

DESCRIPCION DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS EN CYP3A5 Y MDR-1, E IMPACTO EN EL RECHAZO AGUDO CLÍNICO DE PACIENTES TRASPLANTADOS DE HIGADO DEL HOSPITAL SAN VICENTE FUNDACIÓN RIONEGRO.

Lina María Botero Mora (1), Erika Fernanda Lindarte Rincón (2), Luis Manuel Barrera Lozano (3), Jaime Alberto Ramírez Arbeláez (3), Jefferson Antonio Buendía (4), Luis Guillermo Toro Rendón (5).

(1) Residente de Cirugía General – Universidad de Antioquia

(2) Estudiante de Maestría en Ciencias Básicas Biomédicas – Universidad de Antioquia

(3) Cirujano de Trasplantes – Hospital San Vicente Fundación Rionegro

(4) Neumólogo Pediatra, Doctor en Farmacología y Epidemiología, Profesor Universidad de Antioquia

(5) Hepatólogo Clínico – Hospital San Vicente Fundación. Rionegro

RESUMEN

Introducción: El tacrolimus es un medicamento inmunosupresor ampliamente usado en trasplante hepático. Presenta una gran variabilidad interindividual la cual se considera asociada a la frecuencia de polimorfismos de CYP3A5 y MDR-1. Se evaluó la frecuencia de los polimorfismos rs776746, rs2032582 y rs1045642 y su asociación con rechazo clínico y toxicidad farmacológica.

Métodos: Se incluyeron 17 pacientes trasplantados hepáticos del Hospital San Vicente Fundación de Rionegro, inmunosuprimidos con tacrolimus, con supervivencia > 1 mes, se evaluaron sus variables clínicas, la presencia de rechazo agudo y toxicidad farmacológica documentada en la historia clínica. Se secuenciaron los genes de estudio mediante PCR. Se compararon pacientes expresivos vs no expresivos en cada uno de los genes de estudio.

Resultados: El 43% de los pacientes se clasificaron como CYP3A5*1/*1 y CYP3A5*1/*3, en los cuales se encontró asociación con aumento en las tasas de rechazo agudo clínico al comparar con los pacientes no expresivos (100% vs 44%, $p=0.05$). No se encontraron diferencias en cuanto a la toxicidad farmacológica u otros desenlaces. Se encontró el polimorfismo rs2032582 en un 50% y el rs1045642 en un 23,5% de los pacientes, sin embargo no se identificó asociación con rechazo u otros eventos clínicos.

Conclusiones: Este es el primer estudio en trasplantados hepáticos en Colombia que describe la frecuencia de estos polimorfismos de interés. Se encontró una asociación entre el genotipo CYP3A5*1/*1 y CYP3A5*1/*3 y las tasas de rechazo clínico. Se requiere una muestra más amplia para validar estos datos y plantear modelos de medicina personalizada.

Palabras clave: Tacrolimus, Trasplante de Hígado, Rechazo de Injerto, Polimorfismo de Nucleótido Simple, Farmacogenética

INTRODUCCIÓN

El trasplante hepático es el último eslabón en el tratamiento de la enfermedad hepática terminal, la falla hepática aguda y algunas neoplasias hepáticas primarias (1). El tacrolimus (TAC), es un medicamento inmunosupresor, inhibidor de la calcineurina, actualmente el manejo de elección para prevenir el rechazo del injerto (2)(3). Su mecanismo de acción consiste en inhibir la producción de interleucina 2 en el linfocito T CD4+(4). Se considera un medicamento con una ventana terapéutica estrecha y una gran variación farmacocinética inter e intraindividual, lo que dificulta la implementación de un protocolo de dosis empírica e implica la medición constante de sus niveles para garantizar el efecto terapéutico y disminuir la incidencia de efectos adversos como la nefrotoxicidad, neurotoxicidad y la hiperglucemia(5).

TAC se absorbe en el intestino delgado, en este proceso interviene la glicoproteína P (también conocida como MDR-1, codificada por el gen ABCB1), un transportador de eflujo ubicado en la membrana del enterocito que regula negativamente la absorción del medicamento(4). Dentro de la célula intestinal, las isoenzimas gastrointestinales CYP3A4 y CYP3A5 realizan un metabolismo inicial, los metabolitos secundarios a este proceso son eliminados a través de la materia fecal. Lo anterior, asociado al metabolismo hepático de primer orden, explican una pobre biodisponibilidad aproximadamente del 25% posterior a la administración vía oral. (6). El metabolismo del tacrolimus es hepático y es llevado a cabo por los citocromos CYP3A4 y CYP3A5. Se generan aproximadamente 15 metabolitos, algunos que se forman en menor medida, con una actividad inmunosupresora similar al fármaco original. El 95% de sus metabolitos son eliminados vía biliar y el 2% vía urinaria (7).

