:

- Neurotoxicidad
- Nefrotoxicidad
- Diabetes Mellitus
- Hipertensión arterial

5.8. Recopilación de datos del paciente

La información se recopiló teniendo en cuenta las características del paciente (fecha de nacimiento, sexo, peso y altura), así como, la información posterior al trasplante, medicamentos actuales y niveles de dosis, y medicamentos concomitantes recibidos por el paciente 2 semanas antes del inicio del estudio y durante el estudio. También se recopiló información sobre el tipo de trasplante y donante, la cantidad de trasplantes y el motivo del trasplante. Los datos de laboratorio clínico incluyeron resultados de hematología (recuentos de hemoglobina, hematocrito, glóbulos rojos, glóbulos blancos y plaquetas, índice internacional normalizado) y concentraciones plasmáticas de tacrolimus. También se registró la información de química serológica (creatinina, nitrógeno ureico, bilirrubina total y directa, fosfatasa alcalina, alanina aminotransferasa, aspartato aminotransferasa, rango de glutamyl y niveles de albúmina).

5.9. Extracción de ADN y genotipificación de CYP3A5*3, ABCB1-C3435T y ABCB1- G2677T

5.9.1. Toma de muestras embebido en parafina y extracción de DNA

Se realizaron biopsias hepáticas en cada paciente como parte del protocolo del estudio. Las biopsias de hígado fueron embebidas en parafina formaldehído, para posteriormente ser almacenadas. La toma de muestras de tejido parafinado se realizó embebido en parafina se tomaron 5 cortes de las biopsias de hígado de receptores de 10 micrómetros de espesor utilizando un micrótopo. La extracción de DNA genómico de estas muestras se llevó a cabo utilizando el kit comercial MagMAX™ FFPE DNA/RNA Ultra Kit (CAT A31881, ThermoFisher), el cual es un sistema de separación a través de perlas magnéticas. Se siguió el protocolo sugerido en el inserto, con modificaciones en el tiempo de desparafinización, pasando de 3 a 90 minutos, y en el proceso de digestión del tejido con proteasa, dejando este durante 16 horas. La concentración de ADN fue medida usando un espectrofotómetro NanoDrop (). Para verificar la calidad e integridad del DNA extraído, se hizo una electroforesis geles de agarosa al 1% teñido con RedGel. El DNA luego se almacenó a -80°C hasta el proceso de genotipificación o secuenciación.

5.9.2. Selección de pacientes.

Inicialmente se tenía una lista de 34 pacientes con sus respectivos receptores, a partir de esta se excluyeron pacientes de acuerdo con la siguiente criterio

A continuación, con los 35 pacientes con los que se contaba, se revisó la historia clínica y los esquemas de inmunosupresión que recibieron cada uno tras el trasplante, de esta forma se logró descartar 10 pacientes que recibían tratamiento con ciclosporina. Posteriormente, se tomaron todas las variables sociodemográficas y clínicas de los 25 pacientes.

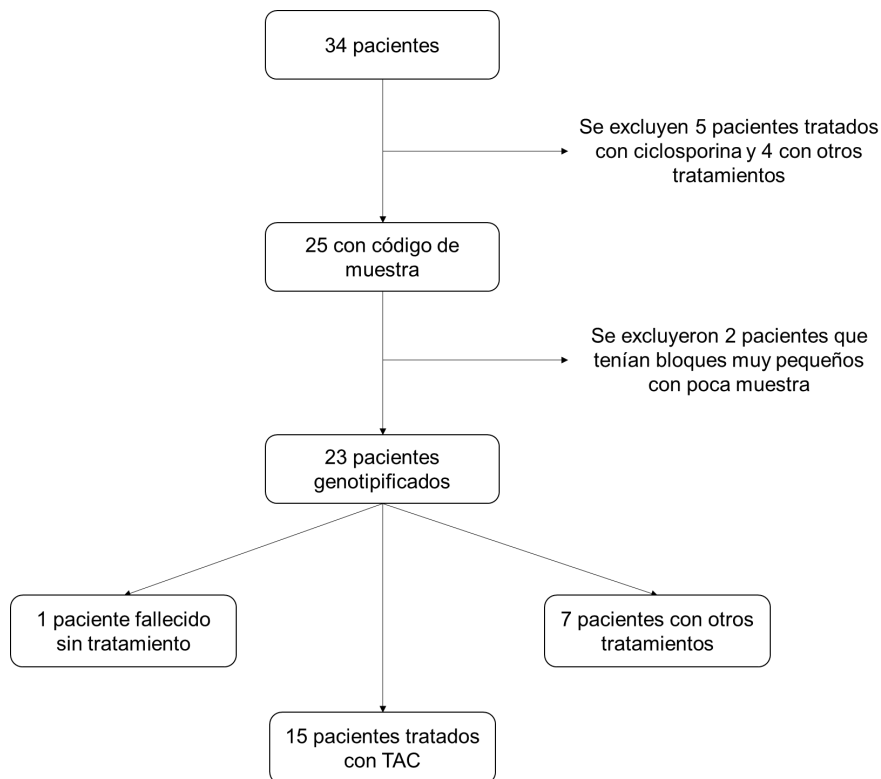


Figura 6. Diagrama que muestra la eliminación de pacientes que no cumplían con criterios de inclusión o que no se encontraron bloques de parafina para su análisis.

5.10. Genotipificación

Se corrió un gel para observar la integridad del ADN con una muestra control de sangre total. Se observó ADN degradado, lo que corresponde con el tipo de muestra (tejido embebido en parafina); este fue el primer paso para la identificación de las muestras que posteriormente se llevarían a secuenciar, a partir de este ensayo se descartaron dos muestras que no tenían suficiente ADN para la PCR, por lo que se continuó solo con 23 pacientes.

Las variantes alélicas en cada uno de los genes se detectaron inicialmente por PCR, confirmando la presencia del fragmento de ADN para su secuenciamiento. Posteriormente se amplificaron usando primers diseñados por MacroGen. Se realizó PCR de estandarización

para escoger la temperatura de anillamiento de los primers diseñados (Tabla 3). Tras la estandarización se escogieron las temperaturas de 56°C, 55°C y 56°C para los genes ABCB1-A (rs2032582), ABCB1-B (rs1045642) y CYP3A5 (rs776746) respectivamente.

Tabla 4. Secuencias de los primers de los genes analizados y el tamaño en pares de bases (pb) del fragmento amplificado por PCR.

<i>Rs ID</i>	<i>Gen</i>	<i>Primer</i>	<i>Longitud del amplicon (pb)</i>
rs2032582	ABCB1	TGC AGG CTA TAG GTT CCA GG	224
		TTT AGT TTG ACT CAC CTT CCC G	
rs1045642	ABCB1	TGT TTT CAG CTG CTT GAT GG	197
		AAG GCA TGT ATG TTG GCC TC	
rs776746	CYP3A5 * 3	CATCAGTTAGTAGACAGATGA	293
		GGTCCAAACAGGGAAGAAATA	

Posteriormente se secuenciaron los amplicones mediante el método de secuenciación Sanger en un Analizador genético Applied Biosystems 3500. La determinación de bases, alineamiento y ensamblaje de las secuencias consenso, las secuencias obtenidas se editaron con el software Sequencher acompañado de FinchTV V.1.4 y Bioedit V.7.2 (FinchTV, 2012; Vandepoele et al., 2011). Los pacientes con los genotipos CYP3A5*1/*1 o CYP3A5*1/*3 se clasificaron como "expresivos", mientras que los receptores que porten el genotipo 443 CYP3A5*3/*3, se clasificaron como "no expresivos".

5.11. Análisis estadísticos

5.11.1. Análisis descriptivo

Se realizó la descripción de las variables clínicas, bioquímicas, genéticas y sociodemográficas estimando proporciones para las variables nominales, para las variables continuas con distribución normal se utilizó la media y desviación estándar (DE) y para las variables continuas sin distribución normal se utilizó la mediana y el rango intercuartílico.

5.11.2. Análisis de asociación

Para evaluar la asociación entre la presencia genotipos los distintos fenotipos del CYP3A5 y la variabilidad en los niveles de tacrolimus, se categorizaron los pacientes de acuerdo con si son expresores y no expresores entre receptores. El número de pacientes que se requiere para lograr realizar el análisis de asociación fue calculada. Las variables continuas fueron comparadas entre los dos grupos mediante la prueba U de Mann-Whitney y T-student, según su distribución. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando el software estadístico STATA versión 11.0 (StataCorp LP, College Station, TX, EE. UU.). El nivel de significancia se fijó con un $p < 0,05$.

5.12. Aspectos éticos

El proyecto fue sometido y aprobado por el comité de bioética de la Facultad de Medicina de la Universidad de Antioquia y el comité de investigación del hospital universitario San Vicente Fundación. Los pacientes firmaron el consentimiento informado adecuado antes de la recopilación de los datos del estudio. Todos los protocolos se ajustarán a las directrices éticas de la Declaración de Helsinki de 1975. Se manejaron los datos de los pacientes con confidencialidad. En el estudio se contempló el consentimiento informado del paciente receptor del injerto. La familia del donante al momento previo a la donación firma un formato de la regional 2 (Antioquia) de notificación sobre presunción legal de donación en relación con la ley 1805 de agosto de 2016, por lo que, en consenso con el equipo investigador, que una vez está firmada la presunción de donación y esta elegido el receptor, este órgano pertenece al receptor que es quien firma previamente el consentimiento.

