

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

Departamento de Medicina

TESIS DOCTORAL

*IMPACTO DEL POLIMORFISMO MRP2 24CT EN EL TRASPLANTE RENAL EN
TRATAMIENTO CON ÁCIDO MICOFENÓLICO. FARMACOCINÉTICA Y
REPERCUSIÓN CLÍNICA.*

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR PRESENTADA POR



Beatriz Rodríguez Cubillo

Madrid, 2019



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID FACULTAD
DE MEDICINA.

DEPARTAMENTO DE MEDICINA

***IMPACTO DEL POLIMORFISMO MRP2 24CT EN
EL TRASPLANTE RENAL EN TRATAMIENTO
CON ÁCIDO MICOFENÓLICO.***

FARMACOCINÉTICA Y REPERCUSIÓN CLÍNICA.

TESIS DOCTORAL

BEATRIZ RODRÍGUEZ CUBILLO

Madrid, 2019



UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA. DEPARTAMENTO DE
MEDICINA.

IMPACTO DEL POLIMORFISMO MRP2 24CT EN EL
TRASPLANTE RENAL EN TRATAMIENTO CON ÁCIDO
MICOFENÓLICO. FARMACOCINÉTICA Y REPERCUSIÓN
CLÍNICA.

El presente trabajo ha sido realizado en el Departamento de Medicina de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, bajo la dirección de la Dra. Ana Isabel Sánchez Fructuoso.



UNIVERSIDAD
COMPLUTENSE
MADRID

**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS
PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

D./Dña. BEATRIZ RODRIGUEZ CUBILLO,
estudiante en el Programa de Doctorado CIENCIAS MEDICO QUIRURGICAS,
de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de
Madrid, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y
titulada:

IMPACTO DEL POLIMORFISMO MRP2 24CT EN EL TRASPLANTE RENAL EN TRATAMIENTO CON ÁCIDO MILDIFENÓLICO: FARMACOCINÉTICA Y REFERUSIÓN CLÍNICA

y dirigida por: ANA ISABEL SANCHEZ FRUCTUOSO

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Madrid, a 23 de septiembre de 2019

Fdo.: _____

AGRADECIMIENTOS

*A TODOS VOSOTROS,
QUE TANTO ME QUEREIS.*

Tengo que empezar por agradecer a mi directora de tesis, Ana, el haber confiado en mí durante estos años. Gracias por compartir conmigo tu conocimiento, tu experiencia, tu saber hacer y tu persistencia. Gracias por tu dedicación y por todo lo que me has enseñado (y me seguirás enseñando). Por tus consejos, por ayudarnos tanto y sacar lo mejor de nosotros.

Me gustaría agradecer a las personas del Servicio de Nefrología del Hospital Clínico de Madrid que me enseñaron desde el primer día, que me acogieron como quien acoge a una hermana pequeña y la cuidan, le enseñan y protegen como si de compartir genes estuviéramos hablando. A las que me han hecho pasar tantos buenos momentos y risas, me han brindado su apoyo, y su paciencia. A aquellas personas que están siempre ahí, que me han enseñado lo que es ser una COMPAÑERA, mil veces gracias. Gracias a quienes siempre intentan encontrar lo mejor de mí (y de todos) y por hacerme sentir bien día a día, por su ayuda y su cariño. Y también a aquellas que me enseñan la prudencia, el saber estar y la paciencia que no tengo.

Y a todas las personas que permiten que las cosas funcionen día a día en el servicio y en el hospital.

Gracias a mis amigas, que me conocen, me respetan y me quieren desde la niñez. Sin vosotras, mucho de esto no habría sido posible. Porque habéis estado ahí en lo bueno, en lo malo y en lo peor.

Y gracias a mis padres, Mari y Julio, sin ellos no sería cómo soy. Son ellos mi modelo de esfuerzo, de persistencia, de humildad y de excelencia. Porque son ellos los que más se alegran de mis éxitos, y los que más sufren con mis fracasos. Porque siempre están ahí, para traerme la cena a la biblioteca o para darme un abrazo cuando el día no podía ir peor, por apoyarme, por hacerme sentir tan querida y tan fuerte, cuando ni siquiera lo soy tanto.

Manolo, que sería yo de mi sin ti. En todos los aspectos, desde que me levanto hasta que me acuesto. Cuánto me has ayudado en este proyecto. En todos los sentidos, especialmente para que yo pudiera tener tiempo para hacerlo, cuando casi era imposible. Sabes que te admiro, por tu capacidad de trabajo y por tu luz. Y me lo has sabido transmitir; juntos llegaremos hasta las estrellas.

Y a mis hijos, ni siquiera ellos lo saben, pero esto se lo debo a ellos. Porque son el motor de mi vida, porque ellos me hacen ser mejor de lo que soy.

ACRÓNIMOS

ABC proteins: ATP-binding cassett proteins (proteínas)

AcMPAG: .ácido glucurónico micofenólico

AMF: ácido micofenólico

ATP: Adenosina trifosfato

ATP: ATP-binding cassett

AUC: Area under curve (área bajo la curva)

AZA: Azatioprina

BCRP: breast cancer resistance protein

BK: poliomavirus BK

BPAP: Rechazo agudo diagnosticado por biopsia

CAN: chronic allograft nephropathy (nefropatía crónica del injerto).

C max: Concentración máxima plasmática. Representa la concentración plasmática máxima

C min: Concentración mínima plasmática. Representa la concentración plasmática mínima.

cMOAT: multispecific organic anion transporter

Co: concentración pre dosis

CCI: Intervalo de fiabilidad intraclase

Células NK: natural killer

Células TH: linfocitos T helper

CMV: citomegalovirus

CNI: Inhibidores de la calcineurina

CSA: Ciclosporina

Curvas COR: curvas ROC (característica operativa del Receptor)

CYP: Citocromo

DE: Desviación estándar

d-GTP: Deoxiguanosina trifosfato

DPI: disfunción primaria del injerto

EC-MPS: Enterogastric coberture-micophenaolate sodium (Micofenolato sódico con enterocubierta gástrica)

EDTA: anticoagulante del tubo de muestra de sangre

EMIT: Enzima multiplicante inmunoaseguradora

EPOC: enfermedad obstructiva crónica

EVL: Everolimus

FK: tacrolimus

G: medida de grosor de aguja de biopsia

GI: gastrointestinal

GIQLI: Gastrointestinal Quality of Life Index

GSH: glutation reducido

GMP: Monofosfato de guanosina

GSRS: Gastrointestinal Sympton Rating Scale

GTP: Trifosfato de guanosina

HGPRT: Hipoxantina-guanina-fosfo-ribosiltransferasa

HPV: human papillomavirus

HR: hazard ratio

IBPs. Inhibidores de la bomba de protones.

ICN: inhibidores de calcineurina

IgG D+: serología de CMV del donante positiva.

IgG R-: serología de CMV del receptor negativa.

IL: interleuquina

IS: inmunosupresión

IMPDH: Inosinamonofosfato deshidrogenasa

IMTOR: inhbidores de la vía mtor (mammalian target of rapamycin) por la unión al complejo mTOR (mTORC1).

ITU: infección del tracto urinario

kDa: kilodaltons

LSS: Fórmulas abreviadas predictivas

LTC4: leucotrieno 4

MDR1: Multi drug Resistent

MMF: Micofenolato mofetilo

MPA: Ácido micofenólico

MPAG: glucurónido fenólico de ácido micofenolato

MRP2: multir resistant protein 2

MRP2 (-24 CT)>T SNP: polimorfismo de la región promotora del gen de MRP2.

Modificación de nucleótido C () por T ().

MRP2 24 CT&TT: conjunto de pacientes portadores del polimorfismo (homocigotos y heterocigotos).

MRP2 24 CC: forma más frecuente (no portador, wild).

MRP2 24 CT: portador, heterocigosis.

MRP2 24 TT: portador, homocigosis.

MSD: dominios hidrofóbicos implicados en el transporte de sustratos

NS: no significativa

OMS: organización mundial de la salud

ORL: Otorrinolaringología

PAS: tinción para análisis histológico que utiliza ácido peryódico de Schiff

PK: pharmacokinetic (farmacocinética)

PRA: porcentaje de reacción a anticuerpos HLA de la población general

PRED: Prednisona

PRPP: Fosfo-ribosil-pirofosfato

RAH: rechazo agudo humoral

RIC: Rango intercuartil (RIC)

SNP: Polimorfismo

SRL: Sirolimus.

TAC: Tacrólimus

T max: Tiempo máximo, tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima del fármaco

TNF- α : tumor necrosis factor-alpha

TPMT: Tiopurina metiltransferasa.

UFC: unidades formadores de colonias

UGT: UDP-glucuronil transferasa.

VCAM-1: vascular cell adhesion molecule (moléculas de adhesión vasculares)

VEB: virus Epstein Barr

VHC: virus hepatitis C

ICAM-1: moléculas de adhesión intercelular

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	18
1.1 Introducción.....	18
1.2 Objetivos.....	19
1.3 Material y Métodos.....	19
1.4 Resultados.....	20
1.5 Conclusiones.....	20
2. SUMMARY.....	22
2.1 Introduction.....	22
2.2 Objectives.....	22
2.3 Material and methods.....	23
2.4 Results.....	23
2.5 Conclusions.....	24
3. INTRODUCCIÓN.....	26
3.1 Individualización del tratamiento inmunosupresor en el paciente trasplantado renal.....	26
3.2 Presentación del fármaco.....	27
3.2.1 Micofenolato en el trasplante renal.....	28
3.2.2 Indicaciones de tratamiento.....	29
3.2.3 Mecanismo de acción.....	30
3.3 Farmacocinetica del micofenolato.....	34
3.3.1 Introducción.....	34

3.3.2 Rol del transportador MRP2 en el metabolismo del MPA.....	39
3.4 Factores que influyen en la farmacocinética del MPA.....	40
3.5 Presentaciones farmacológicas.....	44
3.5.1 Bioequivalencia de MMF y EC-MPS en términos de farmacocinética.....	44
3.5.2 Bioequivalencia de MMF y EC-MPS en términos de seguridad y eficacia.....	46
3.6 Complicaciones asociadas al tratamiento inmunosupresor.....	49
3.7 Asociación de exposición de MPA y eventos clínicos.....	52
3.8 Farmacogenómica en el paciente trasplantado renal.....	56
3.9 Transportador MRP2. Familia de proteínas transportadoras ABC.....	57
3.9.1 Introducción.....	57
3.9.2 Substratos, expresión y regulación del transportador MRP2.....	62
3.9.3 Funciones atribuidas al transportador MRP2.....	64
3.9.4 Polimorfismos del MRP2. Polimorfismo MRP2 (-24 CT)	68
3.9.5 Asociación del polimorfismo MRP2 y exposición de MPA	69
3.9.6 Impacto clínico del polimorfismo MRP2 (-24CT)	72
4. JUSTIFICACIÓN.....	73
5. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS.....	74
5. Hipótesis.....	75
5.1 Objetivo principal.....	75
5.2 Objetivos secundarios.....	75
6. MATERIAL Y MÉTODOS.....	77
6.1 Diseño del estudio.....	77
6.2 Material.....	77

6.2.1 Pacientes.....	77
6.2.2 Variables.....	81
6.3 Métodos.....	91
6.3.1 Ámbito de estudio y medios disponibles.....	91
6.3.2 Metodología para el análisis genético del SNP MRP2 (-24CT).....	92
6.3.3 Determinación de concentraciones sanguíneas de MPA.....	93
6.4 Análisis estadístico.....	94
7. RESULTADOS.....	98
7.1 Repercusión clínica del polimorfismo MRP2 (-24CT).....	98
7.1.1 Análisis descriptivo de la población. Ajuste de la muestra por puntuación de propensión.....	98
7.1.2 Análisis univariable y multivariable de eventos adversos.....	104
7.1.2.1 Diarrea.....	105
7.1.2.2 Leucopenia.....	108
7.1.2.3 Infección grave	111
7.1.2.4 Infección por CMV.....	115
7.1.2.5 Neoplasia.....	121
7.1.2.6 Cambio de tratamiento inmunosupresor.....	123
7.1.2.7 Supervivencia del paciente.....	127
7.2 Impacto del polimorfismo MRP2 (-24CT) en la farmacocinética del MPA	130
7.2.1 Análisis descriptivo y farmacocinético	130
7.2.2 Análisis restringido a pacientes en tratamiento con Prograf®.....	133
7.2.2.1 Descripción de la muestra y ajuste por puntuación propensada.....	133

7.2.2.2 Farmacocinética del MPA de acuerdo al SNP MRP2 (-24 CT)	135
8. DISCUSIÓN.....	139
8.1 Impacto del SNP MRP2 (-24 CT) en el trasplantado renal en tratamiento con MPA. Farmacocinética y repercusión clínica.....	140
8.2 Repercusión clínica del SNP MRP2 (-24 CT) en el paciente trasplantado renal.....	142
8.2.1 Diarrea.....	142
8.2.2 Leucopenia.....	144
8.2.3 Infecciones graves (sin incluir CMV).....	146
8.2.4 Infecciones por CMV.....	149
8.2.5 Neoplasia.....	151
8.2.6 Cambio régimen inmunosupresor.....	154
8.2.7 Supervivencia del paciente.....	156
8.3 Impacto del SNP MRP2 (-24CT) en la farmacocinética del MPA.....	157
8.3.1 Efecto del SNP MRP2 (-24 CT) en la exposición de MPA.....	158
8.3.2 Efecto del SNP MRP2 (-24 CT) en la exposición de MPA en los pacientes en tratamiento con EC-MPS.....	160
9. LIMITACIONES.....	163
10. CONCLUSIONES.....	165
11.REFERENCIAS.....	166

1. RESUMEN

IMPACTO DEL POLIMORFISMO MRP2 24CT EN EL TRASPLANTE RENAL EN TRATAMIENTO CON ÁCIDO MICOFENÓLICO. FARMACOCINÉTICA Y REPERCUSIÓN CLÍNICA.

1.1 Introducción:

En el trasplante renal, el exceso de inmunosupresión supone complicaciones importantes que comprometen la morbilidad y calidad de vida del paciente, e incluso puede incrementar la mortalidad.

Existen estudios, en pacientes trasplantados renales, que asocian el polimorfismo del transportador MRP2 (-24 CT) a niveles de exposición de micofenolato (MPA) más altos que aquellos pacientes no portadores del polimorfismo. No obstante, estos resultados son controvertidos. Por otro lado, se ha relacionado la presencia de este polimorfismo con efectos asociados a toxicidad por micofenolato, en concreto diarrea y leucopenia. Hasta la fecha, existen publicaciones que relacionen este polimorfismo con otros efectos adversos asociados a un exceso de inmunosupresión, como infecciones o neoplasia. La presencia de estas complicaciones pueden obligar al cambio de régimen de inmunosupresión, lo que puede implicar un riesgo no predecible de rechazo del injerto renal. Además, recientes estudios plantean que este transportador sea un mediador proinflamatorio, y favorezca la carcinogénesis, lo que podría aumentar aun mas si cabe estas mismas complicaciones en el paciente trasplantado renal en tratamiento con micofenolato.

1.2 Objetivo:

Analizar el impacto del polimorfismo de MRP2 (-24 CT) desde un punto de vista **clínico** y **farmacocinético** en el paciente trasplantado renal en tratamiento con micofenolato.

1.3 Métodos:

Para el **estudio de la repercusión clínica** del polimorfismo de MRP2 (-24 CT) se analizaron de forma retrospectiva los pacientes que se trasplantaron desde el año 2007 hasta el 2011 (n=300) en el Hospital Clínico San Carlos. Se analizó en esta muestra de pacientes la incidencia de diarrea grave, leucopenia, infecciones, neoplasias o la necesidad de cambio de régimen de inmunosupresión. Se analizó la incidencia de estos eventos con curvas de Kaplan Meier y se compararon con el test de log rank. Se realizó también un análisis multivariable de COX para identificar los factores de riesgo de estas complicaciones asociadas al trasplante renal. Se realizó un análisis más ajustado con un pareo de la muestra por una puntuación de propensión.

Para el **estudio del impacto en la farmacocinética del MPA** en presencia del polimorfismo de MRP2 (-24CT) se determinaron las concentraciones de MPA en 150 pacientes a los que se les realizaron 13 extracciones sanguíneas a lo largo de 12h para el cálculo del área bajo la curva (AUC_{0-12h}). Los pacientes incluidos en este grupo habían de encontrarse en una situación estable, y sin cambios de medicación en el mes previo a la realización de las curvas. Para minimizar sesgos de medicación inmunosupresora concomitante, el análisis se restringió a pacientes en tratamiento con tacrolimus de liberación corta (Prograf®). Como en el caso anterior, también se dividieron en dos grupos y se ajustó el análisis por una puntuación de propensión. Las concentraciones obtenidas fueron comparadas de acuerdo a la presencia del polimorfismo a estudio.

1.4 Resultados:

En cuanto al **estudio de la repercusión clínica** del polimorfismo a estudio (SNP **rs717620** (-24 CT) en el paciente trasplantado renal en tratamiento con micofenolato (n=300), pudimos observar que los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT&TT), tuvieron más riesgo de **diarrea** (HR 4.543, CI 95 2.210-9.341, p<0.001), **leucopenia** (HR 2.527, CI95 1.649-3.874, p<0.001), **infección grave** (sin incluir CMV) (HR 1.704, CI95 1.245-2.331, p 0.001), **infección por CMV** (HR 1.713, CI95 1.080-2.708, p 0.021), y necesidad de **cambio de tratamiento inmunosupresor** (HR 1.544, CI95 1.105-2.158, p 0.011). También pudimos observar un mayor riesgo de **neoplasia** (HR 1.804, CI95 0.956-3.406, p 0.068) y de **mortalidad** (por todas las causas) (HR 2.193, CI95 0.891-5.395, p 0.087), aunque sin alcanzar la significación estadística

En cuanto al estudio del **impacto en la farmacocinética del MPA** del polimorfismo MRP2 (- 24CT) (n=117), pudimos observar que los **pacientes portadores tuvieron una exposición al MPA mayor** que aquellos pacientes no portadores (AUC_{0-12h} : CC = 59.146 mg/L Vs. CT&TT = 72.157 mg/L, p 0.043) en la muestra ajustada. Si el análisis se restringe sólo a pacientes cuya presentación farmacológica de micofenolato era en forma de liberación retardada (EC-MPS) estas diferencias se hacen clínicamente más importantes y con mayor significación estadística. [AUC_{0-12h}): CC = 60.23 mg/L Vs. CT&TT = 77.43 mg/L, p 0.021]; [AUC_{0-6h}): CC = 40.22 mg/L Vs. CT&TT = 50.26 mg/L, p 0.057] y [AUC_{6-12h}): CC = 20.0 mg/L Vs. CT&TT = 27.17 mg/L, p 0.019].

1.5 Conclusiones:

1. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) asocia un riesgo incrementado de **diarrea, leucopenia, infecciones y necesidad de cambio de tratamiento inmunosupresor** en el paciente trasplantado renal en tratamiento con micofenolato.
2. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) podría asociar un riesgo incrementado de **neoplasia y mortalidad** (por todas las causas) en el paciente

trasplantado renal en tratamiento con micofenolato, aunque que nuestros análisis no alcanza la significación estadística.

3. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) asocia **una exposición de MPA más alta** que los pacientes no portadores del polimorfismo.
4. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) asocia **una exposición aún más elevada de MPA** en los pacientes cuya presentación farmacológica es EC-MPS, que incluso podrían alcanzar el rango de toxicidad.

Palabras clave: *ABBC2, cambio tratamiento, CMV, diarrea, farmacogenómica, infecciones, leucopenia, micofenolato, MPA, MRP2, neoplasias, polimorfismo, supervivencia, SNP rs717620 (-24 CT), trasplante renal.*

2. SUMMARY

IMPACT OF POLYMORPHISM MRP2 24CT ON RENAL TRANSPLANTATION IN TREATMENT WITH MICOFENOLIC ACID. PHARMACOKINETICS AND CLINICAL REPERCUSSION.

2.1 Introduction:

In renal transplantation, excess immunosuppression involves major complications that compromise the patient's morbidity and quality of life, and may even pose a higher risk of mortality.

There are studies in kidney transplanted patients that associate the polymorphism of the MRP2 (-24 CT) with higher mycophenolate exposure levels (MPA) than those patients who do not carry polymorphism. However, these results are controversial. On the other hand, the presence of this polymorphism has been linked to effects associated with mycophenolate toxicity, namely diarrhoea and leukopenia. To date, no studies have been published linking this polymorphism to other adverse effects associated with excess immunosuppression, such as infections, CMV infection or neoplasia

The presence of these complications, force the change of immunosuppression regime, which can imply an unpredictable rejection risk of the renal graft. In addition, recent publications raise this transporter as a proinflammatory mediator and advocate for carcinogenicity, which could favor these same complications in the kidney transplant patient undergoing mycophenolate treatment.

2.2. Objectives:

To analyze the impact of polymorphism of MRP2 (-24 CT) from a clinical and pharmacokinetic point of view in the renal transplant patient in mycophenolate treatment.

2.3 Methods:

For the study of the clinical impact of polymorphism of MRP2 (-24 CT) patients who were transplanted from 2007 to 2011 were analyzed retrospectively (n=300). Severe episodes of diarrhea, leukopenia, infection (not including CMV) were taken into account, as were infections with CMV, neoplasia or the need for a change in immunosuppression regime. More homogeneous groups were obtained after machining of the sample by puntuación de propensión. Survival curves (Kaplan Meier) were performed to compare the risk of complications according to the presence of polymorphism. A multivariable COX analysis was also performed to identify risk factors for these complications associated with kidney transplantation.

For the study of the impact on pharmacokinetics of MPA of MRP2 polymorphism (-24CT) MPA concentrations were determined in 150 patients who were done 13 blood withdrawals over 12h for the calculation of the area under the curve (AUC_{0-12h}) in stable patients, without medication changes one month before the curves are performed. To minimize biases of concomitant immunosuppressive medication, the analysis was restricted to patients on tacrolimus (Prograf®), n=117.

This sample was adjusted with the realization of a puntuación de propensión taking into account the doses of mycophenolate pre curve realization, doses and levels of tacrolimus, age, sex, kidney function and IBPs taking. The concentrations obtained were compared according to the presence of polymorphism in study and according to pharmacological presentation (MMF Vs. EC-MPS).

2.4 Results:

Regarding the study of the clinical impact of polymorphism in study (SNP rs717620 (-24 CT) in the renal transplant patient in mycophenolate treatment (CT&TT), were at increased risk of **diarrhea** (HR 4.543, CI 95 2.210-9.341, p0.001), **leukopenia** (HR 2.527, CI95 1.649-3.874, p0.001), **severe infection** (excluding CMV) (HR 1.704, CI95

1.245-2.331, p 0.001), **CMV infection** (HR 1.713, CI95 1.080-2.708, p 0.021), and need for a **change in immunosuppressant treatment** (HR 1.544, CI95 1.105-2.158, p 0.011).

We were also able to observe an increased risk of neoplasia (HR 1.804, CI95 0.956-3.406, p 0.068) and mortality (for all causes) (HR 2.193, CI95 0.891-5.395, p 0.087), but without achieving statistical significance. As for the study the impact of MRP2 polymorphism (-24CT) on MPA concentrations we could observe that the patient carriers had higher levels of MPA than those patients not carriers (AUC_{0-12h}: CC = 59.146 mg/L Vs. CT&TT = 72.157 mg/L, p 0.043) in the adjusted sample. If the analysis is restricted only to patients whose pharmacological presentation of mycophenolate was in the form of delayed release (EC-MPS) these differences become clinically more important and with greater statistical significance. [(AUC_{0-12h}): CC = 60.23 mg/L Vs. CT&TT = 77.43 mg/L, p 0.021]; [(AUC_{0-6h}): CC = 40.22 mg/L Vs. CT&TT = 50.26 mg/L, p 0.057] and [(AUC_{6-12h}): CC = 20.0 mg/L Vs. CT&TT = 27.17 mg/L, p 0.019].

2.5 Conclusions:

1. SNP MRP2 (-24 CT) (heterozygosis and homozygosis) associated with an increased risk of diarrhea, chronic diarrhea, leukopenia, recurrent leukopenia, Severe infections, CMV infections, and the need to change immunosuppressant treatment in the kidney transplant patient on mycophenolate treatment.
2. SNP MRP2 (-24 CT) (heterozygosis and homozygosis) associates an increased risk of neoplasm and mortality (for all causes) in the kidney transplant patient in mycophenolate treatment, but that our analysis does not reach statistical significance.
3. SNP MRP2 (-24 CT) (heterozygosis and homozygosis) associates plasma concentrations of MPA higher than patients not carrying polymorphism.
4. The SNP MRP2 (-24 CT) (heterozygosis and homozygosis) associates even higher MPA concentrations in patients whose pharmacological presentation is EC-MPS, which could even reach the toxicity range.

Keywords: *ABBC2, treatment change, CMV, diarrhea, pharmacogenomics, infections, leukopenia, mycophenolate, MPA, MRP2, neoplasms, polymorphism, survival, SNP rs717620 (-24 CT), renal transplantation.*

3. INTRODUCCIÓN.

3.1. Individualización del tratamiento inmunosupresor en el paciente trasplantado renal.

El objetivo del clínico responsable de un paciente trasplantado es maximizar la supervivencia del injerto en la medida de lo posible, y, a su vez, minimizar los efectos secundarios asociados a la inmunosupresión para mejorar así su calidad de vida y su morbimortalidad.

En los últimos años, se ha intentado encontrar la mejor combinación de tratamientos y sus dosis con el fin de alcanzar la correcta individualización en el tratamiento inmunosupresor. Para ello, idealmente habría que encontrar una “fórmula” que permitiera predecir la variabilidad inter e intra individual de cada inmunosupresor para elegir la mejor combinación y evitar el riesgo de rechazo y/o de complicaciones¹

La farmacogenética puede ser una herramienta útil en este contexto, habiendo despertado en los últimos años un gran interés, al poder ayudar a identificar pacientes con mayor sensibilidad a los fármacos inmunosupresores. Estos pacientes se podrían beneficiar de dosis o esquemas de inmunosupresión diferentes a los utilizados de forma estándar.

No obstante, no todos los polimorfismos descritos han mostrado una utilidad real en la práctica clínica; y es necesario identificar aquellos cuyo impacto sobre el tratamiento y el eventual ajuste del mismo puedan suponer un beneficio relevante para el paciente.²

Para poder entender el significado de los resultados de nuestra investigación, vamos a profundizar en diferentes aspectos de la molécula del micofenolato, sus

presentaciones farmacológicas y su bioequivalencia. Después, se explicará el metabolismo de esta molécula, así como las enzimas esenciales encargadas de este metabolismo. Nos detendremos especialmente en el transportador MRP2, ya que es el centro de nuestra investigación. Se explicará con detalle la importancia de polimorfismos en estos transportadores y su papel en el paciente trasplantado renal.

Como se ha expuesto previamente, es clave intentar reducir las complicaciones asociadas al tratamiento inmunosupresor. Entre ellas se encuentran la diarrea, leucopenia, infecciones graves, infecciones por CMV y neoplasias. Su presencia puede obligar a modificar el régimen inmunosupresor. En los siguientes párrafos se detallarán cuáles son los factores de riesgo asociados a estas complicaciones y qué aportaciones ha tenido la farmacogenética en este aspecto.

3.2 Presentación del fármaco.

3.2.1. Micofenolato en el trasplante renal.

Actualmente, el uso de ácido micofenólico (MPA) es prácticamente universal en el trasplante de órgano sólido ³. La introducción de ciclosporina en los años 1980 fue el mayor avance en el manejo del trasplante de órgano sólido, ya que permitió la disminución de rechazo agudo en el primer año de trasplante. En esta época se utilizaba como protocolo habitual de tratamiento ciclosporina (CSA), azatioprina (AZA) y prednisona (PRED). Sin embargo, la tasa de rechazo alcanzaba hasta un 40% en el trasplante renal. Hacia el año 1995, se introdujo una nueva molécula, el micofenolato mofetilo (MMF) (Cell Cept®, Roche Pharmaceuticals)⁴ (Roche Pharmaceuticals. CellCept® Product Information; 2012). Este fármaco fue introducido como alternativa a la azatioprina, y aunque también pertenece a la familia de inmunosupresores de antimetabolitos, esta molécula contaba con un perfil más selectivo⁵. Tres ensayos

clínicos^{(6) (7) (8)} randomizados doble ciego demostraron una mejoría en la eficacia de prevención del rechazo agudo con respecto a la azatioprina, con un perfil de eventos secundarios aceptable⁹. Su impacto fue tan importante que el uso de MPA en el periodo de mantenimiento post trasplante se incrementó desde un 11% en 1995 hasta un 77% en 1997¹⁰.

Micofenolato mofetilo (MMF) fue la primera presentación disponible. Se absorbe como un pro-fármaco en el estómago, y después se convierte en ácido micofenólico (MPA), su metabolito activa. Desde finales de los 90, MMF reemplazó ampliamente el uso de Azatioprina por su mayor eficacia. Sin embargo, su uso estuvo limitado por la regular tolerancia, especialmente digestiva. Una década después, apareció el micofenolato sódico (EC-MPS) con cobertura gastroentérica. Esta nueva formulación retrasa la liberación de MPA al intestino delgado, con el objetivo de reducir posibles complicaciones digestivas, pero manteniendo una inmunosupresión adecuada¹¹(Novartis Australia. Myfortic[®] Product Information; 2012).

Esta nueva forma de presentación fue bastante aceptada por la comunidad de trasplante, y actualmente se incluye en muchos centros como el tratamiento estándar del paciente trasplantado de órgano sólido.¹²

En los siguientes párrafos se describen las indicaciones del micofenolato en el paciente trasplantado renal y su mecanismo de acción.

3.2.2 Indicaciones de tratamiento.

El ácido micofenólico es un fármaco que se utiliza en prácticamente todas las etapas de la historia de su trasplante renal.¹³ La figura 1 resume las indicaciones teóricas de este fármaco.

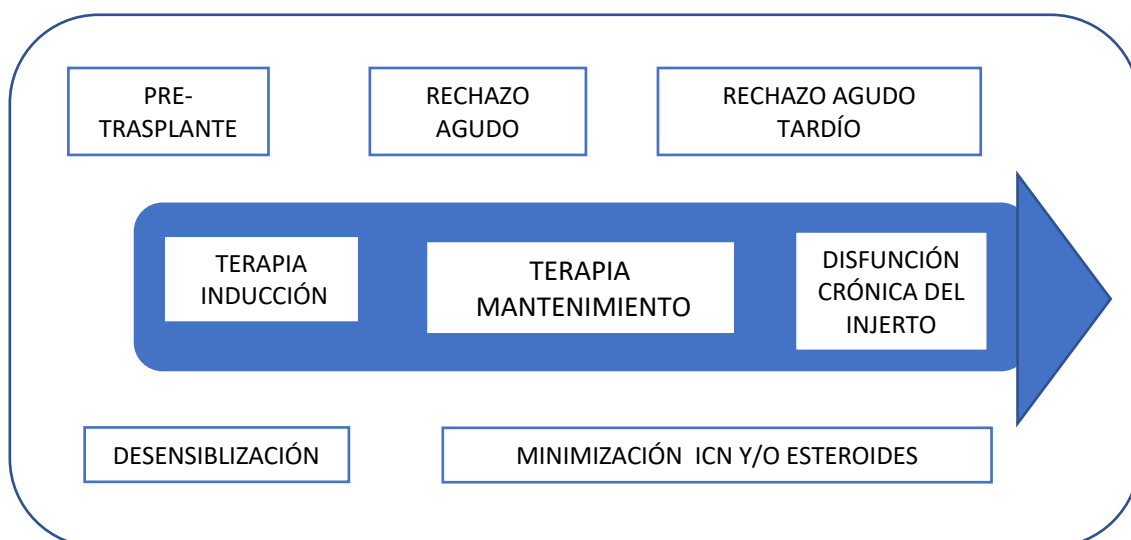


Figura 1. Posibles etapas de utilización de ácido micofenólico en el paciente trasplantado renal.

Adaptación de *Immunopharmacology*, 2000.¹⁴

La indicación principal del uso del micofenolato es el **control del rechazo agudo y crónico**, por lo que se usa como terapia de inducción y de mantenimiento¹⁵. Los tres ensayos clínicos que compararon micofenolato frente a azatioprina o placebo en triple terapia (tratamiento concomitante con ciclosporina A y esteroides) demostraron la superioridad de micofenolato en cuanto a la presencia de rechazo agudo (en los primeros 6 meses); de tratamiento de rescate o pérdida del injerto. En cuanto a los efectos adversos, fueron más frecuentes en los grupos con dosis de micofenolato más altas. Halloran et al.⁹ realizaron un estudio que incluyó los tres ensayos clínicos y confirmaron los resultados ya descritos de forma independiente. En los siguientes años se ha ido confirmando la eficacia de este fármaco para el control del rechazo agudo y crónico, por lo que se ha utilizado como tratamiento estándar de mantenimiento del paciente trasplantado renal³. De hecho, en pacientes de bajo riesgo inmunológico, se

utiliza para poder **minimizar dosis de esteroides, o incluso suspender el tratamiento esteroideo** y evitar sus efectos secundarios.¹⁶

En cuanto al beneficio del tratamiento con MPA en el periodo de mantenimiento, podría tener efectos protectores frente a la **nefropatía crónica del injerto** (CAN= chronic allograft nephropathy), ya que se le atribuye la propiedad de inhibir la proliferación de células musculares lisas vasculares, y, por tanto, de minimizar la vasculopatía del trasplante^{17- 21}.

Además, desde el año 2000, se han publicado múltiples estudios que han demostrado el beneficio de interrumpir o disminuir las dosis de ICN gracias a la introducción de micofenolato, y así minimizar los efectos deletéreos de los ICN, pero sin más riesgo de rechazo²²⁻²⁴. No obstante, esta combinación entraña mayor riesgo de rechazo en pacientes no seleccionados²⁵, por lo que se considera un esquema inmunosupresor excepcional.

El micofenolato también es un pilar fundamental en **trasplante ABO incompatible**,²⁶ o en otro tipo de trasplantes, como el de páncreas, pulmón, corazón o hígado.³

3.2.3 Mecanismo de acción.

Bloqueo de generación de ADN e inhibición de proliferación celular.

El ácido micofenólico es una molécula que inhibe de forma selectiva, a través del bloqueo de síntesis de purinas, la proliferación de linfocitos B y T. Los linfocitos precisan de niveles adecuados de nucleótidos de **guanosina (GTP)** y **deoxiguanosina** para una respuesta proliferativa eficaz a estímulos antigénicos y mitogénicos, mientras que un exceso de nucleótidos de adenosina o deoxiadenosina podrían inhibir la proliferación. Existen dos vías principales de síntesis de purinas: *síntesis de novo* y *síntesis de rescate*. La *síntesis de novo* de estos nucleótidos se realiza gracias a las enzimas PRPP

aminotransferasa (5 fosfo-ribosil 1 fosfatasa) y la IMPDH (Inosina monofosfato deshidrogenasa).

La acción de MPA consiste principalmente en la inhibición de la enzima IMPDH, lo que reduce la generación de nucleótidos de guanosina (GTP). Esta deplección de GTP conlleva la inhibición de la enzima PRPP sintetasa, y, por tanto, una menor generación de nucleótidos necesarios para la síntesis de DNA y RNA, esencial para la proliferación celular.²⁷

El descubrimiento de que una molécula de MPA permitía el bloqueo de síntesis de ácido nucleico en células eucariotas mediante la inhibición de la enzima IMPDH tuvo lugar por primera vez en 1969.²⁸ La molécula seleccionada fue el ácido micofenólico (MPA) y después su étil ester, el mofetilo de micofenolato (MMF). (Figura 2)

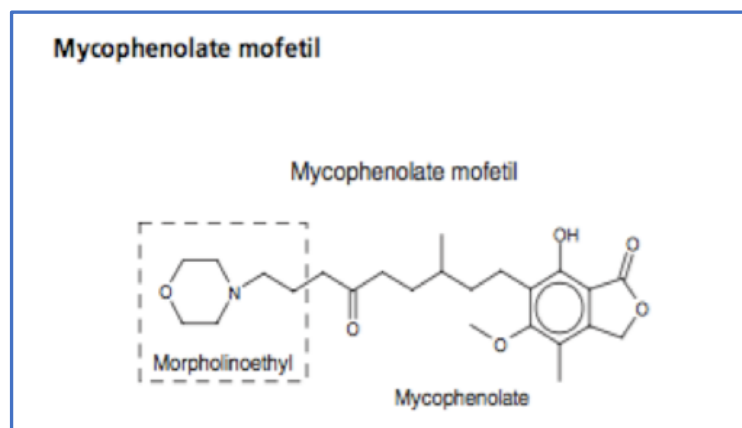


Figura 2. Estructura química del micofenolato mofetilo. Imagen tomada de Sintchak, 1996.