Adicional a las interacciones farmacológicas y alimentarias, la variabilidad interindividual de la dosis de TAC está influenciada por la actividad de la citocromo P450-3A5(4). El polimorfismo de un único nucleótido o SNP por sus siglas en inglés, dentro del intrón 3 de CYP3A5, ha sido un caso de estudio. Los portadores homocigotos (denominados metabolizadores rápidos) o heterocigotos (metabolizadores intermedios) para el alelo CYP3A5*1 wild-type (silvestre) producen niveles más altos de la proteína funcional, lo que se ha asociado a aumento de los requerimientos de dosis de medicamento al compararlos con los pacientes que portan dos copias el alelo variante CYP3A5*3 (metabolizadores lentos), en los cuales el resultado es una enzima truncada con pobre función(8). Aproximadamente 80% de los caucásicos son homocigotos para el alelo variante CYP3A5*3, la mayoría de los pacientes de raza negra son homocigotos para el alelo wild-type (4). Los polimorfismos 3435C>T en el exón 26 y el 2677G>T/A en el exón 21 del gen ABCB1, que codifica la glicoproteína P, se asocian de forma directa con mecanismos que generan baja expresión de MDR-1 intestinal o inducen de forma indirecta disminución en la especificidad del sustrato del transportador. A pesar de ser materia de controversia, se ha sugerido que la presencia de estas mutaciones aumentan la biodisponibilidad del medicamento y con esto disminuyen las dosis requeridas al comparar con los portadores

del gen silvestre (9). Se ha propuesto que, la implementación protocolos de inmunosupresión individualizados a partir de la genotipificación del donante y receptor, pudieran ser una estrategia que ayude a reducir la variabilidad en los niveles del medicamento y, de la misma forma, las tasas de eventos adversos como el rechazo agudo y la nefrotoxicidad (10)(11).

En Colombia no existen estudios en la actualidad que describan la frecuencia de estos polimorfismos en nuestra población y su impacto en la inmunosupresión y los desenlaces clínicos de los pacientes sometidos a trasplante hepático. El objetivo de este estudio, es entonces, describir la presencia de los polimorfismos genéticos del gen MDR1 (rs1045642 y rs2032582) y del alelo CYP3A5*3 en el gen CYP3A5 en los pacientes trasplantados hepáticos del Hospital San Vicente Fundación Rionegro y evaluar su relación con el rechazo agudo clínico y la incidencia de eventos adversos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de estudio

Estudio observacional, prospectivo y analítico, realizado en un único centro, el Hospital San Vicente Fundación de Rionegro.

Población

Participaron en el estudio todos los pacientes mayores de 18 años sometidos a trasplante hepático en el Hospital San Vicente Fundación Rionegro entre los años 2020 y 2022 a quienes se les prescribió tacrolimus durante al menos 1 mes.

Se incluyeron pacientes sometidos a trasplante hepático ortotópico con seguimiento no inferior a 1 mes, sometidos a terapia inmunosupresora con TAC con o sin esteroides o micofenolato mofetilo. Se excluyeron aquellos pacientes receptores de trasplante multivisceral, con diagnóstico de infección por virus de la inmunodeficiencia humana, mujeres embarazadas, en lactancia o en periodo fértil con consumo concomitante de anticonceptivos.

Inmunosupresión

Acorde al protocolo hospitalario, la inmunosupresión en su fase de inducción se inició en el intraoperatorio con la administración de metilprednisolona 1 gr IV previo a la reperusión. Se inició el anticalcineurínico (tacrolimus), en el postrasplante inmediato a dosis de 0.1 mg/kg/día cada 12 horas y micofenolato mofetilo 1 gramo cada 12 horas. El esteroide IV se desmonta progresivamente hasta el día +4 postrasplante donde se pasa a prednisolona 20 mg vía oral cada 24 horas.

Acorde a criterio del hepatólogo tratante, en algunos casos se realizó esquema de introducción progresiva de anticalcineurínicos, con dosis de inicio de 0.04 a 0.06 mg/kg/día, con el fin de disminuir la incidencia de lesión renal aguda postrasplante(12)(13).

Monitoreo de niveles plasmáticos y desenlaces

El monitoreo plasmático de TAC se realizó de forma seriada durante la estancia intrahospitalaria. La primera medición se realizó entre el cuarto y quinto día posterior al inicio del medicamento. Aquellos pacientes que requirieron ajustes en la formulación, tuvieron indicación de mediciones adicionales con el mismo principio hasta lograr niveles terapéuticos entre 6 – 10 ng/mL (3). También se realizaron otras mediciones, a criterio del hepatólogo tratante, en pacientes con disfunción orgánica persistente o infecciones no controladas. El protocolo institucional de seguimiento ambulatorio indica mediciones semanales en el primer mes, quincenales hasta el tercer mes y mensuales de los tres meses en adelante. Los pacientes ambulatorios requirieron pruebas adicionales si los niveles no estaban dentro de la ventana terapéutica o en caso de alteración del perfil hepático.