6. RESULTADOS

6.1. Evaluar la frecuencia de los polimorfismos genéticos del gen CYP3A5 y ABCB1 en receptores trasplantados de hígado.

La frecuencia del genotipo “no expresor” (CYP3A5*3/*3) fue de 68% (13/19) (Tabla 2), mientras que la frecuencia del genotipo “expresor” (CYP3A5*1/*1) fue del 15.7%. El polimorfismo corresponde una mutación de cambio de sentido en el intrón 3 A>G que conlleva a un splicing alternativo que cambia el marco de lectura resultando en un codón de parada prematuro, generando una proteína no funcional (Figura 7A).

En el gen ABCB1 en el exón 21 se produce una transversión en c.2677 T>G/A que genera el cambio de sentido y de la secuencia de aminoácidos p.Ser893Ala/Thr (Figura 7B). La frecuencia del homocigoto para el polimorfismo (GG) es de 46.7%. Por otro lado, en el exón 26 tiene un cambio sinónimo c.3435 T>C en la secuencia de proteína p.Ile1145= (Figura 7C), y por tanto hay un cambio en la estabilidad del ARNm, La frecuencia del genotipo heterocigoto es el más alto encontrado en esta población con un 60% (Tabla 4).

A continuación se muestra el resumen de los resultados de secuenciamiento, los cuales reflejan el genotipo obtenido para los pacientes:

Tabla 5. Genotipos de las variantes de los genes ABCB1 y CYP3A5.

Genotipo	Casos Frecuencia	Posición	Codón	Polimorfismo	Cambio de AA	Tipo de cambio	Consecuencia
ABCB1							
rs2032582							
TT	2 (13.3%)	2677	893	T>G/A	Ser-Ala/Thr	Sustitución	Cambio de sentido
TG	6 (40%)	2677	893	T>G/A	Ser-Ala/Thr	Sustitución	Cambio de sentido
GG	7 (46.7%)	2677	893	T>G/A	Ser-Ala/Thr	Sustitución	Cambio de sentido
ABCB1							
rs1045642							
TT	4 (20%)	3435	1145	C>T	Ile-Ile	Sinónimo	Estabilidad ARNm
TC	12 (60%)	3435	1145	C>T	Ile-Ile	Sinónimo	Estabilidad ARNm
CC	4 (20%)	3435	1145	C>T	Ile-Ile	Sinónimo	Estabilidad ARNm
CYP3A5							
(rs776746)							
AA	3	6986	Intrón 3	A>G	N/A	N/A	Splicing alterado

CYP3A5*1/ 1	(15.8%)						
AG	3	6986	Intrón 3	A>G	N/A	N/A	Splicing alterado
CYP3A5*1/ 3	(15.8%)						
GG	13	6986	Intrón 3	A>G	N/A	N/A	Splicing alterado
CYP3A5*3/ 3	(68.4%)						

Respecto a los cromatogramas, a continuación se muestran algunos casos de cómo se observaron los diferentes genotipos durante el análisis de la secuencia (Figura 7)

CYP3A5 ID RS: CYP3A5 rs776746;
CYP3A5(NM_000777.5):c.219-237G>A

ABCB1-A ID rs: rs2032582;
NM_001348946.2(ABCB1):c.2677
T>G (p.Ser893Ala)

ABCB1-B ID RS: rs1045642;
NM_001348946.2(ABCB1):c.34
35T>C (p.Ile1145=)

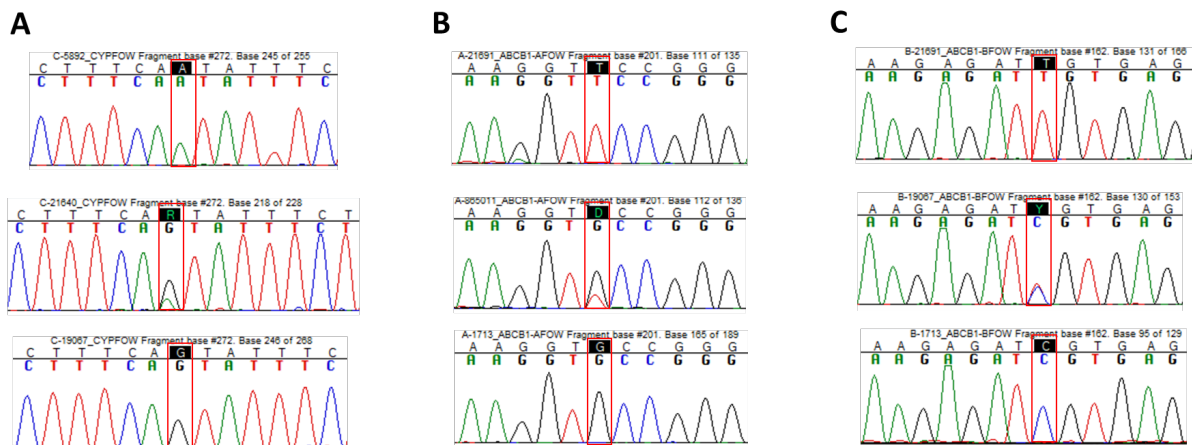


Figura 7. Cromatograma que presenta los polimorfismos identificados en los genes CYP3A5 y ABCB1. A. Polimorfismo de transición A>G en el intrón 3 del gen CYP3A5 que genera un splicing alternativo de la proteína. B. Polimorfismo de transversión c.2677 T>G del gen

En la tabla 5 se resumen de los resultados de cada uno de los pacientes, los cuales fueron codificados para garantizar la anonimización:

Tabla 6. Información de los genotipos para cada paciente secuenciado durante el estudio.

CÓDIGO DE PACIENTE	CYP3A5 (RS776746)	ABCB1 (RS2032582)	ABCB1 (RS1045642)
19067	CYP3A5*3/*3	TG	TC
1713	CYP3A5*3/*3	GG	CC
2707	CYP3A5*3/*3	TT	TT
5892	CYP3A5*1/*1	TG	TC
11122	CYP3A5*3/*3	-	TT
8483	-	GG	CC
21640	CYP3A5*1/*3	-	TC
1222	CYP3A5*1/*1	GG	TC
13663	CYP3A5*3/*3	GG	CC

6756	CYP3A5*3/*3	-	CC
2827	CYP3A5*3/*3	GG	TC
835011	CYP3A5*1/*3	TG	TT
20579	CYP3A5*3/*3	-	TC
21691	CYP3A5*1/*3	TT	TT
695	CYP3A5*3/*3	-	TC
84270	CYP3A5*3/*3	GG	TC
5463	CYP3A5*1/*1	TG	TC
14082	CYP3A5*3/*3	TG	TC
4561	CYP3A5*3/*3	TG	TC
21815	CYP3A5*3/*3	GG	TC

6.2. Estimar las concentraciones plasmáticas del Tacrolimus en el tiempo de los pacientes trasplantados.

Como se especificó previamente en la metodología, se partió de una muestra de 34 pacientes con diversos tratamientos (tabla 6), a partir de este número de sujetos se escogieron 25 que solo habían sido tratados con tacrolimus (tabla 7). Al mismo tiempo, se buscaron los bloques de tejido embebido en parafina para estos 34 pacientes, de los cuales solo se encontraron 23.

En la Tabla 1 se recopilan las variables sociodemográficas y clínicas de mayor importancia para este estudio, a través de estos datos observamos la mayoría de los pacientes eran de género masculino, con una mediana de 57.5 años. Además, en esta misma tabla se presentan las concentraciones plasmáticas de tacrolimus para los 25 pacientes que fueron tratados con este inmunosupresor ya que en la historia clínica no se especificaba para todos los pacientes la concentración de ciclosporina, por lo que esta no se incluyó.

Tabla 7. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes captados en el estudio.

Variable	Número (%)/Mediana (rango) n= 34
Género masculino	18 (53%)
Edad (años)	57,5 (19 – 72)
Peso (kg)	67,5 (44,5 – 100)
Tiempo después del trasplante (meses)	12,5 (0 – 35)
Estancia intrahospitalaria (días)	16,5 (1 – 81)
Muertes	11 (32%)
Terapia inmunosupresora	
Tacrolimus, micofenolato, prednisolona	25 (74%) 5 (15%)
Ciclosporina, micofenolato, prednisolona	4 (11%)

Otros*	
Rescate de material genético receptor	20
Tratados con tacrolimus	15 (65%)
Tratados con ciclosporina	2 (35%)
Tratados con otros*	3 (15%)
Enfermedad primaria	
Enfermedad hepática alcohólica	7 (20%)
Esteatohepatitis no alcohólica	6 (18%)
Cirrosis criptogénica	4 (12%)
Falla hepática aguda	3 (9%)
Hepatitis autoinmune	3 (9%)
Otros**	11 (32%)

Parámetros farmacocinéticos

Mediana concentración tacrolimus (ng/ml)	7,320 (4,533 - 22,483)
Mediana concentración tacrolimus XL (ng/ml)	5,011 (3,300 – 6,721)
Mediana dosis tacrolimus (mg/kg/d)	0,092 (0,03 - 0,156)
Mediana dosis tacrolimus XL (mg/kg/d)	0,099 (0,084 - 0,110)
Mediana concentración ajustada dosis tacrolimus	81,80 (28,97-749,44)
Mediana concentración ajustada dosis tacrolimus XL	49,36 (37,86-60,86)

*Otros: Sin tratamiento, n=1 (3%); Micofenolato y prednisolona/metilprednisolona, n=3 (8%)

**Otros incluyen: Enfermedad de Wilson, n=1 (2%); Colangitis biliar primaria, n=2 (5%); Cirrosis biliar secundaria, n=2 (5%), NASH vs HAI , n=1(2%); Hepatitis C , n=2 (5%); Hepatitis autoinmune, n=2 (5%); Colangitis esclerosante primaria, n=2 (5%), Carcinoma hepatocelular, n=1 (2%)

Centrándonos en las variables sociodemográficas de los pacientes tratados con tacrolimus, se observó una mayor cantidad de pacientes masculinos, con una mediana de edad de 56 años. La mediana de la concentración de tacrolimus fue de 7.320, con una dosis de 0.092 y una dosis ajustada de 81.80, estos pacientes solo fueron tratados con un tipo de tacrolimus.