Esta molécula actúa inhibiendo la IMPDH (inosin- 5´monofosfato-dehidrogenasa) implicada en la síntesis *de novo* de las purinas del ADN. El bloqueo de la síntesis de purinas conduce a la inhibición transitoria de la proliferación de linfocitos T y B como principal efecto inmunosupresor²⁹. (Figura 3)

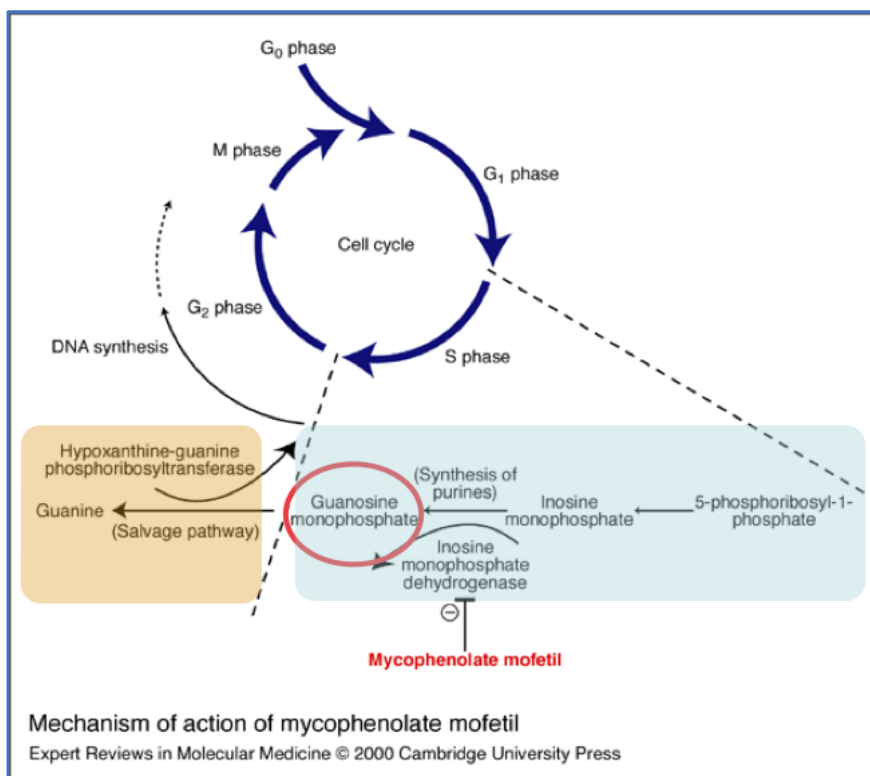


Figura 3. Influencia del ácido micofenólico en la síntesis de ADN y proliferación celular. La vía sombreada en azul representa la vía de síntesis de novo de guanosina, especialmente expresada en los linfocitos. En naranja, se representa la vía de rescate, menos desarrollada en los linfocitos. MPA inhibe de forma selectiva la vía de síntesis de novo. Adaptación de imagen de Expert Reviews in Molecular Medicine. 2000. Cambridge University Press..

Estudios experimentales apuntan a que esta minimización de proliferación celular también puede afectar a las células musculares lisas de la pared vascular, lo que podría aportar un beneficio en la CAN.²⁹

La depleción de nucleótidos de guanosina también asocia el déficit de glicosilación de algunas **moléculas de adhesión**, por ejemplo selectinas, VCAM-1 o ICAM-1 entre otras, y, por tanto, de su función. Estas moléculas normalmente participarían en el reclutamiento de células inflamatorias (monocitos y linfocitos) al sitio de inflamación, en el paso del linfocito a través de la célula endotelial, en la presentación antígeno-receptor o incluso en la interacción de la célula efectora y su célula diana. El bloqueo de todos estos procesos contribuye a una importante actividad inmunosupresora y antiinflamatoria atribuibles al MPA²⁹. Además, la depleción de

guanosina también tiene un **efecto antiinflamatorio**, gracias a la disminución de generación de moléculas pro inflamatorias, como el peroxinitrito³⁰.

Las revisiones de Allison²⁹ y de Srinivas³⁰ describen, además de esta vía fundamental, otras vías importantes de actividad inmunológica del ácido micofenólico, como la **apoptosis de linfocitos T activados** (y por tanto la eliminación de células T respondedoras a estímulos antigénicos)³; la **supresión retardada de citoquinas** (L-2, IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IFN-g and TNF-a)³² y la alteración de la capacidad citotóxica de las células NK^{33,34}



Figura 4. Resumen de los mecanismos de acción del ácido micofenólico.

3.3 Farmacocinética del micofenolato.

3.3.1 Introducción.

Un aspecto importante de nuestra investigación incide en la farmacocinética del micofenolato. Múltiples estudios abogan porque la variabilidad inter e intra individual de los tratamientos inmunosupresores, especialmente del micofenolato, se justifica en gran parte por los aspectos que influyen en su metabolismo^{35,36}

La **farmacocinética** es la rama de la farmacología que estudia los procesos a los que un fármaco es sometido a través de su paso por el organismo. Trata de dilucidar qué sucede con un fármaco desde el momento en el que es administrado hasta su total eliminación del cuerpo. Para que el estudio sea más comprensible, el proceso global se divide en varios pasos: *absorción*, *distribución*, *metabolismo* o inactivación y *excreción* del fármaco o de sus residuos. La siguiente figura (5) representa de forma esquemática los aspectos más importantes del metabolismo del ácido micofenólico.

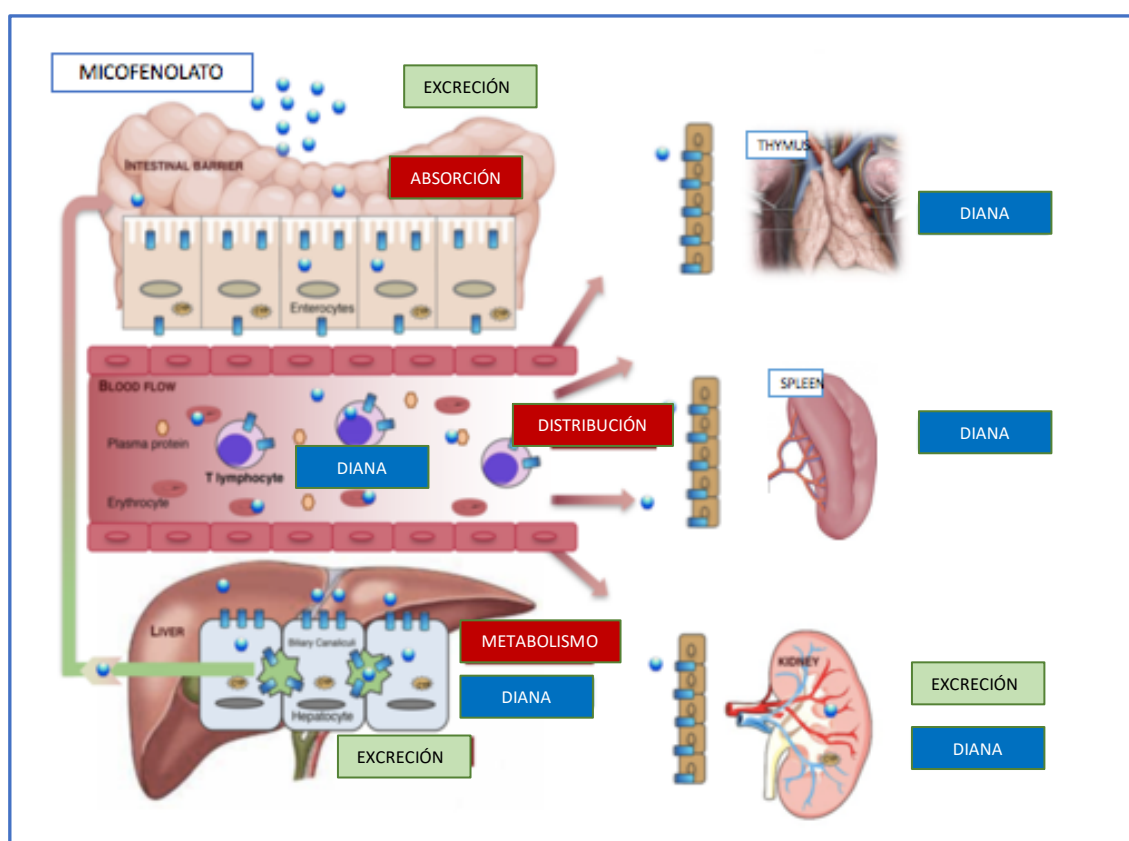


Figura 5. Representación esquemática de los procesos clave del metabolismo del micofenolato. Adaptada de Ogasawara 2013.³⁷

La farmacocinética del MPA es compleja y no completamente conocida.³⁸ En los siguientes apartados, se detallarán los pasos importantes que se conocen hasta la fecha y que son necesarios conocer para poder interpretar la hipótesis y los resultados de esta investigación.

- **Absorción:** Tras la administración oral, ambas moléculas (MMF y EC-MPS) en forma de profármaco, son transformadas en MPA (molécula activa) gracias a esterasas ubicadas en el estómago, hígado, piel y sangre³⁹. (Figura 6)

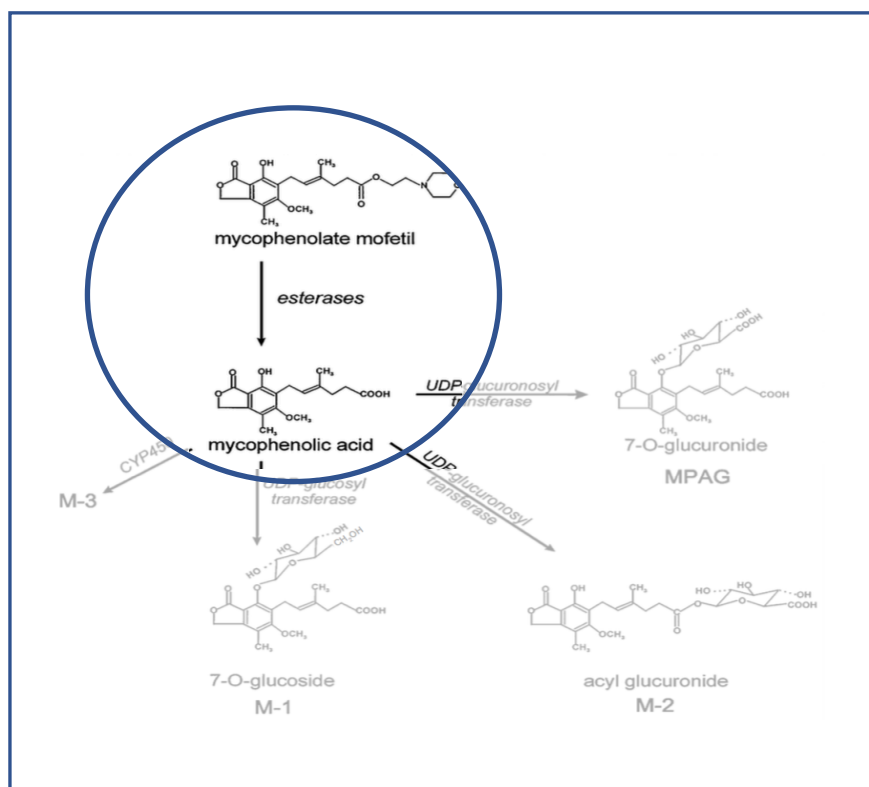


Figura 6. Esquema de transformación del profármaco (MMF) en fármaco activo (MPA)³⁹

- **Distribución:** Una vez el fármaco atraviesa la barrera gástrica o intestinal, es transformado en MPA, y circula por la sangre hasta alcanzar el órgano diana. Existen varios modelos que intentan explicar cómo se distribuye el micofenolato a través de los tejidos diana. Para ello, se han desarrollado diferentes modelos que simplifiquen los numerosos procesos que tienen lugar entre el organismo y el fármaco. El modelo bicompartimental⁴⁰ ha sido el más utilizado, en el que se

considera al espacio plasmático y el tisular como compartimentos independientes, pero con una interrelación que permite un equilibrio entre ambos compartimentos. Existen múltiples modelos que aumentan en complejidad de acuerdo con el número de compartimentos que consideran, que incluyen la posible influencia de la circulación enterohepática y las alteraciones de múltiples enzimas y transportadores implicados en este proceso⁴⁰. El artículo de Shervwin³⁵ (figura 7) resume los modelos de metabolismo del MPA que mejor pueden predecir y ayudar a un ajuste de dosis de micofenolato.

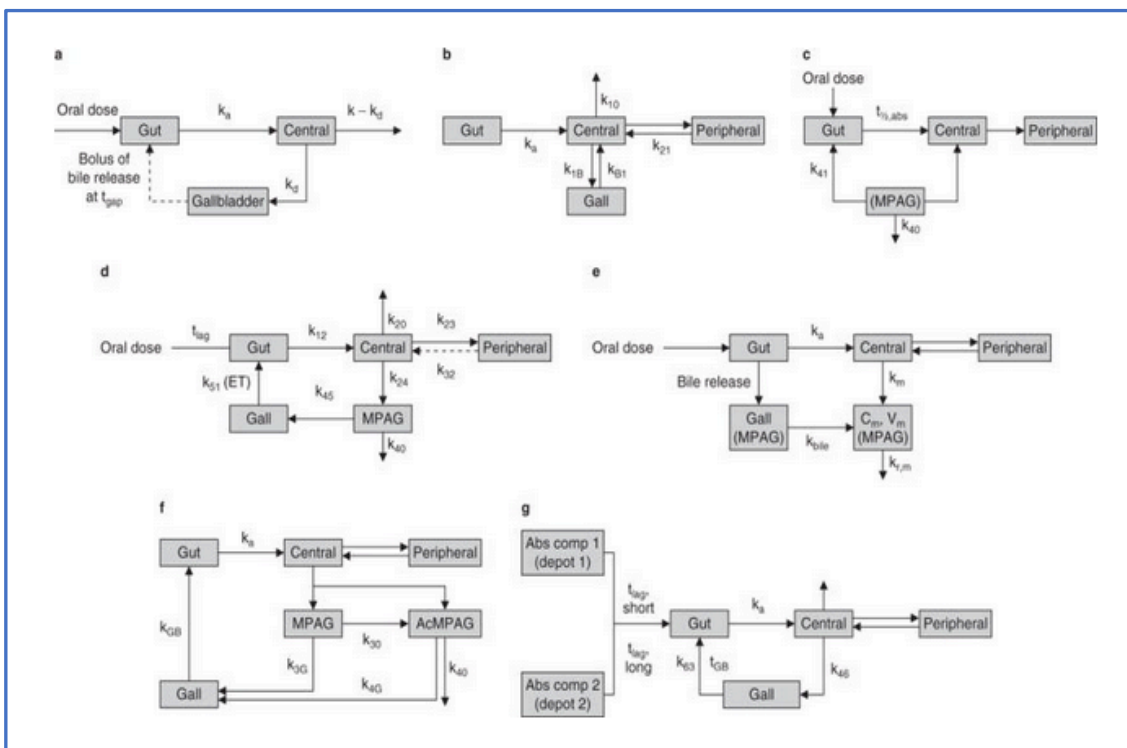


Figura 7. Esquema de modelos de distribución del micofenolato. Tomado de Shervwin, 2011³⁵

- **Metabolismo (inactivación):** El MPA se metaboliza un 97-99% en el hígado, principalmente por la glucuronil-transferasa, perteneciente a la superfamilia de enzimas uridin difosfato glucuronosil transferasas (UGTs), para formar el glucurónico fenólico del

MPA (MPAG) (primer paso hepático). Esta molécula no tiene actividad farmacológica y será la forma en que se elimine a través de la orina o de las heces³⁹. (Figura 8)

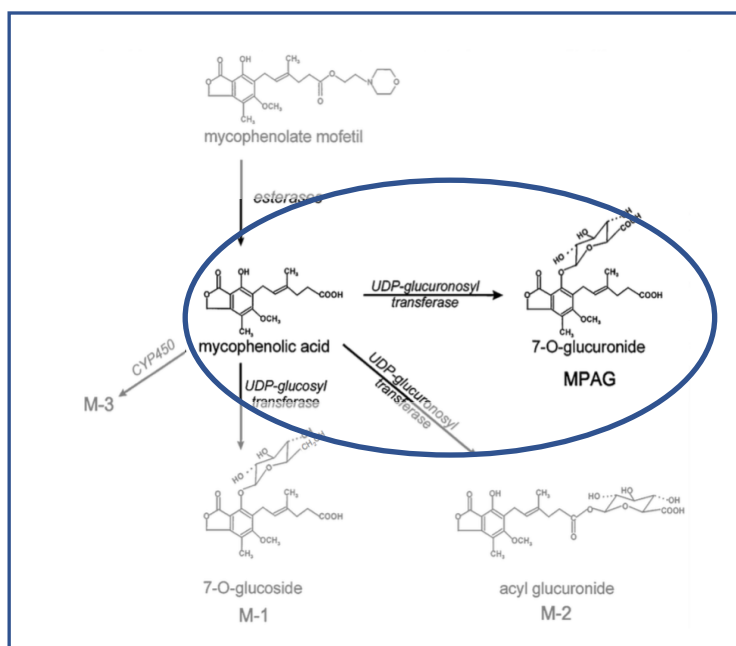


Figura 8. Esquema de metabolismo o inactivación del MPA a través de las enzimas UGTs.

- **Circulación enterohepática.**

Cuantitativamente, el glucurónido de micofenolato (MPAG) es el metabolito inactivo más importante, el cual es excretado tanto a través de la orina como de la bilis³⁹. El MPAG se excreta hacia la vía biliar a través del **transportador MRP2**. Las glucuronidasas de las bacterias procedentes del intestino actúan sobre este MPAG y lo hidrolizan de nuevo en MPA, que es reabsorbido y devuelto a la circulación sanguínea.

De nuevo este MPA libre sufrirá un proceso de glucuronización (conversión a MPAG), hasta finalmente ser excretado por la orina e intestino^{35,41} (Figura 9) Debido a este proceso, se ha descrito que puede haber un segundo pico de niveles plasmáticos del fármaco activo. Este pico puede suponer hasta un 40 % de la concentración de micofenolato activo en los estudios de farmacocinética del micofenolato³⁵. En las presentaciones farmacológicas de liberación retardada como en el caso de EC-MPS

esta aportación de MPA libre procedente de la circulación enterohepática podría ser incluso más relevante⁴². (Figura 10)

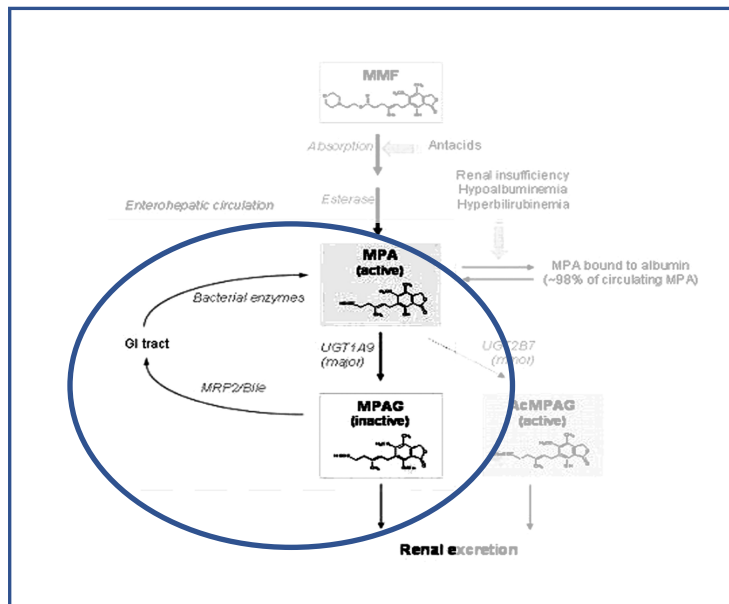


Figura 9. Esquema de la influencia de la circulación enterohepática en el micofenolato.

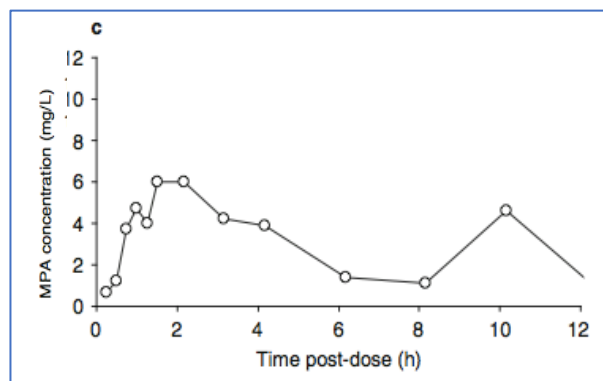


Figura 10. Representación de la aportación de la circulación enterohepática en las concentraciones sanguíneas del micofenolato⁴³

- **Excreción (eliminación):** La cantidad del fármaco que se excreta en forma de MPA con la orina es desdeñable (< 1% de la dosis). Sin embargo, alrededor del 87% de la dosis administrada se excreta por la orina en forma de MPAG. Se considera que un 6% del fármaco se excreta a través de las heces³⁹

3.3.2 Rol del transportador MRP2 en el metabolismo del MPA.

Las proteínas transportadoras de la gran familia ABC y en concreto el transportador MRP2, se ven implicadas en los procesos más importantes de la farmacocinética del micofenolato: a) *absorción*, en la barrera intestinal, se encargan del paso de la luz intestinal al enterocito y a la sangre; b) *distribución y metabolismo*, en los canalículos biliares, gracias a la circulación enterohepática se obtiene un segundo pico de MPA activo ; c) *excreción*, en los túbulos renales, se encargan de transportar el MPAG de la célula tubular a la luz del túbulo renal y por tanto a la orina. También existen estudios que describen la presencia de estos transportadores en la pared celular del linfocito, por lo que también tendría su implicación en la llegada del MPA al órgano diana (distribución)³⁵. La siguiente figura (11) esquematiza el papel del transportador MRP2 en la farmacocinética del micofenolato.

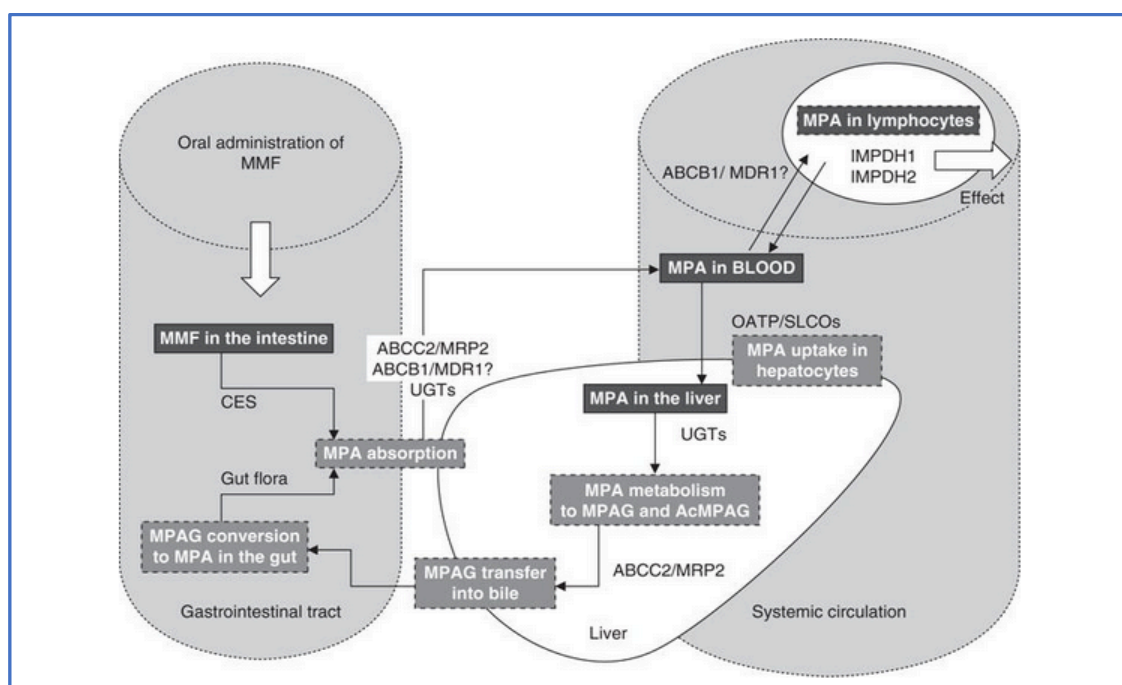


Figura 11. Esquema del papel del transportador MRP2 en la farmacocinética del micofenolato. Tomada Sherwin.

2011³⁵

3.4 Factores que influyen en la farmacocinética del ácido micofenólico.

Existe una amplia variabilidad en la farmacocinética del MPA a pesar de una administración de dosis de MPA fija, lo que puede suponer que sus concentraciones sanguíneas y su efecto sean, hasta cierto punto, impredecibles⁴⁴.

Se han estudiado múltiples factores clínicos y farmacológicos que pueden influir en el metabolismo del MPA. En la tabla 1 se resumen los factores más importantes. Los factores que han sido relacionados de forma consistente han sido el **sexo, la raza, la insuficiencia renal, la hipoalbuminemia y ciertos fármacos**^{40, 45} (Tabla 1).

En cuanto a factores demográficos, se ha relacionado el **sexo** femenino con niveles más altos de MPA^{45,46}, y la **raza** podría ser un factor a tener en cuenta. Por ejemplo, se han publicado trabajos que recomiendan dosis más bajas que la estándar para pacientes trasplantados renales koreanos⁴⁷, ya que presentan más riesgo de efectos adversos gastrointestinales, y éstos podrían justificarse por una mayor exposición al MPA que la población general⁴⁸. En el lado opuesto, la raza negra probablemente precise dosis más altas de MPA para alcanzar niveles óptimos para prevenir el rechazo^{46,49,50}, aunque estos datos no se confirman en todos los estudios⁵¹

Con respecto a factores relacionados con el metabolismo del micofenolato, existen varias circunstancias que se han relacionado con la variabilidad de los niveles de MPA. El MPA se une de forma reversible a la **albúmina**. El MPA libre (no unido a albúmina) es la molécula activa, y, por tanto, su actividad será dependiente tanto de las concentraciones de albúmina como de otras moléculas que también se unan a la albúmina (como la bilirrubina, la hemoglobina o el MPAG) y compitan con el MPA^{13, 40, 52,53}.

De hecho, parece ser que la **insuficiencia renal, frente a una función renal normal**, también asocia concentraciones de MPA más altas^{40,55}. Este efecto

probablemente se debe a una acumulación de productos del metabolismo del MPA que habitualmente se excretan por vía renal (MPAG), y que compiten con el propio MPA para unirse a la albúmina⁵⁴. De este modo, queda más concentración de MPA libre en sangre.

Bajo este precepto, se ha de tener en cuenta a la hora de ajuste de dosis de MPA aquellos pacientes con hipoalbuminemia, insuficiencia renal⁵⁶, anemia⁴⁹ o hiperbilirrubinemia⁵⁷

El tratamiento inmunosupresor coadyuvante al micofenolato es de especial importancia debido a la variabilidad en las concentraciones del MPA cuando este se administra en combinación con otros fármacos.

Existen múltiples publicaciones que demuestran que la toma concomitante de **ciclosporina** disminuye los niveles de MPA (por inhibición del MRP2 y disminución de la circulación enterohepática)⁵⁸⁻⁶³. El tratamiento con **tacrolimus**, sin embargo, aumenta de los niveles de MPA^{64,65}. Algunos autores defienden que la molécula de tacrólimus *per sé* aumenta directamente MPA, por interferencia en las reacciones de glucuronidación.⁶⁶ Los **esteroides** también asocian niveles más bajos de MPA. Se ha postulado que estas concentraciones más bajas se deben a la inhibición del transportador MRP2 y a una interferencia (aumento) con las concentraciones de MPAG⁶⁷. No obstante, esta explicación es controvertida, ya que Van Hest et al.⁴⁹ observaron que esta asociación no se mantenía en un análisis multivariante, y lo consideraron como un factor de confusión más que como un factor predictor de niveles más bajos de MPA.

El tratamiento con **imtor** no parece que tenga influencia significativa en el metabolismo del MPA^{68,69}; si bien es cierto que la evidencia al respecto es escasa.

También se han descrito otros fármacos que pueden influir en el metabolismo del MPA. Los **antiácidos o inhibidores de bomba de protones** parecen relacionarse con concentraciones de MPA más bajas^{70,71}. No obstante, esta evidencia es aún controvertida, ya que, por ejemplo, en el estudio de Rissling et al.⁷⁵, en 2015, los pacientes en tratamiento con IBPs presentaron niveles más bajos de MPA que aquéllos

que no lo tomaban (41.46 ng/h/ml/mg (RIC=32.38, 50.54) Vs. 46.30 ng/h/ml/mg (RIC=37.11, 55.49)], aunque esta diferencia no alcanzó la diferencia estadística. En el subanálisis del estudio CLEAR, en 2011 tampoco, se objetivó un efecto claro en los niveles de MPA en los pacientes en tratamiento con IBPs⁷³.

Todas las medicaciones que alteran la flora intestinal pueden interactuar con MPA al alterar la circulación enterohepática. Por ejemplo, los **antibióticos** asocian niveles más bajos de MPA, ya que reducen la flora intestinal y por tanto disminuyen la conversión de MPAG a MPA que se realiza en el intestino (inhibición de la circulación enterohepática)^{39,44}. Los fármacos que se eliminan por vía renal, como **aciclovir** y **ganciclovir**, pueden aumentar los niveles del ácido micofenólico libre, por un efecto competitivo en la secreción tubular renal con la molécula de MPAG.⁷⁴

Los **quelantes de ácidos biliares** como colestiramina pueden disminuir los niveles de MPA, ya que reducen la absorción intestinal y la recirculación enterohepática de MPA, reduciendo, por lo tanto, la biodisponibilidad del fármaco y el segundo pico de concentración sanguínea.⁷⁵ Existen otros factores que también han sido descritos como influyentes en la variabilidad de las concentraciones del micofenolato, como el **ritmo circadiano**⁷⁶.

Para ser prácticos, se podría pensar que aquel paciente desnutrido, con insuficiencia renal y cuyo tratamiento inmunosupresor concomitante sea tacrolimus, precisará dosis más bajas de micofenolato que el paciente, bien nutrido, con función renal óptima, y que además asocie tratamiento inmunosupresor con ciclosporina.

Sin embargo, es importante destacar que la mayoría de estos estudios incluyen pocos pacientes y sus resultados son contradictorios. Además, en 2002 se publicó una revisión⁷⁷ que cuestionó de forma activa la importancia clínica de los cambios en el plasma de proteínas de unión, como, por ejemplo la albúmina. Si estas hipótesis fuesen ciertas, ningún mecanismo de los expuestos hasta ahora tendrían mucha relevancia.

FACTORES QUE PUEDEN INFLUYEN EN NIVELES DE MPA		CONCENTRACIONES MPA	MECANISMO	REFERENCIAS
FACTORES DEMOGRÁFICOS				
EDAD		Ancianos > jóvenes	Desconocido	Velickovic 2015 ⁷⁸
SEXO		Mujeres > hombres	Menor aclaramiento del mpa por competencia con mpag	Tornatore 2015 ⁴⁶
ETNIA	Afro-americana	BAJAS	Desconocido. Es preciso dosis más altas de mmf para prevenir rechazo.	Tornatore 2015 ⁴⁶ Schweitzer 1998 ⁴⁹ Neylan 1997 ⁵⁰
	Koreana /Asiática	ALTAS	Probable mayor exposición al mpa.	Cho, 2004 ⁵⁴ Li P 2014. ⁴⁸
SUPERFICIE CORPORAL		Grande< pequeña	Desconocido (distribución?)	Velickovic 2015 ⁷⁸ Nazemian, 2007. ⁷⁹
TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR CONCOMITANTE				
CICLOSPORINA		BAJAS	Inhibición mpr2	Smak Gregoor , 1999 ⁵⁹ Shipkova 2001 ⁵⁸ van Gelder 2001 ⁶⁰ Trkulja 2014 ⁶²
TACROLIMUS		ALTAS	Inferencia en procesos de glucuronidación	Zucker 1999 ⁶⁶
IMTOR		BAJAS / SIN EFECTO	Desconocido	Flechner 2002 ⁷³ , Tedesco-Silva 2012 ⁷⁶
ESTEROIDES		BAJAS	Inhibición de mpr2	Cattaneo 2002 ⁶⁷
COMORBILIDAD DEL PACIENTE				
INSUFICIENCIA RENAL		ALTAS (MPA LIBRE)	Menor unión del MPA - albúmina por competencia con MPAG	, Hale 1998 ⁶⁵ , Weber 2002 ⁷⁷ , de Winter 2009 ⁵⁶ , Frymoyer 2012, ⁸⁰
HIPO- ALBÚMINA		ALTAS (MPA LIBRE)	Menor unión del MPA - albúmina por competencia con MPAG	Mudge 2004 ⁵² , Van Hest, 2006 ⁴⁹
ANEMIA		BAJAS	Mayor unión MPA-albúmina , mayor aclaramiento de MPA	Van Hest, 2006 ⁴⁹
GASTROPATÍA PARÉTICA (Diabetes Mellitus)		NO INFLUENCIA	Aumento de tiempo máximo, por no influencia en AUC	Park 2008 ⁸¹
INSUFICIENCIA HEPÁTICA		DISMINUYE/ NIVELES NO AFECTA NIVELES	Inducción de glucuronidación renal del MPA/alteraciones de circulación enterohepática	Parker 1996 ⁸² Bullingham 1997 ⁷⁴
IBPs		DISMINUYEN NIVELES/ NO INTERFERENCIA	Disminución en la absorción debido a la inhibición de la secreción gástrica	David-Neto 2012 ⁷⁰ Kees 2012 ⁷¹ Kiberd 2011 ⁷³ Rissling, 2015 ⁷²
ANTIBIÓTICOS		DISMINUYE NIVELES	Inhibición de circulación enterohepática (deplección de flora intestinal)	Shipkova, 2005 ⁴⁴
ACICLOVIR GANCICLOVIR		AUMENTA NIVELES	Competición del fármaco con MPAG en la secreción tubular	Bullingham 1997 ⁷⁴
COLESTIRAMINA		DISMINUYE NIVELES	Reducción de absorción intestinal y de recirculación eh	Mignat 1997 ⁷⁵
TIEMPO DESDE TRASPLANTE		1ª semana: 43.8 (16.771.2) 6ª Semana-12 meses (58.5-60 mgxh/l)	Desconocido	Kuypers 2003 ⁸³

Tabla 1. Factores que influyen en la farmacocinética del micofenolato. Realizada por Beatriz Rodríguez.

3.5 Presentaciones farmacológicas.

La primera presentación farmacológica fue el **micofenolato mofetilo** (MMF, CELL CEPT), seguida del **micofenolato sódico**. Éste contiene una cápsula entérica (EC-MPS) es una fórmula avanzada de liberación de MPA. La cubierta entérica se disuelve con pH >5, permitiendo así la liberación de MPA sólo en el intestino ya que en el estómago el pH es más ácido. Esta nueva formulación se creó con el objetivo de minimizar los efectos gastrointestinales observados con el MMF. (Figura 12)



Figura 12. Estructura química e imagen de presentación farmacológica de micofenolato sódico con cubierta entérica (EC-MPS) y de micofenolato mofetil (MMF).