Se recolectaron de la historia clínica datos sociodemográficos (fecha de nacimiento, sexo, peso y altura) tanto del donante como del receptor. Adicionalmente datos clínicos del trasplante como el tipo de técnica usada (hígado entero, partición o reducción), indicación del trasplante, tiempo de estancia en UCI y presencia de complicaciones durante el seguimiento. Asimismo, información farmacológica como la posología del TAC, el uso de inmunosupresores concomitantes y medicamentos adicionales previamente reportados en la literatura con interacciones fuertes y moderadas. Se realizó seguimiento a parámetros de laboratorio como hemograma, perfil hepático (aminotransferasas, bilirrubinas, fosfatasa alcalina y gamma glutamiltransferasa), función renal, albúmina e INR.

El desenlace principal fue la presencia de rechazo agudo o temprano del injerto como indicador de la eficacia de la terapia inmunosupresora. Este se definió como la elevación de enzimas canaliculares y/o aminotransferasas entre el día 5-30 postrasplante en ausencia de otras causas vasculares o biliares documentadas que expliquen el cuadro(14). Se evaluaron los niveles de TAC en relación con el pico enzimático asociado al rechazo y en pacientes que no presentaron rechazo se documentaron los niveles entre el día 6 a 10 postrasplante. Acorde a los niveles objetivos previamente mencionados se clasificaron como infraterapéuticos (<6 ng/mL), terapéuticos (6 – 10 ng/mL) o supraterapéuticos (>10 ng/mL), adicionalmente se correlacionaron con la dosis del medicamento correspondiente.

Como desenlaces secundarios realizó monitoreo de los siguientes eventos adversos durante cualquier momento del seguimiento:

- Nefrotoxicidad: Se definió la presencia de lesión renal aguda acorde a criterios AKIN (15). Dentro de este escenario se realizó una evaluación diferencial de la lesión renal aguda perioperatoria, la cual cursa con una fisiopatología y factores de riesgo diferentes a la toxicidad por medicamentos (sepsis, inestabilidad hemodinámica, síndrome de reperfusión, politransfusión) y se definió como la presencia de lesión renal aguda en los primeros 7 días postoperatorios(16).
- Hepatotoxicidad: También denominada lesión hepática inducida por medicamentos, se definió como la presencia de elevación de aminotransferasas igual o más de 5

veces por encima del límite superior normal, fosfatasa alcalina 2 o más veces por encima del límite superior normal o bilirrubina total 2 o más veces por encima del límite superior normal(17).

- Neurotoxicidad: Se definió como la presencia de temblor, neuralgia, neuropatía periférica, psicosis, alucinaciones, alteraciones de la agudeza visual, ataxia cerebelar o paresia (18)

Se realizó una asociación de causalidad con el tratamiento para la cual se empleó la evaluación de la OMS-UMC que clasifica la asociación como certera, posible, probable, improbable, condicional o no clasificada y no clasificable. Se consideraron asociaciones positivas aquellas clasificadas como certeras, posibles y probables.(19).

Extracción de ADN y genotipificación de CYP3A5*3 y MDR1-C3435T y MDR1- G2677T

Toma de muestras en parafina y extracción de DNA

La toma de muestras de tejido parafinado se realizó de 4 cortes de biopsias de hígado de receptores de 10 micrómetros de espesor. Estas biopsias de hígado fueron embebidas en parafina formaldehído, para posteriormente ser almacenadas. La extracción de ADN genómico de estas muestras se realizó con el kit MagMAX™ FFPE DNA/RNA Ultra Kit (CAT A31881, Thermofisher). Para verificar la calidad e integridad del DNA extraído, se usaron geles de agarosa al 1%. El DNA se almacenó a -80°C hasta el proceso de genotipificación o secuenciación.

Secuenciación Sanger

La concentración de ADN fue medida usando un espectrofotómetro NanoDrop. Las variantes alélicas en el gen MDR1 tales como C3435T (rs1045642) y G2677T (rs2032582) y el alelo CYP3A5*3 en el gen CYP3A5 se detectaron mediante la PCR inicialmente, confirmando así la presencia de la porción del ADN de interés de cada uno de los polimorfismos analizados. Estos se amplificaron usando primers diseñados por MacroGene. Posteriormente se secuenciaron los amplicones mediante la plataforma de secuenciación Sanger en un Applied Biosystems 3500. El llamado de bases, alineamiento y ensamblaje de las secuencias consenso y la edición de estas se llevó cabo con el software Sequencher acompañado de FinchTV V.1.4 y Bioedit V.7.2 (FinchTV, 2012; Vandepoele et al., 2011). Los pacientes con el genotipo CYP3A5*1/*1 o CYP3A5*1/*3 se clasificaron como "expresivos", mientras aquellos con tipificación CYP3A5*3/*3, se clasificaron como "no expresivos". Con respecto al gen ABCB1-A (rs2032582) los homocigotos para TT y los heterocigotos (TG) se clasificaron como "expresivos", mientras que los homocigotos para GG se denominaron "no expresivos". Finalmente para la evaluación del gen ABCB1-B (rs1045642), los homocigotos para CC y los heterocigotos (TC) se clasificaron como "expresivos", mientras que los homocigotos para TT se definieron como "no expresivos".