Tabla 8. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes tratados con tacrolimus.

Variable	Número (%)/Mediana (rango) n= 25
Género masculino	14 (56%)
Edad (años)	56 (19 – 70)
Peso (kg)	66,4 (49,1 – 100)
Tiempo después del trasplante (meses)	14 (0 – 35)
Estancia intrahospitalaria (días)	18 (1 – 58)
Muertes	4
Rescate de material genético receptor	21
Tratados con tacrolimus	15 (71%)

Enfermedad primaria	
Enfermedad hepática alcohólica	7 (28%)
Esteatohepatitis no alcohólica	3 (12%)
Cirrosis criptogénica	3 (12%)
Otros*	12 (48%)
Parámetros farmacocinéticos	
Mediana concentración tacrolimus (ng/ml)	7,320 (4,533 - 22,483)
Mediana dosis tacrolimus (mg/kg/d)	0,092 (0,03 - 0,156)
Mediana concentración ajustada dosis tacrolimus	81,80 (28,97-749,44)
	49,36 (37,86-60,86)

Como una variable relevante en este estudio se presenta la muerte de algunos de los pacientes, por eso, a continuación se presenta la tabla de los fallecidos en el tiempo del estudio, que puede observarse en la tabla 8:

Tabla 9. Variables sociodemográficas de los pacientes fallecidos incluidos en el estudio.

Variable	Número (%) / Mediana (rango) n= 11
Género masculino	6 (55%)
Edad (años)	66 (54 – 72)
Peso (kg)	70,6 (44,5 – 100)
Tiempo después del trasplante (meses)	<1 (0 – 22)
Estancia intrahospitalaria (días)	12 (1-58)
Terapia inmunosupresora	
Tacrolimus, micofenolato, prednisolona	3 (28%)
Ciclosporina, micofenolato, prednisolona	4 (36%)
Otros*	4 (36%)
Rescate de material genético receptor	8
Tratados con tacrolimus	3 (38%)
Tratados con ciclosporina	2 (24%)
Tratados con otros*	3 (38%)
Enfermedad primaria	
Esteatohepatitis no alcohólica	3 (28%)
Enfermedad hepática alcohólica	2 (18%)
Otros**	6 (54%)

*Otros: Sin tratamiento, n=1 (9%); Micofenolato y prednisolona/metilprednisolona, n=2 (18%)

**Otros: Cirrosis biliar primaria n=1 (9%), Carcinoma hepatocelular n=1 (9%), Hepatitis autoinmune n=1 (9%), Falla hepática aguda n=1 (9%), Cirrosis biliar secundaria n=1 (9%), Cirrosis criptogénica n=1 (9%)

En contraposición, se muestran los pacientes vivos (tabla 9):

Tabla 10. Variables sociodemográficas de pacientes vivos incluidos en el estudio

Variable	Número (%) / Mediana (rango) n= 23
Género masculino	12 (52%)
Edad (años)	55 (19 – 70)
Peso (kg)	66,4 (49,1 – 95)
Tiempo después del trasplante (meses)	15 (2 – 35)
Estancia intrahospitalaria (días)	18 (7 – 81)
Terapia inmunosupresora	
Tacrolimus, micofenolato, prednisolona	22 (96%)
Ciclosporina, micofenolato, prednisolona	1 (4%)
Enfermedad primaria (ordenar de mayor a menor)	
Enfermedad hepática alcohólica	5 (22%)
Esteatohepatitis no alcohólica	3 (13%)
Cirrosis criptogénica	3 (13%)
Otros*	12 (52%)

*Otros incluyen: Enfermedad de Wilson (4%); Colangitis biliar primaria (4%); Cirrosis biliar secundaria (4%) y NASH vs HAI (4%); Falla hepática aguda (9%); Hepatitis C (9%); Hepatitis autoinmune (9%); Colangitis esclerosante primaria (9%)

6.3. Determinar la asociación de los polimorfismos y la variabilidad farmacocinética de las concentraciones de tacrolimus en pacientes trasplantados hepáticos.

A continuación se presentan las tablas donde se realizan asociaciones entre los genotipos encontrados para cada uno de los SNPs y los parámetros farmacocinéticos. En la tabla 10 se encuentran las frecuencias alélicas y características clínicas de los pacientes con el polimorfismo para el gen CYP3A5; en este caso, no se observan diferencias significativas entre las medianas de la concentración, dosis y concentración ajustada por dosis.

Tabla 11. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes secuenciados para el gen CYP3A5.

Variable	G/G (CYP3A5*3/*3) n= 10	A/A (CYP3A5*1/*1) n= 4
Frecuencia	0,714	0,286
Paciente masculino	5 (50%)	2 (50%)
Edad (años)	57 (23-65)	54 (19-70)
Peso (kg)	69,75 (57,4-100)	57,5 (52-66,4)
Tiempo después del trasplante (meses)	11 (1-25)	17 (12-35)
Enfermedad primaria		
Enfermedad hepática alcohólica	3	1

Otros*	7	3
Parámetros farmacocinéticos		
Mediana concentración tacrolimus (ng/ml)	8,086 (6,533-22,483)	7,333 (6,330-9,667)
Mediana dosis tacrolimus (mg/kg/d)	0,078 (0,03-0,115)	0,099 (0,091-0,155)
Concentración ajustada por dosis	97,40 (56,91-749,44)	75,225 (40,94-104,91)

*Otros incluyen: Enfermedad de Wilson (10%); Cirrosis biliar secundaria (10%); Falla hepática aguda (10%); Hepatitis C (10%); Hepatitis autoinmune (10%); Cirrosis criptogénica (10%); Esteatohepatitis no alcohólica (10%).

En la tabla 11 se muestra el resumen de los genotipos encontrados para la población de interés con el rs 2032582 del gen ABCB1. Nuevamente, durante los análisis estadísticos no se presentaron diferencias significativas entre las medianas de concentración, dosis y concentración ajustada por dosis.

Tabla 12. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes secuenciados para el rs 2032582 del gen ABCB1

Variable	G/G (Wild type) n=5	T/G n=6
Frecuencia	0,455	0,545
Género masculino	4 (80%)	3 (50%)
Edad (años)	55 (19-61)	57,5 (52-70)
Peso (kg)	72 (51,9-100)	64,2 (56-81)
Tiempo después del trasplante (meses)	12 (1-24)	13 (2-35)
Enfermedad primaria		
Enfermedad hepática alcohólica	2	3
Colangitis esclerosante primaria	0	2
Otros*	3	1
Parámetros farmacocinéticos		
Mediana concentración tacrolimus (ng/ml)	9,343 (7,320-12,150)	8,367 (6,330-22,483)
Mediana dosis tacrolimus (mg/kg/d)	0,082 (0,058-0,128)	0,0918 (0,03-0,155)
Concentración ajustada por dosis	104,653 (72,991-209,483)	90,986 (40,940-749,444)

*Otros incluyen: Cirrosis biliar secundaria (15%); Falla hepática aguda (15%); Hepatitis C (10%); Hepatitis autoinmune (15%)

Finalmente, en la tabla 12 se presentan los respectivos genotipos para el rs 1045642 del gen ABCB1. En este caso tampoco se evidenciaron diferencias significativas entre las medianas de los parámetros farmacocinéticos reportados.

Tabla 13. Variables sociodemográficas y parámetros farmacocinéticos de pacientes secuenciados para el rs 1045642 del gen ABCB1

Variable	CC (Wild type) n=4	T/C n=8	T/T n=3
Frecuencia	0,532	-	0,468
Género masculino	3 (75%)	5 (63%)	1 (33,33%)
Edad (años)	55,5 (55-58)	57 (19-70)	52 (34-65)
Peso (kg)	65 (57,4-76)	69,8 (52-100)	62 (61-66,4)
Tiempo después del trasplante (meses)	19 (2-25)	7,5 (0-35)	15 (2-21)
Enfermedad primaria			
Enfermedad hepática alcohólica	2	2	1
Colangitis esclerosante primaria	0	1	1
Otros*	2	5	1
Parámetros farmacocinéticos			
Mediana concentración tacrolimus (ng/ml)	0,087 (0,075-0,128)	0,092 (0,03-0,155)	0,093 (0,091-0,115)
Mediana dosis tacrolimus (mg/kg/d)	7,677 (7,320-9,343)	9,660 (6,330-22,483)	7,367 (6,533-9,367)
Concentración ajustada por dosis	85,969 (72,991-104,653)	104,910(40,940-749,444)	81,101 (56,911-100,872)

*Otros incluye: Enfermedad de Wilson, Falla hepática, Hepatitis autoinmune, Cirrosis criptogénica, Hepatitis C, Esteatohepatitis no alcohólica.

Con la información presentada en las tablas 7-9, se concluye que no se presentaron diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos reportados y las diferentes variantes analizadas, por lo que, para estos pacientes, no se evidenció una asociación entre los SNPs y la farmacocinética de los pacientes.

7. DISCUSIÓN

Este estudio es pionero en Colombia para la realización de una caracterización genética de pacientes sometidos a trasplante de hígado relacionado a polimorfismos que puedan afectar el metabolismo de inmunosupresores como el tacrolimus, uno de los medicamentos más importantes y usados para evitar el rechazo del implante. Es de gran importancia realizar estas aproximaciones a través de la investigación ya que permite conocer sobre la genética de pacientes colombianos, una población pobremente estudiada y que tiene características sociodemográficas, clínicas y farmacocinéticas diferentes a otros estudios planteados.