Tras la aparición de esta nueva formulación, fue necesario establecer una **bioequivalencia farmacológica y clínica** para poder utilizarlo⁸⁴, y beneficiarse de su aparente mejor tolerancia digestiva, sin el riesgo de una mayor tasa de rechazo del injerto renal.

3.5.1 Bioequivalencia de MMF y EC-MPS en términos de farmacocinética.

Los aparentes beneficios del EC-MPS frente al MMF favorecieron el desarrollo de numerosos trabajos que analizaron la equivalencia farmacológica del MMF y del EC-MPS. El trabajo de Arns et al.⁸⁵ realizado en 2005, unicéntrico, cruzado, abierto, y aleatorizado de tres ramas de 24 pacientes caucásicos trasplantados renales estables en tratamiento coadyuvante con ciclosporina, comparó a pacientes que tomaron MMF Vs. EC-MPS, y demostró que los parámetros más importantes a tener en cuenta en la farmacodinamia de estas moléculas eran comparables, y que la dosis que mostraba

exposiciones al fármaco más parecidas eran de 720 mg (comparable a 1g de MMF). En este estudio, el AUC de MPA de ambas moléculas fue equivalente así como la concentración máxima alcanzada de ácido glucurónico micofenólico (AcMPAG). El tiempo máximo mediano fue mayor para EC-MPS comparado con MMF (2.0 h Vs.. 0.75 h), consistente con su cobertura entérica. En un estudio de Budde et al⁸⁶, en 2007, con 18 pacientes, también en tratamiento inmunosupresor basado en ciclosporina que analizó las concentraciones de MPA en pacientes que toman EC-MPS y MMF, se obtuvieron resultados similares a los descritos por Arns et al. (Tabla 2). Tedesco et al.⁸⁷ añadieron en su trabajo la medición de AcMPAG, como metabolito activo; y también calcularon y compararon su AUC entre pacientes que toman MMF o EC-MPS. Un año después, en 2006, Jonhson et al. realizaron un metaanálisis que incluyó 3 estudios de pacientes estables, en tratamiento con ciclosporina, que confirmó que **ambas formulaciones eran bioequivalentes**⁸⁸.

Sin embargo, existen diferencias a destacar entre estas dos moléculas. En el caso del AUC del **EC-MPS**, existe **un segundo pico de mayor concentración debido a la circulación entero-hepática**, (habitualmente entre las 6-12 horas tras la administración), lo que puede generar variaciones de hasta en un 40% del AUC plasmática del MPA⁸⁹. Además, las concentraciones de MPA pre dosis (**Co**) **pueden ser mayores** en los pacientes en tratamiento con EC-MPS comparado con MMF, probablemente asociado a este segundo pico de mayor concentración retrasado con respecto al MMF⁸⁹.

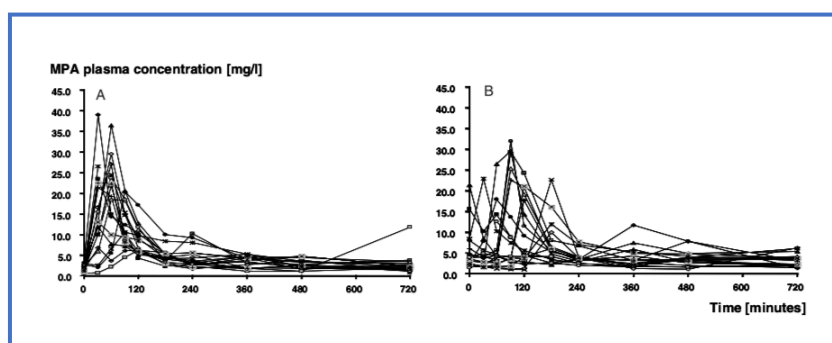


Figura 13. Comparación de de AUC 12h tras toma de MMF (a) y toma de EC-MPS. Se puede observar un segundo pico de mayor concentración en pacientes que toman EC-MPS⁸⁶.

Además, si se analizan en profundidad los resultados de los estudios expuestos anteriormente, se puede observar que en varios de ellos las concentraciones de MPA son discretamente más elevadas en las curvas realizadas a pacientes en tratamiento con EC-MPS frente a aquellos en tratamiento con MMF: Tedesco et al⁸⁷ (74.7 Vs. 61.4); Arns et al.⁸⁵ (66.5 Vs. 63,5) y Budde et al.⁸⁶ (43.7 Vs. 39.9), si bien estas diferencias no son estadísticamente significativas.

En resumen, en cuanto a la equivalencia en términos de farmacocinética, siendo ambas fórmulas globalmente equivalentes, la molécula EC-MPS tiene aún más variabilidad intra e inter paciente que el MMF, ya que podría estar más influenciada por el efecto de la circulación enterohepática, y por tanto tener mayor sensibilidad a los numerosos factores que influyen en su absorción, distribución y metabolismo^{86,89-92}

3.5.2 Bioequivalencia de MMF y EC-MPS en términos de seguridad y eficacia.

En cuanto a la similitud en términos de seguridad y eficacia, también se realizaron numerosos estudios que avalaron la bioequivalencia de ambos fármacos. En 2003, Budde et al.⁹³ analizaron durante 1 año, en un estudio doble-ciego, las diferencias en cuanto a incidencia de efectos adversos GI, neutropenia, infecciones, retirada del tratamiento, rechazo agudo o rechazo crónico entre dos poblaciones comparables que tomaban MMF o EC-MPS. Sólo se encontraron diferencias significativas en la incidencia de infecciones graves, siendo menores en los pacientes en tratamiento con EC-MPS (8,8% Vs. 16,0%), aunque la incidencia de infecciones totales fue similar en ambos grupos (58,9% Vs. 58,5%). Un año después Salvadori et al⁹⁴ demostraron resultados superponibles al trabajo de Budde a través de un estudio multicéntrico, con más de 400 pacientes bajo el régimen de Ciclosporina y corticoides con seguimiento de 12 meses: similares efectos adversos y efectividad en ambos fármacos. Tampoco se evidenciaron diferencias entre ambos grupos en pacientes ancianos o diabéticos. Por tanto, estos

trabajos concluyeron que ambas formulaciones eran equivalentes, efectivas y seguras y que el EC-MPS era una alternativa al MMF para los pacientes trasplantados renales de novo.

Sin embargo, haciendo un análisis más profundo de los resultados de este estudio se puede observar que el grupo EC-MPS (frente al MMF), registró una menor incidencia de discontinuación o disminución de dosis de tratamiento (15,0% Vs. 19,5%) debido a intolerancia digestiva, aunque presentó un porcentaje discretamente más alto de infecciones graves (10-11% Vs. 6-7%), infección por CMV (6% Vs. 1-6%), leucopenia (10,4-14% Vs. 10-6%) o neoplasia. (6-9% Vs. 4-5%)⁹⁴ (tabla 2). No obstante, estas diferencias no mostraban significación estadística, si bien es cierto, el número de eventos a estudio era muy reducido ($n < 20$). En un estudio de Brunnapadist et al⁹⁵, en 2014 en 23 trasplantados renales recientes en tratamiento con corticoides y tacrolimus, se compararon los efectos adversos GI tras la conversión de MMF a EC-MPS. Se realizó un cuestionario de síntomas GI (GSRS) y un estudio de cápsula endoscópica que evaluaba lesiones gástricas e intestinales al inicio del estudio (tras al menos 30 días de tratamiento con MMF) y a los 30 días de conversión a EC-MPS. Los resultados del trabajo mostraron que los síntomas digestivos mejoraron de forma subjetiva y que las pruebas endoscópicas revelaron una disminución importante del porcentaje de lesiones gástricas e intestinales (50% Vs. 29% y 89% Vs. 62% respectivamente). No obstante, las diferencias no tuvieron potencia estadística ni se pudieron establecer correlaciones clinico-histológicas claras.

En resumen, se podría concluir que ambas moléculas son equivalentes en términos de seguridad y eficacia. No obstante, el potencial beneficio del EC-MPS en cuanto a mejor tolerancia digestiva quizá ha sido menor del esperado^{93,94,97}. Incluso una revisión reciente no considera recomendable la conversión de MMF a EC-MPS en pacientes con síntomas gastrointestinales⁹⁸. En cuanto a otros efectos secundarios, la mayoría de los estudios realizados no analiza eventos tales como infecciones, toxicidad hematológica o neoplasias y los estudios que sí lo analizan como Budde et al.⁹⁴ o Salvadori et al.⁹⁵,

contienen pocos eventos y/o el seguimiento es muy corto, por lo que no se pueden obtener conclusiones robustas en cuanto a bioequivalencia en este aspecto. La siguiente tabla resume los estudios más relevantes que han analizado la bioequivalencia en términos de farmacocinética y seguridad de ambas moléculas. (Tabla 2)

EC-MPS VS. MMF	TRATAMIENTO CONCOMITANTE	CONCLUSIONES AUTORES	AUC 12H	SÍNTOMAS GI	INFECCIÓN	LEUCOPENIA	CAMBIO TRATAMIENTO	NEOPLASIA
Budde 2004 ⁹³ N= 322 (1 año seg)	CICLOSPORINA EC-MPS Vs. MMF (159 ec Vs. 163 mmf)	Conversión de MMF a EC-MPS es segura sin comprometer la seguridad y eficacia	NO REALIZADO	Cualquier evento a los 3 meses: (26.4% Vs.. 20.9% , p ns.	Incidencia total de infecciones: 58.5% Vs. 58.9% p ns	Similar (no detalles)	Reducción o retirada por evento GI (8,2 % Vs. 6.1%), p ns.	2 Vs. 0 (linfoma) Otros tumores: incidencia similar (no detalles) p ns
Tedesco ⁸⁷ 2005, n=40 (28 días seg)	CICLOSPORINA (40 ec Vs. 40 mmf) Cross over	Niveles de MPA similares	13 extracciones. 74.7 Vs. 61.4 P ns	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio
Arns ⁸⁵ 2005 N= 24	CICLOSPORINA Ec-mps Vs. mmf (cross over)	720 mg son bioequivalentes a 1000mg. Se selecciona para fase III	10 extracciones 66.5 Vs. 63,5 P ns	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio
Salvadori 2006 ⁹⁴ N=400	CICLOSPORINA 125 ec Vs. 150 mmf)	Similar eficacia. Mejor tolerancia digestiva a EC-MPS	No estudio	No descrito	Infecciones graves: 10-11% Vs. 6-7% Infección Cmv: 6% Vs. 1-6% p ns	10,4-14% Vs. 10-6% P ns	Reducción o retirada de MPA por evento GI (15% Vs. 19,5%) P ns	6-9% Vs. 4-5% P ns
Budde 2007 ⁸⁹ n=18	CICLOSPORINA (9 ec Vs. 9 mmf)	AUC EC-mps y MMF equivalentes, EC-MPS menos predecibles	10 extracciones 57,43 Vs. 58,39 P ns	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio
Budde 2007 ⁹⁶ N = 21	TACROLIMUS (21 ec-mps Vs.21 mmf) (cross over)	Conversión de MMF a EC-MPS es segura sin comprometer la seguridad y eficacia	9 extracciones 720mg Vs. 1000mg 43.7 Vs. 39.9 P ns	Ec-mps + fk (no control con mmf) 29 (46%) 5 (8%) por ec-mps	28 (44%)	No descrito	No estudio	No estudio
Tedesco 2012 ⁷⁶ , N=24	Conversión de CICLOSPORINA a EVEROLIMUS. (ec mantenido) (cross over)	El ciclo circadiano influye en los niveles de MPA, siendo más altos de día.	31 extracciones Dosis 720 65.7 (csa+ec-mps)	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio
Bunnapradist, 2014 ⁹⁵ N=23	TACROLIMUS Mmf to Ec-mps (cross over)	Alivio de síntomas GI tras conversión a ec-mps,	No estudio	Disminución de GSRS: a (p<0.05)	No estudio	No estudio	No estudio	No estudio

Tabla 2. Resumen de estudios de bioequivalencia en términos de farmacocinética, eficacia y seguridad del EC-MPS Vs. MMF en el paciente trasplantado renal. Realizada por Beatriz Rodríguez.

3.6 Complicaciones asociadas al tratamiento inmunosupresor.

En el paciente trasplantado renal, sometido a un tratamiento inmunosupresor crónico, se dan múltiples complicaciones que tienen un impacto negativo en su calidad de vida, un incremento de su comorbilidad y/ o una disminución de su supervivencia^{99,100}.

Las complicaciones más frecuentes son la diarrea¹⁰¹, leucopenia, infecciones graves¹⁰⁰ o de repetición¹⁰², infecciones por CMV¹⁰³ o BK¹⁰⁴ y neoplasias¹⁰⁵. También son importantes las complicaciones cardiovasculares¹⁰⁶.

Tanto la diarrea como la leucopenia son atribuibles directamente al micofenolato⁴⁴, pero las infecciones y neoplasias son un efecto secundario del bloqueo del sistema inmune, resultado del tratamiento inmunosupresor que el paciente ha de recibir para evitar el rechazo del órgano trasplantado.^{99, 107-109}

Además del tratamiento inmunosupresor, han sido descritos otros factores de riesgo de estas complicaciones en el paciente trasplantado renal como son la edad, el sexo femenino¹¹⁰, la insuficiencia renal¹¹¹, la diabetes¹¹² y el grado de comorbilidad¹¹³. El tipo de donante o el tiempo de isquemia fría también han sido variables relacionadas con estas complicaciones¹¹⁴. Aunque, probablemente, estos factores de riesgo sigan siendo el reflejo de mayor grado de inmunosupresión.

Existen factores de riesgo específicos asociados a complicaciones concretas en los pacientes trasplantados, como alteraciones anatómicas o presencia de catéteres en el caso de las infecciones urinarias¹¹⁵ o el estatus serológico de riesgo en la infección por CMV (donante positivo, receptor negativo)¹¹⁶. El tabaquismo, cáncer previo, exposición solar¹¹⁷ e infecciones por virus oncogénicos han sido descritos como factores de riesgo del desarrollo de neoplasias¹¹⁷. El tratamiento con ciclosporina o tacrolimus + azatioprina frente a otros esquema de inmunosupresores ha sido también descrito de forma consistente en múltiples publicaciones¹⁰⁵ ya que se le atribuye un efecto oncogénico a estos fármacos, como la capacidad reducida de reparación de ADN entre otros¹¹⁹

La siguiente figura (14) esquematiza los principales factores de riesgo de las complicaciones infecciosas y neoplasia del paciente trasplantado renal. En resumen, se trata de una disfunción crónica del sistema inmune, resultado del tratamiento inmunosupresor a lo largo de la vida del injerto renal. Esta alteración del sistema inmune favorece infecciones (que a su vez influyen en la disfunción del sistema inmune), que en algunos casos permanecen latentes a lo largo de la vida del individuo, y que pueden ser favorecedores de desarrollo de neoplasias, como son los virus oncogénicos. Además, se pueden añadir otros factores de riesgo descritos para estas complicaciones, que pueden ser frecuentes entre los pacientes trasplantados renales, como son el sexo femenino, la diabetes, la insuficiencia renal, la edad avanzada o el tabaco.¹³⁵

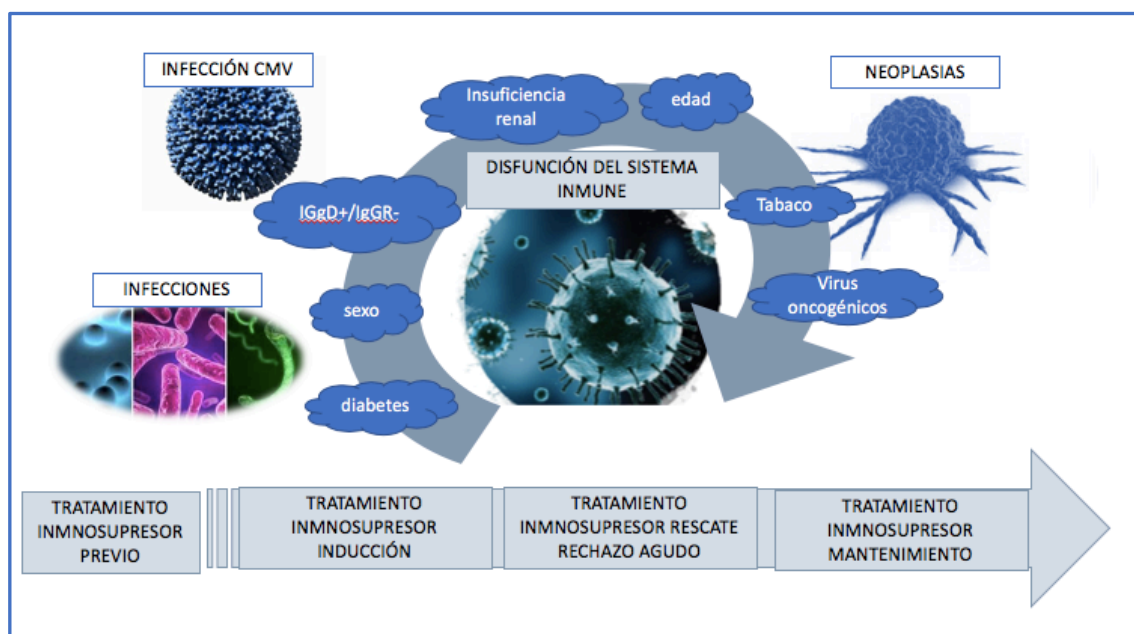


Figura 14..Principales factores de riesgo de complicaciones asociadas al tratamiento inmunosupresor del paciente trasplantado renal. Realizada por Beatriz Rodríguez Cubillo. Adaptada de Sprangers 2018¹¹⁸

Las complicaciones asociadas al tratamiento inmunosupresor como la leucopenia o diarrea¹⁰¹ (asociadas a MPA), infecciones¹²⁰, neoplasias¹²¹, nefropatía crónica del injerto²²⁻²⁴ o la neurotoxicidad¹²² (más asociadas a ICN) obligan a la **modificación del tratamiento inmunosupresor** a lo largo del seguimiento del paciente trasplantado renal¹²³.

En la actualidad, el régimen inmunosupresor de mantenimiento estándar se basa en tacrolimus y MPA con o sin prednisona^{124,125} si bien es cierto que, en un porcentaje no despreciable, es preciso el cambio de esquema inmunosupresor por mala tolerancia o exceso de complicaciones¹²⁶

Las estrategias más frecuentes de modificación de tratamiento inmunosupresor consisten en la disminución de dosis de MPA de forma transitoria o permanente¹²¹, la suspensión o disminución de dosis de ICN (tacrolimus o ciclosporina) y la sustitución de MPA por imtor^{120, 127}, o la suspensión definitiva de MPA, manteniendo ICN y esteroides¹²⁶.

En el caso de la diarrea o leucopenia, la disminución de dosis de MPA es la estrategia utilizada de inicio¹²¹, si bien también se ha demostrado el beneficio de la combinación de dosis bajas de ICN + imtor para minimizar los síntomas de diarrea asociada a miconfenolato¹⁰¹.

Las combinaciones de tratamiento inmunosupresor que incluyan un imtor desde estadios tempranos del trasplante han demostrado un beneficio claro en cuanto a complicaciones como neoplasia¹²⁸⁻¹²⁹ o infecciones virales (replicación de CMV o poliomavirus BK)^{120,130}. Este efecto se atribuye, al menos en parte, al efecto antineoplásico y antiviral de los imtor¹³¹⁻¹³³. Además, algunos estudios han podido observar que estos regímenes de tratamiento inmunosupresor mejoran la supervivencia y función renal del injerto frente a los tratamientos basados en ICN^{134,135}

Sin embargo, estos resultados son controvertidos, y, además, los esquemas de inmunosupresión basados en imtor también asocian efectos adversos que obligan a suspender el tratamiento^{136,137,138}: mielotoxicidad, neumonitis, edemas, proteinuria.. etc Algunos autores describen incluso una tasa de mayor de rechazo^{130,137,139,140}, por lo que, probablemente, tampoco sea adecuado utilizarlos en todos los pacientes. De hecho, los estudios iniciales no demostraron mejor supervivencia del paciente trasplantado renal en tratamiento con imtor^{141, 142}, probablemente porque la conversión

se realizaba en estadíos avanzados y en pacientes no seleccionados para una buena tolerancia al tratamiento con imtor.

Precisamente, en este tipo de decisiones, es crucial contar con la mayor información posible para seleccionar aquellos pacientes con más riesgo de complicaciones infecciosas o tumorales, así como de intolerancia a MPA. Así podremos, elegir una combinación de tratamiento inmunosupresor más adaptada que permita reducir estas complicaciones pero sin mayor incidencia de rechazo.

3.7 Asociación de exposición de MPA y eventos clínicos.

Desde la aparición del MPA, se han realizado múltiples estudios que han intentado relacionar las concentraciones de la molécula activa y sus metabolitos, y los eventos relacionados con el trasplante (rechazo y/o efectos adversos asociados al tratamiento inmunosupresor) ⁵⁵.

De acuerdo con los estudios realizados, parece que queda claro que AUCs de MPA entre 30-60 mg/L protegen del rechazo agudo ^{143,144}. En estos estudios, también se recomiendan valores de C0 entre 1,3-1,9 ¹⁴⁴

Con respecto a los efectos adversos, la interpretación de las concentraciones de MPA es menos evidente. Existen algunos estudios que asocian concentraciones más altas de MPA libre y total con algunos efectos adversos, como las infecciones, la leucopenia o la diarrea ^{52,77,145,146-152}. Por ejemplo Mourad et al. ¹⁴⁷ analizaron las concentraciones de MPA en 51 pacientes trasplantados renales en tratamiento con MMF y tacrolimus; y observó niveles más altos de MPA en el grupo de pacientes con datos de toxicidad (concentración mínima (cmin), 2.63 ± 1.58 Vs. 1.75 ± 0.82 ; c30: 10.47 ± 6.27 Vs. 7.66 ± 8.95 ; c60: 9.67 ± 5.42 Vs. 5.83 ± 2.60 y AUC0-12h: 48.38 ± 18.50 Vs. 36.04 ± 10.82 , todos estas diferencias con $p < 0.05$). En este mismo estudio, el autor proponía que

valores de AUC12h de MPA por encima de 37.6 mg* h/L incrementaban el riesgo de toxicidad (sensibilidad, 83.3%; especificidad 59.6%). Este mismo autor había publicado previamente un estudio realizado en 31 pacientes en tratamiento con MMF y ciclosporina¹⁴⁶, en el que observó que el grupo de pacientes que no presentó efectos adversos tuvo niveles de AUC12h de MPA más bajos que el grupo con más datos de toxicidad (38.80 ± 15.29 Vs. 62.10 ±21.07 mgx h/L (p <0.005)(dosis mmf no fija).

Otros estudios también realizados en pacientes con MMF y tacrolimus, como el de *Borrows et al.*¹⁴⁸, han detectado una asociación estadísticamente significativa entre los niveles de MPA y algunos efectos adversos como leucopenia (RR:1.59 CI 95% 1.23-2.04, p <0.001), diarrea (RR 1.54 CI 95% 1.12-1.93, p <0.001), Infecciones virales (2.71 CI 95% 2.04-3.58, p <0.001). Sin embargo, estos resultados no han sido validados por otros autores^{77,149,152}, y, además, los valores propuestos se encuentran dentro del rango que previamente se había descrito para evitar el rechazo¹⁴³.

Por otra parte, varios estudios indican que el **MPA libre** se correlaciona mejor con los efectos adversos que las concentraciones de MPA total. Por ejemplo, Atcheson et al.¹⁴⁵ realizaron un estudio en 42 pacientes trasplantados renales en tratamiento con MMF y ciclosporina o tacrolimus, y observó valores más altos de MPA libre en pacientes con leucopenia o infección: (1.9 ± 0.3 Vs. 1.1± 0.1 mg *h/l p= 0.0043). El estudio publicado por Weber et al.⁷⁷, en pacientes trasplantados renales pediátricos en tratamiento con MMF y CSA, también observaron una asociación estadísticamente significativa entre niveles más altos de MPA libre y leucopenia o infección (AUC-MPA libre 0-12h >0,71 mg*h/l asocia mayor riesgo de infecciones y leucopenia, IC 95% de II área bajo la curva COR .55 to 0.87 p 0.005). Cattaneo et al.¹⁵¹ también observaron niveles de MPA libre más altos en pacientes con leucopenia que en aquellos con recuento de leucocitos normal 0.064± 0.025 mg/mL Vs. 0.030± 0.022 mg/mL, p <0.05). En la tabla 3 se resumen los resultados de los estudios más relevantes.

No obstante, tampoco el MPA libre ha sido establecido como predictor de toxicidad asociado al micofenolato válido, ya que no se ha conseguido identificar un valor concreto que discrimine el rango terapéutico de aquél asociado con toxicidad. Es importante destacar que los estudios publicados con este objeto incluyeron un número pequeño de pacientes, y por tanto con insuficiente potencia estadística detectar diferencias. Además, la mayoría se realizó en pacientes en tratamiento con ciclosporina y MMF (pocos estudios con EC-MPS y tacrolimus). Finalmente, el seguimiento de estos estudios (tabla 3) también fue corto lo que puede suponer la pérdida de información de eventos más tardíos, como las neoplasias.

En base a la ausencia de valores discriminatorios de toxicidad asociada al micofenolato, en los últimos años ha existido una importante controversia con respecto a la utilidad de la **monitorización de los niveles de MPA como herramienta terapéutica**. De hecho, en otros ámbitos, como en la nefropatía lúpica, la monitorización de niveles de MPA y ajuste de dosis en base a estos niveles es una práctica habitual, ya que tienen una buena correlación entre estos niveles y los efectos secundarios o recidiva.¹⁵³.

En la década de los 90 y primera del siglo XXI, se investigó mucho acerca de la utilidad de monitorizar los niveles de MPA. Se obtuvieron varios estudios cuyos resultados recomendaban la monitorización de estos niveles, e incluso la realización de múltiples extracciones para el cálculo de concentraciones durante 12 horas (AUC) ya que una única medida pre-dosis no parecía predictora de rechazo o efectos tóxicos^{83,154,155}, especialmente bajo el tratamiento con EC-MPS¹⁴³

INTRODUCCIÓN

Factores que influyen MPA □ efectos clínicos	CONCLUSIONES AUTORES	AUC 12H	RECHAZO	SÍNTOMAS GI	INFECCIÓN	LEUCOPENIA
<i>Hale, 1998</i> ⁵⁵ MMF+CSA N=156 (multiC, randomizado)	Niveles bajos de MPA asocian rechazo. Niveles de MPA no predicen efectos tóxicos * Salida del estudio si stop mmf (no medida de niveles!)	20 min, 40 min, 75 min, 2,6,8 y 12h	No estudiado.	No significación estadística. Dosis más altas de MMF asocian más síntomas digestivos	No significación estadística (CMV e ITU)	No significación estadística
<i>Pillans 2001</i> ¹⁴⁹ (n=27) MMF + CSA	Niveles <30 de MPA asocian más rechazo agudo	0, 1, 3, 6 h	No rechazo (35.1 □ 2.18 mg.h/L Vs. 27.6 □ 1.98 mg.h/L	NO concluyentes (n=4)	No estudiado	No estudiado
<i>Mourad 2001</i> ¹⁴⁶ N=31 (MMF + CSA)	Niveles MPA elevados asocian más toxicidad. Niveles de MPA asocian rechazo agudo.	0, 0.5, 1, 2, 4, 6, y 12 h	25.00 ± 6.20 mg xh/L	39.80 ± 15.29 and 62.10 ± 21.07 mgx h/L (paciente no estable) ^ 55.70.10 ± 11.74 Vs. 66.82 ± 29.87 mgx h/L (dosis fija, 1g/12h)*		
<i>Mourad 2001</i> ¹⁴⁷ N=51 (MMF + FK)	Niveles MPA elevados asocian más toxicidad.	0, 0.5, 1, 2, 4, 6, y 12 h	No estudiado	48.38 ± 18.5 Vs. 36.04 ± 10.82 (dosis fija, 500/12h) Nivel toxicidad MPA AUC 0-12h: 37.6 mg ± h/L (sensitivity, 83.3%; specificity, 59.6%)		
<i>Cattaneo 2001</i> ¹⁵¹ N=46 (MMF+CSA)	La monitorización de MPA puede ser útil para minimizar toxicidad por MMF.	20, 40, 75 y 120 min	No estudiado	No estudiado	No estudiado	Niveles de MPA libre más altos asocia más leucopenia. No asociación niveles totales de MPA (correlaciones directas)
<i>Weber 2002</i> ⁷⁷ N = 57 pediátricos (MMF + Csa)	Niveles totales de MPA predicen rechazo. Niveles de MPA libre predicen efectos tóxicos	0, 20 min, 40 min, 75 min, y 2, 4, 6, 8, y 12 h	Niveles de MPA total < 33.8 predicen rechazo.	NO asociación	Niveles de MPA libre > 0,7mg xh/l predicen infecciones	Niveles de MPA libre > 0,7mg xh/l predicen leucopenia
<i>Kuypers 2003,</i> ¹⁵² N=33 (MMF + FK)	La determinación de niveles de MPA basales no ayuda a ajustar la dosis de MMF para evitar toxicidad	(pre-dose (C0), 20,40,75 minutos, 2,4,6,8 y 12 h	No asociación	Niveles de C ₀ MPA, MPA libre más altos en pacientes con diarrea (pero no significativo) (N=4)	No estudiado	Niveles de C ₀ MPA, MPA libre más altos en pacientes con leucopenia (pero no significativo) (n=12)
<i>Atcheson, 2004</i> ¹⁴⁵ N=42 (Csa+MMF Vs. FK+MMF)	La variabilidad de MPA es mayor en tratamiento con CSA que tacrolimus	Predosis y 1, 3 y 6 h	No estudiado	No encuantran diferencias estadísticamente significativas, pero tienen una n de 4 (síntomas GI); 9 (toxicidad hematológica). (14 eventos adversos). Sí observan valores más altos de MPA libre en pacientes con leucopenia o infección. (1.9 ± 0.3 Vs. 1.1 ± 0.1 mg h-1 l-1, p 0.0043)		
<i>Mudge 2004</i> (CSA + MMF) ⁵² Caso clínico	Hipoalbuminemia puede aumentar MPA libre	AUC 0-6 MPA libre	No estudiado	MPA libre elevado (2,3 mgxh/l) asocia náuseas, vómitos, leucoopenia y trombopenia		
<i>Borrows, 2006</i> ¹⁴⁹ N=121 MMF+tacrolimus	Hipoalbuminemia + Insuficiencia renal asocian hematotoxicidad.	Nivels 1.60 mg/l predicen rechazo y 2.75 predicen toxicidad.	Niveles bajos de MPA en el primer mes asocian rechazo agudo.	Niveles altos de MPA asocian más diarrea	Niveles altos de MPA asocian más infección viral. (no infecciones bacterianas)	Niveles altos de MPA Asocian leucopenia P<0.05

Tabla 3. Resumen de publicaciones relevantes que relacionan niveles de MPA y complicaciones clínicas..p*: p no significativa. p^: p< 0.05.

Entre 2000-2010 se desarrollaron varios modelos que intentaban predecir la farmacocinética del MPA, y calcular el área bajo la curva de 12 horas extrayendo 3-4 muestras exclusivamente¹⁵⁶. De hecho, en la actualidad, siguen estudiándose este tipo de herramientas para poder monitorizar los niveles de MPA^{157,158}, pero la mayoría siguen siendo en pacientes en tratamiento con CSA. Nuestro grupo de trabajo publicó en 2012 un modelo de 4 puntos (C(1h)-C(1.5h)-C(2h)-C(4h) con una precisión de 7,68. En este caso, el tratamiento recibido fue tacrolimus y EC-MPS¹⁵⁹. En 2017, Jia et al. realizaron un estudio similar en pacientes chinos¹⁶⁰, y consideran que el mejor modelo incluye las muestras de las 0 horas (C0), 3 horas (C3), 4 horas (C4) y 8 horas (C8).

No obstante, los resultados de estos estudios fueron controvertidos, y, además, son procedimientos costosos, laboriosos e incómodos para el paciente^{42,152,161,162}. En cualquier caso, desde la década de 2010, estas determinaciones se dejaron de realizar en la práctica clínica habitual, ya que no existía clara evidencia sobre la estrategia definitiva de monitorización de MPA para minimizar su toxicidad.

3.8 Farmacogenómica en el paciente trasplantado renal.

La farmacogenómica es el término que se utiliza para describir la contribución de las diferencias en los genes de un individuo en la variación en las respuestas a los medicamentos entre la población¹⁶³. En el ámbito del trasplante renal, sería interesante identificar algún polimorfismo genético implicado en el metabolismo del MPA que pueda predecir el riesgo de rechazo o de efectos adversos¹⁶⁴.

En el metabolismo del ácido micofenólico, están implicados múltiples enzimas que pueden ser subsidiarias de alteraciones genéticas, pudiendo tener algún efecto

determinante en su función y por tanto en el metabolismo del MPA y en sus concentraciones sanguíneas ¹⁶⁵.

En la década de 2010 se empezaron a estudiar y utilizar en la práctica clínica algunos polimorfismos de enzimas metabolizadoras de fármacos inmunosupresores habituales¹⁶⁵. Un ejemplo claro es la enzima CYP3A5, influyente en el metabolismo del tacrolimus. La identificación de alteraciones genéticas de esta enzima facilita las dosis de inicio de tacrolimus en el paciente trasplantado renal, para evitar la sobre o infradosificación en los primeros días¹⁶⁶.

También se han analizado los efectos farmacocinéticos y clínicos de otras enzimas que afectan al metabolismo del MPA, como aquéllas pertenecientes a la familia de las UGTs ¹⁶⁷⁻¹⁶⁹, o de la enzima inosín-monofosfato-dehidrogenasa tipo I y II ¹⁷⁰ entre otras.

Hasta la fecha, existen pocas publicaciones y con resultados controvertidos sobre el efecto de polimorfismos del transportador MRP2, perteneciente a la gran familia de transportadores ABC.

3.9 Transportador MRP2. Familia de proteínas ABC.

3.9.1 Introducción.

Los transportadores ATP-binding cassette (ABC) constituyen una gran familia de proteínas de membrana, que transportan múltiples moléculas contra gradiente de concentración, gracias a la hidrólisis de ATP. Los sustratos de los transportadores ABC incluyen lípidos, ácidos biliares, xenobióticos y péptidos para la presentación de antígenos. Al transportar moléculas exógenas y endógenas, reducen la carga corporal de sustancias potencialmente nocivas ¹⁷¹.

El término de ABC lo introdujo Christopher Higgins en 1992. La primera proteína transportadora de esta familia que se identificó fue la P-glicoproteína en 1976 ¹⁷². Esta

familia de transportadores está conformada por 49 genes, clasificados en 7 familias, desde ABC-A hasta ABC-F ¹⁷¹ (Tabla 4). Antes de que se consideraran estas proteínas como pertenecientes a esta gran familia, se identificaron de forma independiente 3 tipos de transportadores de membrana que después se incluyeron en la actual clasificación y que hasta la fecha han sido las más estudiadas:

- MDR1: *Multi Drug Resistant* o P-glicoproteína (de la subfamilia ABCB)
- MRPs: *Multi Resistant Proteins* (de la subfamilia ABCC)
- BCRP: *Breast Cancer Resistance Protein*. (de la subfamilia ABCG).

En este texto vamos a limitarnos a detallar la familia de ABC perteneciente a la subfamilia “C”, en la que se incluye el transportador también conocido como MRP2 /ABCC2. En algunos textos también se denomina al MRP 2 como *multispecific organic anion transporter* (cMOAT), por su implicación en el transporte de aniones en el hígado¹⁷³.