Análisis estadístico

Análisis exploratorio

Las variables clínicas, bioquímicas, genéticas y sociodemográficas se expresaron empleando proporciones para las variables nominales, media y desviación estándar para las variables continuas. Las variables continuas sin distribución normal se expresaron en mediana y rango.

Fase analítica

Se realizó análisis de las variables cualitativas y cuantitativas. Debido a que es una muestra pequeña y que no cumple criterios de normalidad, para el análisis inferencial se utilizaron pruebas no paramétricas, para las variables cuantitativas prueba de Wilcoxon, y para las cualitativas la prueba de Fisher, ambas con un nivel de significancia de 0.05. El análisis estadístico se realizó con el programa R versión 3.5.0.

Aspectos éticos

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. El estudio fue aprobado por el comité de ética del Hospital San Vicente Fundación.

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.

RESULTADOS

Se identificaron 34 pacientes sometidos a trasplante hepático entre el 2020 y el 2022, con sus respectivos donantes. Se excluyeron 8 pacientes fallecidos dentro de los primeros 6 meses que nunca recibieron tacrolimus y un paciente con seguimiento de 2 años postrasplante que fue tratado con ciclosporina. Posteriormente durante el análisis genético, al realizar la evaluación de integridad del DNA, se excluyeron 8 pacientes adicionales con muestras insuficientes para el estudio. Por lo que finalmente se contó con 17 pacientes en los que se realizó la evaluación sociodemográfica, clínica y genética. La tabla 1, muestra los datos sociodemográficos y los desenlaces clínicos de los 17 pacientes inmunosuprimidos con tacrolimus que participaron en el estudio.

Variable	Numero (%) / mediana (rango) n=17
Sexo	
Masculino	9 (53%)
Femenino	8 (47%)
Edad (años)	56 (18-68)
Peso (kg)	71 (53-100)
Child – Pugh (Puntuación)	10 (5-13)

MELD (Puntuación)	21 (9-30)
Estancia UCI (días)	5 (2-58)
Estancia Hospitalaria (días)	17 (7-58)
Seguimiento postrasplante (meses)	12 (1-35)
Indicación del trasplante	
Enfermedad hepática alcohólica	5 (29%)
Colangitis esclerosante primaria	3 (18%)
Cirrosis biliar secundaria	1 (6%)
Cirrosis criptogénica	1 (6%)
Colangitis biliar primaria	1 (6%)
Enfermedad de Wilson	1 (6%)
Esteatohepatitis no alcohólica	1 (6%)
Falla hepática aguda	1 (6%)
Hepatitis autoinmune	1 (6%)
Hepatitis C	1 (6%)
NASH vs HAI	1 (6%)
Complicaciones postquirúrgicas	13 (76%)
Biliar	7 (54%)
Vascular	4 (31%)
Infecciosa	2 (15%)
Lesión renal aguda perioperatoria	4 (24%)
Rechazo agudo clínico	13 (76%)
Días postoperatorios al diagnóstico de rechazo	7 (5-23)
Niveles de TAC durante el evento de rechazo o al día 6-10 en pacientes sin rechazo	
• Infraterapéutico	15 (88%)
• Supraterapéutico	1 (6%)
• Terapéutico	1 (6%)
Dosis de TAC durante el evento de rechazo o al día 6-10 en pacientes sin rechazo	
Menor de 0,04 mg/kg/día	0 (0%)
Entre 0,04-0,09 mg/kg/día	10 (59%)
Mayor o igual a 0.1 mg/kg/día	7 (41%)
Toxicidad farmacológica (grados WHO-UMS)	
Neurotoxicidad	
Posible	5(29%)
Nefrotoxicidad	
Probable	1 (6%)
Posible	2 (12%)
Improbable	3 (18%)
Hepatotoxicidad	
Probable	2 (12%)
Muertes durante el seguimiento	3 (18%)

Tabla 1. Características sociodemográficas y desenlaces clínicos

Se logró amplificar y secuenciar el SNP denominado como ABCB1-A (rs2032582) en 12 pacientes, el SNP ABCB1-B (rs1045642) en 17 pacientes y SNP CYP3A5 (rs776746) en 16 de 17 muestras. La tabla 2 muestra la el resumen de la genotipificación de los pacientes.

Teniendo en cuenta que en ABCB1-A, el genotipo silvestre es homocigoto para timina, en ABCB1-B es homocigoto para citosina y como se describió anteriormente, el genotipo normal que codifica CYP3A5 corresponde a dos copias del gen wild-type o CYP3A5*1/*1.

Genotipificación	Número (%)
MDR1	
ABCB1-A (rs2032582)	n=12
TT	1 (8,3%)
TG	5 (41,6%)
GG	6 (50%)
ABCB1-B (rs1045642)	n=17
CC	4 (23,5%)
TC	9 (52,9%)
TT	4 (23,5%)
CYP3A5 (rs776746)	n=16
CYP3A5*1/*1	3 (18,7%)
CYP3A5*1/*3	4 (25%)
CYP3A5*3/*3	9 (56,2%)

Tabla 2: Genotipificación de los pacientes incluidos.