El tacrolimus es metabolizado y depurado por el hígado por parte de las enzimas del complejo del citocromo P-450 como CYP3, este tiene cuatro isoformas en humanos, una de ellas CYP3A5 y sus polimorfismos causan variabilidad en la absorción, metabolismo y distribución del medicamento. Se estima que los factores genéticos de este tipo pueden explicar del 20 al 95% de la variabilidad farmacocinética y farmacodinámica interindividual de los pacientes [72]. Se sabe que CYP3A5 se puede encontrar en hígado, intestino y riñón; por otro lado, la glucoproteína P (codificada por el gen ABCB1) actúa como una bomba expulsora de fármacos localizada en la membrana externa de las células especializadas como hepatocitos, enterocitos, linfocitos, entre otros, protegiendo al cuerpo contra la acción tóxica de xenobióticos, previniendo que alcancen el torrente sanguíneo [73]. Las enzimas CYP3A5 y la glucoproteína P forman una barrera cooperativa contra la absorción de inhibidores de calcineurina en el intestino delgado, incrementando la posibilidad de que el medicamento sea metabolizado [74].

En la literatura se ha estudiado ampliamente los polimorfismos de la familia del citocromo P450, específicamente CYP3A, pero es de una relevancia especial el CYP3A5 para el metabolismo de tacrolimus, lo que lo hace uno de los puntos principales de este estudio, respecto a este gen en particular, igualmente existe una amplia revisión de sus efectos, en diferentes tipos de trasplante, resaltando entre estos el trasplante renal, debido a la toxicidad que el medicamento puede producir en este órgano [75-79].

La variante rs776746 A>G corresponde al haplotipo CYP3A5*3, lo que causa un splicing alterado en el intrón 3, lo que diferencia a las personas homocigotas para este polimorfismo como no expresores. Esto se traduce a dificultades para la metabolización del medicamento y por lo tanto, a menores niveles séricos de los metabolitos, lo que puede llevar a un riesgo mayor de rechazo del injerto. Se ha reportado que pacientes en los que el donador y el receptor son *1/*1 o *1/*3 tienen concentraciones significativamente más bajas de tacrolimus

comparado con donadores y receptores con genotipo *3/*3 durante todo el seguimiento entre el día 3 y el mes 12 del tratamiento; a su vez, pacientes que tienen donadores y receptores con genotipos mezclados como expresor/no expresor tienen valores de dosis intermedios [80]. Esto último resalta la importancia de conocer el genotipo de ambas personas al momento de administrar el medicamento inmunosupresor, para poder realizar un ajuste de la dosis de forma más segura.

Sin embargo, tener la información de los receptores puede ser aún más importante que la de los donadores, Dong y colaboradores (2022) realizaron un estudio se observaron 138 muestras pareadas donante-receptor de hígado, se muestra que en la variabilidad interindividual de cada paciente puede ser más determinante para el éxito de la terapia la variante en el intestino delgado del receptor que del hígado del donante [81]. Así mismo, Uesugi y colaboradores (2014) resaltan la importancia del genotipo del intestino del paciente al menos durante las primeras 5 semanas post operatorio para que se de una estabilización de la dosis ajustada [82].

Un estudio realizado por Liu y colaboradores (2022) muestra la importancia del rs776746 en la intolerancia a tacrolimus, lo que lleva a algunos pacientes a realizar un cambio a ciclosporina, lo que puede conllevar a mayores efectos secundarios y un aumento en la probabilidad de rechazo agudo del injerto. En este estudio, se plantea la importancia de tres SNPs dentro del gen CYP3A5, incluyendo el que es de interés para este trabajo, demostrando que estos pueden afectar de forma independiente a la proteína, disminuyendo la capacidad de metabolizar el fármaco, llevando al paciente al cambio de inmunosupresor [83].

Durante la realización de este trabajo no se contó con la muestra de los donadores, lo que no permite realizar una correlación de este tipo para los pacientes trasplantados actuales. No obstante, se conoce el genotipo del receptor y el posible fenotipo que posee de la proteína intestinal, lo que puede afectar la absorción del medicamento, disminuyendo las dosis que llegan a torrente sanguíneo, generando así una disminución de los niveles séricos del medicamento, esto debe sumarse a lo observado para los mismos pacientes respecto a los polimorfismos del gen de la glucoproteína P, que puede favorecer aún más esta disminución de la biodisponibilidad del medicamento.

En cuanto a las frecuencias del polimorfismo de CYP3A5, en el estudio de Buendía y colaboradores (2015) 20 receptores argentinos fueron genotipificados con la variante *3/*3 del gen, y solo 4 como heterocigotos, en este estudio se observó 10 pacientes con la variante *3/*3, y 4 homocigotos para la forma silvestre *1/*1, resulta relevante ya que, según la

literatura en la población latinoamericana se expresa mayormente el polimorfismo, que corresponde al cambio de una G por una A en la posición 6986 [50, 84, 85]. Esto demuestra que a pesar de que las poblaciones se diferencian en cuanto a algunas variables demográficas, presentan frecuencias alélicas similares. No obstante, se sugieren hacer estudios con una mayor cantidad de pacientes para determinar una tendencia.

Por otro lado, lo reportado por Fathy y colaboradores (2016) para una población tomada de un centro de trasplantes del Cairo, Egipto, muestra una notable diferencia entre las frecuencias de los genotipos reportados durante esta investigación: Para la población egipcia, el heterocigoto para CYP3A5 *1/*3 fue el más común con una frecuencia de 53,7%, en esta misma población se analizó ABCB1 mostrando para el cambio c.2677 G>T/A una mayor frecuencia en los heterocigotos G/T con 53,7%, además de la presencia del alelo A, que en el caso de la población colombiana no fue detectado, en una frecuencia de 7,3% para el heterocigoto G/A y de 9,7% para el heterocigoto A/T, resaltando una baja frecuencia [86]. Shao y colaboradores (2020) muestra frecuencias para la población adulta china en el caso del heterocigoto de CYP3A5 *1/*3 de 46,51% y para el homocigoto CYP3A5 *3/*3 de 41,86%, frecuencias menores a las observadas en nuestra población colombiana [87].

Cuando se comparan las genotipificaciones realizadas para el gen ABCB1 en las posiciones 1236 C<T y 2577G<T: tanto en esta investigación como en el estudio de Buendía y colaboradores (2015) se observó gran cantidad de pacientes para el heterocigoto de ABCB1 1236C<T, aunque en el estudio de la población argentina se observó una mayor cantidad de pacientes para el homocigoto C/C; cabe resaltar que durante esta investigación, con los pacientes receptores que fueron genotipados no se encontró la variante trialélica con el nucleótido A, sino solamente homocigotos para G y heterocigotos T/G, en proporciones similares a las encontradas en el estudio con población argentina [50].

El estudio de Tron y colaboradores (2020) analiza pacientes caucásicos captados en un hospital de Francia analiza ambos genes analizados en este estudio: Para ABCB1 3435 C>T es más frecuente el genotipo heterocigoto CT con una frecuencia del 66%; ABCB1 2677 G>T/A también muestra una alta frecuencia del heterocigoto GT con un 47%, en este caso no se encontraron pacientes con el alelo A y para CYP3A5 6986 G>A se encontraron todos los pacientes homocigotos para AA, es decir CYP3A5 *1/*1 “expresores”. Contrastado con este estudio y reforzando lo observado en estudios previamente citados, hay diferencias en las frecuencias alélicas, debido posiblemente a diferencias en la genética de poblaciones y componentes ancestrales de cada una de estas [88]

Por ejemplo, se ha observado que en poblaciones de ascendencia africana, como algunos grupos étnicos de África subsahariana, las frecuencias alélicas del gen CYP3A5 son generalmente altas, lo que indica una mayor proporción de individuos con baja actividad enzimática de CYP3A5. En contraste, en poblaciones de ascendencia europea o asiática, las frecuencias alélicas del alelo CYP3A53 son más bajas, lo que implica una menor proporción de individuos con baja actividad enzimática [89, 90]. En otras poblaciones como la libanesa se encontraron frecuencias genotípicas similares a las poblaciones europeas, donde se da mayor presencia del genotipo no expresor de CYP3A5, en la tabla 13 se presenta la comparación de alelos en el rs 776746 y las frecuencias genotípicas reportadas en la base de datos de mil genomas [91].

Tabla 14. Comparación de alelos en el rs 776746 del gen CYP3A5 y las frecuencias genotípicas reportadas en la base de datos de mil genomas. Tomada y modificada de [91]

	Lebanese	African	American	East Asian	European	South Asian
Reference						
C	91.4%	18.0%	80%	71%	94%	67%
T	8.6%	82.0%	20%	29%	6%	33%
P value		<.001	<.001	<.001	<.001	<.001
TT	0.93%	67.60%	5.80%	7.90%	0.40%	12.10%
TC	15.96%	28.70%	29.10%	41.50%	10.50%	42.30%
CC	83.11%	3.60%	65.10%	50.60%	89.10%	45.60%
P value		<.001	<.001	<.001	<.001	<.001

Las frecuencias alélicas encontradas en los pacientes colombianos evaluados durante esta investigación son similares a las reportadas para americanos, con una mayor frecuencia del genotipo CYP3A5*3/*3 (CC en la tabla 13)

Se resalta la importancia de conocer el genotipo para prevenir y reconocer riesgos de efectos como el rechazo agudo tras el trasplante, así como lo plantea Uesugi y colaboradores (2014), que durante su estudio observaron que la concentración de tacrolimus en el hígado trasplantado puede disminuir cuando se tiene un genotipo CYP3A5*1, resultando en un efecto inmunosupresor insuficiente, esto se ha visto a pesar de que las concentraciones sistémicas de tacrolimus en sangre sean similares entre el polimorfismo y la variante wild type [82].