La subfamilia humana ABCC (MRP-ABC *transporters*) se compone de 12 miembros, de ABCC1 a ABCC12. De ellos, ABCC 1–6 (MRP1–6), ABCC10 (MRP7), ABCC11 (MRP8) y ABCC12 (MRP9) son transportadores (Tabla 5). Los otros miembros están implicados en la fibrosis quística. MRP2, con un peso molecular de 190 kDa y 1545 aminoácidos es el transportador más grande de esta familia. La figura 18 muestra la estructura general del transportador MRP2. Se compone de 17 hélices transmembrana y tres dominios hidrofóbicos implicados en el transporte de sustratos.¹⁷⁴ En un estudio reciente, se ha identificado la estructura tridimensional de estas proteínas transportadoras, y se ha realizado un análisis de las diferencias y similitudes entre los subgrupos de la familia. Un hallazgo relevante es que la estructura de la subfamilia ABC-C y ABC-B es muy similar ¹⁷⁵ (Figura 15).

En general, a cada subfamilia se le atribuye una función delimitada. No obstante, cada vez es más frecuente encontrar funciones compartidas entre los miembros de las subfamilias de los transportadores ABC, ya que investigaciones iniciales atribuyeron

funciones a subgrupos específicos, e investigaciones posteriores las han identificado en otros subgrupos ¹⁹⁸ .

	Subfamily	Gene	Alias	Chromosome Location	Hepatocyte location	Rodent nomenclature
ABC family	ABCA	ABCA1	ABC1	9q31.1	Sinusoidal	Abca1
	ABCB	ABCB1	P-GP, MDR	7p21	Biliar	Abc1a; Abc1b/Mdr1a; Mdr1b
		ABCB4	MDR3	7q21	Biliar	Abcc2/ Mdr2
		ABCB11	SPGP, BSEP	2q24	Biliar	Abcb11/Spgp
	ABCC	ABCC1	MRP1	16p13	Sinusoidal	Abcc1/Mrp1
		ABCC2	MRP2	10q24	Biliar	Abcc2/Mrp2
		ABCC3	MRP3	17q21.3	Sinusoidal	Abcc3/MRP3
		ABCC4	MRP4	13q32	Sinusoidal	Abcc4/Mrp4
		ABCC5	MRP5	3q27	Sinusoidal	Abcc5/Mrp5
		ABCC6	MRP6	16p13.1	Sinusoidal	Abcc6/Mrp6
		ABCC10	MRP7	6p21	Sinusoidal	Abcc7/Mrp7
		ABCC11	MRP8	16q11-q12	?	?
	ABCG	ABCG2	BCRP, MXR, ABCP	4q22	Biliar	Abcg2/Bcrp
		ABCG5	White3	2p21	Biliar	Abcg5
		ABCG8		2p21	Biliar	Abcg8

Tabla 4. Resumen de las diferentes nomenclaturas de los transportadores de membrana ABC-C ¹⁷⁴. Ghanem, 2019.

Table 1 All known human ABC transporters

Family	Name	ENSEMBL gene	UniProt	Length	Function	3D structure in use in this study
ABCA	ABCA1	ENSG00000165029	Q9UN09	2261	sulfonyleurea-sensitive anion transporter	
	ABCA2	ENSG00000107331	Q9BZC7	2435	putative transporter	
	ABCA3	ENSG00000167972	Q99758	1704	putative cholesterol transporter	
	ABCA4	ENSG00000198691	P78363	2273	inward-directed retinoid lipase in the visual cycle	
	ABCA5	ENSG00000154265	Q8WVZ7	1642	autolysosome	
	ABCA6	ENSG00000154262	Q8N139	1617	macrophage lipid homeostasis	5xjy (apo form)[human ABCA1][35]
	ABCA7	ENSG00000064687	Q8LZY2	2146	macrophage phagocytosis	
	ABCA8	ENSG00000141338	O94911	1581	lipophilic drug transporter	
	ABCA9	ENSG00000154258	Q8LUA7	1624	monocyte differentiation	
	ABCA10	ENSG00000154263	Q8WVZ4	1543	macrophage lipid homeostasis	
	ABCA12	ENSG00000144452	Q86UK0	2595	lipid homeostasis	
	ABCA13	ENSG00000179869	Q8N248	5058	lipid homeostasis	
	ABCB	ABCB1	ENSG00000085563	P08183	1280	efflux pump in multidrug-resistant cells
TAP1		ENSG00000168394	Q03518	808	(heterodimer with TAP2) antigens transporter to ER	
TAP2		ENSG00000204267	Q03519	686	(heterodimer with TAP1) antigens transporter to ER	
ABCB4		ENSG00000005471	P21439	1286	phospholipid efflux translocator, function as floppase	
ABCB5		ENSG00000004846	Q2M315	1257	drug efflux transporter	5ko.2 (apo form)[mouse ABCB4][36]
ABCB6		ENSG00000115657	Q9NP58	842	(homodimer) heme and porphyrin uptake to mitochondrion	4xwk (inhibitor bound)[mouse ABCB4][37]
ABCB7		ENSG00000131269	O75027	752	(homodimer) heme transport from mitochondrion to cytosol	5och (ADP bound)[human ABCB8]
ABCB8		ENSG00000197150	Q9NUT2	735	(homodimer) multidrug resistance exporter at mitochondrion	6c0v (ATP bound)[human ABCB1][38]
ABCB9		ENSG00000150967	Q9NP78	766	(homodimer) low-affinity peptide transporter	
ABCB10		ENSG00000135776	Q9NRK6	738	(homodimer) mitochondrial transport for heme biosynthesis	
ABCB11		ENSG00000073734	O95342	1321	secretion of bile salts	
ABCC	ABCC1	ENSG00000103222	Q9UQ99	1531	export of organic anions and drugs from the cytoplasm	
	ABCC2	ENSG00000023839	Q92887	1545	hepatobiliary excretion of numerous organic anions	
	ABCC3	ENSG00000108846	O95290	1327	transporter in the intestinal excretion of anions	
	ABCC4	ENSG00000125257	O15439	1325	organic anion pump	
	ABCC5	ENSG00000114770	Q9UNP5	1437	multispecific organic anion pump	
	ABCC6	ENSG00000091262	O95255	1503	transport of drugs into subcellular organelles	5wua (apo form)[hamster ABCC8][26]
	CFTR	ENSG00000001626	P13569	1480	epithelial ion channel	5ywc (ADP bound)[hamster ABCC8][39]
	ABCC8	ENSG00000006071	Q09428	1581	subunit of ATP-sensitive potassium channel	5w81 (ATP bound)[zebrafish CFTR][40]
	ABCC9	ENSG00000069431	O60706	1549	subunit of ATP-sensitive potassium channel	
	ABCC10	ENSG00000124574	Q5T3U5	1492	lipophilic anion extrusion	
	ABCC11	ENSG00000121270	Q96166	1382	enhance the cellular extrusion of cAMP and cGMP	
	ABCC12	ENSG00000140798	Q96065	1359	putative transporter	
ABCD	ABCD1	ENSG00000101986	P33897	745	putative transporter	
	ABCD2	ENSG00000173208	Q9UBI2	740	putative transporter	
	ABCD3	ENSG00000117528	P28288	659	branched-chain fatty acid transporter	
	ABCD4	ENSG00000119688	O14678	606	intracellular processing of vitamin D	
ABCE	ABCE1	ENSG00000164163	P61221	599	RNase L inhibitor (no TMD)	
	ABCF1	ENSG00000204574	Q8NE71	845	mRNA translation initiation (no TMD)	
	ABCF2	ENSG00000330500	Q9UG63	623	unknown (no TMD)	
ABCF	ABCF2	ENSG00000330500	Q9UG63	623	unknown (no TMD)	
	ABCF3	ENSG00000161204	Q9NUQ8	709	antiviral effect against flaviviruses (no TMD)	
	ABCG1	ENSG00000160179	Q9BXL1	678	macrophage lipid homeostasis	
ABCG	ABCG2	ENSG00000118777	Q86V64	655	High-capacity urate exporter	5do7 (apo form)[human ABCG5/ABCG8][27]
	ABCG4	ENSG00000172350	Q9H172	646	macrophage lipid homeostasis	6hbu (ATP bound)[human ABCG2][41]
	ABCG5	ENSG00000138075	Q9H222	651	sterol transporter	
	ABCG8	ENSG00000143921	Q9H221	673	sterol transporter	

Tabla 5. Familia de transportadores ABC¹⁷⁵. Tomada de Sakamoto., 2019

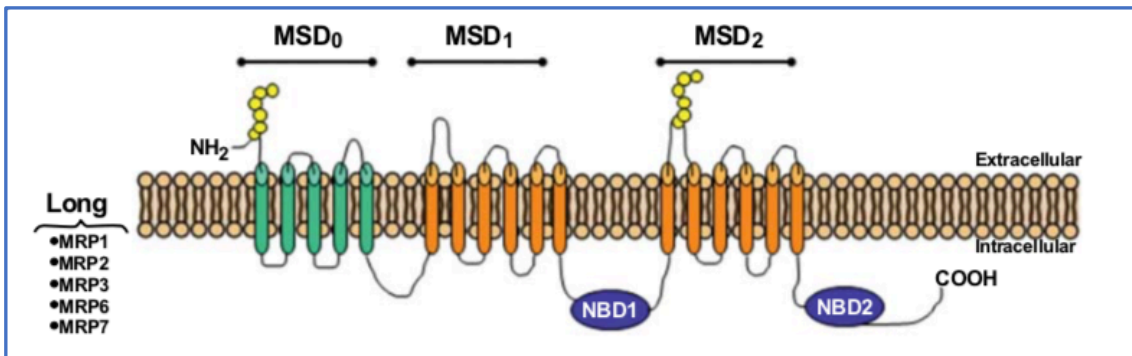


Figura 15. Estructura bidimensional del transportador MRP2. Se compone de 17 helices transmembrana y tres dominios hidrofóbicos implicados en el transporte de sustratos ¹⁷⁵. (Ghanem, 2019.)

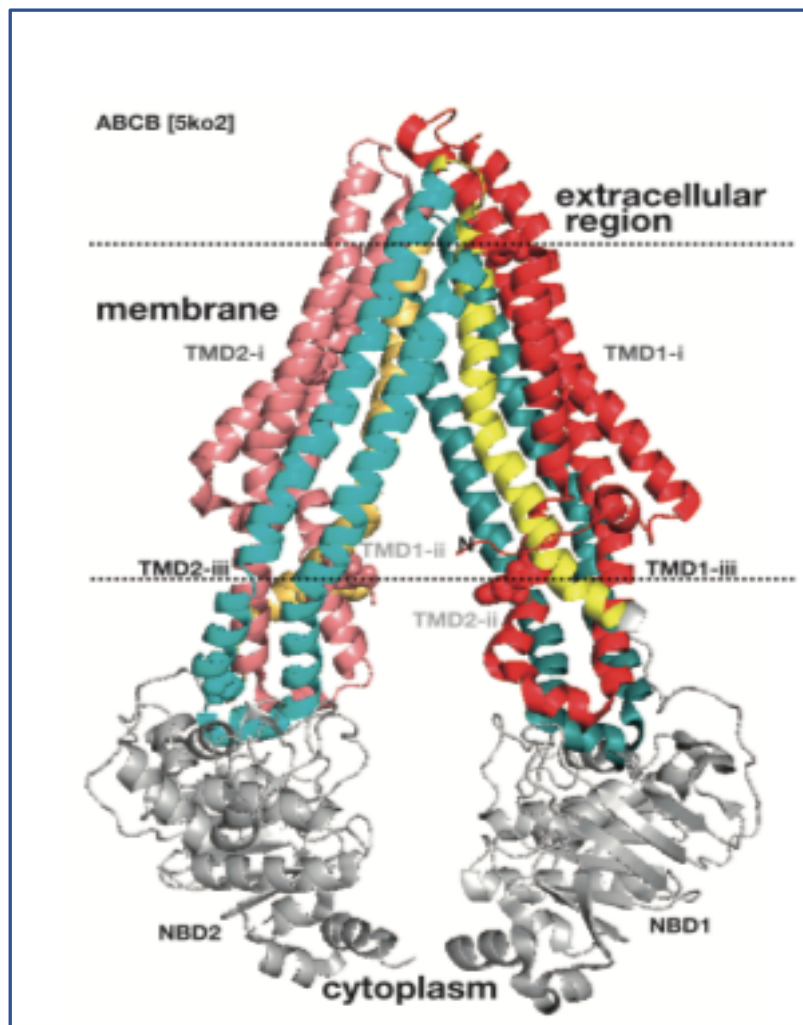


Figura 16. Estructura tridimensional de la subfamilia ABC-C y ABC-B ¹⁷⁵ (Sakamoto et al., 2019)

3.9.2 Substratos, expresión y regulación del transportador MRP2.

El mecanismo de transporte que utiliza el transportador MRP2 se ha estudiado a nivel experimental, in vitro e in vivo (en ratones, fundamentalmente) ¹⁷⁶. Los substratos del transportador MRP2 más frecuentemente identificados han sido moléculas conjugadas o no conjugadas procedentes del hepatocito que son movilizadas desde el citoplasma hacia los canalículos biliares ¹⁷¹. Estos substratos han sido estudiados desde los últimos 20 años siendo la lista cada vez más amplia. Se ha descrito que el transportador MRP2 cumple una función diferente de acuerdo con la línea celular que ocupe y a su expresión en esta misma ²⁰¹. Los transportadores localizados en la membrana apical excretan sus sustratos hacia la bilis, pero si se localizan en la membrana basolateral, excretarán sus substratos hacia la sangre y de ahí al torrente circulatorio¹⁷⁴. (Figura 17)

El transportador MRP2 se localiza principalmente en el hígado, intestino y túbulos renales, y su localización habitual es en la membrana apical de estos tejidos lo que implica la excreción de moléculas a la bilis, la luz intestinal y a la orina ^{177,178}

También se ha descrito la presencia de proteínas MRP en el pulmón ¹⁷⁹, por lo que si éstas se expresan apicalmente, podrían estar involucradas en el transporte de compuestos nocivos a la luz del pulmón^{180,181}. También se ha descrito la presencia del transportador en los linfocitos, cuya función aún no está bien definida ³⁵

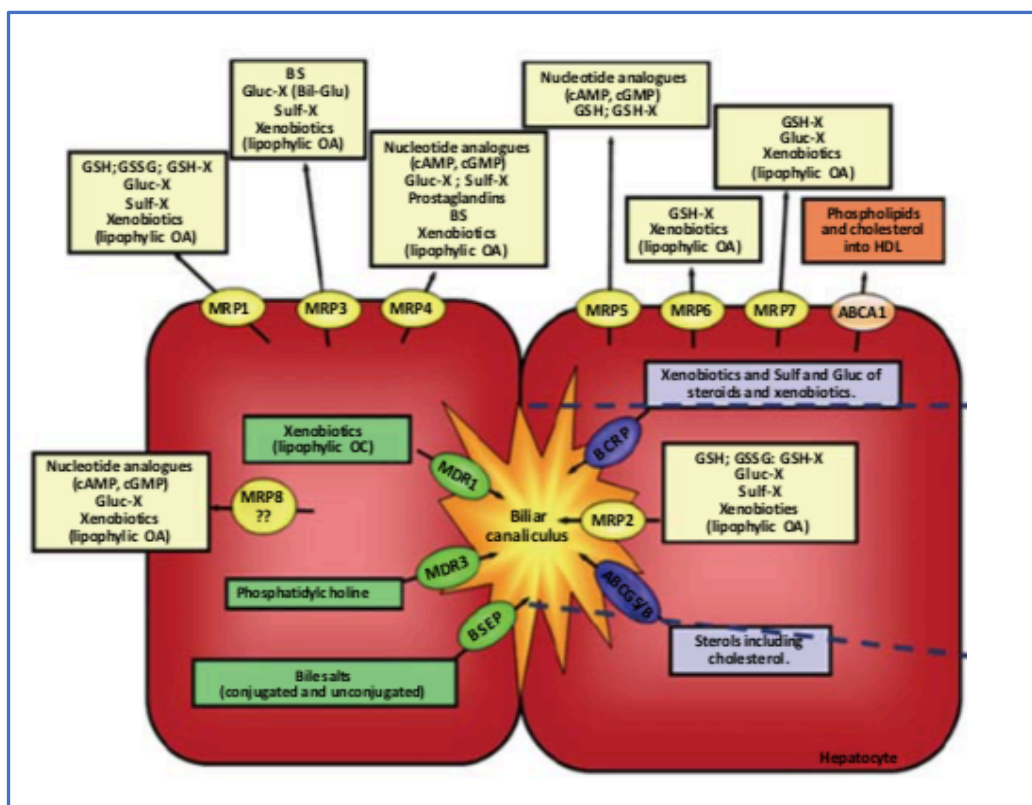


Figura 17. Esquema de localización del transportador mrp2 en la membrana apical del hepatocito y sus substratos principales. Tomada de Ghanem, 2019.

En general, el conocimiento de los factores inductores de una enzima o transportador ayuda a entender la función de este. Aún no queda claro cual es el mecanismo exacto de regulación de expresión y degradación del transportador MRP2, pero se consideran inductores de su expresión las moléculas conocidas como xenobióticos¹⁷⁴, como por ejemplo los fármacos, contaminantes o algunos nutrientes¹⁸². También se ha descrito que algunas situaciones patológicas pueden inducir la expresión de estos transportadores como son la inflamación^{183,184}, la hipoxia¹⁸⁵, o el humo del tabaco^{181,186}.

En el caso de la inflamación, se ha postulado que la propia inflamación puede alterar la expresión del transportador ABC, lo que, de forma indirecta, también podría alterar otras funciones, como el metabolismo de fármacos. De este modo se podría entender que una situación de mayor inflamación implique mayor toxicidad

farmacológica o menor efecto¹⁸⁴. En la Figura 18 se resume lo factores que han sido descritos que pueden influir en la expresión de los transportadores ABC.

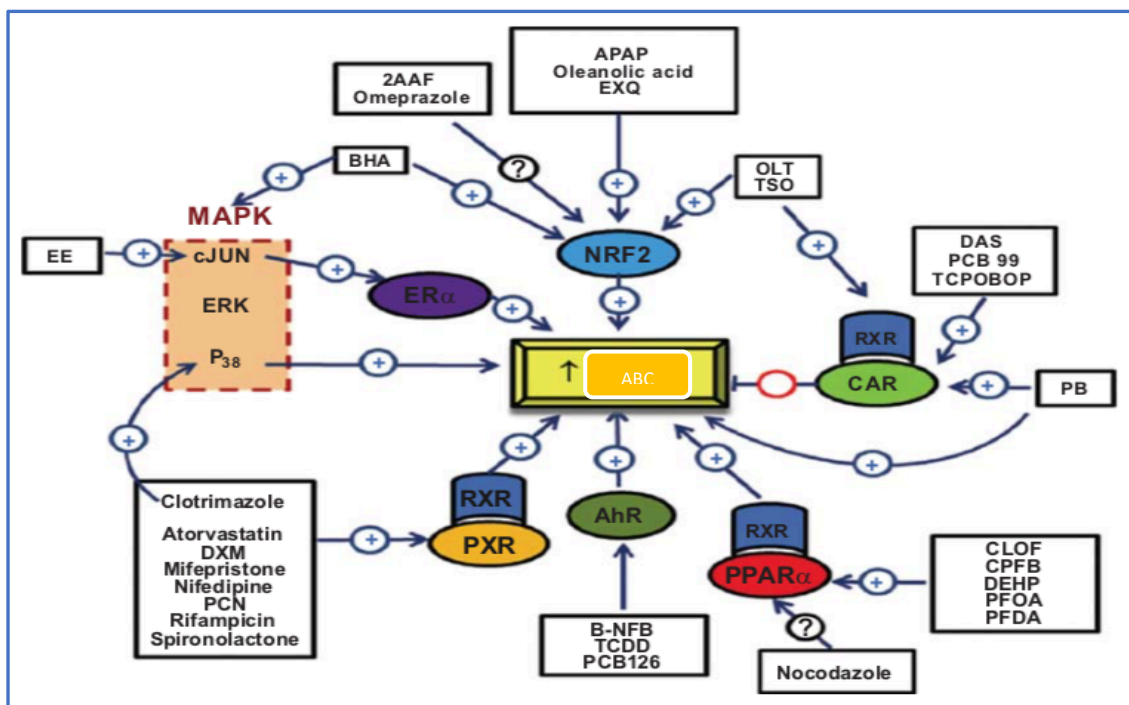


Figura 18. Factores que influyen en la expresión de transportadores ABC¹⁹⁸. La imagen resume los diferentes xenobióticos que han sido descritos como inductores de ABC y también se categorizan por su hasta ahora mecanismo putativo de la inducción. Abreviaturas: 2AAF, 2- acetilaminofluorena; APAP, acetaminofén; BHA, butilado hidroxianisole; β -NFB, β -naftoflufvona; CLOF, clofibrato; CPFB, ciprofibrato; CTZ, clotrimazol; DAS, sulfil-DES (DEL) ftalato; DEX, dexametasona; EE, ethynylestradiol; EXQ, ethoxyquin; OLT, oltipraz; PB, fenobarbital; PCB126, policlorinado bifenilo 126; PCB99, poli- clorado bifenilo 99; PFOperforoácido, ácido Pperfinoico, ácido PCN, pregnenalone- 16 α - carbonitrilo; RU 486, mifepristona; SPR, spironolactona; TCDD, 2,3,7,8-tetracloroarior-p-dioxina; TCPOBOP, 1,4-bis(2- (3,5-diclorina) Benceno; TSO, Óxido de Trans-estileno. Tomada de Ghanem, 2019

3.9.3 Funciones atribuidas al transportador MRP2.

En cuanto a las funciones del transportador MRP2, en los últimos 20 años, ha crecido el interés en el conocimiento de esta familia de transportadores, ya que aunque inicialmente sólo se les atribuyó propiedades referidas al **transporte de moléculas** y la **resistencia a quimioterapia**, se ha evidenciado su implicación en la “*protección del organismo*” y en procesos tan importantes como la **detoxificación**, la **inflamación** y la

carcinogénesis ¹⁷¹. Otra de sus funciones más conocidas, y con gran importancia en el ámbito del trasplante renal, es su papel en el **metabolismo de fármacos inmunosupresores**, con un rol esencial en la circulación enterohepática³⁵. En las siguientes líneas resumimos sus principales funciones.

- **Detoxificación:** La función de este tipo de transportadores incluye proteger al organismo de toxinas, bacterias, carcinógenos y drogas. Desde los organismos unicelulares hasta los humanos, varias proteínas ABC juegan un papel importante en los procesos de detoxificación. Desde los años 1997 se le ha atribuido al transportador MRP2 un papel importante en la excreción hacia la bilis de metabolitos tóxicos, como carcinógenos implicados en el cáncer de intestino y de mama ^{187,188}, o bisfenoles, entre otros¹⁸⁹. Además, de forma histórica, se les ha atribuido a estas proteínas una función antioxidante^{190,191}, ya que se ha demostrado su actividad en situaciones de incremento del estrés celular hepático, mediante el aumento de excreción de GSH (glutación reducido)¹⁹¹
- **Inflamación:** En los modelos humanos de inflamación e infección, existen de forma fisiopatológica cambios a nivel hepático que implican la liberación de múltiples proteínas, conocidas como respuestas de fase aguda. Estas reacciones implican el aumento de concentraciones plasmáticas de moléculas que son liberadas a la sangre desde el hígado gracias a proteínas transportadoras ¹⁹². En las últimas décadas, se ha reconocido un papel *proinflamatorio* de las proteínas transportadoras ABC en los procesos de inflamación¹⁹³, principalmente mediante el transporte de moléculas inflamatorias al torrente sanguíneo, como prostaglandinas, las interleuquinas (IL)-1, IL-6 y tumor necrosis factor-alpha (TNF- α)¹⁹³. En estudios muy recientes, se les ha atribuido la función de la regulación de la opsonización de neutrófilos, en infecciones pulmonares¹⁹⁴.

De hecho, en otros estudios recientes se ha identificado un papel importante de la familia de transportadores ABC en el desarrollo de enfermedades inflamatorias crónicas, como el EPOC¹⁸¹ o la enfermedad inflamatoria intestinal^{195,196}.

- **Carcinogénesis:** Los transportadores ABC también podrían tener alguna implicación en el proceso de oncogénesis de acuerdo a estudios recientes. Se ha planteado que algunos tumores podrían asociarse con un déficit en la eliminación del organismo de moléculas cancerígenas, como por ejemplo el humo del tabaco en el cáncer de pulmón. Las proteínas ABC podrían jugar un papel detoxificador, en el que su función principal es la de exportar moléculas cancerígenas al exterior de la célula y del organismo, y se han descrito precisamente su implicación en el humo del tabaco^{181,197}. Además, también se ha descrito que situaciones de inflamación persistente pueden favorecer el desarrollo y progresión de neoplasias. La familia de transportadores ABC podría tener alguna implicación en situaciones de inflamación persistente. Este proceso está mejor descrito en el cáncer colorrectal.¹⁹⁸ En los últimos años están aumentando las publicaciones que demuestran el papel de las proteínas ABC en procesos pro oncogénicos o relacionados con la inmunovigilancia¹⁹⁹ y señalización, como en la vía de nucleótidos cíclicos²⁰⁰, prostaglandinas²⁰¹ o la actividad de la función de las células Natural Killer^{202,203}.

Es importante destacar que los resultados de estos estudios son aún muy preliminares o realizados en modelos experimentales, por lo que no sería adecuado asumir conclusiones definitivas. Sin embargo, a la luz de estos hallazgos recientes, podría ser interesante ampliar el concepto de las funciones atribuidas de forma histórica a las proteínas ABC (transportadores de moléculas y quimiorresistencia) e identificarlas como un posible punto clave en el desarrollo de complicaciones del paciente trasplantado renal (inflamación, infección o neoplasia) ya que estas proteínas podrían jugar un papel múltiple en estos procesos. Además, estas proteínas pueden influir en el **metabolismo de**

los fármacos inmunosupresores, especialmente del micofenolato, viéndose involucradas en diferentes puntos de su metabolismo, lo que puede afectar a las concentraciones del fármaco o de sus metabolitos en sangre o en el propio órgano diana ³⁵. En la figura 19 se esquematizan los puntos en los que las proteínas ABC podrían tener un papel importante en la detoxificación, la inflamación o infección y la carcinogénesis en el paciente trasplantado renal con tratamiento inmunosupresor.

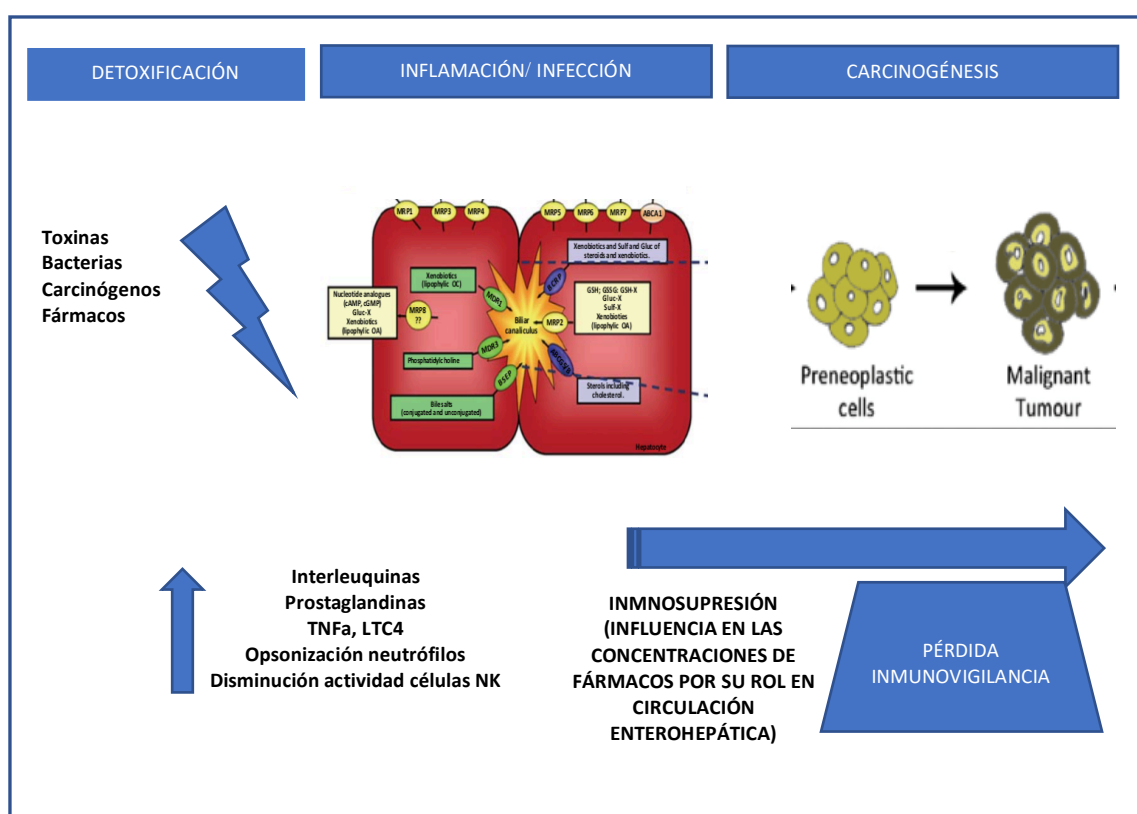


Figura 19. Esquema de los mecanismos en los que las proteínas ABC podrían tener un papel importante en la detoxificación, la inflamación y la carcinogénesis en el paciente trasplantado renal con tratamiento inmunosupresor. Inicialmente las proteínas ABC se encargan de la extrusión de toxinas, bacterias, carcinógenos y fármacos¹⁸¹ Estas moléculas en el organismo favorecen la inflamación¹⁹² o infección que puede ser perpetuada por el efecto proinflamatorio de las proteínas ABC^{192,193,201}. Estos mecanismos proporcionan un microambiente inflamatorio e infeccioso que se podría perpetuar por una disminución de actividad del sistema inmune, resultado del tratamiento inmunosupresor o efecto de las propias proteínas ABC, como por ejemplo la actividad de las células NK^{202,203} lo que podría favorecer los procesos de oncogénesis. Realizada por Beatriz Rodríguez Cubillo (Texto adaptado de Gallo, 2018)²⁰⁴

- **Resistencia a quimioterapia:** Otro punto clave de las funciones de las proteínas transportadoras ABC (históricamente conocido) es la resistencia a los

tratamientos quimioterápicos debido a la exportación del fármaco desde la célula tumoral al exterior. Este concepto se relaciona directamente con la progresión tumoral ya que implica la resistencia al tratamiento. Las bombas ABC son transportadores activos principales involucrados en la barrera y funciones secretoras de muchas células sanas¹⁷¹. Las células cancerosas explotan esta capacidad para protegerse de los medicamentos citostáticos. ABC, MDR1, MRPs y BCRP son capaces de exportar muchos medicamentos antitumorales, además de modificar su expresión (up-regulating) durante el tratamiento ^{186,205}.

3.9.4 Polimorfismos de MRP2. Polimorfismo MRP2 (-24 CT).

Como se ha descrito previamente, el transportador MRP2, con un peso molecular de 190 kDa y 1545 aminoácidos es el transportador más grande de la familia de proteínas ABC. El gen humano MRP2/cMOAT contiene 32 exones y 31 intrones. El exon 1 contiene el 5'-UTR y el primer 33 bp de la secuencia de codificación, mientras que el exon 32 contiene un 130-bp de la secuencia de codificación y el resto es 3'-UTR.¹⁷⁵

Ito et al. estudiaron por primera vez los polimorfismos asociados al gen MRP2 en 2001, a través de un estudio en 48 japoneses voluntarios sanos. Se identificaron 6 polimorfismos, de los cuales el SNP **rs717620** (-24 CT) se identificó en un 18.8% de los pacientes estudiados, y afecta a la región promotora del gen²⁰⁶. Desde entonces, se ha seguido investigando en esta línea, y actualmente se siguen realizando estudios para describir polimorfismos de este transportador y el resto de subgrupos de esta familia (Figura 20), y así conocer cuáles son las implicaciones funcionales y clínicas de estos polimorfismos ^{175, 207, 208}.

SNP	Position ¹	Nucleotide Change	Allele Frequency ²				
			CA	AA	AS	ME	PA
rs17222653	-1563	G>A	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000
rs1885301	-1549	G>A	0.430	0.485	0.150	0.200	0.357
rs17222667	-1292	A>G	0.000	0.015	0.000	0.000	0.000
rs17222646	-1239	G>A	0.005	0.030	0.000	0.050	0.000
rs17216128	-1065	C>A	0.000	0.005	0.000	0.050	0.000
rs45593436	-1059	insG	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000
rs7910642	-1023	G>A	0.150	0.135	0.267	0.300	0.429
rs2804402	-1019	A>G	0.430	0.365	0.167	0.200	0.357
rs17222533	-798	C>A	0.000	0.005	0.000	0.000	0.000
rs17216135	-733	G>A	0.000	0.000	0.017	0.000	0.000
rs717620	-24	C>T	0.195	0.060	0.150	0.150	0.286
rs17216156	-23	G>A	0.000	0.000	0.000	0.000	0.143

Figura 20. Variantes descritas en la región promotora del gen del del transportador ABCC2. ¹Las posiciones de los nucleótidos están numeradas en la distancia desde el sitio de inicio de la traducción (+1). ²Se expresan las frecuencias para cada grupo étnico: CA, caucásicos (n=200); AA, afroamericanos (n=200); AS, asiáticos (n=60); ME, mexicanos (n=20); PA, isleños del Pacífico (n=14). (Nguyen 2013)

3.9.5 Asociación del polimorfismo MRP2 (-24 CT) y concentraciones de MPA.

Varios trabajos han intentado analizar el impacto de polimorfismos de este transportador en la farmacocinética del MPA. La mayoría muestran un aumento discreto en la exposición al MPA en pacientes portadores del polimorfismo, aunque los resultados son controvertidos y no han demostrado la asociación entre el polimorfismo MRP2 y consecuencias clínicas.

Naesens et al.²⁰⁹ evaluaron el impacto de 7 polimorfismos de ABCC2 en la farmacodinámica del MPA en 95 trasplantes renales en tratamiento con tacrolimus y esteroides, y observaron que el promotor **rs717620** (-24 CT) asoció concentraciones significativamente más altas de MPA en las primeras 12h (AUC_{0-12h}), medido mediante

curvas abreviadas corregidas a dosis de micofenolato los días 42, 90 y 360. También fueron más altas las concentraciones predosis de MPA en estas mismas determinaciones. Curiosamente no se observaron diferencias en las concentraciones de MPA en el tramo de 0-4h. En el día 7, observaron que las concentraciones de MPA fueron más altas (AUC_{0-12h}) especialmente en pacientes con insuficiencia hepática moderada (tabla 6). En un estudio reciente realizado en 408 trasplantados renales procedentes de un hospital en China, los autores han observado que el SNP **rs717620** (-24 CT) asocia niveles de MPA pre dosis (co) mayores en portadores frente a no portadores del polimorfismo. Esta diferencia es significativa si comparan la variante homocigota (TT) frente al conjunto de pacientes no portadores y heterocigotos CC/CT. (p 0.045)²¹⁰. En la tabla 6, se resumen los resultados de los estudios más relevantes realizados hasta la fecha en este ámbito. En resumen, la mayoría de los estudios han mostrado un aumento muy discreto de la exposición al MPA en pacientes portadores del polimorfismo, aunque sin alcanzar la significación estadística. No obstante, en la mayoría de estos estudios, los pacientes recibían ciclosporina como tratamiento inmunosupresor concomitante, o se han analizado en conjunto los pacientes en tratamiento con tacrolimus y sirolimus, lo que podría enmascarar el efecto del polimorfismo⁶³⁻⁶⁸. Además, en ninguno de estos trabajos los pacientes tomaban EC-MPS, sino MMF, y en algunos se realizó el estudio farmacocinético mediante curvas abreviadas, lo que podría obviar el efecto de un segundo pico de concentración del fármaco secundario a una mayor actividad de la circulación enterohepática^{93, 178}.