La tabla 3 presenta el análisis comparativo univariado entre los grupos denominados como expresivos y no expresivos acorde a la genotipificación de CYP3A5 y diferentes factores sociodemográficos y desenlaces clínicos de importancia. No se encontró diferencia estadísticamente significativa entre los factores sociodemográficos basales, la severidad de la enfermedad hepática previo al trasplante, los niveles de tacrolimus durante el momento del rechazo o durante el día 6-10 en los pacientes sin rechazo agudo clínico o en la incidencia de lesión renal aguda perioperatoria. Se presentó rechazo agudo clínico con mayor frecuencia en pacientes expresivos (100% vs 44%, $p=0.05$).

Variables	No expresivos (CYP3A5*3/*3) (n = 9)	Expresivos (CYP3A5*1/*1 + CYP3A5*1/*3) (n = 7)	P valor
Edad (Media, DE)	55 (21)	42(8)	0.61
Mujer (%)	5 (57%)	4(44%)	0.53
Child-Pugh (Media, DE)	9 (2)	10 (2)	0.44
MELD (Media, DE)	19 (5)	21 (6)	0.33
Niveles de Tacrolimus (Media, DE)	8 (4)	6 (2)	0.38
Niveles subterapéuticos	4 (44)%	5 (57%)	0.89
Lesión renal aguda perioperatoria	3 (33%)	1 (16%)	0.78
Rechazo clínico	4 (44%)	7 (100%)	0.05

Tabla 3. Análisis univariado CYP3A5 (rs776746)

La tabla 4 presenta los resultados del análisis comparativo univariado entre los grupos denominados como expresivos y no expresivos acorde a la genotipificación de ABCB1-B (rs1045642), es decir, uno de los polimorfismos de estudio de la glicoproteína P. No se encontraron diferencias en cuanto a la edad, el sexo, el puntaje Child-Pugh o MELD, los niveles de tacrolimus en los primeros 10 días, la presencia de niveles subterapéuticos asociados a rechazo, la lesión renal aguda perioperatoria o el rechazo agudo clínico.

Variables	Expresivos (TC - CC) (n = 13)	No expresivos (TT) (n = 4)	P valor
Edad (Media, DE)	52(19)	42(15)	0.36
Mujer (n, %)	5 (38%)	3(75%)	0.56
Child (Media, DE)	9 (2)	10 (1)	0.66
MELD (Media, DE)	19 (6)	21 (3)	0.53
Niveles de Tacrolimus mg/dl (Media, DE)	8 (4)	5 (2)	0.46
Niveles subterapéuticos	7 (54)%	2 (50%)	0.92
Lesión renal aguda perioperatoria	9 (69%)	2 (50%)	0.50
Rechazo agudo clínico	9 (69%)	3 (75%)	1

Tabla 4. Análisis univariado ABCB1-B (rs1045642)

Para el gen ABCB1-A, solo se contaron con 12 muestras, lo cual se consideró una muestra insuficiente para realizar un análisis inferencial.

DISCUSION

El trasplante hepático es el último eslabón en el manejo de la enfermedad hepática crónica terminal, la falla hepática aguda y de algunas neoplasias hepáticas primarias. Acorde a los datos del programa Carga Global de Enfermedad en 2019, la enfermedad hepática es la onceava causa de mortalidad global, con 2,4 millones de muertes durante dicho año(20). En Colombia, según datos del Instituto Nacional de Salud, en 2021 se realizaron 155 trasplantes hepáticos, dato que viene en ascenso posterior a una disminución marcada de los casos durante la pandemia por SARS-COV-2 (21).

El rechazo agudo es una causa importante de disfunción y pérdida del aloinjerto, además de muerte en pacientes sometidos a trasplante de órgano sólido. En la actualidad, ocurre en aproximadamente 25 – 46% de los pacientes, con una incidencia más alta entre los primeros 6-10 días, ocurriendo la mayoría de los episodios en los 2 primeros meses postrasplante. Los esquemas de inmunosupresión no solo previenen la aparición de rechazo, sino que son la base del tratamiento en aquellos casos en los que se genera este evento (22). El tacrolimus es un medicamento inmunosupresor que fue desarrollado como una alternativa al uso de ciclosporina por su mejor biodisponibilidad (23). La mortalidad a 1 año en pacientes inmunosuprimidos con tacrolimus es 15% menor al comparar con

pacientes sometidos a esquemas basados en ciclosporina. También se ha descrito aumento en las tasas de supervivencia del injerto al año, tasas de adherencia al medicamento, disminución de las tasas de rechazo agudo y de rechazo resistente a esteroides(24).