Cuando se contrastan las variables demográficas de este estudio con los que se han realizado en otras poblaciones, como lo reporta Buendía y colaboradores (2015), para personas argentinas, se puede observar que se presenta similitudes como un mayor número de pacientes masculinos, la mediana de la edad, sin embargo, se diferencia en el tiempo después del trasplante, siendo una mediana mayor el de la población colombiana de este estudio, además, la principal causa de trasplante fue la enfermedad hepática alcohólica, contrastado con la población argentina en la que fue la hepatitis C asociada a virus/carcinoma

hepatocelular [50]. Otra observación importante es que las medianas concentración de tacrolimus fueron mayores en la población de este estudio comparado con el de Buendía y colaboradores (7,320 vs 6,2 ng/mL), mientras que para tacrolimus XL concentración fue menor (5,01 vs 6,1 ng/mL). Otros estudios, como el de Debette-Gratien y colaboradores (2016) se observó una mayor cantidad de pacientes masculinos, con una media de edad de 48, más baja que la presentada en esta investigación, medianas de concentración de tacrolimus menores que en el presente estudio (7,320 vs 6,5 ng/mL) [92]. Esto puede sugerir que las poblaciones son heterogéneas y con esto resaltar la importancia de la investigación realizada en población colombiana.

Cabe resaltar que en este estudio no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las medianas de dosis, concentración y dosis ajustada para ninguna de las variantes genéticas, contrario a lo expuesto en estudios como el de Buendía y colaboradores (2015), Debette-Gratien y colaboradores (2016), Fathy y colaboradores (2016) [50, 86, 92]. En otro estudio, se encontró una influencia significativa de la expresión de CYP3A5 en donadores y receptores en las dosis requeridas de Tacrolimus, mostrando que se requieren dosis más altas durante el primer año cuando el hígado trasplantado o del receptor expresa CYP3A5 $1^*/1^*$ [92, 93]. No obstante, se observa una tendencia a menores concentraciones de Tacrolimus en aquellos pacientes con el genotipo CYP3A5 $1^*/1^*$.

Además, se han realizado estudios donde se busca información farmacogenética sobre variantes de interés en población colombiana, como es el caso de Silgado-Guzmán y colaboradores (2022) a través de secuenciación del exoma, pero cabe recordar que la variante de CYP3A5*3 está en el intrón, por lo que no fue evaluada durante este estudio [94]. Otro estudio realizado para la población colombiana relacionado con farmacogenética es el de Nagar y colaboradores (2019) en donde se evaluó la variante de interés, donde presentan la frecuencia de este polimorfismo en Antioquia (0,81). Señalan en este estudio también que la frecuencia del genotipo CYP3A5*1 es mayor en Chocó, se ha relacionado positivamente con la ancestría africana y negativamente con la europea y la nativa americana; por otro lado, reportan que investigadores en Cali de manera anecdótica reportaron que los afrocolombianos trasplantados no respondían bien a las dosis estándar de tacrolimus [95].

Esta revisión previa muestra que falta la realización de estudios para conocer el estadió de las poblaciones colombianas, teniendo en cuenta su ancestría, para el ajuste de dosis respectivo de tacrolimus durante el trasplante según sea el caso.

El estudio de Bezerra y colaboradores (2020) plantea que a pesar de que se observa que los polimorfismos de CYP3A5 están asociados con cambios en la biodisponibilidad y tasas de metabolismo en pacientes después de un trasplante de hígado, no existe evidencia sustancial que esté disponible de la influencia de estos polimorfismos en la seguridad, eficacia terapéutica y pronóstico de estos pacientes, por lo que no sería necesario realizar estudios genéticos como un parámetro aislado para el ajuste de la dosis [96].

Por otro lado, en la base de datos que se realizó para este estudio se tomó información de variables clínicas e interacciones farmacológicas relacionadas con la toma de tacrolimus, medicamentos de consumo común en los pacientes reconocidos en este estudio como la Metformina, Valganciclovir, Omeprazol, Esomeprazol, Prednisolona, Micofenolato, Atorvastatina, Quetiapina y Trazadona.

La inhibición enzimática, causada por macrólidos, antifúngicos, azoles, bloqueadores de los canales de calcio, fármacos antivirales y el jugo de pomelo, produce una menor actividad de CYP3A, provocando un aumento de los niveles plasmáticos y toxicidad de los medicamentos metabolizados por este, como tacrolimus [97]. Según la base de datos Drugbank, el efecto terapéutico de la metformina puede verse disminuido cuando se usa tacrolimus. Además, tacrolimus puede disminuir la tasa de excreción de Valganciclovir, lo que resulta en un aumento de los niveles en suero. El metabolismo de tacrolimus puede verse disminuido si se consume esomeprazol y omeprazol. Respecto al micofenolato, tacrolimus puede aumentar su actividad inmunosupresora, lo que hace que las dosis de este sean más bajas, tiene un efecto similar con la prednisolona. En cuanto a la atorvastatina, puede disminuir su metabolismo cuando se combina con tacrolimus. Por último, el metabolismo de tacrolimus se puede ver afectado cuando se combina con quetiapina.

En esta investigación no se logró alcanzar el número de pacientes necesario para realizar un análisis de asociación, se esperaba recolectar información de 52 pacientes, sin embargo, como acercamiento descriptivo de lo que fue encontrado, realizando las pruebas estadísticas presentadas en los resultados; teniendo en cuenta esto, este estudio representa una aproximación descriptiva retrospectiva. Finalmente, a pesar de contar con una muestra pequeña, cabe anotar que el trasplante hepático si bien es uno de los cinco tipos de trasplante más común, se considera una condición rara, por lo que se requiere de tiempos más prolongados para la recolección de mayor cantidad de pacientes, adicionalmente, durante el tiempo que se realizó el estudio se contó con una contingencia debido a la pandemia por COVID-19.

8. CONCLUSIONES

Este estudio precursor en Colombia realiza la caracterización genética de una muestra de pacientes sometidos a trasplante de hígado y su relación con los polimorfismos que pueden afectar el metabolismo del inmunosupresor tacrolimus. La investigación es importante porque proporciona información sobre la genética de los pacientes colombianos, una población poco estudiada con características poblacionales específicas. Se destaca la influencia del gen CYP3A5 y ABCB1 en el metabolismo del tacrolimus y la importancia de conocer el genotipo de los receptores para ajustar de manera segura la dosis del medicamento. Aunque este estudio no encontró diferencias estadísticamente significativas en las dosis y concentraciones del medicamento según los polimorfismos genéticos, se resalta la importancia de continuar investigando en la población colombiana para comprender mejor su respuesta a los medicamentos inmunosupresores después del trasplante de hígado.

La genotipificación no puede reemplazar, sino solo respaldar la supervisión terapéutica de las concentraciones sanguíneas de los medicamentos inmunosupresores. Sin embargo, identificar el genotipo CYP3A5 puede ser una herramienta particularmente beneficiosa para determinar la dosis inicial adecuada de tacrolimus en receptores de trasplante, especialmente en grupos de personas con una expresión bastante uniforme del gen CYP3A5*1.

9. PERSPECTIVAS

Contribución al conocimiento genético en la población colombiana: La población colombiana ha sido poco estudiada en términos de genética, por lo que este estudio proporciona información valiosa sobre los polimorfismos genéticos relacionados con el metabolismo del tacrolimus en esta población específica. Esto ayudará a comprender mejor cómo estos polimorfismos pueden influir en la eficacia y seguridad de la terapia inmunosupresora en los receptores de trasplante de hígado en Colombia.

Diferencias sociodemográficas, clínicas y farmacocinéticas: La población colombiana presenta características sociodemográficas, clínicas y farmacocinéticas diferentes a otras poblaciones estudiadas anteriormente. Estas diferencias pueden influir en la respuesta individual al tacrolimus y en la necesidad de ajustar las dosis para evitar el rechazo del injerto. Por lo tanto, comprender estas diferencias es crucial para proporcionar un tratamiento óptimo a los pacientes colombianos sometidos a trasplante de hígado.

Comparación con otras poblaciones: Al contrastar las frecuencias alélicas y los genotipos encontrados en la población colombiana con investigaciones previas en distintas poblaciones, es posible detectar variaciones y similitudes. Estas discrepancias pueden estar vinculadas a la genética de las poblaciones y a sus herencias ancestrales. Comprender estas disparidades resulta fundamental para situar los hallazgos del estudio en el marco global de la investigación sobre el metabolismo del tacrolimus.

En resumen, este estudio pionero en Colombia sobre la caracterización genética de pacientes sometidos a trasplante de hígado y su relación con los polimorfismos que afectan el metabolismo del tacrolimus proporciona información valiosa sobre la genética de la población colombiana y sus características sociodemográficas, clínicas y farmacocinéticas.