INTRODUCCIÓN

	n	TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR	TIPO CURVA (n extracciones)	AUC MPA	SIGN ESTADÍST.
FUKUDA 2013 ²¹¹ n=32 pediátricos	CC: 25 CT: 7 TT: 0	MMF, TAC/SRL, PRED	Abreviada (pre, 20', 1h, 3h)	CC<CT + UGT 19 30.7 ± 12.0 Vs. 66.8 ± 4.9	p 0.010
GENG 2011 ²¹² 42 (China)	CC: 22 CT: 8 TT: 2	MMF, CSA, PRED	Completa (15)	CC>CT>TT 31.77 ± 12.41 27.64 ± 10.32 20.78 ± 14.62	NO SIGN
LLOBERAS 2011 ²¹³ (SYMPHONY) n=55 (adultos, España) PK: día 7, mes 1, mes 3	CC:30 CT:16 TT: 2	a)MMF & CSA (n=30) CC:14 CT:7 CC: 0 b) MMF & FK (n=13)&SRL (n=23) CC:10 CT:8 CC:0	Completa (12)	CC<CT a) día 7 AUC total 51.88±20.5 Vs. 36.14 ±12.33 a) día 7 MPA libre 1.051 ±0.507 1.652 ±0.428 b) AUC total mes1/3 CC>CT b) MPA libre mes 3 CC>TT	p 0.030 p 0.003 p 0.001 p 0.003
MIURA 2007 ²¹⁴ n=87 (Japón) PK: día 28	CC: 47 CT: 37 TT: 4	MMF, FK, PRED	Completa (8) (0, 1, 2, 3, 4, 6, 9, y 12 h)	CC<CT 94±37 Vs. 98±42 (µg·h/mL/g)	NO SIGN
NAESENS 2006 ²⁰⁹ n= 95 (adultos, Europa) PK: día 7,42,90,360	CC: 54 CT: 38 TT: 3	MMF, FK, PRED a)No insuficiencia hepática b)Sí insuficiencia hepática	Abreviada (0, 20, 40, 75 Y 120 min)	CC>CT 53.7± 33.3 Vs. 47.7±17.7 CC< CT 22.4 ± 10.3 Vs. 52.3± 24.1	NO SIGN p 0.002
PICARD 2010 ²¹⁵ (adultos, Europa) PK: 3-6 meses N=70 N=115	CC:49 CT:19 TT:3 CC:68 CT:35 TT:12	MMF, FK (48) // SRL (28) MMF, CSA	Completa 0-12h (0, 20, 40, 60, 90, 120, 180, 240, 360, 540 min) Abreviada (20, 60 and 180min)	CC<CT < TT 64.1±33.0 Vs. 67.4 ± 33.6 Vs. 68.0± 27.7 CC<CT > TT 40.5.1±33.0 Vs. 53.6 ± 26.6 Vs. 39.9.0± 26.7	NO SIG P 0.008
ZHANG 2008 ²¹⁶ n=98 (China) PK: día 30	CC:15 CT:79 TT:4	MMF, CSA, PRED	Completa 0-12h (0.5, 1, 1.5, 2, 4, 6, 8, 10, 12 h)	Valores no especificados, pero no diferencias	NO SIGN
LI LQ 2018 ²¹⁰ N=408 (China) PK: día 3-8	408 (China) CC/CT/TT:no especificado	MMF, CSA/FK, PRED	Concentración predosis (Co)	Valores no especificados. TT > CT/TT	p 0.045

Tabla 6. Resumen de publicaciones que estudian el impacto del polimorfismo MRP2 en la farmacocinética del micofenolato.

3.9.6 Impacto clínico del polimorfismo MRP2 (-24 CT).

Existen múltiples estudios que han analizado el impacto de polimorfismos genéticos sobre eventos clínicos asociados al trasplante renal, aunque con resultados poco clarificadores, por lo que actualmente no se utilizan de forma sistemática en la práctica clínica habitual²¹⁷.

En los últimos años, están aumentando las publicaciones que implican a polimorfismos de la familia ABC con mayor riesgo de complicaciones asociadas al trasplante renal, como el estudio de Naesens et al²⁰⁹. Estos demostraron que el polimorfismo MRP2(-24 CT) asociaba más riesgo de diarrea. Kiang et al. en 2018 observaron una asociación entre el polimorfismo MRP2 G1249A y mayor riesgo de neutropenia²¹⁸.

En una revisión reciente (Figura 21), en trasplante cardíaco pediátrico, se ha descrito la asociación de diferentes polimorfismos de transportadores ABC con diferentes eventos relacionados con el trasplante (rechazo, infecciones o alteraciones en las concentraciones de inmunosupresores)²¹⁹.

Genes	SNPs	Phenotype	References
ABCB1	rs1045642, rs1128503, rs2032582, rs2235013, rs2235033	Cyclosporin levels	10
ABCB1	C3435T	Steroid dependency, steroid weaning	11,12
ABCB1	C3435T, G2677T	Tacrolimus levels	13
ABCB1	C3435T, G2677T	Acute rejection	14
ABCB1	rs2066844	Graft rejection	15
ABCB1	rs9282564	Renal function	15
ABCB1	rs1045642	Infections	15
CYP3A5	rs776746	Tacrolimus levels, dose, clearance	13,16-19
CYP3A5	rs776746	Renal function	20
TGFB1	rs1800471	Acute rejection	21
TGFB1	rs1800471	Cardiac allograft vasculopathy	22-26
TGFB1	rs1800471	All rejection (chronic and acute)	24
TGFB1	rs1800471, rs1800470	End-stage renal failure, renal function	27-29

ABCB1, ATP binding cassette subfamily B member 1; CYP3A5, cytochrome P450 family 3, subfamily A, member 5; TGFB1, transforming growth factor beta-1.

Figura 21. Impacto clínico de polimorfismos de la familia ABC en pacientes trasplantados (van Setten, 2019)²⁴⁷

4. JUSTIFICACIÓN

En resumen, desde finales de los años 90 se ha intentado identificar herramientas y estrategias que permitan individualizar el tratamiento del paciente trasplantado renal. Se han realizado estudios de farmacocinética y de farmacogenética, pero, hasta la fecha, son poco concluyentes y difíciles de llevar a la práctica clínica real. La mayoría de estos estudios, además, se han realizado con un esquema de tratamiento que no es el que se utiliza en la actualidad (ciclosporina y MMF en vez de tacrolimus y EC-MPS), y con un número pequeño de pacientes.

Con esta investigación, pretendemos encontrar una herramienta actual, aplicable a la práctica clínica habitual de forma sencilla y económica, que permita seleccionar a pacientes más sensibles al tratamiento inmunosupresor, de forma que se les pueda proporcionar una cobertura inmunosupresora que evite el rechazo, reduciendo el riesgo de complicaciones asociadas a un exceso de inmunosupresión, preferentemente antes de que ocurran.

HIPÓTESIS

5. HIPÓTESIS DEL ESTUDIO.

Los pacientes trasplantados renales en tratamiento con ácido micofenólico portadores del polimorfismo (-24 CT) del transportador MRP2 tienen un riesgo aumentado de diarrea, leucopenia, infección grave (de cualquier etiología excepto CMV), infección por CMV, neoplasia o necesidad de cambio de tratamiento inmunosupresor.

5.1 OBJETIVO PRINCIPAL.

Evaluar la posible asociación entre la presencia del polimorfismo MRP2 (-24 CT) con diarrea grave, leucopenia, infección grave (de cualquier etiología excepto CMV), infección por CMV, neoplasia o necesidad de cambio de tratamiento inmunosupresor en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato.

5.2 OBJETIVOS SECUNDARIOS

5.2.1 Investigar si existe asociación entre las concentraciones de micofenolato y la presencia del polimorfismo MRP2 (-24 CT).

5.2.2 Estudiar otros factores de riesgo asociados a cada una de las complicaciones a estudio.

MATERIAL Y MÉTODOS

6. MATERIAL Y MÉTODOS.

6.1 Diseño del estudio.

Se trata de un estudio observacional de cohortes retrospectivo, que incluye pacientes trasplantados renales atendidos por el servicio de Nefrología del Hospital Clínico San Carlos.

Los pacientes fueron estratificados en base al polimorfismo genético evaluado (MRP2 (-24 CT), para poder analizar su influencia en la incidencia de los **eventos clínicos** relevantes y en la **farmacocinética del MPA**.

El estudio fue aprobado por el comité ético de ensayos clínicos del Hospital Clínico San Carlos y ha sido realizado de acuerdo con las Guías de Buena Práctica Clínica y los preceptos de la Declaración de Helsinki (MRC 1998) sobre los principios éticos para la investigación que involucra a seres humanos. Todos los pacientes fueron informados detalladamente de los objetivos del estudio, y firmaron el consentimiento informado.

Para el estudio de nuestros objetivos se llevaron a cabo los análisis en dos grupos de pacientes de forma independiente, uno para el estudio de **eventos clínicos**, y otro para el estudio de **farmacocinética**.

6.2. Material

6.2.1 Pacientes

Para el estudio de eventos clínicos, se analizó de forma retrospectiva la cohorte de pacientes trasplantados renales entre el 1 de enero del 2007 y el 31 de octubre de 2011 en el Hospital Clínico San Carlos.

Criterios de inclusión:

1. Pacientes mayores de 18 años que recibieron un trasplante renal de donante cadáver en la unidad de trasplante del Hospital Clínico San Carlos del Servicio de Nefrología, durante el periodo de estudio a los que se les realizó el análisis genético del polimorfismo MRP2 (-24 CT).

2. Pacientes que hubieran firmado el consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

1. Pacientes de los cuáles no disponemos análisis genético ya que sufrieron disfunción primaria del injerto (DPI) o éxitus antes de la realización del análisis.
2. Pacientes que a pesar de disponer de análisis genético, presentaron disfunción primaria del injerto (DPI) o éxitus en el trasplante inmediato y por tanto no recibieron micofenolato a medio-largo plazo.
3. Pacientes con insuficiencia hepática grave.
4. Pacientes que habían recibido cinco o más trasplantes

La muestra que se incluyó en el análisis final fue de 300 pacientes (Figura 22).

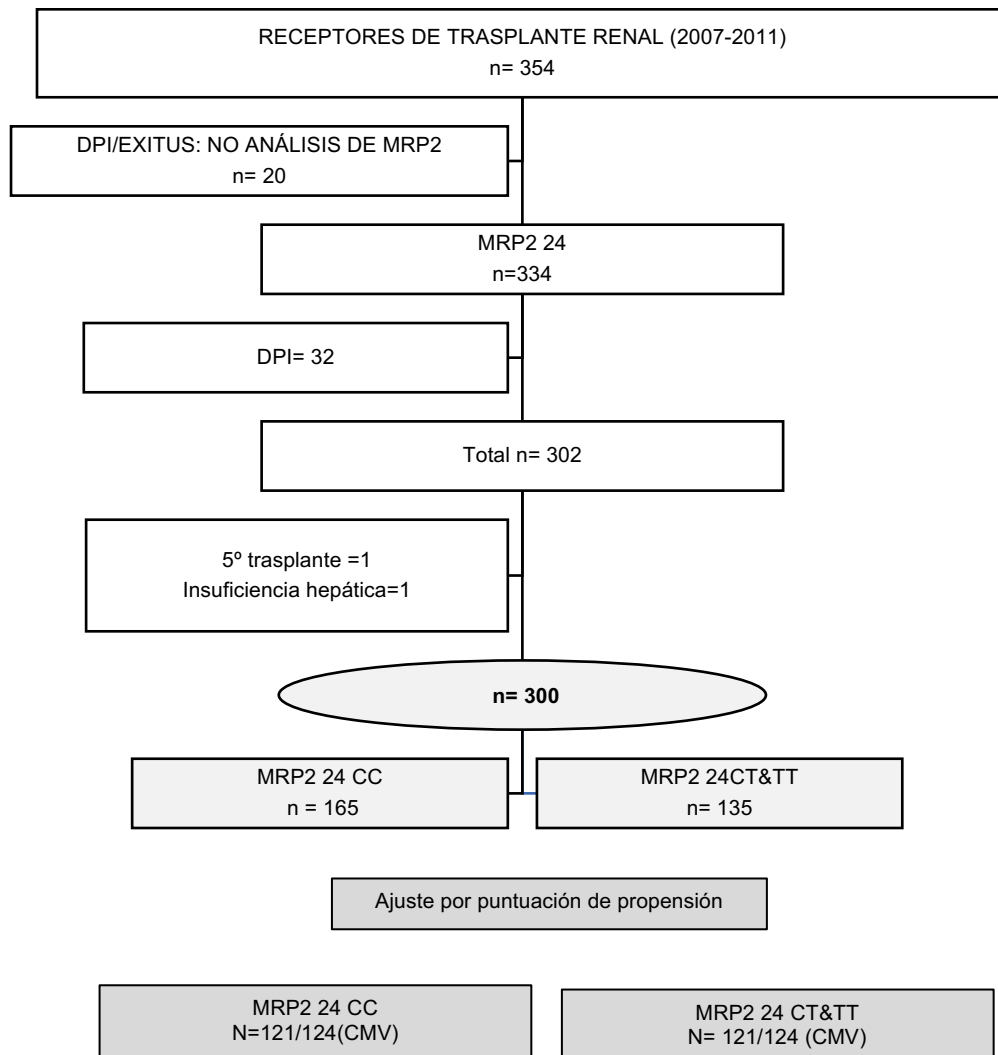


Figura 22. Diagrama de selección de pacientes para el estudio de complicaciones del trasplante. DPI: Disfunción Primaria del Injerto.

Para el estudio del impacto en la farmacocinética del MPA, del polimorfismo MRP2 (-24 CT) se realizó un estudio trasversal que utilizó una muestra de pacientes trasplantados renales, también genotipados para el polimorfismo MRP2 (-24 CT) a los que se les determinó las concentraciones sanguíneas de MPA mediante la realización de áreas bajo la curva con 13 extracciones sanguíneas. Se realizaron un total de 150 áreas bajo la curva de 12h de concentraciones sanguíneas de micofenolato entre el año 2007 y 2009. Para evitar sesgos relacionados con la medicación inmunosupresora se realizó un segundo análisis que sólo incluyó a los pacientes en tratamiento concomitante con tacrolimus (Prograf ®), n= 117 pacientes (Figura 23).

Criterios de inclusión:

1. Pacientes mayores de 18 años, que hubieran recibido un trasplante renal al menos un año antes de la realización de las curvas farmacocinéticas, a los que se les realizó el análisis genético del polimorfismo MRP2 (-24 CT).
2. Pacientes que estuvieran recibiendo tratamiento con micofenolato mofetil (MMF) o micofenolato sódico con cubierta entérica (EC-MPS), sin modificación de dosis en los últimos 2 meses).
3. Pacientes estables, con una función renal estable en el último año.
4. Pacientes que hubieran firmado el consentimiento informado.

Criterios de exclusión:

1. Pacientes con una situación que pudiera interferir en la farmacocinética del MPA como insuficiencia renal (creatinina sérica > 3 mg/dl), diabetes mellitus o enfermedad del aparato digestivo y /o tratamientos que pudieran interferir en la absorción de micofenolato (resinas, quelantes de fosfatos, rifampicina, antiácidos y metronidazol).

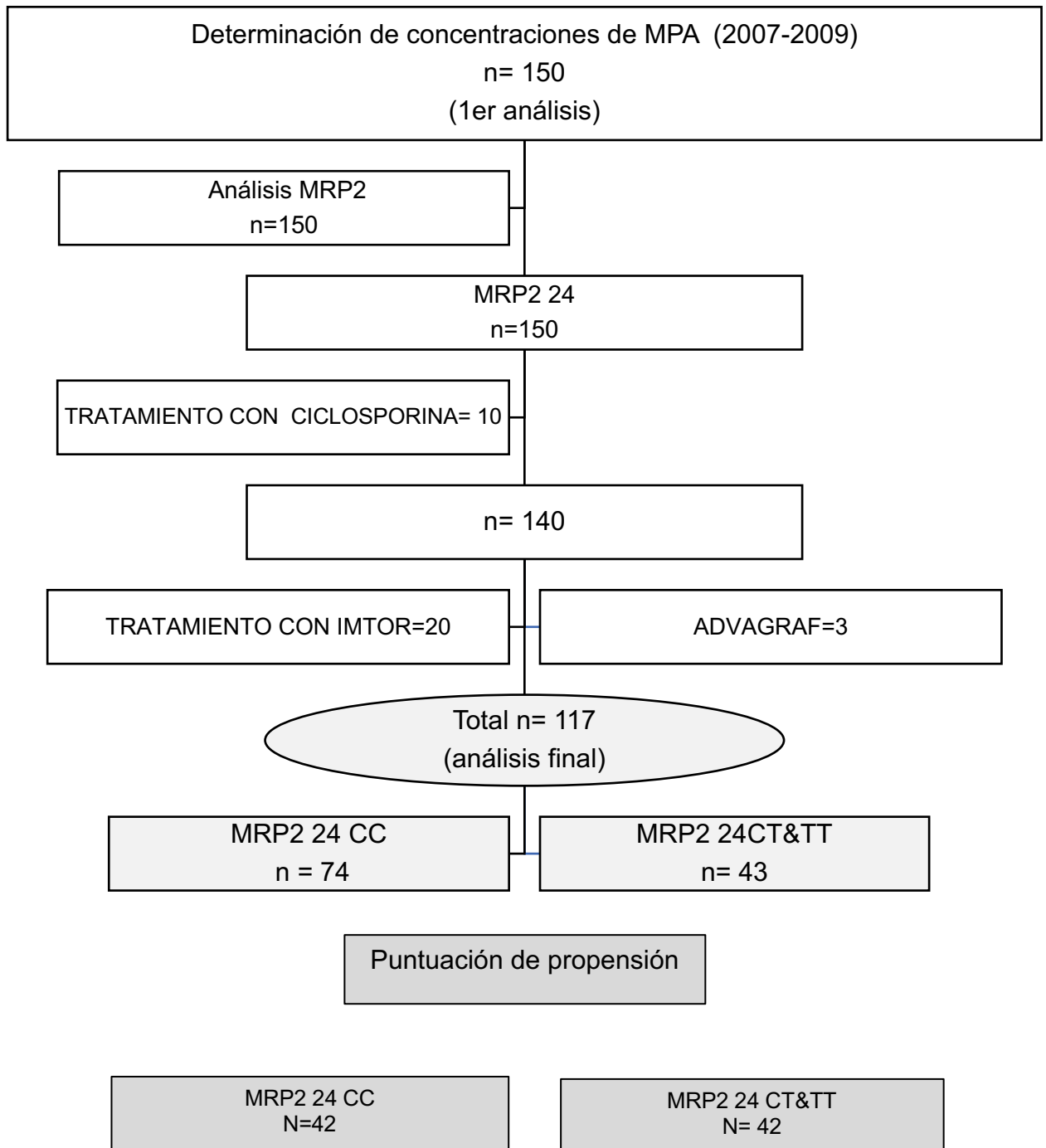


Figura 23.. Diagrama de selección de pacientes para el estudio de farmacocinética.

6.2.2 Variables.

Los datos que se recogieron de cada paciente los podemos dividir en variables independientes y en eventos o variables dependientes.

6.2.2.1 Variables independientes.

Además del análisis genético que identificaba a los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT), se registraron otros parámetros analíticos y clínicos, es decir: edad, sexo, hábito tabáquico, causa de enfermedad renal crónica previa (glomerulonefritis, nefropatía tubulointersticial, nefropatía diabética, enfermedad poliquística del adulto, nefropatía no filiada), tipo de donante (asistolia o muerte encefálica), número de trasplantes recibido, tiempo de isquemia fría (en horas), tratamiento inmunosupresor de inducción (uso de timoglobulina y sus dosis), tratamiento de mantenimiento, las dosis iniciales de micofenolato, episodios de rechazo del injerto renal (y su tratamiento) así como el status serológico de CMV (IgG CMV del donante y del receptor) y el tratamiento profiláctico recibido. También se tuvieron en cuenta los episodios de rechazo y el tipo (corticosenible o cortico-resistente) y la función renal basal post trasplante.

En el estudio de farmacocinética del micofenolato se recogieron datos demográficos de sexo, edad, peso, talla, tiempo transcurrido desde el trasplante, tratamiento con Inhibidores de la bomba de protones (IBPs) y las diferentes presentaciones del micofenolato (micofenolato mofetil (MMF) o micofenolato sódico con cubierta entérica (EC-MPS)). También se registraron las dosis de micofenolato administradas previa a la realización de las curvas así como las dosis y niveles de tacrolimus el mismo día de la realización de los análisis.

6.2.2.2 Variables dependientes (eventos a estudio).

Los eventos a estudio fueron la diarrea grave (que requirió hospitalización), leucopenia, infección grave (que requirió hospitalización, sin incluir aquéllas por CMV), infección por CMV, neoplasia y cambios de tratamiento inmunosupresor.

La recogida de esta información se hizo en base a informes clínicos hospitalarios o comentarios clínicos procedentes del seguimiento en consulta de trasplante.

Definición de eventos a estudio:

- **Diarrea.**

Se analizaron de forma independiente la diarrea aguda grave y la diarrea crónica (o recurrente). Se define diarrea aguda de acuerdo a la OMS como la presencia de 3 o más heces sueltas o líquidas por día, o como tener una frecuencia en las deposiciones mayor que lo habitual.²²⁰

Se tuvieron en cuenta los episodios de diarrea aguda que requerían hospitalización (debido a su gravedad, deterioro de la función renal o intolerancia digestiva). No se consideraron estos episodios si tuvieron una muestra de heces positiva para virus, bacteria o parásitos. Tampoco se incluyeron si el paciente tomaba otro tratamiento al que se pudiera atribuir la diarrea, distinto de la terapia inmunosupresora o por causa inflamatoria. La diarrea crónica se define como heces sueltas que duran al menos cuatro semanas. Esto generalmente significa tres o más heces sueltas por día. Esos episodios tampoco se consideraron si se consideraron secundarios a causas infecciosas o inflamatorias.

- **Leucopenia.**

La leucopenia aguda asociada a micofenolato fue definida como recuento de leucocitos $<3.0 \times 10^9/L$ que provocó la interrupción de micofenolato y/o reducción de dosis.²²¹ Se descartaron aquellas relacionadas con infección por CMV, hiperesplenismo, u otros tratamientos. No se incluyeron aquellas detectadas en el primer mes post- trasplante.

La **leucopenia recurrente** se definió como la ocurrencia de más de 2 episodios de leucopenia aguda en un año que no permitían el aumento de dosis de micofenolato.

- **Infección grave (no incluye infección por CMV)**

Se definió la infección grave como aquella que de acuerdo a su sintomatología o afectación de órganos vitales precisaba la hospitalización del paciente²²²

Localización y etiología:

Para el diagnóstico del origen de la infección y la detección del microorganismo (bacteriana, viral, fúngica, o ningún organismo identificado), se realizaron pruebas de microbiología en muestras de orina, esputo, sangre, heces o lavado broncoalveolar.

Infección de orina: se definió de acuerdo a la OMS como la presencia y multiplicación de microorganismos en la vía urinaria con invasión de los tejidos. El diagnóstico se realizó gracias al aislamiento de algún microorganismo en una concentración de > 100.000 UFC/ml y/o síntomas compatibles que requirieron hospitalización y la utilización de tratamiento antibiótico.

Neumonía se definió de acuerdo a la OMS, como síntomas clínicos (tos o dificultad respiratoria y taquipnea ajustada a la edad) más signos radiológicos compatibles con infiltrado pulmonar que precisaran hospitalización. Las **infecciones atípicas** fueron consideradas como aquellas que no correspondían a la etiología bacteriana más frecuente.

Otras infecciones incluyeron heridas de herida quirúrgica, asociadas a vía central, partes blandas o procedentes de sistema ORL.

En el caso del paciente trasplantado renal reciente se consideró infección grave aquella que precisó inicio de tratamiento antibiótico y supuso un empeoramiento en la evolución inicial o aumento de estancia hospitalaria.

Las **infecciones del tracto urinario de repetición** fueron definidas como 2 episodios en los últimos 6 meses o 3 episodios en los últimos 12 meses²²³

Durante el periodo peritransplante inmediato, la profilaxis antimicrobiana consistió en la administración intravenosa de cefazolina (1 g) inmediatamente antes de la cirugía; seguida de una dosis de 1 g/día durante 3 días.

También reciben tratamiento profiláctico de neumonía por *Pneumocystis jirovecii* con trimetoprim-sulfametoxazol (dosis ajustadas a función renal) durante 6 meses después del trasplante).²²⁷

En cuanto a la profilaxis de infecciones de orina de repetición, se realizan cultivos de orina de rutina. Por protocolo se prescribe tratamiento antibiótico en aquellos pacientes con cultivos de orina positivo con síntomas o portadores de catéteres. En aquellos pacientes con antecedentes de ITUs de repetición se ajustó el antibiótico de acuerdo a antibiograma²²⁸.

- **Infección por CMV.**

Se consideró que un paciente tenía infección por CMV y debía ser tratada cuando la carga viral sérica de CMV era superior a 600 copias/ml o 3000 UI/ml, según la técnica de PCR cuantitativa utilizada.

La enfermedad por CMV fue un diagnóstico clínico basado en la combinación de síntomas clínicos más detección viral positiva por CMV (PCR positivo de ADN por CMV o invasión viral en tejidos biopsiados).²²⁴

La metodología para la detección del CMV consiste en la determinación de carga viral de CMV, y se hace mediante la extracción automática del DNA viral presente en las muestras y su posterior detección y cuantificación.

Extracción de DNA: se llevó a cabo mediante el sistema automático Easy-MAG siguiendo las instrucciones del fabricante. Este sistema se basa en la capacidad de la sílice magnética para fijar DNA y RNA y permitir la eliminación de otros compuestos distintos.

Detección y cuantificación de carga viral de CMV:

Entre los años 2005 y 2013 se han utilizado dos técnicas diferentes:

a) CMV R-Gene®. Argene (Biomérieux): Sirve para detectar y cuantificar el genoma del CMV en muestras de sangre total, plasma, LCR, etc. Las muestras se extraen en el sistema automático Easy-MAG ajustando los volúmenes de partida y elución a 200 ul y 50 ul respectivamente. En cada muestra se añade un control interno antes de iniciar el proceso con objeto de comprobar que tanto la extracción como la amplificación se realizan de forma adecuada. La PCR se lleva a cabo en un Termociclador 7500 Real Time PCR System de Applied Biosystem. La carga viral de cada muestra se expresa en copias/ml.

b) Simplexa™ CMV Focus Diagnostic: La extracción del ácido nucleico se realiza igual que en el caso anterior. También se emplea un control interno para valorar

todo el proceso. Al igual que con el sistema de Argene, la señal de amplificación que se obtiene por cada muestra se compara con una curva de calibración y se cuantifica. La PCR se lleva a cabo en el Sustena Ubtegrated Cycler 3M con el software Integrated Cycler Studio versión 5.0. La carga viral se expresa en UI/ml. La equivalencia entre las dos técnicas se evaluó antes de cambiar de sistema y pudo establecerse que, en ningún caso, las diferencias observadas eran mayores que $0,5 \log_{10}$. La equivalencia entre Unidades Internacionales y copias en el sistema de Focus es aproximadamente $1 \text{ copia}=4 \text{ UI}$.

El tratamiento profiláctico para infección por CMV incluyó la administración de ganciclovir desde el inmediato post trasplante y valganciclovir como tratamiento ambulatorio de acuerdo a las recomendaciones, teniendo en cuenta la serología de CMV del donante y el receptor y el tratamiento inmunosupresor de inducción recibido. Los pacientes con serología de alto riesgo (donante IgG-CMV positivo/ receptor IgG-CMV negativo) y aquellos receptores IgG-CMV positivo que hubieran recibido timoglobulina precisaron profilaxis durante 6 meses. Los receptores que no recibieron timoglobulina o cuyo donante fue IgG-CMV negativo, no precisaron tratamiento profiláctico de infección por CMV.

Los pacientes fueron seguidos de acuerdo a un protocolo de rutina después del alta del hospital después del trasplante. A todos los pacientes trasplantados renales se les realizan estudios microbiológicos para descartar la infección por CMV mediante PCR a intervalos semanales después del trasplante durante los primeros 3 meses, cada mes durante el resto del primer año, y luego cada 3 meses desde el segundo año después del trasplante. La frecuencia de la detección se aumenta a una vez cada 2–4 semanas si presenta infección por CMV previa²²⁴

- **Neoplasia.**

Se consideró neoplasia maligna de cualquier tejido tras su diagnóstico por biopsia.

- **Cambio en régimen inmunosupresor.**

El cambio de inmunosupresión consiste en aquel en el que el clínico responsable del paciente considera necesario una modificación en su esquema del tratamiento debido a los efectos adversos sufridos por el paciente.²²⁵

Estas modificaciones incluyeron:

- Disminución de dosis definitiva de tratamiento con MPA.
- Suspensión de MPA y conversión a imtor. (ICN + imtor +/- esteroides)
- Suspensión de ICN y conversión a imtor. (MPA + imtor +/- esteroides)
- Suspensión definitiva de MPA sin añadir otro fármaco (ICN +/- esteroides)

Los cambios de tratamiento se hicieron de acuerdo a criterios clínicos por diferentes causas como intolerancia a MPA (digestiva o hematológica), exceso de inmunosupresión, como infecciones graves o de repetición, replicación del poliovirus BK o neoplasia, aquellas relacionadas con toxicidad directa de ICN (nefrotoxicidad o neurotoxicidad) o por inclusión en estudios de investigación. Se tuvieron en cuenta todos estas modificaciones de tratamiento, excepto cuando el cambio era transitorio o no tolerado y tuvo lugar la reintroducción del tratamiento habitual.

En cuanto al tratamiento inmunosupresor de inducción, nuestro protocolo de inmunosupresión ha sufrido cambios a lo largo del tiempo.

Hasta el año 2009, los pacientes que recibían un injerto procedente de donante en asistolia o con criterios expandidos, se les pautaba tratamiento con inhibidores de los receptores de la IL2 (basiliximab), pero a partir de este año empezó a generalizarse el

uso de timoglobulina en estos casos. La mayoría de estos pacientes recibieron además tratamiento con tacrolimus (a una dosis de inicio de 0.05mg/kg de peso/día y posterior ajuste para niveles entre 5-8 ng/ml, micofenolato y metil prednisolona. Cuando la terapia de inducción se basaba en timoglobulina, el tacrolimus era introducido a partir del 4º-6º día post trasplante.

En el caso de donantes con criterios estándar o receptores sensibilizados el tratamiento no ha variado con los años. En el primer caso, se utilizó triple terapia convencional con tacrolimus (0,10 mg/kg/día de inicio y posterior ajuste para niveles entre 7-10ng/ml), micofenolato (2g/día) y esteroides (dos bolos de metilprednisolona de 250 mg, pre y post trasplante respectivamente) seguido de prednisona oral, 20-30 mg a partir del segundo día, con descenso progresivo posterior).

En el caso de pacientes sensibilizados con PRA > 30%, la inducción con timoglobulina (0.5-1 mg/kg de peso/día, 6-8 días) añadido al régimen del donante con criterios estándar fue la norma.

En el caso del tratamiento de mantenimiento, la mayoría de los pacientes mantuvieron tras el tratamiento de inducción el tratamiento estándar de triple terapia con ICN + MPA + esteroides. Los niveles terapéuticos diana de ciclosporina fueron de 100–175 ng/mL después de 6 meses y los de tacrolimus de 5–10 ng/mL después de 12 semanas. El tratamiento con esteroides a dosis bajas (5-10 mg/día) se mantenía en pacientes de alto riesgo inmunológico, pero se pretende su suspensión antes de los 6-12 meses en aquellos pacientes de bajo riesgo inmunológico o diabéticos.²²⁷ . Con respecto a la presentación farmacológica utilizada de MPA, desde el año 2007 en nuestro centro se empezó a utilizar de forma sistemática el micofenolato sódico (EC-MPS), por lo que la mayor parte de pacientes de la muestra de estudio de eventos adversos recibían esta formulación En la muestra de estudio de farmacocinética, que

incluía pacientes trasplantados antes del 2007, sí se incluyeron pacientes con ambas formulaciones, para poder realizar la comparación entre ambos fármacos.

Con respecto al tratamiento del rechazo, de acuerdo a la clasificación histológica del rechazo, el tratamiento inmunosupresor utilizado también varía. Según nuestros protocolos el rechazo agudo sin afectación vascular se trató con 3-5 bolos de metilprednisolona de 250 mg (rechazo córtico sensible), mientras que la mayoría de los rechazos con afectación vascular precisaron el tratamiento con timoglobulina (4-5 mg/kg de peso en total).

El tratamiento de Rechazo Agudo Humoral (RAH) se basó en la administración de Inmunoglobulinas inespecíficas (1-2g/kg de peso), junto con la realización de plasmaféresis (6-10 sesiones). En algunos casos de RAH severo con vasculitis y/o capilaritis importante, se pautaron 1-2 dosis de Rituximab 375 mg/m²).

Para el diagnóstico de rechazo, en nuestro centro se realizan biopsias renales por indicación clínica y por protocolo sólo en el caso del injerto procedente del donante de asistolia. Se realizan de acuerdo a la técnica de biopsia percutánea ecografía-guiada, tras asegurar valores dentro del rango de normalidad de coagulación y tiempos de hemostasia primaria (85-155 segundos). Para ello utilizamos agujas de punción de 14 G seumiautomáticas y si no es técnicamente difícil se obtienen 2 cilindros. Se consideró la biopsia como representativa si incluía al menos 2 arterias de tipo muscular y 10 glomérulos.

Las técnicas de tinción básicas que se utilizan para la evaluación del rechazo son la hematoxilina-eosina, PAS y tricrómico para un total de siete secciones tisulares. Desde el 2007 se realiza en nuestro centro de forma rutinaria la tinción para C4d por inmunohistoquímica.

Para establecer el diagnóstico histológico de Rechazo Agudo nos basamos en la clasificación de Banff ²²⁶ que nos permitió evaluar las lesiones agudas y clasificar los distintos grados de rechazo . Esta clasificación ha sufrido diversas modificaciones en

las sucesivas conferencias llevadas a cabo, que han supuesto una ampliación de los requisitos, de los criterios y un ajuste de las diferentes definiciones .

Para el diagnóstico de rechazo agudo es preciso evaluar los distintos componentes del parénquima renal: glomérulos (g), túbulos (t), intersticio (i), vasos arteriales de calibre muscular (v), capilares peritubulares (cpt). Cada una de estas variables se valoran de forma semicuantitativa de 0 a3 o por porcentaje de extensión afectada.

En resumen y de acuerdo a la clasificación de Banff de 2003 se tuvieron en cuenta en este estudio el rechazo agudo mediado por células T con o sin afectación vascular y el rechazo agudo mediado por anticuerpos.

Rechazo agudo mediado por células T: la biopsia del injerto renal debía mostrar un mínimo del 25% de la extensión del cilindro ocupado por un infiltrado inflamatorio tubulointersticial (score i2), mostrar fenómeno de tubulitis moderada (t2), acompañado a veces de edema intersticial y daño tubular. La biopsias que mostraron menor extensión parenquimatosa ocupada por infiltrado inflamatorio (score i1) y menor grado de tubulitis fueron catalogados como cambios *boderline* sugestivos de rechazo agudo, pero en aquéllos casos donde funcionalmente se acompañaron de incremento agudo de la creatinina se consideraron como un verdadero rechazo agudo.

Rechazo agudo vascular: la observación de cambios vasculares fue una condición definitoria del grado de rechazo agudo. En este sentido, los tipos o grados de rechazo más graves fueron los rechazos agudos vasculares, que mostraban arteritis miointimal o endotelitis. Esta lesión se describió ante la presencia de linfocitos infiltrando la íntima, inmediatamente debajo del revestimiento de células endoteliales, ocasionando su proyección hacia la luz vascular en algunos casos. Esta afectación se gradúa en 3: afectación de una arteria (v1), reducción de la luz arterial >25% (v2) y necrosis fibrinoide de la pared arterial afectada (v3).