El CYP3A5 es la enzima principal en el metabolismo de TAC y tiene representación hepática e intestinal, por otro lado, la Glicoproteína P es un transportador de eflujo del medicamento a nivel intestinal(4). Los polimorfismos en los genes que codifican ambas proteínas, se han considerado posible causa de la variabilidad farmacocinética interindividual del medicamento y se han contemplado como la base de posibles modelos de medicina personalizada en trasplante hepático(8)(9)(10). Se considera, que en el periodo del post-trasplante temprano, dado por las primeras cinco semanas postoperatorias, la farmacocinética de TAC está influenciada principalmente por la genotipificación del receptor (25)(26). Este es el primer estudio en una cohorte de receptores de trasplante hepático en Colombia, en describir la frecuencia de presentación de polimorfismos de importancia en estos genes y hacer una aproximación a su asociación con desenlaces como la toxicidad farmacológica y el rechazo agudo. Se conoce que el genotipo de CYP3A5 varía acorde a factores raciales y poblacionales. Se ha descrito que aproximadamente un 10-20% de los caucásicos, 20 a 80% de los asiáticos y 55 a 65% de los afroamericanos expresan algún alelo para CYP3A5*1(5). En nuestra población de estudio, solo el 18% de los pacientes eran homocigotos para el gen silvestre CYP3A5 *1/*1, un 25% heterocigotos y finalmente 56% homocigotos para CYP3A5*3, comportándose esta cohorte, con un 43% de expresores, probablemente como una población intermedia entre la población caucásica y la asiática, similar a lo publicado por Buendía (27).

Se ha observado que los pacientes con el genotipo no expresivo (CYP3A5*3/*3) requieren dosis menores del medicamento y tienen un mayor riesgo de toxicidad farmacológica. Además, los pacientes con el genotipo expresivo han sido asociados con tasas más altas de rechazo agudo (28)(29). El grupo liderado por Gómez-Bravo y colaboradores documentó una incidencia de rechazo confirmado histológicamente del 10.2% en una población española. Encontraron que los pacientes expresores tenían tasas de rechazo aproximadamente 1.5 veces mayores en los primeros 3 meses en comparación con los no expresores (5). Por otro lado, Uesugi y colaboradores llevaron a cabo un estudio en población japonesa, en el que descubrieron que la presencia del alelo CYP3A5*1 en el hígado trasplantado se asocia con una mayor incidencia de rechazo agudo entre el día 10 y 23 postrasplante. No se encontraron diferencias en los niveles de tacrolimus entre los que experimentaron rechazo y los que no lo hicieron (26). En nuestra serie de pacientes, se encontró una tasa global de rechazo agudo clínico del 76%, lo cual es considerablemente más alto que el rango del 25 al 46% reportado en la literatura (22). Un 44% de los pacientes no expresivos tuvieron un episodio de rechazo agudo clínico vs un 100% de los expresivos, alcanzando significancia estadística en el análisis univariado. Sin embargo, en general se observó una tasa de niveles subterapéuticos del 88% hasta el día 10, y esto se debió a que el 59% de los pacientes estaban recibiendo dosis menores de 0.1 mg/kg/día, en el contexto de un esquema de introducción progresiva de anticalcineurínicos. Aunque esto plantea

interrogantes sobre el inicio de nuestra inmunosupresión de mantenimiento, los hallazgos sugieren que los pacientes con algún alelo silvestre tienen tasas más altas de rechazo agudo clínico, lo cual es valioso, biológicamente plausible y se correlaciona con los hallazgos descritos en otros trabajos (5)(26). Cabe destacar que todos los pacientes que experimentaron rechazo a clínico en nuestro estudio mejoraron sus parámetros bioquímicos mediante el ajuste de la inmunosupresión, y no se reportaron casos de retrasplante relacionados con el rechazo durante el seguimiento.

Se ha estudiado la presencia de eventos adversos secundarios a la administración de tacrolimus en relación con la genotipificación de CYP3A45. Los niveles supraterapéuticos de TAC se han asociado al desarrollo de nefrotoxicidad (4). Coller y colaboradores evaluaron como desenlace secundario en su estudio, el desarrollo de nefrotoxicidad en relación con la presencia de polimorfismos de CYP3A5 en 29 pacientes. Se presentó toxicidad renal en el 14% de los pacientes, sin diferencia estadísticamente significativa entre los grupos (11). En nuestro estudio se presentaron 3 pacientes con nefrotoxicidad para un 17% de la población, similar a los hallazgos de Coller y colaboradores. No se encontró diferencias estadísticamente significativas entre expresivos y no expresivos con respecto a este u otros tipos de toxicidad en nuestro estudio (dato no mostrado). Tampoco se encontró diferencias en las tasas de lesión renal aguda perioperatoria.