Se deben realizar investigaciones con tamaños de muestra mayores, en condiciones menos atípicas para los pacientes y el sistema de salud, esto relacionado a la pandemia de COVID-19, esto permitirá robustecer la información genética de la población, además de contribuir a la personalización de la medicina para el uso de inmunosupresores durante los trasplantes, y posiblemente mejorar el alcance de este estudio, permitiendo así tener más oportunidades de determinar la asociación entre polimorfismos y farmacocinética.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. MinSalud, 2022. Donación y trasplante de órganos no cesaron durante la pandemia. (<https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Donacion-y-trasplante-de-organos-no-cesaron-durante-la-pandemia.aspx#:~:text=Datos%20de%20donaci3n%20y%20trasplantes,y%20145%20con%20donante%20vivo>)
2. Cardioinfantil, 2021. Actualmente en Colombia, más del 20% de los pacientes fallecen esperando un trasplante. <https://cardioinfantil.org/noticias/actualmente-en-colombia-mas-del-20-de-los-pacientes-fallecen-esperando-un-trasplante/>
3. Salud Data Bogotá, 2022. Estadísticas donación y trasplantes de órganos y tejidos en Bogotá D.C. 2022. Datos de Salud, Enfermedades crónicas. <https://saludata.saludcapital.gov.co/osb/index.php/datos-de-salud/enfermedades-cronicas/donacion-de-organos/>
4. Trefts, E., Gannon, M., & Wasserman, D. H. (2017). The liver. *Current biology : CB*, 27(21), R1147–R1151. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2017.09.019>
5. Guerra, Juan Francisco, Quezada, José Luis, Cancino, Alejandra, Arrese, Marco, Wolff, Rodrigo, et al. (2019). Trasplante hepático: evolución, curva de aprendizaje y resultados después de los primeros 300 casos. *Revista médica de Chile*, 147(8), 955-964. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872019000800955>
6. Starzl T, Groth C, Brettschneider L, Pen I, Fulginiti V, Moon J, et al. Orthotopic homotransplantation of the human liver. *Ann Surg*. 1968;168:392–415
7. Stepanova M, Wai H, Saab S, Mishra A, Venkatesan C, Younossi ZM. The outcomes of adult liver transplants in the United States from 1987 to 2013. *Liver Int* 2015; 35 (8): 2036-41.
8. Argudo Ramírez, A. (2017) Evaluación de la relevancia Clínica de diversas variantes de los genes CYP3A4, CYP3A5 y abcb1 sobre ciclosporina y tacrolimus en Trasplante Hepático, Dipòsit Digital de la Universitat de Barcelona: Home. Available at: <https://diposit.ub.edu/dspace/handle/2445/105607> (Accessed: 28 May 2023).
9. Thuluvath P, Guidinger M, Fung J, Johnson L, Rayhill S, Pelletier S. Liver Transplantation in the United States, 1999-2008. *Am J Transplant*. 2010;10:1003–1019
10. Santos, O., Londoño, M., Marín, J., Muñoz, O., Mena, Á., Guzmán, C., Hoyos, S., Restrepo, J., Arbeláez, M., & Correa, G. (2015). An experience of liver transplantation in Latin America: a medical center in Colombia. *Colombia médica (Cali, Colombia)*, 46(1), 8–13.

11. Sanhueza, Edgar, Contreras, Jorge, Zapata, Rodrigo, Sanhueza, Matías, Elgueta, Fabián, et al. (2017). Evaluación comparativa entre MELD y Child-Pugh como escalas pronósticas de sobrevida en pacientes con cirrosis hepática en Chile. *Revista médica de Chile*, 145(1), 17-24. <https://dx.doi.org/10.4067/S0034-98872017000100003>
12. Universidad Francisco Marroquín, Facultad de Medicina. (s.f.) Escala de Child Pugh. <https://medicina.ufm.edu/eponimo/escala-de-child-pugh/>
13. Aristizábal, A.M. et al. (2017) Manejo actual del Donante potencial de órganos y tejidos en muerte cerebral: Guía de Manejo y revisión de la literatura, *Revista Colombiana de Cirugía*. <http://www.scielo.org.co/pdf/rcci/v32n2/v32n2a8.pdf>
14. Pokorny H, Gruenberger T, Soliman T, Rockenschaub S, Langle F, Steininger R. Organ survival after primary dysfunction of liver grafts in clinical orthotopic liver transplantation. *Transpl Int* 2000; (Supl 1): S154
15. González-Domínguez E, Córdova D, Abad P, González E, Conzález C, Cordero J, Flores L, Aguirre-Bermeo H. (2022) Protocolo de inmunosupresión en trasplante hepático: revisión de la literatura. *Hepatología* 3; 40-56. <https://doi.org/10.52784/27112330.147>.
16. Birdwell, K. A., Decker, B., Barbarino, J. M., Peterson, J. F., Stein, C. M., Sadee, W., Wang, D., Vinks, A. A., He, Y., Swen, J. J., Leeder, J. S., van Schaik, R., Thummel, K. E., Klein, T. E., Caudle, K. E., & MacPhee, I. A. (2015). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clinical pharmacology and therapeutics*, 98(1), 19–24. <https://doi.org/10.1002/cpt.113>
17. Bowman, L. J., & Brennan, D. C. (2008). The role of tacrolimus in renal transplantation. *Expert opinion on pharmacotherapy*, 9(4), 635–643. <https://doi.org/10.1517/14656566.9.4.635>
18. Nakamura T, Fukuda , Matsukane R, Suetsugu K, Harada N, Yoshizumi T, et al. Influence of POR*28 Polymorphisms on CYP3A5*3-Associated Variations in Tacrolimus Blood Levels at an Early Stage after Liver Transplantation. *Revista Internacional de Ciencias Moleculares*. 2020 21; 7.
19. Asociación Española de Pediatría (2021). Tacrolimus. Dosis. <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/tacrolimus>
20. Carretero Colomer, M. (2005). Medicamentos de vanguardia. *Offarm*, 24(10), 130–132. Retrieved from <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-medicamentos-vanguardia-13081755>
21. Dai, Y., Hebert, M. F., Isoherranen, N., Davis, C. L., Marsh, C., Shen, D. D., & Thummel, K. E. (2006). EFFECT OF CYP3A5 POLYMORPHISM ON TACROLIMUS

- METABOLIC CLEARANCE IN VITRO. *Drug Metabolism and Disposition*, 34(5), 836–847. <https://doi.org/10.1124/DMD.105.008680>
22. Leibman K C. (1973). Editorial: Drug Metabolism and Disposition: the biological fate of chemicals - PubMed. Retrieved January 29, 2022, from <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/4150684/>
 23. Benet, L. Z., Izumi, T., Zhang, Y., Silverman, J. A., & Wacher, V. J. (1999). Intestinal MDR transport proteins and P-450 enzymes as barriers to oral drug delivery. *Journal of Controlled Release : Official Journal of the Controlled Release Society*, 62(1–2), 25–31. [https://doi.org/10.1016/S0168-3659\(99\)00034-6](https://doi.org/10.1016/S0168-3659(99)00034-6)
 24. Iwasaki, K. (2007). Metabolism of tacrolimus (FK506) and recent topics in clinical pharmacokinetics. *Drug Metabolism and Pharmacokinetics*, 22(5), 328–335. <https://doi.org/10.2133/DMPK.22.328>
 25. Kalt, BS, CLS, M. (ASCP) C. (2017). Tacrolimus: Una revisión de los métodos de detección de laboratorio y las indicaciones de uso. *Medicina de Laboratorio*, 48.
 26. PharmGKB (s.f.) Tacrolimus/Cyclosporine Pathway, Pharmacokinetics, PharmGKB. Available at: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165986114>.
 27. Marin, E. P., Cohen, E., & Dahl, N. (2020). Clinical Applications of Genetic Discoveries in Kidney Transplantation: a Review. *Kidney360*, 1(4), 300–305. <https://doi.org/10.34067/KID.0000312019>
 28. Terrazzino, S., Quaglia, M., Stratta, P., Canonico, P. L., & Genazzani, A. A. (2012). The effect of CYP3A5 6986A>G and ABCB1 3435C>T on tacrolimus dose-adjusted trough levels and acute rejection rates in renal transplant patients: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(8), 642–645. <https://doi.org/10.1097/FPC.0B013E3283557C74>
 29. Rojas, L., Neumann, I., Herrero, M. J., Bosó, V., Reig, J., Poveda, J. L., ... Aliño, S. F. (2015). Effect of CYP3A5*3 on kidney transplant recipients treated with tacrolimus: a systematic review and meta-analysis of observational studies. *The Pharmacogenomics Journal*, 15(1), 38–48.
 30. Hustert, E., Haberl, M., Burk, O., Wolbold, R., He, Y. Q., Klein, K., ... Wojnowski, L. (2001). The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics*, 11(9), 773–779. <https://doi.org/10.1097/00008571-200112000-00005>
 31. Huang, W., Lin, Y. S., McConn, D. J., Calamia, J. C., Totah, R. A., Isoherranen, N., ... Thummel, K. E. (2004). Evidence of significant contribution from CYP3A5 to hepatic drug metabolism. *Drug Metabolism and Disposition: The Biological Fate of Chemicals*, 32(12), 1434–1445.
 32. Kuehl, P., Zhang, J., Lin, Y., Lamba, J., Assem, M., Schuetz, J., ... Schuetz, E. (2001). Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of