Rechazo agudo mediado por anticuerpos: consiste en la evidencia morfológica de daño agudo tisular del injerto (daño tubular agudo, presencia de neutrófilos o células mononucleares en capilares tubulares o glomérulos y/o afectación vascular) además de

evidencia inmunopatológica de activación de anticuerpos activadores de la vía de complemento (depósito de C4d). La presencia de anticuerpos donante específicos sanguíneos es la evidencia serológica que confirma que el paciente ha sufrido o puede sufrir un rechazo agudo mediado por anticuerpos.

- **Exposición a MPA.**

En el estudio de farmacocinética, las variables dependientes fueron las concentraciones sanguíneas de micofenolato. Los parámetros utilizados fueron la concentración predosis (CO), la concentración máxima (C_{max}), el tiempo máximo (T_{max}), el área bajo la curva de 12horas (AUC_{0-12h}) y el área bajo la curva en las primeras 6 horas (AUC_{0-6h}) y últimas 6 horas (AUC_{6-12h}).

6.3 Métodos

6.3.1 Ámbito de estudio y medios disponibles.

El estudio se realizó en la Unidad de Trasplantes del Hospital Clínico San Carlos, dotado de equipamiento asistencial, material y personal necesario. Se trata de una unidad multidisciplinar en la que se encuentran los siguientes especialistas:

- *Sección de Coordinación de Trasplantes:* cuentan con los medios necesarios para la detección y manejo del donante y están certificados conforme a la norma ISO 90001:2008 desde el año 2004. Colabora con el servicio de Nefrología y suministra todos los datos relacionados con las características del donante y el proceso de donación.
- *Servicio de Nefrología:* acepta al donante y selecciona al receptor más idóneo según criterios clínicos e inmunológicos. Dispone de la infraestructura encargarse de la recogida de muestras, el tratamiento y manejo posterior del

receptor en planta de hospitalización. Al alta, realiza un seguimiento estrecho en la consulta de trasplante, inicialmente semanal y posteriormente mensual o trimestral. Todos los datos del trasplante son incluidos en una base de datos.

- *Servicio de Análisis Clínicos:* La sección de bioquímica cuenta con la infraestructura básica para la determinación de los niveles de micofenolato por técnica EMIT.
- *Servicio de Análisis Clínicos Sección de Genómica:* dispone de la infraestructura necesaria para realizar determinaciones genéticas (equipo de congelación y ultracongelación, microcentrífuga, espectrofotómetro, medios para la extracción de DNA y RNA, termociclador para PCR, PCR a tiempo real, estudio de electroforesis vertical y horizontal, secuenciador de ABI prism para estudio de polimorfismos detectados por PCR y secuenciación genómica y trasiluminador UV).
- *Unidad de investigación:* cuenta con epidemiólogos con amplia experiencia en estudios observacionales y ensayos clínicos, que colaboran en el diseño y análisis del estudio.

6.3.2 Metodología para el análisis genético del SNP MRP2 (-24 CT)

El ADN genómico se extrajo de la sangre obtenida en los tubos EDTA siguiendo las instrucciones del fabricante para el Kit Mini DNeasy (Qiagen). Todos los pacientes fueron genotipados para el polimorfismo MRP2 (-24 CT) (SNP **rs717620**) usando una reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de acuerdo al método de restricción de longitud de fragmentos. Los cebadores delanteros y reversos, respectivamente, eran 5'-CTG TTC CAC TTT CTT TGA TGA-3' y 5'-TCT TGT TGG TGA CCA CCC TAA-3'. El ADN se amplificó en una reacción de volumen final de 50 ul que contenía 100 ng de

ADN, 200 μ M dNTP, 1,5 mM de búfer PCR 10X, 20 pmol de cada imprimación, y 2,5 U de polimerasa Oro AmpliTaq. Las condiciones de PCR fueron: 1 ciclo (95°C durante 4 min), 70 ciclos (95°C durante 30 s, 57°C durante 30 s, y 72°C durante 30 s) y 1 ciclo (72°C durante 7 min). Los productos amplificados fueron sometidos a digestión con BbsI (New England Biolabs) siguiendo las instrucciones del fabricante, y los fragmentos resultantes se visualizaron en un 3,5% de gel de agarosa. El alelo tipo "no mutante" fue cortado por la enzima de restricción mientras que el alelo mutante no. Los pacientes portadores del polimorfismo en heterocigosis se denominaron "CT", aquéllos en homocigosis "TT" y aquellos no portadores (wild type) se denominaron "CC". El conjunto de pacientes portadores del polimorfismo (en homocigosis y heterocigosis) se denominó "CT&TT".

6.3.3 Metodología para la determinación de concentraciones sanguíneas de MPA.

Para la determinación de concentraciones sanguíneas de micofenolato de nuestros pacientes se calcularon las áreas bajo la curva con 13 puntos extraídos a lo largo de 12 horas. Estos pacientes se encontraban estables clínicamente, sin cambios en la medicación al menos 2 meses antes de la realización de los análisis. Los pacientes se mantuvieron en ayunas hasta la primera media hora después de la toma de mañana del fármaco. Las extracciones se realizaron en los siguientes tiempos: basal (C0) (antes de la toma de la medicación de la mañana) y a los 30 min (C0.5) a la hora (C1), 1.5 (C1.5), 2 (C2), 2.5 (C2.5), 3 (C3), 4 (C4), 5 (C5), 6 (C6), 8 (C8), y 12 horas (C12). El cálculo del AUC se hizo de acuerdo a la fórmula trapezoidal.

Las muestras de sangre debían de ser completas (5 ml), del cual se extrajo el plasma, mediante centrifugación a 3000g durante 15 minutos para posteriormente ser guardado a -80° hasta su análisis. Las concentraciones de micofenolato se midieron según el método EMIT (immunoassay method EMIT Mycophenolic Acid Assay de

Siemens HealthcareDiagnostic Inc., Camberley, Reino Unido) con el Cobas Mira®, sistema de química basado en un límite inferior de cuantificación de 0,1µ g/mL para MPA. El control de calidad interno y externo (International Proficiency Testing Scheme, Neqas, Londres, Reino Unido) reveló que los datos eran correctos (tendencia < 4%).

6.4 Análisis estadístico.

La normalidad de las variables cuantitativas fue estudiada por un test de Shapiro Wilk. Estas variables fueron expresadas como media (desviación estándar) o mediana (rango intercuartil) en el caso de fueran variables no normales. Se realizaron comparaciones usando T Student y test de la mediana respectivamente. Las variables cualitativas se expresaron con frecuencia absoluta y porcentaje. Fueron comparadas entre categorías con el test de ji cuadrado o test de Fisher según la frecuencia observada en la tabla de contingencia.

Se realizaron curvas de supervivencia de Kaplan Meier para evaluar las variables dependientes o eventos a estudio (diarrea grave, leucopenia, infección grave (de cualquier etiología excepto CMV), infección por CMV, neoplasia o necesidad de cambio de tratamiento inmunosupresor). La supervivencia libre de eventos fue comparada entre las diferentes categorías de polimorfismos con un test de log rank.

Para el estudio de otros factores de riesgo asociados a los eventos a estudio, se realizaron modelos multivariantes mediante análisis de riesgos proporcionados de Cox que incluyeron las variables que en el análisis univariado tuvieron una asociación con el evento a estudio con una $p < 0.2$ o aquellas con relevancia en estudios previos.

Para la obtención de grupos homogéneos comparables, y minimizar sesgos se realizó un pareado de pacientes mediante la realización de un score de propensión,

que no es sino la probabilidad de que un individuo tuviese el polimorfismo en base a las variables basales de estudio. Para este pareado, se tuvo en cuenta las variables que, en el análisis univariado mediante análisis de riesgos proporcionados de Cox tuvieron una asociación con una $p < 0.2$ con el evento a estudio o aquellas con una distribución asimétrica ($p < 0.05$) en los grupos a comparar (MRP2 24CT&TT Vs. CC).

El pareo de la muestra se realizó con un ratio 1:1 con el caso más próximo. Para ello usamos un ancho de calibre de 0.2 veces la desviación estándar del logit del score de propensión. La efectividad del balanceo de la muestra pareada fue evaluada visualmente mediante histogramas del score de propensión de acuerdo a la presencia o no del polimorfismo (MRP2 24 CC Vs. MRP2 24 CT&TT). También se evaluó la efectividad del balanceo analizando la reducción del riesgo de sesgo en porcentajes estandarizados de sesgo, realizando T student para comparar la media de la muestra pareada y no pareada de cada covariable de ambos grupos.

En las muestras pareadas, las comparaciones fueron realizadas usando pruebas de log rank estratificadas por parejas y regresiones de Cox estratificadas con estimadores clúster en sándwich para las variables categóricas y t-test apareados o Wilcoxon signed-rank tests para variables cuantitativas.

Las medidas de asociación fueron expresadas con HR e intervalo de confianza del 95%.

Para el estudio de la infección por CMV, se realizó un score de propensión específico, que incluyó además el status serológico de infección por CMV y el tratamiento profiláctico con valganciclovir, por lo que los análisis fueron específicos para el estudio de este evento.

El límite de la significación estadística fue $p < 0.05$, con un intervalo de confianza del 95%. El análisis estadístico se realizó con Stata 15 (StataCorp, 2017, College Station, TX, USA) y SPSS versión 24.

RESULTADOS

7. RESULTADOS

7.1 Repercusión clínica del polimorfismo MRP2 (-24 CT).

7.1.1 Análisis descriptivo de la población. Ajuste de muestra por puntuación de propensión.

Un total de **300** pacientes fueron incluidos. El tiempo mediano de seguimiento fue de 94.42 meses (ICR 73.23 -111.27). En treinta y seis pacientes (11,96%) se censuró el seguimiento precozmente por cambio de hospital o causa desconocida. Estos pacientes tuvieron un tiempo mediano de seguimiento de 52,74 meses (RIC 25,27-71,98). Sólo 8 pacientes (2,65%) tuvieron una pérdida de seguimiento antes de los dos años desde el trasplante.

A lo largo del seguimiento, hubo treinta y cuatro pacientes que perdieron su injerto (11,3%) y 31 pacientes fallecieron (10,4%).

Cuando analizamos la distribución del polimorfismo, 165 pacientes eran pacientes no portadores (55%) (MRP2 24 CC) y 135 (45%) presentaron la variante T. De este grupo de portadores, 117 pacientes (39%) fueron heterocigotos (MRP2 24 CT) y 18 pacientes (6%) presentaban la variante homocigota (MRP2 24 TT). Durante la exposición de resultados, se van a comparar los pacientes no portadores (MRP2 24 CC) frente a los portadores (MRP2 24 CT&TT).

La tabla 7 muestra las características basales de los pacientes de acuerdo con la presencia del polimorfismo MRP2 (-24 CT) (muestra no ajustada). Ambos grupos presentaban características basales similares. En cuanto al tratamiento inmunosupresor al alta, 292 pacientes (97%) recibieron tacrolimus + micofenolato + prednisona, 1 paciente belatacep y 8 pacientes imtor + miconfenolato (3%). No hubo diferencias de este tratamiento, ni en las dosis iniciales de micofenolato entre los pacientes portadores o no del polimorfismo.

Características basales	Muestra no ajustada		
	MRP2 CC (n=165)	MRP2CT&TT (n=135)	p
Edad receptor (años), mediana (RIC)	52.66 (42.10-62.23)	54.68(43.75-62.98)	0.469
Género femenino, n (%)	52 (31.71)	43 (32.09)	0.944
IMC, media (DE)	1.85 (0.27)	1.86 (0.19)	0.979
Creatinina basal, mediana (RIC)	1.60 (1.21-1.90)	1.41 (1.20-1.80)	0.420
Nefropatía diabética n (%) ^b	15 (9.15)	14 (10.53)	0.690
Asistolia II, n(%) ^c	100 (60.6%)	72 (54.14%)	0.261
Rechazo ^d n (%)	59 (35.76%)	58 (42.96%)	0.203
Re-transplante ^e n(%)	26 (15.76%)	23 (17.04%)	0.766
Timoglobulina (alguna vez) n (%)	111(67.68%)	83 (61.94%)	0.301
Timoglobulina inducción n(%)	89 (53.94%)	62 (45.93%)	0.167
Timoglobulina rescate rechazo n(%)	130 (78.79)	98 (72.52)	0.211
Timoglobulina dosis, mediana (RIC)	3.5 (0-5)	2.82 (0-4.85)	0.166
0, n (%)	53 (32.72)	51 (39.23)	0.468
0-3 mg/kg n (%)	19 (11.73)	15 (11.54)	
3-6 mg/kg n (%)	67 (41.36)	52 (40.00)	
>6 mg/kg n (%)	23 (14.20)	12 (9.23)	
FK + MPA + pred ^f n(%)	157 (96.32)	130 (97.74)	0.477
Dosis micofenolato	1140(368)	1187(361)	0.275
Tabaquismo ^g n (%)	63 (40.91)	51 (39.53)	0.814

Tabla 7. Características basales de los pacientes estudiados de acuerdo al polimorfismo MRP2 (-24 CT)

a) estadísticamente significativa si < 0.05. b) Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa. c) Asistolia II: tipo de donante. d) Rechazo: cualquier tipo. e) Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe el 2º trápante o más. f) Tratamiento inmunosupresor al alta. g) Tabaquismo: en algún momento de su vida

Se estimó una puntuación de propensión para la obtención de grupos portadores y no portadores homogéneos en el resto de características teniendo en cuenta la *función renal, la edad, el sexo, el tipo donante (asistolía), el consumo de tabaco, el tratamiento con timoglobulina (inducción, rescate o dosis), el rechazo, la nefropatía diabética como enfermedad de base y el retrasplante.*

La siguiente figura muestra la representación gráfica de la puntuación de propensión en las dos muestras aperadas por aquella probabilidad (Figura 23).

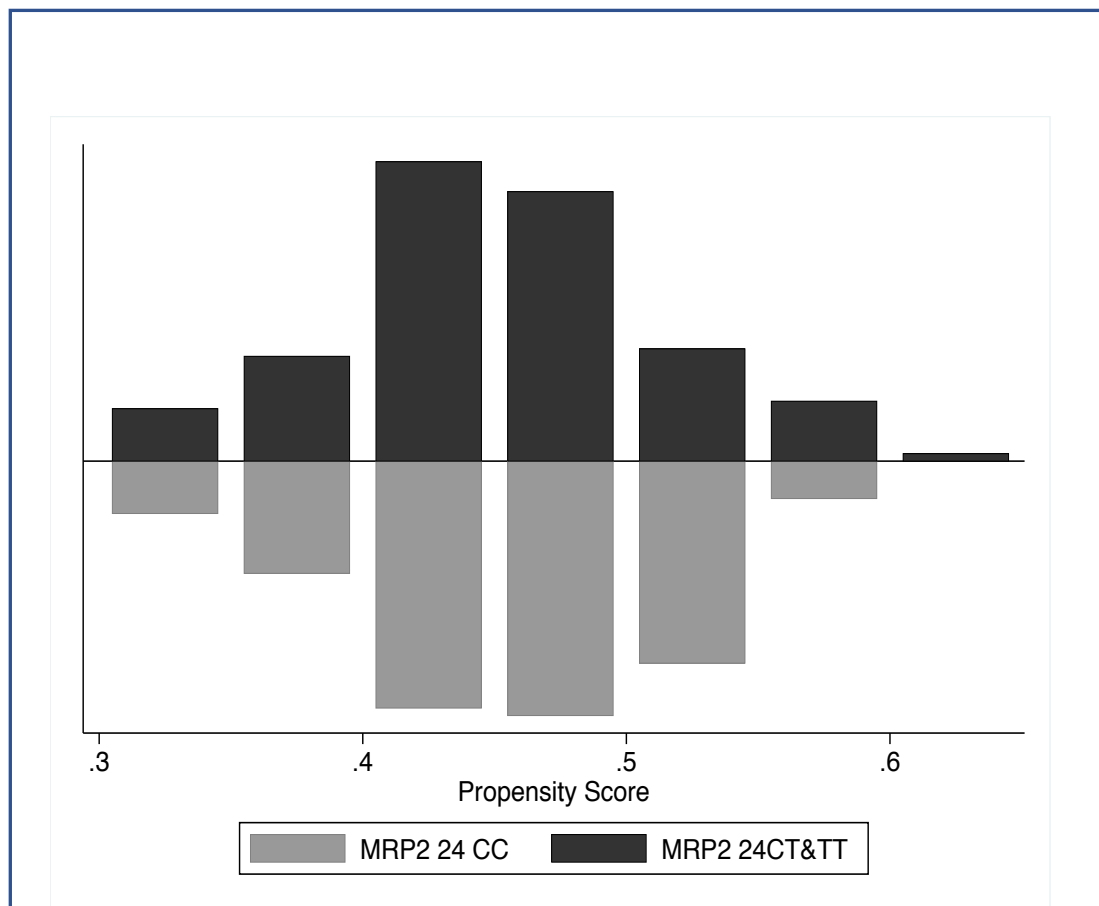


Figura 23. Distribución de pacientes entre diferentes bloques del puntuación de propensión después del *macheo de grupos.* a) *Ajustado por función renal, edad, sexo, tipo donante (asistolía), tabaquismo, timoglobulina (inducción o rescate), rechazo, nefropatía diabética como enfermedad de base, retrasplante y dosis de timoglobulina.*

Tras ajustar la muestra por la puntuación de propensión como se puede apreciar en la tabla 8. se obtuvieron dos grupos de 212 pacientes, más homogéneos, en cuanto

al tipo de donante (asistolia), pacientes con más de un trasplante, rechazo y tratamiento recibido con timoglobulina y sus dosis.

Características basales	Muestra ajustada por puntuación de propensión		
	MRP2 CC (n=121)	MRP2 CT&TT (n=121)	p
Edad receptor (años), mediana (RIC)	51.16 (42.31-61.50)	55.15 (43.85-62.23)	0.219
Género femenino, n (%)	35 (28.93)	38 (31.40)	1.000
IMC, media (DE)	1.89 (1.83-2.03)	1.89 (1.65-2.03)	1.000
Creatinina basal, mediana (RIC)	1.43 (1.23-1.80)	1.41(1.20-1.83)	0.652
Nefropatía diabética ^a n (%) ^b	12 (9.92)	12 (9.92)	1.000
Asistolia II ^b , n(%) ^c	66 (54.55)	65 (53.72)	1.000
Rechazo ^c n (%)	55 (45.5)	51 (42.15)	1.000
Re-transplante ^e n(%)	21 (17.36)	20 (16.53)	1.000
Timoglobulina (alguna vez) n (%)	73 (60.83)	74 (61.67)	1.000
Timoglobulina inducción n(%)	52 (42.98)	55(45.55)	0.755
Timoglobulina rescate rechazo n(%)	32(26.45)	32(26.45)	1.000
Timoglobulina dosis, mediana (RIC)	2.58 (0-4.85)	2.74(0-4.90)	0.860
0, n (%)	47 (39.66)	45 (39.66)	1.000
0-3 mg/kg n (%)	16 (13.45)	14 (12.07)	
3-6 mg/kg n (%)	43 (36.13)	45 (38.79)	
>6 mg/kg n (%)	13 (10.92)	11 (9.48)	
FK + MPA + pred ^f n(%)	116(95.87)	118 (98.33)	0.453
Dosis micofenolato	1157(360)	1158(390)	0.950
Tabaquismo ^g n (%)	49 (40.50)	49 (40.50)	1.000

Tabla 8. Características basales de los pacientes estudiados de acuerdo al polimorfismo MRP2 (-24 CT) estadísticamente significativa si<0.05.a) Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa b) Asistolia II: tipo de donante. c) Rechazo: cualquier tipo. e) Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe el 2º trplante o más. f) Tratamiento inmosupresor al alta. g) Tabaquismo: en algún momento de su vida.

Además, se realizó un pareo por puntuación de propensión diferente para el estudio de la infección por CMV, que además tuvo en cuenta la serología para la estimación del riesgo de infección por CMV (donante positivo/receptor negativo) y la medicación de profilaxis de CMV .

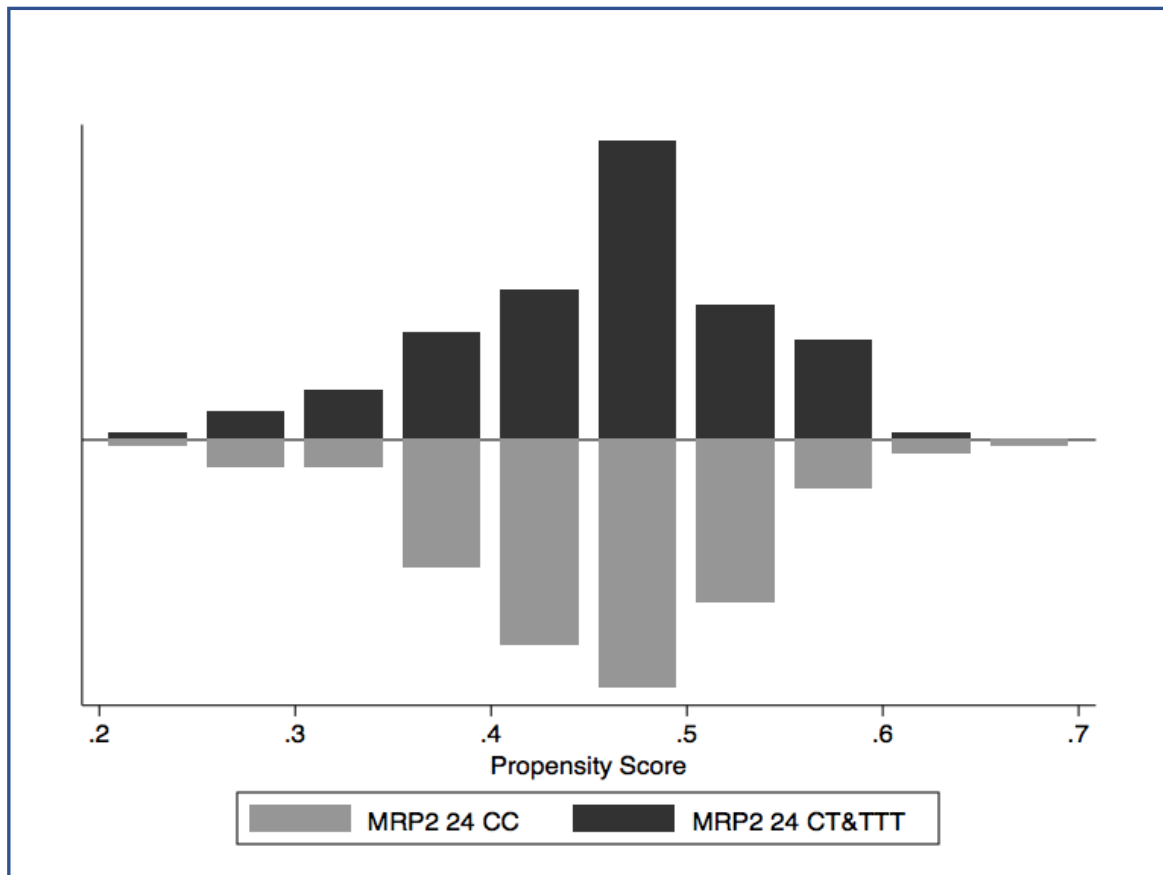


Figura 24. Distribución de pacientes entre diferentes bloques del puntuación de propensión después del macheo de grupo. Ajustado por función renal, edad, sexo, tipo donante (asistolia), tabaquismo, timoglobulina (inducción o rescate), rechazo, nefropatía diabética como enfermedad de base, retrasplante y dosis de timoglobulina, dosis de micofenolato al alta, tratamiento profiláctico de CMV y serología de riesgo de CMV (donante positivo/receptor negativo).

La siguiente tabla (9) describe las características basales de ambos grupos tras la realización del puntuación de propensión.

	Muestra ajustada tras puntuación de propensión para infección CMV		
	MRP2 CC (n=124)	MRP2 CT&TT (n=124)	p
Edad receptor (años),mediana (RIC)	52.58 (42.01-61.91)	54.00 (43.57-61.56)	0.705
Género femenino, n (%)	39 (31.45)	40 (32.26)	1.000
IMC, media (DE)	1.85 (0.28)	1.85 (0.19)	0.651
Creatinina basal, mediana (RIC)	1.42 (1.20-1.77)	1.41 (1.20-1.85)	0.869
Nefropatía diabética n (%)	14 (11.29)	12 (9.68)	0.838
Tipo donante (asistolia) n (%)	65 (52.42)	66 (53.23)	0.893
Rechazo, n (%)	52 (41.94)	52(41.94)	1.000
Retrasplante	19 (15.32)	20 (16.13)	1.000
Timoglobulina (alguna vez) n (%)	74 (59.68)	(74.59.68)	1.000
Timoglobulina inducción n(%)	55(44.35)	55(44.35)	1.000
Timoglobulina rescate rechazo	91 (73.39)	92 (74.19)	1.000
Timoglobulina dosis	2.59 (0-4.82)	2.62 (0-4.85)	0.752
Sin timoglobulina	49 (40.16)	49(41.18)	0.874
0-3 mg/kg n (%)	15 (12.30)	14 (11.76)	
3-6 mg/kg n (%)	43 (35.25)	46 (38.66)	
>6 mg/kg n (%)	15 (12.30)	12 (8.40)	
Fk + MPA + pred	118 (95.87)	1121(98.33)	0.689
Dosis Micofenolato	1140(368)	1147(361)	0.975
Tabaquismo	50 (40.50)	50 (40.50)	1.000
Profilaxis CMV n(%)	76 (61.29)	78 (62.90)	0.883
Serología CMV riesgo n, %	19 (15.32)	17 (13.71)	0.845

Tabla 9. Características basales de los pacientes estudiados de acuerdo al polimorfismo MRP2 (-24 CT) antes y después del ajuste de la muestra por propensity para el análisis de infección de CMV..

7.1.2 Análisis univariable y multivariable de eventos adversos.

La tabla 10 muestra la **incidencia** de cada evento a estudio antes y después del pareo de los grupos. En esta tabla se puede observar que se confirma el aumento de incidencia de las complicaciones estudiadas en los pacientes portadores del polimorfismo. En los siguientes párrafos se detallan los resultados obtenidos tras el análisis de la asociación entre el polimorfismo genético MRP2 (-24 CT) y los diferentes eventos a estudio.

	Muestra no ajustada			Muestra ajustada tras puntuación de propensión		
	MRP2 CC (n=165)	MRP2CT&TT (n=135)	P	MRP2 CC (n=121)	MRP2CT&TT (n=121)	P
Diarrea aguda grave	11 (7.01)	37 (27.61)	<0.001	9 (7.83)	36(29.75)	<0.001
Diarrea crónica	16 (10.19)	41 (31.78)	<0.001	13 (11.21)	36 (30..5)	<0.001
Leucopenia	48 (30.38)	71 (54.62)	<0.001	33 (28.70)	67 (56.30)	<0.001
Leucopenia recurrente	16 (10.06)	37 (28.91)	<0.001	9 (7.69)	35 (29.91)	<0.001
Infección	95 (58.28)	97 (72.93)	0.009	69 (57.5)	91 (75.2)	0.007
Infección y Sepsis^a	64 (61.6%)	86 (80.9%)	0.004	46 (69.7)	80 (90.9)	0.012
Infección atípica	24 (15.09%)	38 (28.57%)	0.005	15 (12.70)	38 (31.40)	0.001
Infecciones recurrentes	38 (23.6%)	55 (41.67%)	0.001	23 (19.7)	51(42.50)	0.001
Itus recurrentes	63 (38.89%)	66 (50.38%)	0.049	41 (34.17)	61 (51.28)	0.014
Infección por CMV	38 (23.46)	52 (38.81)	0.004	29 (24.4)	45 (37.81)	0.005
Neoplasia	29 (17.68)	32 (23.70)	0.199	16 (13.22)	27 (22.69)	0.045
Cambios IS	88 (53.66)	91 (67.91)	0.012	63(52.07)	82 (67.77)	0.010
Mortalidad	13 (7.98)	18 (13.33)	0.126	7 (5.88)	15 (12.40)	0.088

Tabla 10. Incidencia de complicaciones asociadas a un exceso de tratamiento inmunosupresor, antes y después del puntuación de propensión. CMV: citomegalovirus; ITUs: infección de orina; IS: inmunosupresión; MRP2CT&TT. Infección que requiere hospitalización. ^aInfección que requieren hospitalización y además cumple criterios de sepsis.

7.1.2.1 DIARREA.

Durante el seguimiento, un (n=48) 16.5% de pacientes presentó un primer episodio de diarrea grave que precisó hospitalización, y que se consideró secundaria al tratamiento con micofenolato. Se analizaron las características basales de los pacientes con diarrea grave, y se compararon con aquellos pacientes que no sufrieron ningún episodio de diarrea que requiriera hospitalización (tabla 11).

Características basales n (%)	DIARREA + 48 (16 %)	DIARREA - 252 (84%)	p
Edad receptor (años),media(DE)	51.56 (14.13)	52.15(13.40)	0.780
Género femenino, n (%)	18 ((36.7%)	77 (30.6%)	0.404
Creatinina basal, media (DE)	1.65 (0.60)	1.55(0.51)	0.246
IMC, media (DE)	1.81 (0.19)	1.86 (0.27)	0.660
Nefropatía diabética n(%) ^a	6 (12.2%)	22 (9.1%)	0.437
Asistolia II, n(%) ^b	31 (63.5%)	141 (56.0%)	0.429
Rechazo, n(%) ^c	22 (44.9%)	96 (38.3%)	0.425
Re-trasplante ^d	8 (16.3%)	40 (16.0%)	1.000
Dosis micofenolato mg/día, media (DE)	1120 (364.554)	1168 (366.953)	0.411
MRP2 CT&TT, n (%)	38 (77.6%)	100 (39.9%)	<0.001

Tabla 11. Características basales de pacientes en el estudio de diarrea..a) Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa b) Asistolia II: tipo de donante. c) Rechazo: cualquier tipo. d) Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe => 2º trápante.

La incidencia de **diarrea aguda grave (que requiere hospitalización) al final del seguimiento** fue más frecuente en el paciente portador del polimorfismo frente al paciente no portador (28.15% Vs. 7.05% p <0.001), tabla 10. Con respecto a la **diarrea crónica**, fue también más frecuente en los pacientes portadores del polimorfismo MRP 24 CT&TT (32.31% Vs. 10.06 %). (Tabla 9). Pudimos observar una supervivencia libre de diarrea grave a 1, 5 y 10 años mayor para los pacientes no portadores del polimorfismo con respecto a los pacientes portadores (96%, 95% y 86 % Vs. 86%, 79% y 67 % respectivamente (log rank p<0.001). Tras el ajuste de la muestra por

puntuación de propensión se obtuvieron resultados similares: supervivencias a 1, 5 y 10 años de 95%, 94% y 85 % Vs 86%, 78% y 66 % respectivamente (log Rank $p < 0.001$).

(Figura 25)

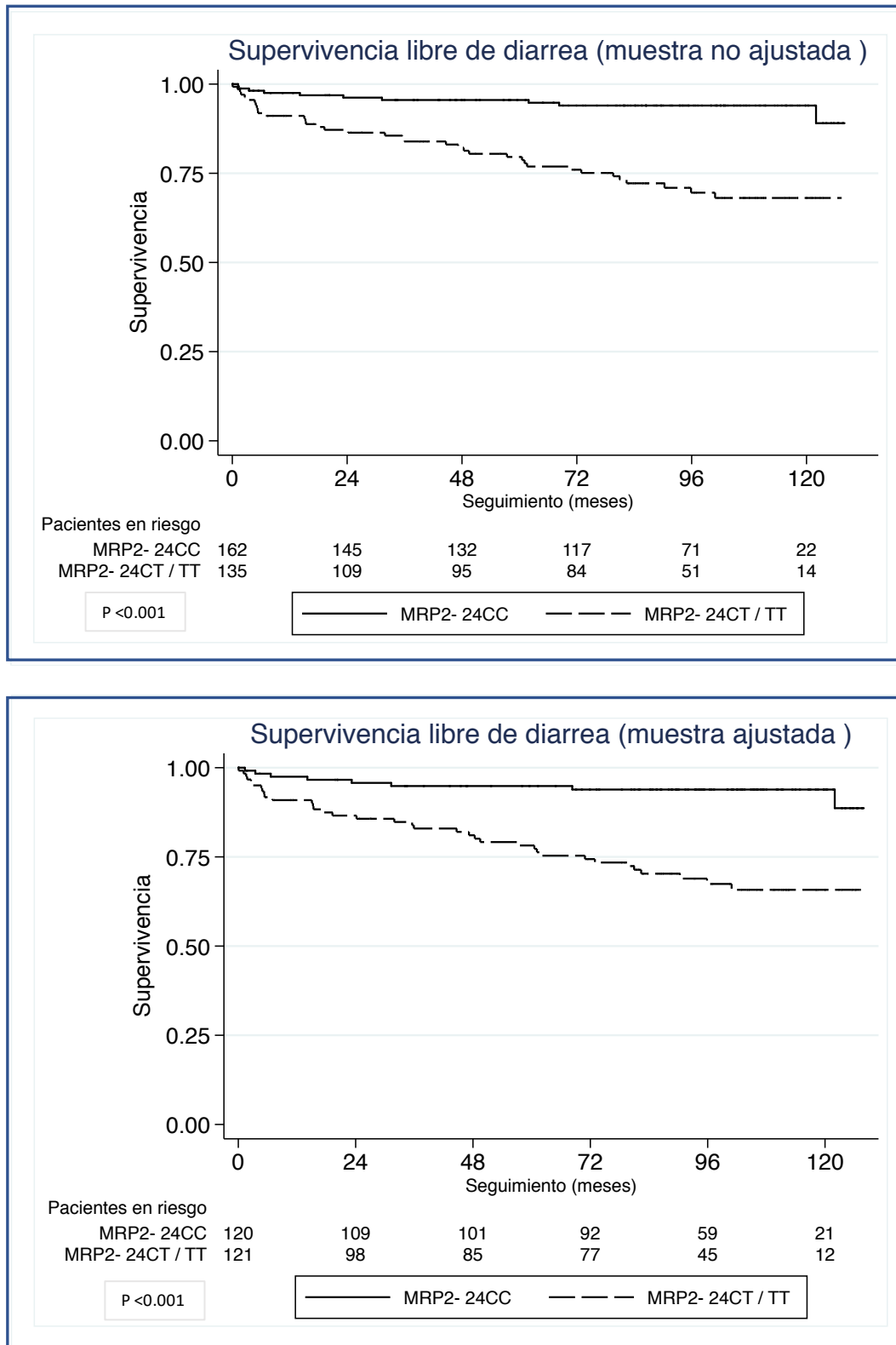


Figura 25.: Curva de supervivencia libre de diarrea de acuerdo a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT . Muestra no ajustada (A) y ajustada tras puntuación de propensión (B).

El análisis multivariante identificó la insuficiencia renal y la presencia del polimorfismo MRP2 24CT&TT como únicos factores de riesgo independiente de diarrea grave en los pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato (Tabla 12).

DIARREA AGUDA GRAVE Análisis de riesgos proporcionados de Cox	Análisis univariante			Análisis multivariante		
	HR	IC95%	p	HR	IC95%	p
Edad receptor (>65 años)	1.131	0.628-2.037	0.687	1.576	0.775-3.201	0.209
Género femenino,	1.382	0.769-2.482	0.279	1.572	0.841-2.938	0.157
Insuficiencia renal moderada^a	1.854	0.991-3.466	0.053	2.307	1.175-4.527	0.015
Nefropatía diabética	1.562	0.664-3.678	0.307	1.776	0.776-4.301	0.203
Dosis altas micofenolato ^b (mg/día)	0.878	0.478-1.611	0.674	0.839	0.450-1.565	0.581
MRP2 CT&TT	4.443	2.270-8.698	<0.001	4.406	2.244-8.651	<0.001

Tabla 12. Modelo de análisis de riesgos proporcionados de Cox. Factores predictores de diarrea grave en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato. ^aInsuficiencia renal moderada (creatinina>2 mg/dl). ^bDosis de micofenolato >1000 mg/día.