Con respecto a los polimorfismos del gen ABCB1, se ha descrito que la presencia del genotipo homocigoto para ambas mutaciones está aproximadamente en un 32% de los caucásicos, 62% de los americanos con ascendencia europea, 27% de los americanos con ascendencia asiática y 35% de los americanos con ascendencia mexicana (9). En nuestra cohorte se presentó un 50% de homocigotos para GG en ABCB1-A y 23% de homocigotos para el alelo mutado TT en ABCB1-B. Se conoce que estas mutaciones generan una disminución en la expresión de la glicoproteína P intestinal y su impacto en la farmacocinética de tacrolimus está mejor descrito en pacientes con trasplante renal, en quienes la presencia del alelo mutado se asocia con tasas C₀/dosis más bajas, principalmente en ABCB1-B (30). Sin embargo, su impacto en la farmacocinética de TAC en trasplantados hepáticos se encuentra discutido. Provenzani y colaboradores no encontraron diferencias en las dosis de TAC o incidencia de rechazo del injerto en pacientes sometidos a trasplante hepático acorde a la genotipificación de ABCB1(9). En nuestro estudio no encontramos diferencias estadísticamente significativas en la presencia de rechazo agudo clínico o en los desenlaces secundarios acorde a la genotipificación de MDR-1.

Este estudio cuenta con limitaciones importantes. En primer lugar, acorde a lo descrito al inicio de la sección de discusión, disminuyó de forma importante los casos de trasplante hepático durante a la pandemia por SARS-COV-2 y los años inmediatamente posteriores, en los cuales se reclutaron los pacientes para este estudio. Adicionalmente se presentó el fallecimiento de 8 pacientes de forma temprana, estos pacientes no recibieron inmunosupresión con tacrolimus y sus muestras no pudieron ser incluidas en el estudio. Finalmente, durante el estudio genético, la calidad del espécimen en algunas muestras no

permitió la amplificación de los genes, lo que disminuyó aún más el número de pacientes a comparar, todo lo anterior limitó el análisis comparativo. Desde el punto de vista clínico, es importante resaltar las altas de tasas de niveles infraterapéuticos asociados a los eventos de rechazo agudo clínico, lo cual pudiera ser un factor confusor e invita a una optimización eficiente de los niveles en el postrasplante temprano. Si bien, consideramos que los resultados de este estudio son valiosos, pues son los primeros datos de este tipo en trasplantados hepáticos en Colombia, están limitados por el número de pacientes y se consideran la puerta de entrada a la formulación de estudios multicéntricos, realizados en varias regiones, que permitan un conocimiento más amplio de la distribución poblacional de estos genes y además sean la base para plantear esquemas de inmunosupresión personalizada basados en la genotipificación.

CONCLUSIÓN

Este es el primer estudio en Colombia en describir la frecuencia de polimorfismos de único nucleótido en proteínas clave para el metabolismo de tacrolimus en trasplantados hepáticos. Un 43% de los pacientes presentan genotipo expresivo para CYP3A5 y en nuestro estudio, esto se asoció a tasas más altas de rechazo agudo clínico, documentándose la gran mayoría de eventos en los primeros 14 días postrasplante. No se encontró asociación con eventos adversos al medicamento u otros eventos como lesión renal aguda perioperatoria. No se encontraron diferencias en rechazo agudo clínico y toxicidad en los diferentes polimorfismos de MDR-1. Se requieren estudios con mayor número de pacientes, en diferentes regiones del país para evaluar con mayor precisión estas asociaciones y plantear la base de modelos de medicina personalizada que mejoren los resultados en pacientes sometidos a trasplante hepático.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bezerra L, Oliveira M, Lopes de Oliveria S, Pantoja A. Tacrolimus therapeutic efficacy in post-liver transplant patients with Cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) genetic polymorphisms. 2019;5(47):1–8.
2. Gordon RD. Changing perspectives on liver transplantation in 1988. *Clin Transpl.* 1988;5.
3. Charlton M, Levitsky J, Aqel B, Grady JO, Hemibach J, Rinella M, et al. International Liver Transplantation Society Consensus Statement on Immunosuppression in Liver Transplant Recipients. *Transplantatiin.* 2018;102(5):727–43.
4. Tavira B, Díaz-corte C, Coronel D, Ortega F, Coto E. Pharmacogenetics of tacrolimus : from bench to bedside ? *Nefrologia.* 2014;11–7.
5. Angel M, Bravo G, Salcedo M, Fondevila C, Suarez F, Castellote J, et al. Impact of Donor and Recipient CYP3A5 and Dosage Requirements and Rejection in Caucasian Spanish Liver Transplant Patients. 2013;53(June):1146–54.
6. Hooks M. Tacrolimus, a new immunosuppressant--a review of the literature. *Ann Pharmatother.* 1994;28(4):501.
7. Barbarino JM, Staatz CE, Venkataramanan R, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways. [Internet]. 2013 [cited 2023 Mar 25]. Available from: <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165986114/overview>
8. Buendía JA, Otamendi E, Kravetz MC, Cairo F, Ruf A, Davila M De, et al. Combinational Effect of CYP3A5 and MDR-1 Polymorphisms on Tacrolimus Pharmacokinetics in Liver Transplant Patients. 2015;5:441–8.
9. Provenzani A, Notarbartolo M, Labbozzetta M, Poma P, Vizzini G, Salis P, et al. Influence of CYP3A5 and ABCB1 gene polymorphisms and other factors on tacrolimus dosing in Caucasian liver and kidney transplant patients. 2011;1093–102.
10. Csikány N. Clinical significance of personalized tacrolimus dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol.* 2021;87:1790–800.
11. Coller JK, Wigg A, John L, Tuke J, Doogue M. The impact of liver transplant recipient and donor genetic variability on tacrolimus exposure and transplant outcome. 2019;(February):2170–5.
12. Espinoza YP, Restrepo JC, Zuleta JJ, Marin JI. Effects of progressive introduction of calcineurin inhibitors on the renal function of a cohort of liver transplant recipients. *Acta Medica Colomb.* 2011;36(3):130–4.
13. Mckenna GJ, Klintmalm GBG. Induction and Maintenance of Immunosuppression. In: *Transplantation of the Liver* [Internet]. Third Edit. Elsevier Inc.; 2013. p. 1263–88. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-0268-8.00091-9>
14. Choudhary NS, Saigal S, Bansal RK, Saraf N, Gautam D, Soin AS. Acute and Chronic Rejection After Liver Transplantation: What A Clinician Needs to Know. *J Clin Exp Hepatol* [Internet]. 2017;7(4):358–66. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jceh.2017.10.003>
15. Birkelo BC, Pannu N, Siew ED. Critical Care Nephrology and Acute Kidney Injury Overview of Diagnostic Criteria and Epidemiology of Acute Kidney Injury and Acute Kidney Disease in the Critically Ill Patient. 2022;17:717–35.
16. Pacheco MP, Mazo DF, Gastroenterology C. Current aspects of renal dysfunction after liver transplantation. 2022;14(1):45–61.
17. Jiménez-Perez M, Gonzalez-Grande R, García Cortés M, Andrade R. Drug-induced