- polymorphic CYP3A5 expression. *Nature Genetics*, 27(4), 383–391.
<https://doi.org/10.1038/86882>
33. Lamba, J. K., Lin, Y. S., Schuetz, E. G., & Thummel, K. E. (2002). Genetic contribution to variable human CYP3A-mediated metabolism. *Advanced drug delivery reviews*, 54(10), 1271–1294. [https://doi.org/10.1016/s0169-409x\(02\)00066-2](https://doi.org/10.1016/s0169-409x(02)00066-2)
34. Haufroid, V., Mourad, M., Van Kerckhove, V., Wawrzyniak, J., De Meyer, M., Eddour, D. C., ... Wallemacq, P. (2004). The effect of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on cyclosporine and tacrolimus dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenetics*, 14(3), 147–154.
<https://doi.org/10.1097/00008571-200403000-00002>
35. Li, C. J., Li, L., Lin, L., Jiang, H. X., Zhong, Z. Y., Li, W. M., ... Zhou, L. (2014). Impact of the CYP3A5, CYP3A4, COMT, IL-10 and POR genetic polymorphisms on tacrolimus metabolism in Chinese renal transplant recipients. *PloS One*, 9(1).
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0086206>
36. Staatz, C. E., Goodman, L. K., & Tett, S. E. (2010). Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clinical Pharmacokinetics*, 49(3), 141–175.
<https://doi.org/10.2165/11317350-000000000-00000>.
37. Ensembl genome browser (2023) rs776746 SNP, Population genetics - homo_sapiens - ensembl genome browser 109.
https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core%3Br
38. Hitzl, M., Drescher, S., Van der Kuip, H., Schäffeler, E., Fischer, J., Schwab, M., ... Fromm, M. F. (2001). The C3435T mutation in the human MDR1 gene is associated with altered efflux of the P-glycoprotein substrate rhodamine 123 from CD56+ natural killer cells. *Pharmacogenetics*, 11(4), 293–298. <https://doi.org/10.1097/00008571-200106000-00003>
39. Salama, N. N., Yang, Z., Bui, T., & Ho, R. J. Y. (2006). MDR1 haplotypes significantly minimize intracellular uptake and transcellular P-gp substrate transport in recombinant LLC-PK1 cells. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 95(10), 2293–2308.
<https://doi.org/10.1002/JPS.20717>
40. Reed, K., & Parissenti, A. M. (2011). The effect of ABCB1 genetic variants on chemotherapy response in HIV and cancer treatment. *Pharmacogenomics*, 12(10), 1465–1483. <https://doi.org/10.2217/pgs.11.84>
41. Fredericks, S., Moreton, M., Reboux, S., Carter, N. D., Goldberg, L., Holt, D. W., & MacPhee, I. A. M. (2006). Multidrug resistance gene-1 (MDR-1) haplotypes have a minor influence on tacrolimus dose requirements. *Transplantation*, 82(5), 705–708.
<https://doi.org/10.1097/01.TP.0000234942.78716.C0>

42. Herrero, M. J., Sánchez-Plumed, J., Galiana, M., Bea, S., Marques, M. R., & Aliño, S. F. (2010). Influence of pharmacogenetic polymorphisms in routine immunosuppression therapy after renal transplantation. *Transplantation Proceedings*, 42(8), 3134–3136.
43. Wang, W. L., Jin, J., Zheng, S. Sen, Wu, L. H., Liang, T. B., Yu, S. F., & Yan, S. (2006). Tacrolimus dose requirement in relation to donor and recipient ABCB1 and CYP3A5 gene polymorphisms in Chinese liver transplant patients. *Liver Transplantation: Official Publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the International Liver Transplantation Society*, 12(5), 775–780. <https://doi.org/10.1002/LT.20709>
44. Goto, M., Masuda, S., Saito, H., Uemoto, S., Kiuchi, T., Tanaka, K., & Inui, K. I. (2002). C3435T polymorphism in the MDR1 gene affects the enterocyte expression level of CYP3A4 rather than Pgp in recipients of living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics*, 12(6), 451–457. <https://doi.org/10.1097/00008571-200208000-00005>
45. Mourad, M., Wallemacq, P., De Meyer, M., Brandt, D., Van Kerkhove, V., Malaise, J., ... Haufroid, V. (2006). The influence of genetic polymorphisms of cytochrome P450 3A5 and ABCB1 on starting dose- and weight-standardized tacrolimus trough concentrations after kidney transplantation in relation to renal function. *Undefined*, 44(10), 1192–1198. <https://doi.org/10.1515/CCLM.2006.229>
46. Op Den Buijsch, R. A. M., Christiaans, M. H. L., Stolk, L. M. L., De Vries, J. E., Cheung, C. Y., Undre, N. A., ... Bekers, O. (2007). Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) and cytochrome (CYP) 3A polymorphisms. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 21(4), 427–435. <https://doi.org/10.1111/J.1472-8206.2007.00504.X>
47. Ensembl genome browser (2023) rs1045642 SNP, Population genetics - homo_sapiens - ensembl genome browser 109. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:8750882-9-87509829;v=rs1045642;vdb=variation;vf=729277288
48. Ensembl genome browser (2023) rs2032582 SNP, Population genetics - homo_sapiens - ensembl genome browser 109. https://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Variation/Population?db=core;r=7:8753080-2-87531802;v=rs2032582;vdb=variation;vf=729605947
49. Buendía, J. A., Bramuglia, G., & Staatz, C. E. (2014). Effects of combinational CYP3A5 6986A>G polymorphism in graft liver and native intestine on the pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients: a meta-analysis. *Therapeutic Drug Monitoring*, 36(4), 442–447. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000032>

50. Buendía, J. A., Otamendi, E., Kravetz, M. C., Cairo, F., Ruf, A., de Davila, M., Powazniak, Y., Nafissi, J., Lazarowski, A., Bramuglia, G., & Villamil, F. (2015). Combinational Effect of CYP3A5 and MDR-1 Polymorphisms on Tacrolimus Pharmacokinetics in Liver Transplant Patients. *Experimental and clinical transplantation : official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation*, 13(5), 441–448.
51. Brunet, M., Van Gelder, T., Åsberg, A., Haufroid, V., Hesselink, D. A., Langman, L., ... Bergan, S. (2019). Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Therapeutic Drug Monitoring*, 41(3), 261–307. <https://doi.org/10.1097/FTD.0000000000000640>
52. Riva, N., Schaiquevich, P., Cáceres Guido, P., Halac, E., Dip, M., & Imventarza, O. (2017). Pharmacoepidemiology of tacrolimus in pediatric liver transplantation. *Pediatric transplantation*, 21(5), 10.1111/petr.12982. <https://doi.org/10.1111/petr.12982>
53. Hesselink, D. A., Bouamar, R., Elens, L., Van Schaik, R. H. N., & Van Gelder, T. (2014). The role of pharmacogenetics in the disposition of and response to tacrolimus in solid organ transplantation. *Clinical Pharmacokinetics*, 53(2), 123–139. <https://doi.org/10.1007/S40262-013-0120-3>
54. Buendía, J. A., Halac, E., Bosaleh, A., Garcia de Davila, M. T., Imvertasa, O., & Bramuglia, G. (2020). Frequency of CYP3A5 Genetic Polymorphisms and Tacrolimus Pharmacokinetics in Pediatric Liver Transplantation. *Pharmaceutics*, 12(9), 898. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090898>
55. Abbasoglu O. Liver transplantation: Yesterday, today and tomorrow. . *World J Gastroenterol*. 2008;14(20):3117-22.
56. Varela G DR, Hernandez A , Castañeda P, Fuentes V , Nieto J. Transplante Hepatico en Niños. *Revista de Investigacion Clinica*. 2005;57(2):273-82.
57. Cuarterolo M CM, Lopez S, Cervio G, Rojas L , Bianco G , Speranza A , Sasbon J , De Davila M , Questa H , Lipsich J , Bes D , Fernandez C, Dip Marcelo , Ayarzabal V , Tau Cristina , Vaiani E , Del Pino M , Oleastro M , Delgado N , Delfino V , Bravo E , Norton E, Imvertaeza O. Evolucion de niños post trasplante hepatico luego del primer año de sobrevivida. *Medicina* 2005;65(5):14-20.
58. Eshraghian A, Imanieh MH, Dehghani SM, Nikeghbalian S, Shamsaeefar A, Barshans F, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorder after liver transplantation: Incidence, long-term survival and impact of serum tacrolimus level. *World J Gastroenterol*. 2017;23(7):1224-32.

59. Jain AB, Kashyap R, Rakela J, Starzl TE, Fung JJ. Primary adult liver transplantation under tacrolimus: more than 90 months actual follow-up survival and adverse events. *Liver Transpl Surg.* 1999;5(2):144-50.
60. Evans W SJ, Jusko WJ. *Applied Pharmacokinetics. Principles of Therapeutic Drug Monitoring.* Edition S, editor. Washington USA: Applied Therapeutics, Inc; 1991.
61. Del Mar MG-F-. Monitorización de concentraciones séricas de fármacos en Doménech Berrozpe J. Volumen 1: Farmacocinética. *Biofarmacia y Farmacocinética. Síntesis.* E, editor. España 1997.
62. Staatz CE TS. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43:623-53.
63. García Sánchez MJ MC, Santos-Buelga D, Blázquez A MJ, Urruzuno P. Covariate effects on the apparent clearance of tacrolimus in paediatric liver transplant patients undergoing conversion therapy. *Clin Pharmacokinet.* 2001; 40:63-71.
64. Yasuhara M HT, Toraguchi M, Hashimoto Y, Kimura M, Inui K. . Pharmacokinetics and pharmacodynamics of FK 506 in pediatric patients receiving living-related donor liver transplantations. *Transplant Proc* 1995;27:1108-10.
65. Fukatsu S YI, Igarashi T, Hashida T, Takayanagi K, Saito H. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult recipients receiving living-donor liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2001;57:479-84.
66. del Mar Fernández de Gatta M S-BD, Domínguez-Gil A, García MJ. . Immunosuppressive therapy for paediatric transplant patients: pharmacokinetic considerations. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41:115-35.
67. Wallemacq PE FV, Möller A, Schäfer A, Stadler P, Firdaous I. . Pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in paediatric liver transplant recipients. . *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 1998;23:367-70.
68. Sam WJ AM, Quak SH, Lim SM, Charles BG, Chan, SY ea. Population pharmacokinetics of tacrolimus in Asian paediatric liver transplant patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2000;50:531-41.
69. Staatz CE TP, Lynch SV, Willis C, Charles BG, Tett SE. Population pharmacokinetics of tacrolimus in children who receive cut-down or full liver transplants. *Transplantation.* 2001;72:1056-61.
70. Lemaitre F, Blanchet B, Latournerie M, Antignac M, Housset-Debry P, Verdier MC, et al. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in liver transplant recipients: inside the white blood cells. *Clin Biochem.* 2015;48(6):406-11.
71. Campagne O, Mager DE, Tornatore KM. Population Pharmacokinetics of Tacrolimus in Transplant Recipients: What Did We Learn About Sources of Interindividual Variabilities? *J Clin Pharmacol.* 2019;59(3):309-25.