En el estudio de diarrea crónica (análisis multivariante de regresión logística binaria) se obtuvieron los mismos factores predictores que para la diarrea aguda grave. (Tabla 13).

GEA AGUDA RECURRENTE	Análisis univariante			Análisis multivariante		
	HR	IC95%	p	HR	IC95%	p
Edad receptor >65 años	1.082	0.589-1.984	0.810	1.155	0.588-2.269	0.878
Género femenino,	1.382	0.694-2.505	0.399	1.605	0.815-3.264	0.132
Insuficiencia renal moderada	2.517	1.308-4.842	0.006	3.060	1.490-6.283	0.002
Dosis alta de micofenolato ^b	0.903	0.482-1.693	0.750	0.819	0.413-1.627	0.569
MRP2 CT&TT	4.206	2.230-7.932	<0.001	4.707	2.397-9.244	<0.001

Tabla 13. Modelo de regresión logística binaria. Factores predictores de diarrea crónica en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato.

7.1.2.2 LEUCOPENIA

Durante el seguimiento, un 41.3% de pacientes (n119) presentaron una primera leucopenia atribuída al tratamiento con micofenolato. Se analizaron las características basales de los pacientes con leucopenia y se compararon con aquellos pacientes que no sufrieron ningún episodio de leucopenia (Tabla 14)

Características basales, n (%)n (%)	LEUCOPENIA + 119 (41.3%)	LEUCOPENIA - 181 (58.7%)	p
Edad receptor (años), media(DE)	51.29 (14.13)	53.22(13.40)	0.227
Género femenino, n (%)	43 (35.8%)	52 (28.6%)	0.202
Creatinina basal, media (DE)	1.66 (0.58)	1.51(0.46)	0.026
IMC, media (DE)	1.76 (0.19)	1.89 (0.25)	0.250
Nefropatía diabética n(%)	9 (7.5%)	19 (10.7%)	0.417
Timoglobulina dosis, media (DE)	3.58 (2.78)	2.57 (2.71)	0.002
Rechazo, n(%)	53 (44.2%)	63 (34.9%)	0.141
Re-transplante ^e	23(19.2%)	26 (14.2%)	0.263
Dosis micofenolato (mg/dl) media, (DE)	1146.86 (388.78)	1185.72 (343.14)	0.374
MRP2 CT&TT, n (%)	72 (60.0%)	63 (34.9%)	<0.001

Tabla 14. Características basales de pacientes en estudio de leucopenia.

La incidencia de **leucopenia al final del seguimiento** fue más frecuente en el paciente portador del polimorfismo frente al paciente no portador. (54.96 % Vs. 30.38% p <0.001), (tabla 10). Con respecto a la **leucopenia recurrente**, fue también más frecuente en los pacientes portadores del polimorfismo MRP 24 CT&TT. (29.46% Vs. 10.06 %), (tabla 10). Se pudo observar una supervivencia libre de leucopenia al 1, 3 y 5 años mayor para los pacientes no portadores del polimorfismo con respecto a los pacientes portadores (log Rank p<0.001) (Figura 26).

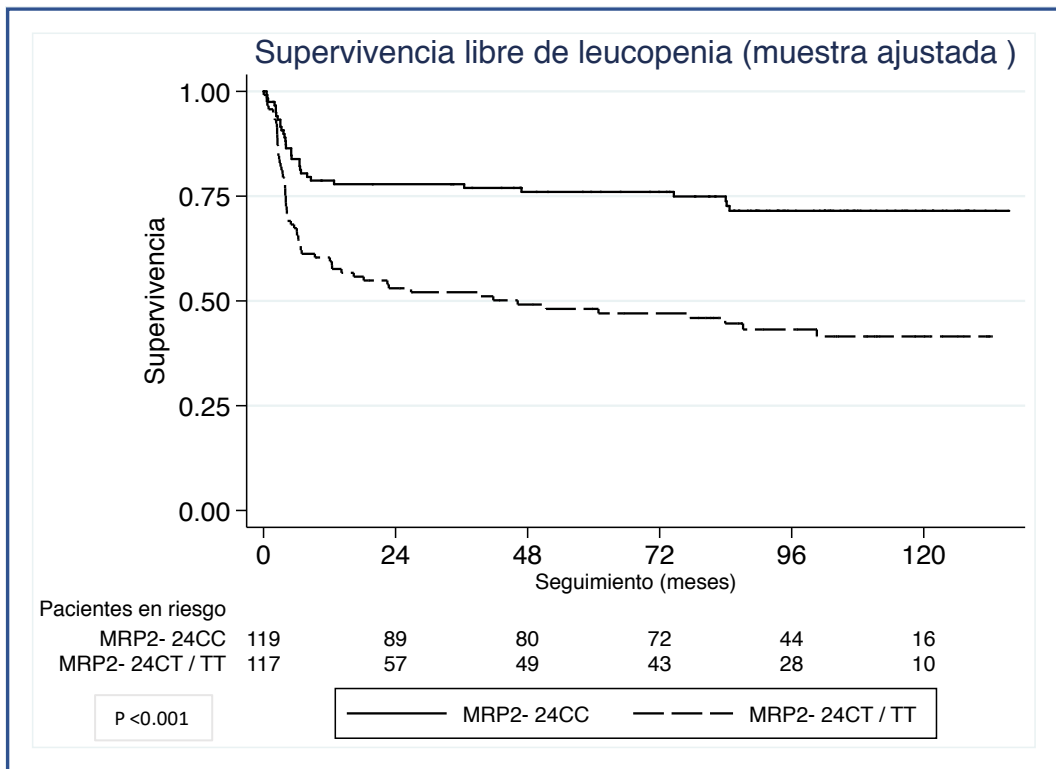
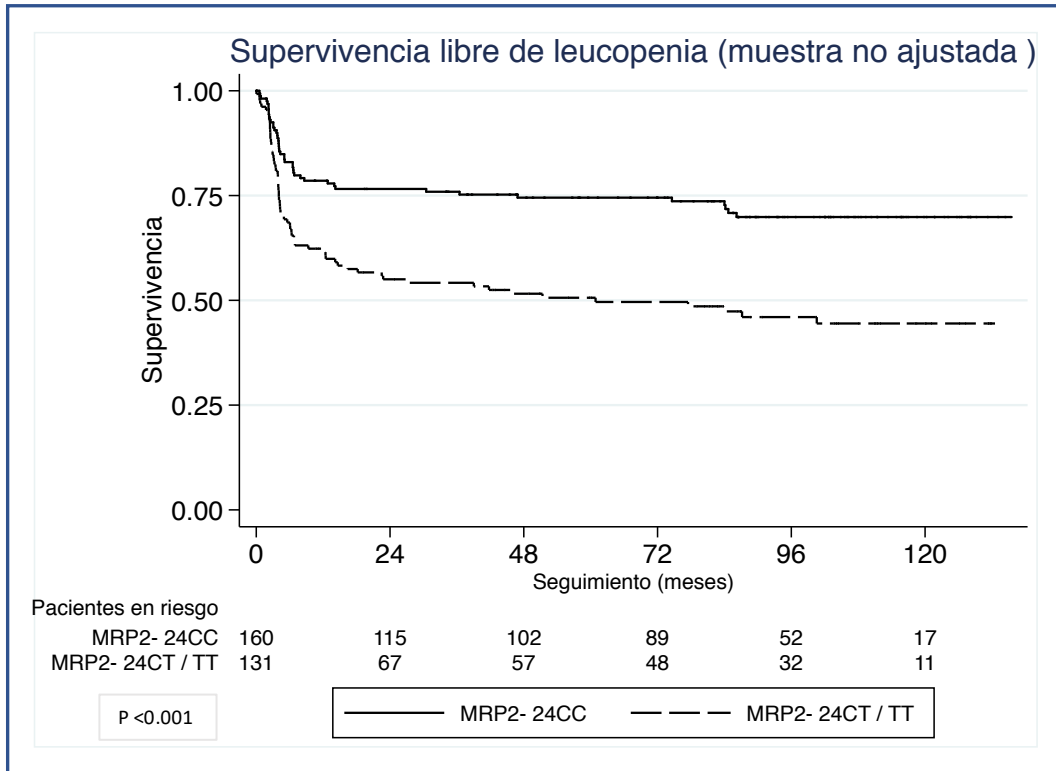


Figura 26.: Curva de supervivencia libre de leucopenia de acuerdo al polimorfismo MRP2 (-24 CT). Muestra no ajustada (A): Supervivencia a 1,3,5 años: (75%, 73% y 73% Vs. 52%, 49 % y 48%) respectivamente. y ajustada por puntuación de propensión (B): Supervivencia a 1,3 5 años: 76%,75% y 75% Vs. 52%, 48 % y 47%)

En el análisis multivariante la presencia del polimorfismo MRP2 24CT&TT se mostró como factor de riesgo independiente de leucopenia. Además también observamos una asociación estadísticamente significativa con la dosis ascendente de timoglobulina.

LEUCOPENIA Análisis de riesgos proporcionados de Cox	Análisis univariante			Análisis multivariante		
	HR	IC95%	p	HR	IC95%	p
Edad receptor (>65 años)	1.416	0.907-2.209	0.126	1.517	0.925-2.488	0.099
Género femenino,	1.342	0.916-1.966	0.131	1.345	0.897-2.018	0.152
Insuficiencia renal moderada	1.546	1.006-2.376	0.047	1.380	0.873-2.183	0.168
Nefropatía diabética	0.829	0.420-1.638	0.829			
Rechazo	1.425	0.985-2.065	0.060	1.198	0.803-1.787	0.375
Retrasplante	0.732	0.463-1.158	0.182	1.126	0.683-1.856	0.641
Dosis timoglobulina ^a >0-3 mg/kg	1.865	1.003-3.469	0.049	1.926	0.997-3.719	0.051
Dosis timoglobulina >3-6 mg/kg	1.926	1.219-3.044	0.005	1.763	1.083-2.870	0.023
Dosis timoglobulina >6 mg/kg	2.322	1.277-4.220	0.006	2.556	1.362-4.797	0.003
Dosis alta de micofenolato	1.047	0.695-1.577	0.827			
MRP2 CT&TT	2.231	1.531-3.251	<0.001	2.301	1.552-3.412	<0.001

Tabla 15. Modelo de análisis de riesgos proporcionados de Cox. Factores predictores de leucopenia grave en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato..^adosis de timoglobulina: categoría de referencia= no recibir timoglobulina.

La edad avanzada (>65 años), el sexo femenino o insuficiencia renal moderada no tuvieron asociación estadísticamente significativa en el desarrollo de un primer episodio de leucopenia aguda (tabla 15). Sin embargo, sí encontramos una asociación clara de estos factores en los pacientes que presentaban leucopenias de repetición (Tabla 16).

LEUCOPENIA RECURRENTE	Análisis univariante			Análisis multivariante		
	HR	IC95%	p	HR	IC95%	p
Edad receptor (>65 años)	2.507	1.371-4.587	0.003	2.296	1.025-5.240	0.043
Género femenino,	1.774	0.966-3.259	0.065	2.389	1.161-4.495	0.018
Insuficiencia renal moderada	2.449	1.245-4.816	0.009	3.200	1.473-6.956	0.003
Dosis timoglobulina >3 mg/kg	1.837	0.990-3.407	0.054	2.207	1.070-4.554	0.046
MRP2 CT&TT	4.206	2.230-7.932	<0.001	4.528	2.191-8.993	<0.001

Tabla 16. Modelo de regresión logística binaria. Factores predictores de leucopenia recurrente en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato.

7.1.2.3 INFECCIÓN GRAVE (SIN INCLUIR INFECCIÓN POR CMV).

Durante el seguimiento, un 65.4% (189) de pacientes presentaron una primera infección grave que requirió hospitalización. El 34,6% de esas infecciones fueron infecciones de origen urinario y un 27.5% fueron neumonías. Veintiocho de estas neumonías (14,8%) fueron consideradas producidas por microorganismos atípicos. El resto de infecciones incluyeron aquéllas referidas al sistema ORL (4/189), digestivo (12/189) o partes blandas (12/189). Hubo 9 pacientes que ingresaron por infección atípica en relación a parvovirus B 19 (3), herpes zóster (4) y tuberculosis (2).

Se analizaron las características basales de los pacientes con infección grave y se compararon con aquellos pacientes que no sufrieron infecciones que requirieran hospitalización (Tabla 17).

Características basales n (%)	INFECCIÓN + 189 (63%)	INFECCIÓN - 111 (37%)	p
Edad receptor (años),media(DE)	52.99 (30.46)	50.65(12.05)	0.076
Género femenino, n (%)	62 (32.3%)	35 (31.7%)	0.896
Creatinina basal, mediana (RIC)	1.64 (0.58)	1.46(0.39)	0.008
IMC, media (DE)	1.83 (0.26)	1.88 (0.25)	0.568
Nefropatía diabética n(%) ^a	24 (12.4%)	4 (4%)	0.016
Timoglobulina dosis, media (DE)	4.54 (2.29)	3.77 (2.25)	0.001
Anomalías estructurales, n (%)	54 (28,5%)	12(10.8%)	<0.001
Rechazo, n(%) ^b	81 (42.%)	36 (32.7%)	0.074
Re-transplante ^c	31(16.3)	18 (16.1)	1.000
Dosis micofenolato (mg/día), media (DE)	1126.19 (371.199)	1221.26 (349.076)	0.334
MRP2 CT&TT, n (%)	98 (51.8.%)	38 (34.0%)	0.005

Tabla 17. Características basales de pacientes en estudio de infección. estadísticamente significativa si<0.05.a) Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa b) Rechazo: cualquier tipo. c) Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe +> 2º traplante.

En la tabla 10 se resumen los resultados con respecto a la incidencia de infección. La incidencia de **infección grave** (de cualquier etiología excepto CMV) fue más frecuente en el paciente portador del polimorfismo frente al paciente no portador. (73.13% Vs. 58.28 % p=0.008). Dentro de ellas, la sepsis fue más frecuente entre los pacientes portadores del polimorfismo (80.9% Vs. 61.6% p0.007). También fue más frecuente en el grupo de pacientes portadores las infecciones atípicas (28,57% Vs. un 15,19%, p=0.006). Con respecto a las recurrencias, tanto las infecciones graves recurrentes como las ITUs de repetición, fueron también más frecuentes en los pacientes portadores del polimorfismo (MRP 24 CT&TT). (Tabla 10). La supervivencia libre de infección grave a 1, 5 y 10 años fue mayor para los pacientes no portadores del polimorfismo con respecto a los pacientes portadores (64%, 52% y 35% Vs. 49% ,39% y 20 % respectivamente (log rank p=0.002). Tras la realización del ajuste de la muestra,

los resultados son similares (64%, 54 % y 36 % Vs. 50%, 38% y 18 % respectivamente (log rank p 0.002). (Figura 26).

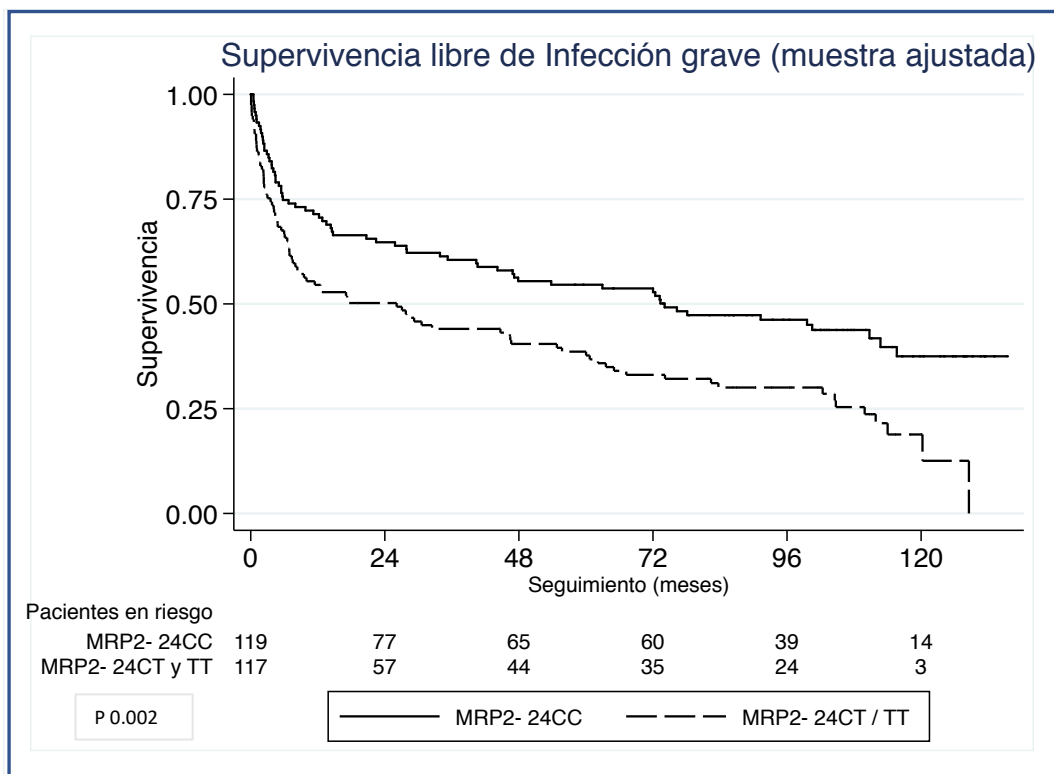
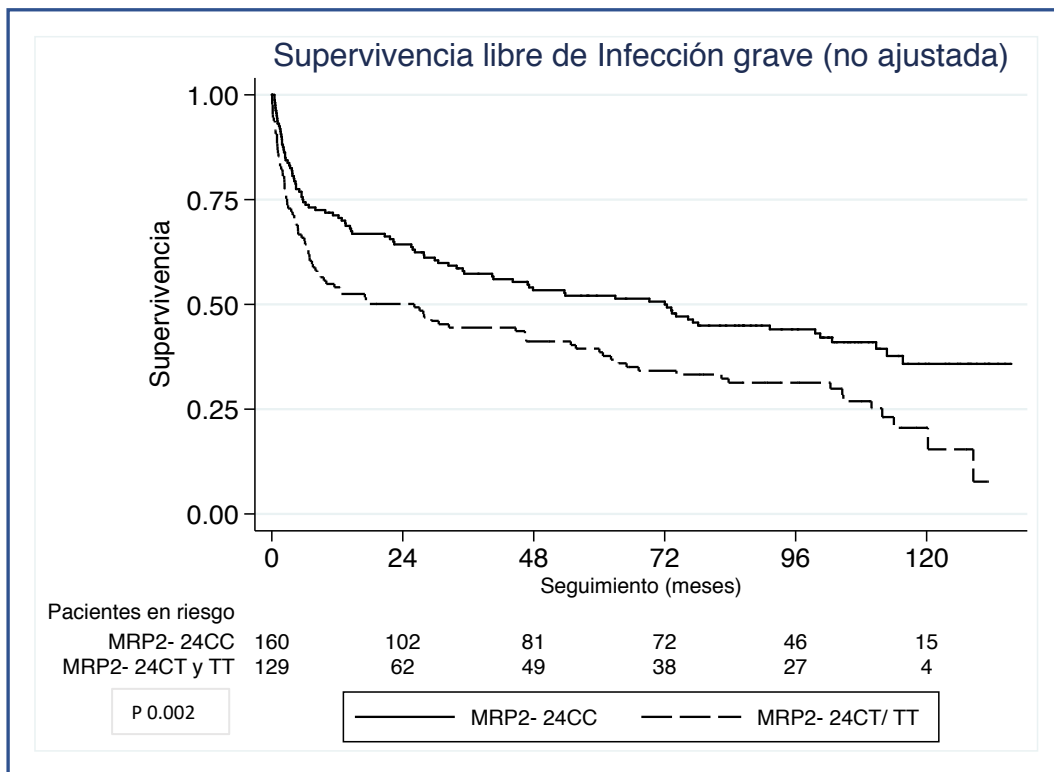


Figura 27.: Curva de supervivencia libre de infección grave de acuerdo a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT . Muestra no ajustada (A) y ajustada tras puntuación de propensión (B).

En el análisis multivariante, además del polimorfismo MRP2 24 (CT&TT) se identificaron la edad (> 65 años), la insuficiencia renal moderada (creatinina > 2mg/dl), la diabetes con afectación de órgano diana (nefropatía diabética como enfermedad renal de base), y las dosis de timoglobulina (incremental) como factores de riesgo independientes de infección grave. (Tabla 18).

Análisis multivariante (Análisis de riesgos proporcionados de Cox)	HR	IC95%	p	HR	IC95%	p
Edad receptor (>65 años)	1.347	1.002-1.812	0.049	1.518	1.124-2.052	0.011
Género femenino,	0.980	0.721-1.332	0.897			
Insuficiencia renal moderada ^a	2.113	1.513-2.953	<0.001	1.850	1.299-2.634	<0.001
Nefropatía diabética ^b	1.878	1.213-2.907	0.005	1.920	1.184-3.115	0.008
Rechazo ^c	1.279	0.978-1.763	0.097	1.224	0.896-1.672	0.205
Retransplante ^d	1.116	0.759-1.641	0.577			
Timoglobulina dosis ^e	1.099	1.039-1.155	0.001			
Dosis timoglobulina ^a >0-3 mg/kg	0.735	0.423-1.278	0.276	0.737	0.409-1.328	0.310
Dosis timoglobulina ^a >3-6 mg/kg	1.461	1.039-2.056	0.029	1.561	1.079-2.257	0.018
Dosis timoglobulina ^a >6 mg/kg	1.803	1.130-2.878	0.013	1.926	1.167-3.178	0.010
Dosis altas de micofenolato ^f	0.694	0.514-938	0.017	0.754	0.548-1.036	0.082
MRP2 CT&TT	1.569	1.178-2.091	0.002	1.483	1.098-2.003	0.010

Tabla 18. Modelo de análisis de riesgos proporcionados de Cox. Factores predictores de infección grave en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato. estadísticamente significativa $si < 0.05$. a) Insuficiencia renal moderada: creatinina > 2mg/dl. b) Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa c) Rechazo: cualquier tipo. d) Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe el 2º trplante. e) dosis de timoglobulina: categoría de referencia= no recibir timoglobulina .f) Dosis de micofenolato >1000 mg/día.

7.1.2.4 INFECCIÓN POR CMV.

Durante el seguimiento, un 30,3 % (n=90) presentó un episodio de infección por CMV frente a un 69,7 % que mantuvo carga de CMV negativa de forma persistente a lo largo del seguimiento. Treinta y tres pacientes (11,2%) desarrollaron enfermedad por CMV. Un 26,5% mostró afectación hematológica, un 14,7% respiratoria, un 17.6% intestinal y un 29,4% presentó los síntomas de la enfermedad de forma multiorgánica. El 16,6 % de los pacientes presentaban alto riesgo de infección por CMV (receptor negativo/donante positivo) frente a un 83,2% de pacientes receptores con IgG de CMV positiva. El 66,8% de los pacientes recibieron profilaxis para infección por CMV, según el protocolo vigente. Se analizaron las características basales de los pacientes con infección por CMV y se compararon con aquellos pacientes libres de infección por CMV. La edad, la serología de riesgo y la función renal fueron variables que presentaban diferencias entre los dos grupos de forma estadísticamente significativa (Tabla 19).

Características basales n (%)	INFECCIÓN CMV + 90 (30.3%)	INFECCIÓN CMV – 210 (69.7%)	p
Edad receptor ,media (DE)	55.48 (13.27)	50.40(13.18)	0.003
Género femenino, n (%)	33 (37.1%)	62 (29.5%)	0.221
Creatinina basal, media (DE)	1.69 (0.61)	1.52(0.47)	0.011
IMC, media (DE)	1.87 (0.17)	1.85 (0.29)	0.850
Nefropatía diabética n(%) ^b	12 (13.3%)	17 (8.2%)	0.202
Timoglobulina dosis, media (DE)	2.8 (2.64)	3.13 (2.8)	0.383
Rechazo, n(%)	38 (42.2%)	79 (37.7%)	0.518
Re-transplante ^e	13 (14.4)	35(16.9)	0.732
Serología riesgo CMV (D+/R-) n, (%)	26(28.9)	24(11.6)	<0.001
Profilaxis CMV n, (%)	61 (68.2)	139 (66.2)	0.788
Dosis micofenolato (mg/día) media (DE)	1188.506 (337.05)	1149 (377,97)	0.403
MRP2 CT&TT, n (%)	52 (57.8%)	84 (40.1%)	0.005

Tabla 19. Características basales de pacientes en estudio de infección por CMV.

La incidencia de **infección por CMV** al final del seguimiento fue mayor en los pacientes portadores del polimorfismo que aquéllos no portadores (38.52% Vs. 23.46% $p=0.005$) (tabla 10). De estas infecciones, se observó un porcentaje más alto de enfermedad por CMV entre pacientes portadores del polimorfismo frente a aquéllos no portadores, pero sin alcanzar la significación estadística. (51.5% Vs. 44.4% $p= 0.658$). La supervivencia libre de infección por CMV a 6, 12 y 36 meses mayor para los pacientes no portadores del polimorfismo con respecto a los pacientes portadores (80 %,79% y 78% Vs. 68%,66 % y66 % respectivamente (log Rank $p 0.007$) (Figura 28)

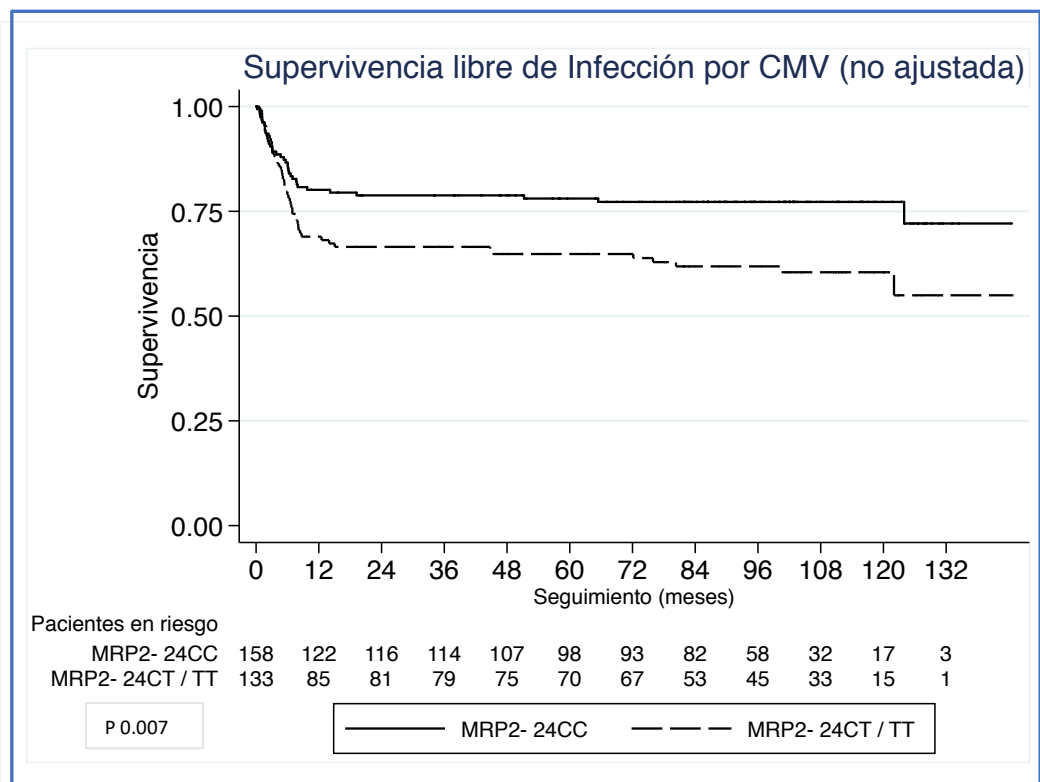


Figura 28. Curva de supervivencia libre de infección por CMV de acuerdo a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT . Muestra no ajustada.

El mismo análisis en la muestra ajustada mostró resultados similares (79 %, 78% y 78% Vs. 67%, 65 % y 63 % respectivamente (log Rank $p 0.019$) (Figura 29).

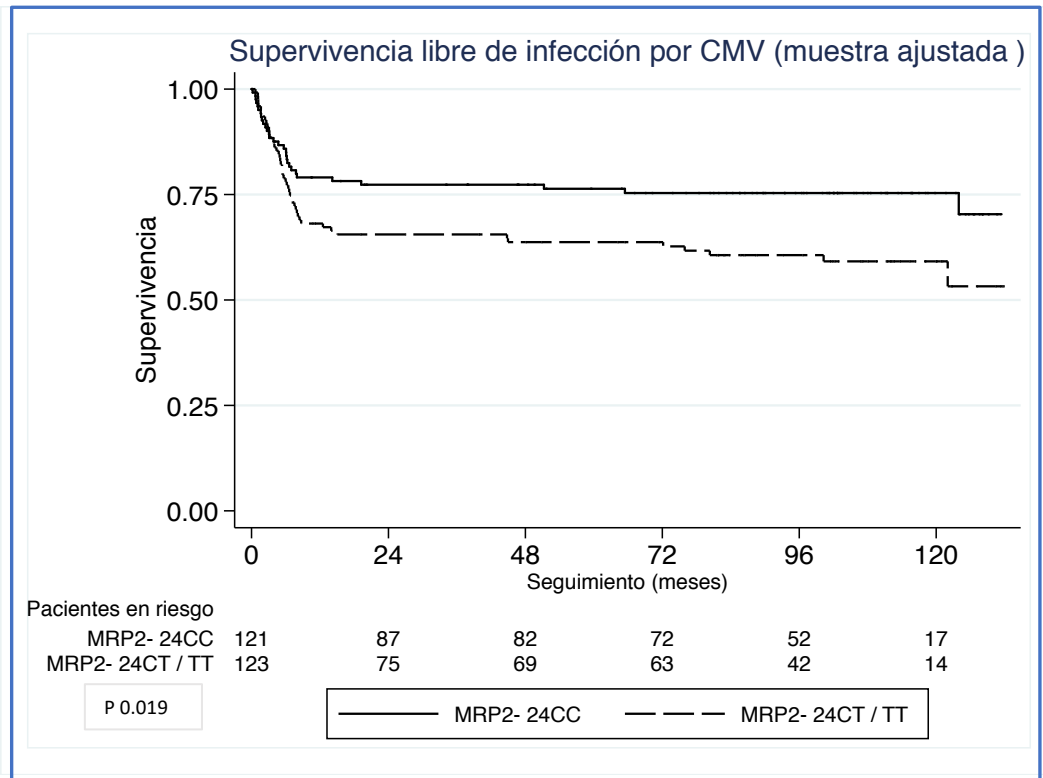


Figura 29.: Curva de supervivencia libre de infección por CMV de acuerdo a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT . Muestra ajustada tras puntuación de propensión.

En el análisis multivariante (análisis de riesgos proporcionados de Cox) el polimorfismo MRP2 24 (CT&TT) de nuevo se comportó como un factor de riesgo independiente de infección por CMV, junto con la edad > 65años, la insuficiencia renal moderada (Creatinina >2mg/dl) y el status serológico de riesgo (IgG CMV Donante positivo /IgG CMV receptor negativo). Sin embargo, la diabetes con afectación de órgano diana (nefropatía diabética como enfermedad renal de base) no alcanzó la significación estadística para considerarse un factor de riesgo de infección por CMV. El tratamiento con timoglobulina o las dosis utilizadas tampoco asocian más riesgo de infección por CMV, probablemente gracias a los protocolos de profilaxis de infección por CMV, en los que de forma sistemática se indica tratamiento profiláctico de infección de CMV si el paciente ha recibido timoglobulina²²⁴ .(Tabla 20).

INFECCIÓN CMV Análisis de riesgos proporcionados de Cox	Análisis univariante			Análisis multivariante		
	HR	IC	p	HR	IC	P
Edad receptor (>65 años)	1.576	0.970-2.559	0.066	1.920	1.165-3.163	0.010
Género femenino,	1.302	0.840-2.017	0.283			
Insuficiencia renal moderada ^a	1.974	1.241-3.141	0.004	1.819	1.124-2.943	0.015
Nefropatía diabética ^b	1.584	0.861-2.914	0.139	1.663	0.858-3.223	0.132
Rechazo ^c	1.208	0.790-1.849	0.383			
Retrasplante ^d	1.069	0.593-1.927	0.825			
Dosis timoglobulina ^a >0-3 mg/kg	1.385	0.724-2.647	0.325	1.381	0.714-2.670	0.338
Dosis timoglobulina >3-6 mg/kg	0.980	0.600-1.602	0.936	1.155	0.678-1.968	0.597
Dosis timoglobulina >6 mg/kg	0.670	0.294-1.527	0.341	0.891	0.380-2.088	0.791
Serología riesgo CMV (D+/R)	2.444	1.542-3.874	<0.001	2.871	1.786-4.615	<0.001
Profilaxis CMV	0.923	0.580-1.468	0.734			
Dosis altas de micofenolato	1.349	0.823-2.211	0.235	1.171	0.693-1.979	0.555
MRP2 CT&TT	1.764	1.152-2.706	0.009	1.920	1.253-3.015	0.003

Tabla 20. Modelo de análisis de riesgos proporcionados de Cox. Factores predictores de infección por CMV en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato. .a) *Insuficiencia renal moderada: creatinina > 2mg/dl.* b) *Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa* c) *Rechazo: cualquier tipo.* d) *Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe el 2º trápante.* e) *dosis de timoglobulina: categoría de referencia= no recibir timoglobulina* .f) *Dosis de micofenolato >1000 mg/día.*

7.1.2.5 NEOPLASIA

Durante el seguimiento, un 20.3% (n=61) de pacientes presentaron el diagnóstico de neoplasia maligna. En un 5% de nuestros pacientes ya se había detectado con anterioridad algún tipo de neoplasia previa al trasplante. El diagnóstico de neoplasia fue más frecuente en pacientes con antecedentes de tumores previos (11.3% Vs. 5.2%), pero sin significación estadística (tabla 10). Diecisiete pacientes tuvieron más de un tumor (5.7%) tras el trasplante renal. La localización más frecuente de los tumores diagnosticados fue en la piel (26/61; 41.9%), seguido de urológicos (15/61; 24.2%). Cinco pacientes fueron diagnosticados de una neoplasia pulmonar (5/61; 8.1%), 5 pacientes de origen hematológico, 3 neoplasias fueron de origen digestivo y 2 de mama. En cuanto a la evolución, 17 pacientes no tuvieron una respuesta al tratamiento completa y 8 pacientes fallecieron.

Características basales	NEOPLASIA + (n=61)	NEOPLASIA – (n=239)	p
Edad receptor (años),media (DE)	57.91 (10.67)	50.66(13.72)	<0.001
Género femenino, n (%)	20 (33.3)	74 (31.5)	0.877
IMC, media (DE)	1.89 (0.26)	1.85 (0.25)	0.979
Creatinina basal, media (DE)	1.50 (0.52)	1.59 (0.52)	0.263
Nefropatía diabética n (%) ^b	6 (9.8)	23 (9.6)	1.000
Rechazo ^d n (%)	20 (32.8%)	97 (40.6%)	0.305
Re-transplante ^e n(%)	7 (11.5%)	42 (17.46%)	0.332
Timoglobulina dosis, media (DE)	3.01 (2.58)	3.05 (2.81)	0.922
0, n (%)132 pac	19 (31.7)	88 (36.9)	0.393
0-3 mg/kg n (%)	10 (16.7)	24 (10.3)	
3-6 mg/kg n (%)	26 (43.3)	95 (39.9)	
>6 mg/kg n (%)	5 (8.4)	30 (12.9)	
Tabaquismo ^g n (%)	28 (47.41)	90 (38.3)	0.229
MRP2 CT&TT, n (%)	32 (52.5%)	104 (43.5%)	0.249

Tabla 21. Características basales de pacientes en estudio de neoplasia

Se analizaron las características basales de los pacientes con neoplasia y se compararon con aquellos pacientes que no tuvieron diagnóstico de neoplasia (tabla 21).