- liver injury after liver transplantation. *Liver Transplant*. 2020;26(9):1167–76.
18. Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors : impact and clinical management. *Transpl Int*. 2000;13:313–26.
 19. The Uppsala Monitoring Centre. The use of the WHO-UMC system for standardised case causality assessment [Internet]. [cited 2023 Apr 9]. Available from: https://who-umc.org/media/164200/who-umc-causality-assessment_new-logo.pdf
 20. Institute for Health Metrics and Institute for Health Metrics and Evaluation. Global Burden of Disease [Internet]. 2019 [cited 2023 Apr 11]. Available from: <https://vizhub.healthdata.org/gbd-results/>
 21. Ministerio de salud y protección social - República de Colombia. Donación y trasplante de órganos no cesaron durante la pandemia [Internet]. 2021 [cited 2023 Apr 12]. Available from: <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/Donacion-y-trasplante-de-organos-no-cesaron-durante-la-pandemia.aspx>
 22. Parekh J, Ascher NL, Roberts JP. Rejection after transplantation [Internet]. Third Edit. *Transplantation of the Liver*. Elsevier Inc.; 3013. 1211–1226 p. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-1-4557-0268-8.00087-7>
 23. Conti F, Morelon E, Calmus Y. Immunosuppressive therapy in liver transplantation. 2003;39:664–78.
 24. Mcalister VC, Haddad E, Renouf E. Cyclosporin versus Tacrolimus as Primary Immunosuppressant After Liver Transplantation : *Am J Transplant* [Internet]. 2006;6(7):1578–85. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2006.01360.x>
 25. Buendia JA, Bramuglia G, Staatz CE. 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. 2014;1226:442–7.
 26. Uesugi M, Kikuchi M, Shinke H, Omura T, Kaido T, Uemoto S, et al. Impact of cytochrome P450 3A5 polymorphism in graft livers on the frequency of acute cellular rejection in living-donor liver transplantation. 2011;356–66.
 27. Halac E, Bosaleh A, Garcia T. Frequency of CYP3A5 Genetic Polymorphisms and Tacrolimus Pharmacokinetics in Pediatric Liver Transplantation. 1.
 28. Campagne O, Mager DE, Tornatore KM, Pharmacology I. Population Pharmacokinetics of Tacrolimus in Transplant Recipients: What Did We Learn About Sources of Interindividual Variabilities? *J Clin Pharmacol*. 2020;59(3):309–25.
 29. Herrero J, Boso V, Rojas LE, Poveda L, Librero J, Alin SF. Meta-analysis and systematic review of the effect of the donor and recipient CYP3A5 6986A > G genotype on tacrolimus dose requirements in liver transplantation. :509–17.
 30. Peng W, Lin Y, Zhang H, Meng K. Effect of ABCB1 3435C > T Genetic Polymorphism on Pharmacokinetic Variables of Tacrolimus in Adult Renal Transplant Recipients : a Systematic Review and Meta-analysis. *Clin Ther* [Internet]. 2020;xxx(xxx). Available from: <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2020.07.016>