72. Rodriguez-Antona C, Savieo JL, Lauschke VM, et al. PharmVar GeneFocus: CYP3A5. *Clin Pharmacol Ther.* 2022;112(6):1159-1171. doi:10.1002/cpt.2563
73. Tron C, Lemaitre F, Verstuyft C, Petitcollin A, Verdier MC, Bellissant E. Pharmacogenetics of Membrane Transporters of Tacrolimus in Solid Organ Transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2019;58(5):593-613. doi:10.1007/s40262-018-0717-7
74. Buendía, JA. Desarrollo de modelos farmacocinéticos de Tacrolimus en distintas poblaciones de pacientes trasplantados hepáticos: caracterización de variables clínicas y genéticas asociadas a la variabilidad farmacocinética/farmacodinámica. Tesis presentada para optar al título de Doctor. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Farmacia y Bioquímica. 2014. <https://core.ac.uk/download/pdf/299812707.pdf>
75. Liang, Ying, Wenfeng Han, Hongwei Yan and Qiqi Mao. "Association of CYP3A5*3 polymorphisms and prostate cancer risk: A meta-analysis." *Journal of cancer research and therapeutics* 14 Supplement (2018): S463-S467 .
76. Itohara, Kotaro, Ikuko Yano, Tetsunori Tsuzuki, Miwa Uesugi, Shunsaku Nakagawa, Atsushi Yonezawa, Hideaki Okajima, Toshimi Kaido, Shinji Uemoto and Kazuo Matsubara. "A Minimal Physiologically-Based Pharmacokinetic Model for Tacrolimus in Living-Donor Liver Transplantation: Perspectives Related to Liver Regeneration and the cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) Genotype." *CPT: Pharmacometrics & Systems Pharmacology* 8 (2019): 587 - 595.
77. Chen, Kai, Yu J. Wu, Rongsheng Tong, Z Y Hou, Xingde Li, Yuan Zhang, Lei Zhong, Junlan Chuan, Hong-ji Yang and Xia He. "The influence of CYP3A4 and CYP3A5 gene polymorphism on individualized medication of FK506 and hepatorenal function after liver transplantation." (2019)
78. Li, Yuexia, Xiaoshuo Wang, Yi Zhang, Chao Sun, Shujuan Li and Peng-Rong Fu. "The influence of tacrolimus concentration/dose ratio and curative effect in early postoperative period of children living donor liver transplantation based on the CYP3A5 genotype." *Chineae Journal of Organ Transplantation* 38 (2017): 414-418.
79. Wang, L., L. H. Liu, Weimin 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 : GMR* 14 4 (2015): 15148-57 .
80. Yang, T. H., Chen, Y. K., Xue, F., Han, L. Z., Shen, C. H., Zhou, T., Luo, Y., Zhang, J. J., & Xia, Q. (2015). Influence of CYP3A5 genotypes on tacrolimus dose requirement: age and its pharmacological interaction with ABCB1 genetics in the Chinese paediatric liver transplantation. *International journal of clinical practice. Supplement*, (183), 53–62. <https://doi.org/10.1111/ijcp.12667>

81. Dong, Y., Xu, Q., Li, R., Tao, Y., Zhang, Q., Li, J., Ma, Z., Shen, C., Zhong, M., Wang, Z., & Qiu, X. (2022). CYP3A7, CYP3A4, and CYP3A5 genetic polymorphisms in recipients rather than donors influence tacrolimus concentrations in the early stages after liver transplantation. *Gene*, 809, 146007. <https://doi.org/10.1016/j.gene.2021.146007>
82. Uesugi, M., Kikuchi, M., Shinke, H., Omura, T., Yonezawa, A., Matsubara, K., Fujimoto, Y., Okamoto, S., Kaido, T., Uemoto, S., & Masuda, S. (2014). Impact of cytochrome P450 3A5 polymorphism in graft livers on the frequency of acute cellular rejection in living-donor liver transplantation. *Pharmacogenetics and genomics*, 24(7), 356–366. <https://doi.org/10.1097/FPC.000000000000060>
83. Liu, Y., Wang, R., Wen, P., An, W., Zheng, J., et al. (2022). Genetic factors underlying tacrolimus intolerance after liver transplantation. *Frontiers in immunology*, 13, 944442. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2022.944442>
84. Roco A, Quinones L, Agundez JA, et al. Frequencies of 23 functionally significant variant alleles related with metabolism of antineoplastic drugs in the Chilean population: comparison with Caucasian and Asian populations. *Front Genet*. 2012;3:229.
85. Salas-Hernández A, Galleguillos M, Carrasco M, et al. An updated examination of the perception of barriers for pharmacogenomics implementation and the usefulness of drug/gene pairs in Latin America and the Caribbean. *Front Pharmacol*. 2023;14:1175737. Published 2023 May 11. doi:10.3389/fphar.2023.1175737
86. Fathy M, Kamal M, Mohy A, Nabil A. Impact of CYP3A5 and MDR-1 gene polymorphisms on the dose and level of tacrolimus among living-donor liver transplanted patients: single center experience. *Biomarkers*. 2016;21(4):335-341. doi:10.3109/1354750X.2016.11390027
87. Shao J, Wang C, Fu P, Chen F, Zhang Y, Wei J. Impact of Donor and Recipient CYP3A5*3 Genotype on Tacrolimus Population Pharmacokinetics in Chinese Adult Liver Transplant Recipients. *Ann Pharmacother*. 2020;54(7):652-661. doi:10.1177/1060028019897050
88. Tron, Camille, Jean-Baptiste Woillard, Pauline Housel-Debry, Véronique David, Caroline Jézéquel, Michel Rayar, David Balakirouchenane, Benoit Blanchet, Jean Debord, Antoine Petitcollin, Mickael Roussel, Marie Clémence Verdier, Éric Bellissant and Florian Lemaitre. “Pharmacogenetic—Whole blood and intracellular pharmacokinetic—Pharmacodynamic (PG-PK2-PD) relationship of tacrolimus in liver transplant recipients.” *PLoS ONE* 15 (2020): n. pag.
89. Tornio A, Backman JT. Cytochrome P450 in Pharmacogenetics: An Update. *Adv Pharmacol*. 2018;83:3-32. doi:10.1016/bs.apha.2018.04.007

90. Lamba, J., Hebert, J. M., Schuetz, E. G., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2012). PharmGKB summary: Very important pharmacogene information for CYP3A5. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(7), 555–558. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328351d47f>
91. Milane A, Khazen G, Olaywan L, et al. Frequency of ABCB1 C3435T and CYP3A5*3 Genetic Polymorphisms in the Lebanese Population. *Exp Clin Transplant*. 2021;19(5):434-438. doi:10.6002/ect.2021.0101
92. Debette-Gratien M, Woillard JB, Picard N, et al. Influence of Donor and Recipient CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 Genotypes on Clinical Outcomes and Nephrotoxicity in Liver Transplant Recipients. *Transplantation*. 2016;100(10):2129-2137. doi:10.1097/TP.0000000000001394
93. Tang HL, Xie HG, Yao Y, Hu YF. Lower tacrolimus daily dose requirements and acute rejection rates in the CYP3A5 nonexpressers than expressers. *Pharmacogenet Genomics*. 2011;21(11):713-720. doi:10.1097/FPC.0b013e32834a48ca
94. Silgado-Guzmán, D. F., Angulo-Aguado, M., Morel, A., Niño-Orrego, M. J., Ruiz-Torres, D. A., Contreras Bravo, N. C., Restrepo, C. M., Ortega-Recalde, O., & Fonseca-Mendoza, D. J. (2022). Characterization of ADME Gene Variation in Colombian Population by Exome Sequencing. *Frontiers in pharmacology*, 13, 931531. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.931531>
95. Nagar, S. D., Moreno, A. M., Norris, E. T., Rishishwar, L., Conley, A. B., O'Neal, K. L., Vélez-Gómez, S., Montes-Rodríguez, C., Jaraba-Álvarez, W. V., Torres, I., Medina-Rivas, M. A., Valderrama-Aguirre, A., Jordan, I. K., & Gallo, J. E. (2019). Population Pharmacogenomics for Precision Public Health in Colombia. *Frontiers in genetics*, 10, 241. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00241>
96. Bezerra, L. S., Santos-Veloso, M. A. O., Oliveira, S. B. L., Dias, A. A. P., Carvalho-Filho, Â. T., Gonzaga-Neto, P. P., & Melo, P. S. V. (2020). Tacrolimus therapeutic efficacy in post-liver transplant patients with Cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) genetic polymorphisms. Eficácia terapêutica do Tacrolimo em pacientes pós-transplante hepático com polimorfismos genéticos do citocromo P450 3A5 (CYP3A5). *Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes*, 47, e20202384. <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20202384>
97. Orozco, B. & Benavente, David. (2010). Interacciones farmacológicas en trasplante. *Revista Médica Clínica Las Condes*. 21. 248-253. 10.1016/S0716-8640(10)70531-9.