Los pacientes con neoplasia fueron de mayor edad que los pacientes libres de neoplasia, siendo esta diferencia estadísticamente significativa. (57.9 años Vs. 50.66 años, $p < 0.001$). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en cuanto al tratamiento recibido con timoglobulina (70% Vs. 63.4%, $p = 0.567$), antecedentes de hábito tabáquico (47.41% Vs. 38.3%, $p = 0.229$) o ser portador del polimorfismo MRP2 (-24 CT) (52.5% vs 43.5%, $p = 0.249$). No obstante, pudo observarse que la frecuencia de estas 3 condiciones fue discretamente más alta en el grupo de pacientes con diagnóstico de neoplasia.

En cuanto al comportamiento de los tumores de acuerdo al polimorfismo MRP2 24 CT&TT, no se observaron diferencias de la localización de los tumores diagnosticados entre los pacientes portadores o no del polimorfismo. Sin embargo, estos últimos presentaban con más frecuencia neoplasias en estadios avanzados al momento del diagnóstico que los pacientes no portadores del polimorfismo, pero sin que estas diferencias alcanzaran la significación estadística (70% Vs. 48%, $p = 0.130$). La respuesta al tratamiento fue similar en ambos grupos, alcanzando una respuesta total al tratamiento en un 53.8% (no portadores) Vs. un 46.2%, (portadores), $p = 0.768$. Como dato llamativo, a lo largo del seguimiento, 8 pacientes con diagnóstico de neoplasia fallecieron por causa tumoral, de los cuales 7 eran portadores del polimorfismo MRP2 24 CT&TT (87.5% Vs. 12.5%, $p = 0.025$). (Figura 30-A)

La supervivencia libre de neoplasia a 1, 5 y 10 años en los pacientes no portadores del polimorfismo podría ser mayor con respecto a los pacientes portadores (96%, 89% y 77% Vs. 94%, 82% y 66%) respectivamente aunque estas diferencias no eran estadísticamente significativas. (log rank $p = 0.364$). Sin embargo, tras el ajuste de la muestra por puntuación de propensión, estas diferencias aumentaron (96%, 92% y 83% Vs. 94%, 82% y 66%) y la p se acerca a la significación estadística ($p = 0.067$) (Figura 30-B).

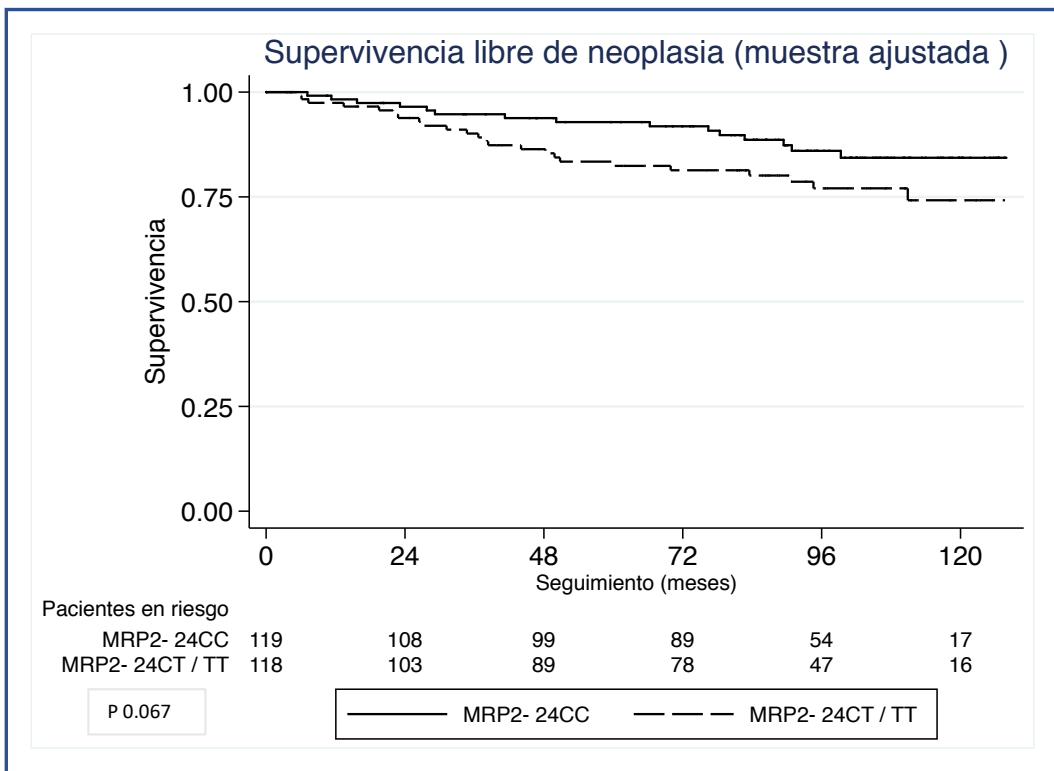
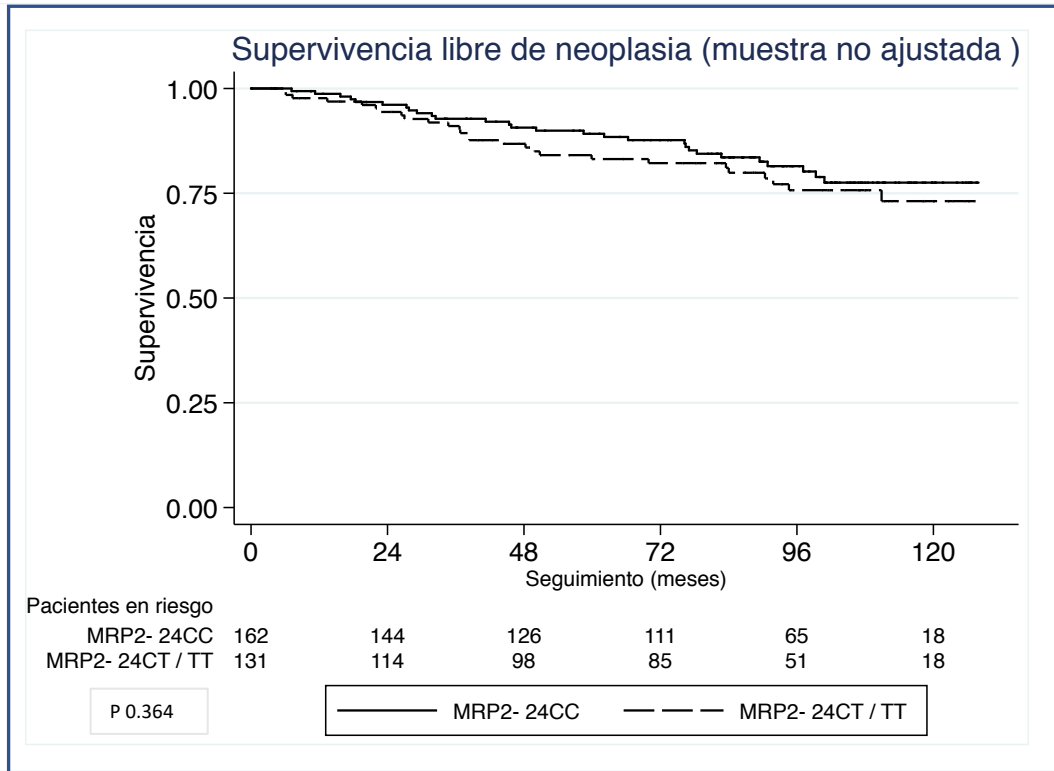


Figura 30: Curva de supervivencia libre de neoplasia de acuerdo a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT . Muestra no ajustada(A). Muestra ajustada tras puntuación de propensión (B).

En el análisis multivariante la edad > 65 años y el tratamiento con timoglobulina se consideraron factores de riesgo de neoplasia (Tabla 22).

NEOPLASIA Análisis de riesgos proporcionados de Cox	Análisis univariante			Análisis multivariante		
	HR	IC	p	HR	IC	p
Edad receptor (>65 años)	1.691	0.991-2.885	0.054	1.945	1.052-3.596	0.034
Género femenino,	0.874	0.597-1.835	0.582			
Insuficiencia renal moderada ^a	0.810	0.382-1.717	0.047			
Nefropatía diabética ^b	1.372	0.587-3.206	0.466			
Rechazo ^c	0.874	0.501-1.514	0.623			
Retrasplante ^d	1.683	0.721-3.930	0.229			
Timoglobulina dosis ^e	1.055	0.959-1.161	0.270			
>0-3 mg/kg	2.043	0.907-4.600	0.085	2.181	0.941-5.055	0.069
>3-6 mg/kg	1.699	0.904-3.191	0.100	1.920	1.001-3.698	0.050
>6 mg/kg	1.170	0.430-3.186	0.758	1.651	0.582-4.682	0.346
Dosis alta micofenolato ^f	1.345	0.728-2.484	0.344	1.567	0.817-3.008	0.177
Tabaquismo ^g	1.253	0.725-2.166	0.420			
MRP2 CT&TT	2.220	1.011-4.876	0.047	1.297	0.753-2.232	0.348

Tabla 22. Modelo de análisis de riesgos proporcionados de Cox. Factores predictores de neoplasia en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato..a) Insuficiencia renal moderada: creatinina > 2mg/dl. b) Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa c) Rechazo: cualquier tipo. d) Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe el 2º traplante. e) dosis de timoglobulina: categoría de referencia= no recibir timoglobulina .f) Dosis de micofenolato >1000 mg/día.

7.1.2.6 CAMBIO DE REGIMEN INMUNOSUPRESOR.

Durante el seguimiento, se modificó el tratamiento inmunosupresor a 132 pacientes (60.1%). Al final del seguimiento el 83,4% de pacientes recibían tratamiento con MPA (asociado a ICN en un 66%) y en un 16,6% de los pacientes fue preciso su suspensión definitiva. Además, a los 5 años del trasplante, el 26,9% (n=77) recibían dosis bajas de MPA (360 mg /día de EC-MPS o 500 mg/día de MMF).

Las causas de cambio de tratamiento más frecuentes fueron síntomas digestivos (11.3%), alteraciones hematológicas (5.3%), infección por CMV (3.7%), replicación sérica o urinaria de poliomavirus BK (10.3%), diagnóstico reciente de neoplasia (12.3%), infecciones de repetición (1,7%), nefrotoxicidad (4,3%) o neurotoxicidad (2.3%). En un porcentaje de un 8% se realizó el cambio de tratamiento de FK a imtor (manteniendo MPA) debido a la participación en estudios de investigación. Aunque los resultados son similares si en el análisis se incluyen todas las causas de cambio de tratamiento estas últimas 3 causas no se consideran situaciones asociadas a toxicidad por MPA o un exceso de inmunosupresión, por lo que no se consideran para el análisis.

Las características basales de los pacientes que precisaron cambio de tratamiento inmunosupresor frente a aquellos que mantuvieron el mismo tratamiento a lo largo del seguimiento fueron bastante similares, a excepción la edad y la dosis de timoglobulina, que fue significativa más alta entre los pacientes que precisaron el cambio de tratamiento inmunosupresor. (Tabla 23).

Características basales n (%)	CAMBIO TRATAMIENTO+ 132 (46.2%)	NO CAMBIO DE TRATAMIENTO – 154 (53.8%)	p
Edad receptor (años),media(DE)	54.10 (13.33)	50.36 (13.35)	0.019
Género femenino, n (%)	47(35.6%)	46 (30.1%)	0.375
Creatinina basal, media (DE)	1.58 (0.51)	1.57(0.54)	0.862
IMC, media (DE)	1.90 (0.27)	1.76 (0.20)	0.182
Nefropatía diabética n (%) ^b	8 (6.1%)	18(11.7%)	0.148
Asistolia II, n(%)	73 (56.2%)	91 (57.91%)	0.618
Rechazo	49(37.1%)	60 (39%)	0.807
Re-trasplante	22(16.7%)	24 (15.6%)	0.872
Timoglobulina dosis, media (DE)	3.44 (2.89)	2.6 (2.58)	0.019
0, n (%)	39 (30.7)	62 (40.8)	0.202
0-3 mg/kg n (%)	16 (12.6)	17 (11.2)	
3-6 mg/kg n (%)	53 (46.9)	60 (53.1)	
>6 mg/kg n (%)	19(15.0)	13 (8.6)	
Fumador, n (%)	57 (46.0)	52 (35.6)	0.106
MRP2 CT&TT n(%)	71(53.8)	60 (46.2)	0.013

Tabla 23. Características basales de pacientes de en estudio cambio de tratamiento inmunosupresor.

El polimorfismo MRP 24 CT&TT fue más frecuente entre los pacientes que precisaron **cambio de tratamiento inmunosupresor**, siendo estadísticamente significativa esta diferencia (67.91% Vs. 53.66%, p=0.013). La supervivencia libre de modificación del régimen inmunosupresor al 1, 3 y 5 años fue mayor para los pacientes no portadores del polimorfismo con respecto a los pacientes portadores (Figura 31).

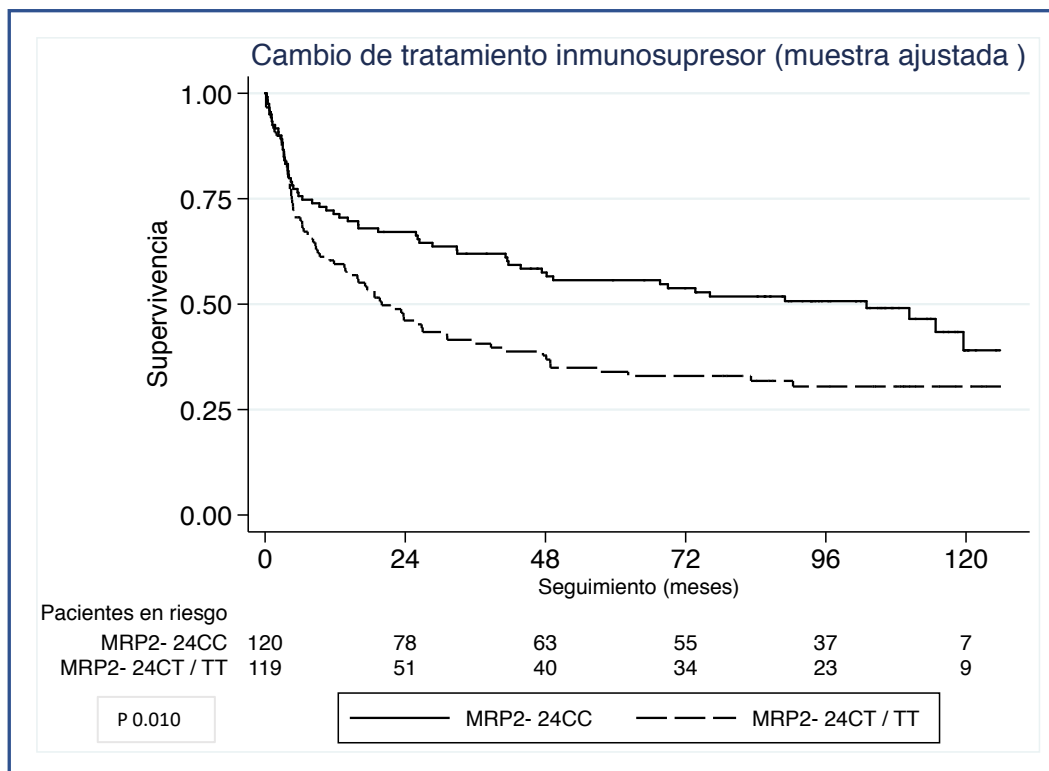
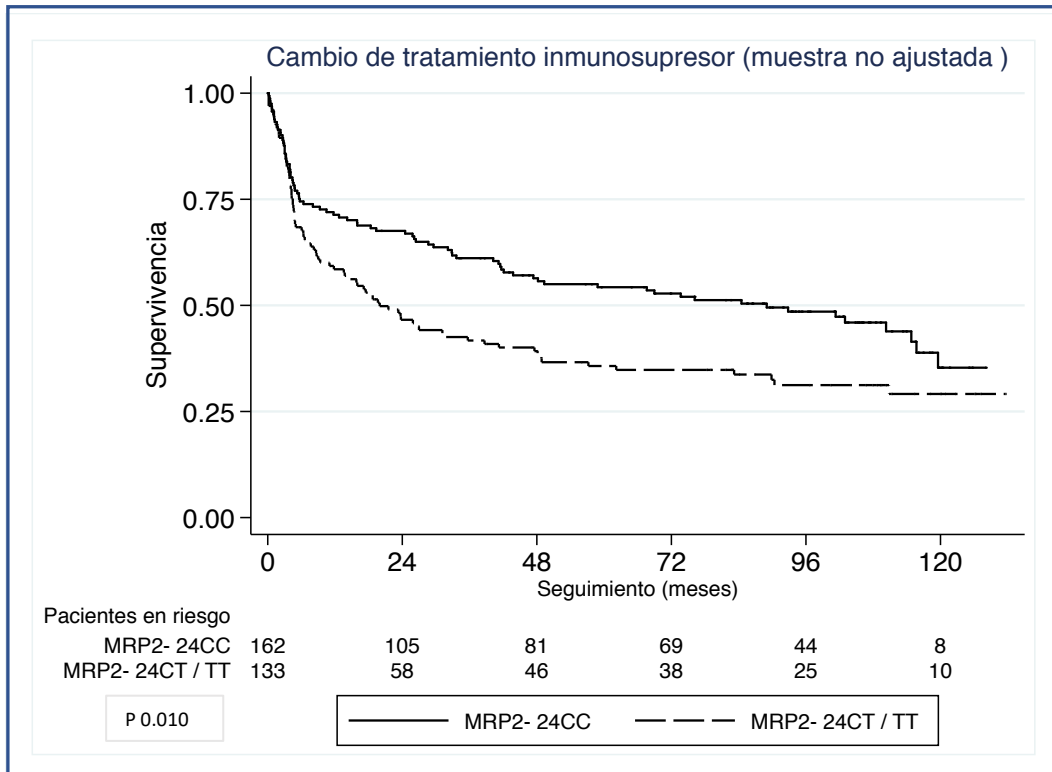


Figura 31: Curva de supervivencia libre de cambio de inmunosupresión de acuerdo al polimorfismo MRP2 24 (CT&TT). Muestra no ajustada (A): Supervivencia a 1,3,5 años: 67%,56% y 54% Vs. 46%, 38 % y 35%) respectivamente. Muestra ajustada tras puntuación de propensión (B): Supervivencia a 1,3 5 años: 67%, 58% y 53% Vs. 46%, 38 % y 34%).

Se realizó un análisis multivariante (análisis de riesgos proporcionados de Cox) para explorar los factores predictores de cambio de tratamiento inmunosupresor (Tabla 24).

Cambio tratamiento inmunosupresor COX	Análisis univariante			Análisis multivariante		
	HR	IC	p	HR	IC	p
Edad receptor (>65 años)	1.620	1.139-2.306	0.007	1.594	1.096-2.320	0.015
Género femenino,	1.334	0.931-1.912	0.117	1.730	1.132-2.644	0.011
Insuficiencia renal moderada ^a	1.331	0.879-2.017	0.177	1.391	0.874-2.212	0.164
Nefropatía diabética ^b	0.677	0.331-1.386	0.285			
Rechazo ^c	1.004	0.700-1.438	0.985			
Retrasplante ^d	0.947	0.597-1.500	0.815			
Dosis timoglobulina ^e >0-3 mg/kg	1.493	0.829-2.686	0.182	1.585	0.853-2.947	0.145
Dosis timoglobulina >3-6 mg/kg	1.422	0.930-2.173	0.104	1.506	0.958-2.369	0.076
Dosis timoglobulina >6 mg/kg	1.636	0.930-2.878	0.088	1.963	1.066-3.617	0.031
Tabaquismo ^g	1.394	0.972-1.997	0.071	1.900	1.260-2.866	0.002
MRP2 CT&TT	1.655	1.168-2.346	0.005	1.643	1.125-2.399	0.010

Tabla 24. Modelo de análisis de riesgos proporcionados de Cox. Factores predictores de cambio de tratamiento inmunosupresor en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato. a) Insuficiencia renal moderada: creatinina > 2mg/dl. b) Nefropatía diabética: Como enfermedad de base previa c) Rechazo: cualquier tipo. d) Re-transplante: definido como cualquier paciente que recibe el 2º traplante. e) dosis de timoglobulina: categoría de referencia= no recibir timoglobulina .g) Hábito tabáquico alguna vez.

Este modelo identificó al polimorfismo MRP2 24CT&TT como factor predictor de cambio de inmunosupresión. Además, también observamos otros factores predictores, como las dosis de timoglobulina recibidas (incremental), la edad avanzada (>65 años), el sexo femenino y el hábito tabáquico.

7.1.2.7 SUPERVIVENCIA DEL PACIENTE

La mortalidad por todas las causas fue discretamente mayor en los portadores (13,43% Vs. 8,06%, $p=13$) (tabla 10). La supervivencia a 1, 5 y 10 años fue mayor en los portadores del polimorfismo (96 %, 95 %, 91 % Vs. 98 %, 91 %, 75%), no obstante, sin significación estadística ($p=0.163$).

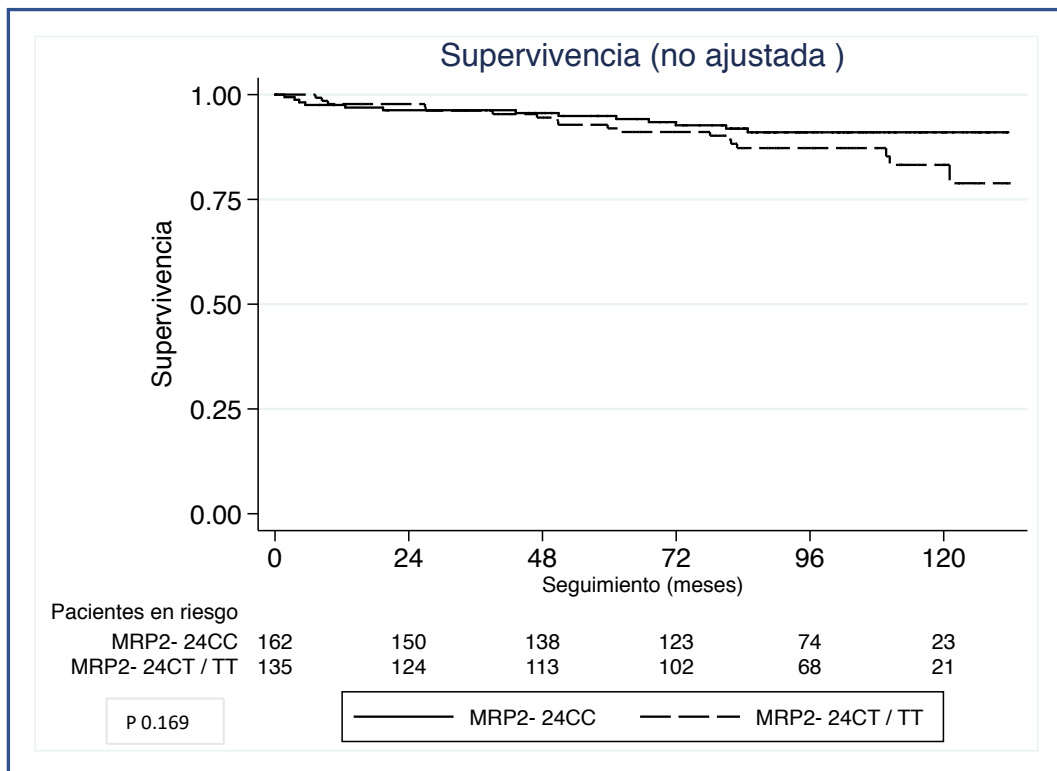


Figura 32: Curva de supervivencia de acuerdo a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT .
Muestra no ajustada.

Tras el ajuste por puntuación de propensión, estas diferencias incrementaron (97%, 96% y 93% Vs. 98%, 94% y 76%) sin ser estadísticamente significativas ($p=0.078$).

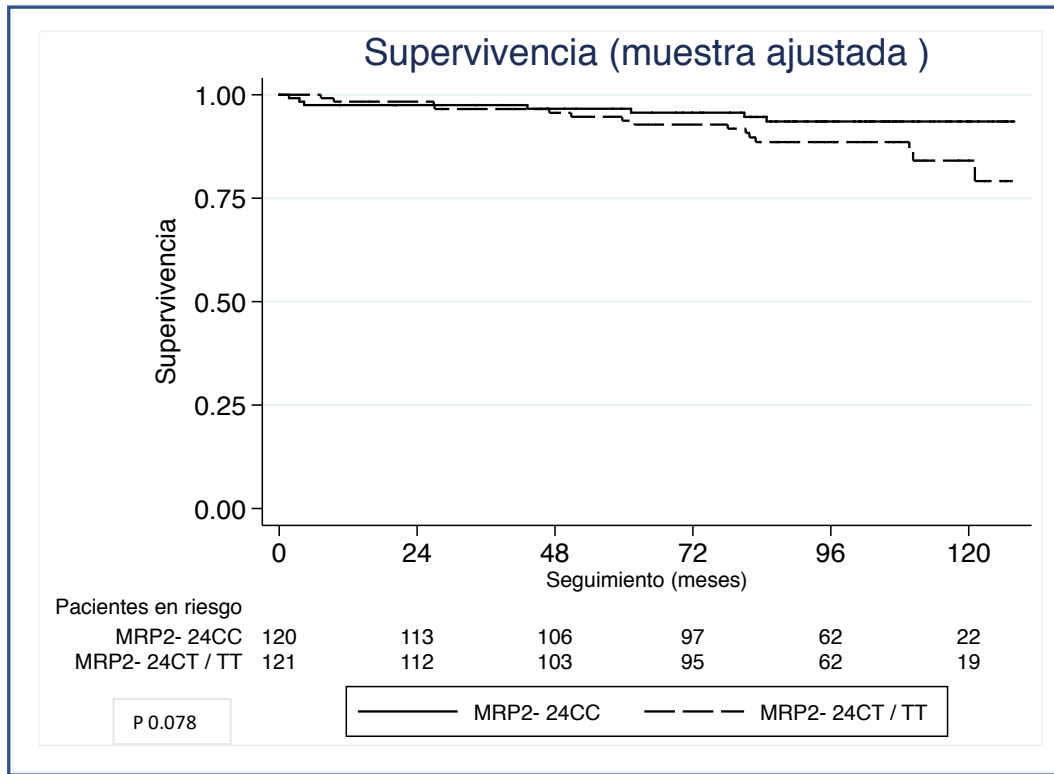


Figura 33.: Curva de supervivencia de acuerdo a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT .
Muestra ajustada tras puntuación de propensión.

En la siguiente tabla se resumen los Hazard Ratios atribuidos a la presencia del polimorfismo MRP2 24 (CT&TT) de cada evento, antes y después del ajuste de la muestra por puntuación de propensión. En el caso de la neoplasia y la supervivencia tras el ajuste de la muestra el HR es mayor y el valor de p se acerca a la significación estadística (Tabla 25).

	Muestra no ajustada			Muestra ajustada tras puntuación de propensión		
	HR	IC 95%	p	HR	IC 95%	p
Diarrea	4.521	2.305-8.868	<0.001	4.543	2.210-9.341	<0.001
Leucopenia	2.197	1.506-3.204	<0.001	2.527	1.649-3.874	<0.001
Infección	1.570	1.178-2.091	0.003	1.704	1.245-2.331	0.001
Infección CMV	1.787	1.165-2.739	0.008	1.713	1.080-2.708	0.021
Cambios tratamiento IS	1.475	1.094-1.988	0.011	1.544	1.105-2.158	0.011
Neoplasia	1.274	0.754-2.150	0.365	1.804	0.956-3.402	0.068
Supervivencia	1.653	0.809-3.375	0.167	2.193	0.891-5.395	0.087

Tabla 25. Tabla que resume los Hazard Ratios atribuidos a la presencia del polimorfismo MRP2 24 CT&TT de diarrea, leucopenia, infección, infección por CMV, neoplasia y cambio de tratamiento inmunosupresor, antes y después del ajuste de la muestra por puntuación de propensión.

7.2 Impacto del polimorfismo MRP2 (-24 CT) en la farmacocinética del MPA

7.2.1 Análisis descriptivo y farmacocinético de la población.

En un primer análisis descriptivo en el que se incluyeron todas las curvas realizadas (150), pudimos observar el comportamiento del ácido micofenólico en nuestra muestra (Figura 34).

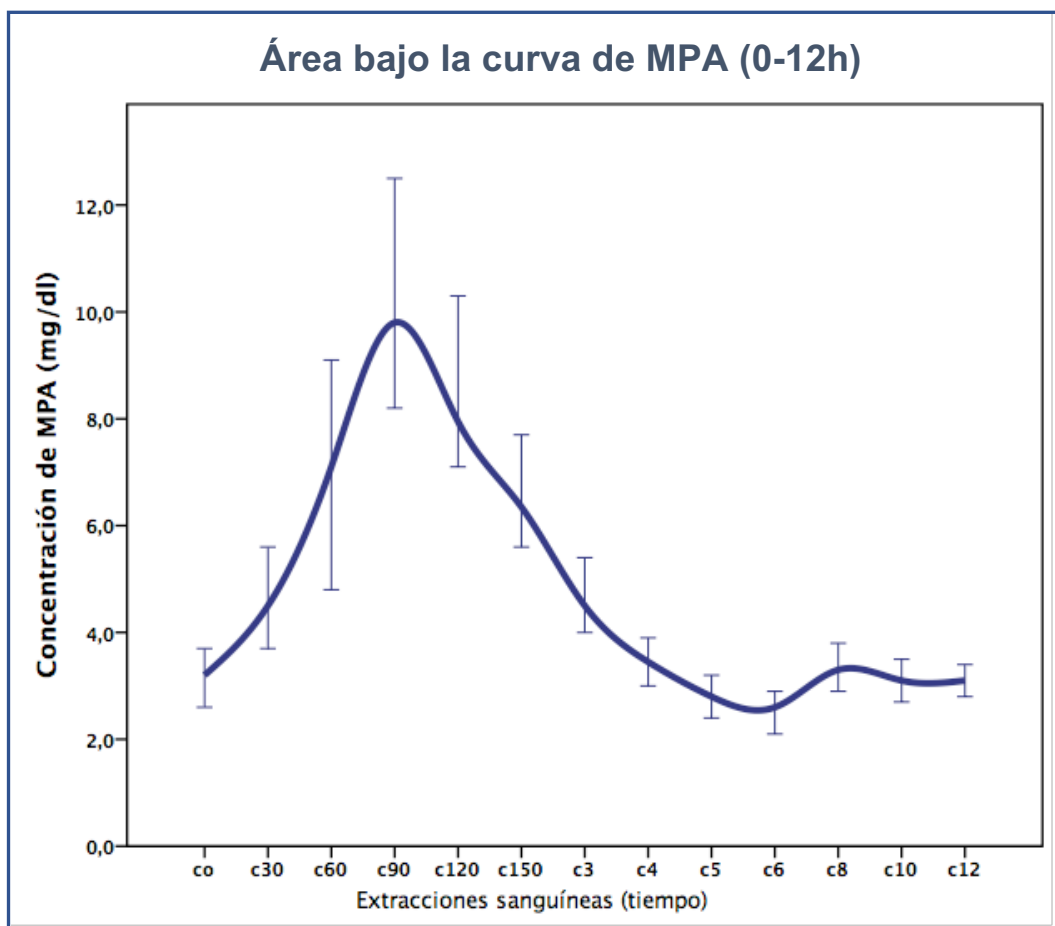


Figura 34. Área bajo la curva (0-12h) de MPA en el análisis global.

Como en estudios previos, el MPA se distribuía a lo largo de las 12 horas de acuerdo a la gráfica descrita. Pudimos observar una concentración máxima a los 90-120 minutos. El valor medio de AUC_{0-12h} fue de 62.37 +/- 27.70. La mediana fue de 58.07 (RIC 44.70-73.54), similar a la media, por lo que pudimos expresar a lo largo de

la investigación los valores de AUC de MPA en forma de media, para que nuestros resultados puedan ser comparables con el resto de estudios publicados. No obstante, en las gráficas, las concentraciones sí se expresan en forma de mediana, para evitar sesgos relacionados con alta dispersión en los valores medidos. La Cmax fue de 23.65 mg/dl (13.10) y el Tmax fue 107.58 (84.59) min/dl. Este último valor si tuvo una dispersión mayor, en relación con las diferencias en la farmacocinética del EC-MPS. En la siguiente tabla (tabla 26) se exponen los niveles de acuerdo a las variables que previamente se ha descrito influyen en los niveles de MPA.

	AUC 0-12h (mg*h/l) media (DE)	Cmax (mg/dl)	Tmax (min/dl)
Total muestra	62.37 (27.70)	23.65(13.10)	107.58(84.59)
Sexo (H Vs M)	58.94 (22.40) Vs 58.94 (22.40)*	24.46 (13.85) Vs 22.13(11.54)*	109.13(88.68) Vs 104.69(77.09)*
>65a /< 65a	61.86 (30.11) Vs 62.74(26.03)*	24.03(14.14) Vs 23,08(12.39)*	112.93 (91.18) Vs 103 (79.9)*
Tº trasplante <1año/>1año	62.12(31.0) Vs 62.46(26.65)*	23.77(14.21) Vs 23.61(12,78)*	98.68(80) Vs 110.55(85.98)*
Creat<2/creat >2	60.85 (27.78) Vs 66.05 (27.61)*	25.21 (14,45) Vs 20.38 (9.06) (p 0.035)^	99.24 (69.61) Vs. 125.23 (109.52)*
IMC>1,7/ IMC<1,7	61.48 (28.43) Vs 66.43(26.91)*	23.20 (12.57) Vs 26.23 (13.9) *	105.24 (83.95) Vs. 108.40(80.95)*
IBPs si/no	60.01(20,84) Vs. 63.89 (30.94)*	23.21 (13.70) VS. 24.52(12.15)*	106.11(85.39) VS. 110 (84.74)*
Cell Cept/ Myfortic	62.17 (26.52) Vs 62.49 (28.48)*	20.37(26,52)Vs.25.51(28.48) P 0.020^	59.25(25.65) Vs. 134.99(93.74) P < 0.001^
CSA / FK/ imtor	58.23(22.73)/64.51(28. 59)/ 54.13(23.36)	19.74(15.76)/24.12(13,22)/22.87(11.88)	130.11(76.0)/108.96(91. 06)/ 93.14(36.15)
MRP2 24 CC Vs CT&TT	60.07(24.35) Vs 68.44 (33.48) p 0.090	23.81(13.50) Vs 24.25(12.80)*	101.95(73.34) Vs 117.51(104.18)*

Tabla 26. Parámetros farmacocinéticos de MPA de acuerdo a variables demográficas, tipo de fármacos inmunosupresores concomitantes, presentación farmacológica de MPA y polimorfismo MRP2(-24 CT). H: hombre, M: mujer; Tº: tiempo de trasplante; Creat>2: creatinina mayor de 2 mg/dl; SC: superficie corporal; Índice de Masa Corporal; IBPs: inhibidores de la bomba de protones. *P ns. ^p < 0.05.

En estos primeros resultados, sobre una muestra muy heterogénea, podemos entrever los resultados que previamente se habían descrito, en los que se pueden resaltar niveles de MPA más altos en pacientes con más insuficiencia renal, con IMC más bajo, en aquellos que no toman IBPS y en el paciente en tratamiento con tacrolimus, en comparación con el que toma ciclosporina o imtor. No obstante, en nuestra muestra estas diferencias no son significativas. Ya en estos primeros análisis podemos observar concentraciones más altas de MPA en pacientes portadores del polimorfismo MRP2 24CT Vs. CC (p 0.090). En cuanto al tratamiento con MMF Vs. EC-MPS, ambos presentan AUC similares, pero con T_{max} más alargado para el tratamiento con EC-MPS ($p < 0,001$). (Figura 34). Los análisis se han realizado también utilizando la mediana, y los resultados son similares (no se exponen los datos).

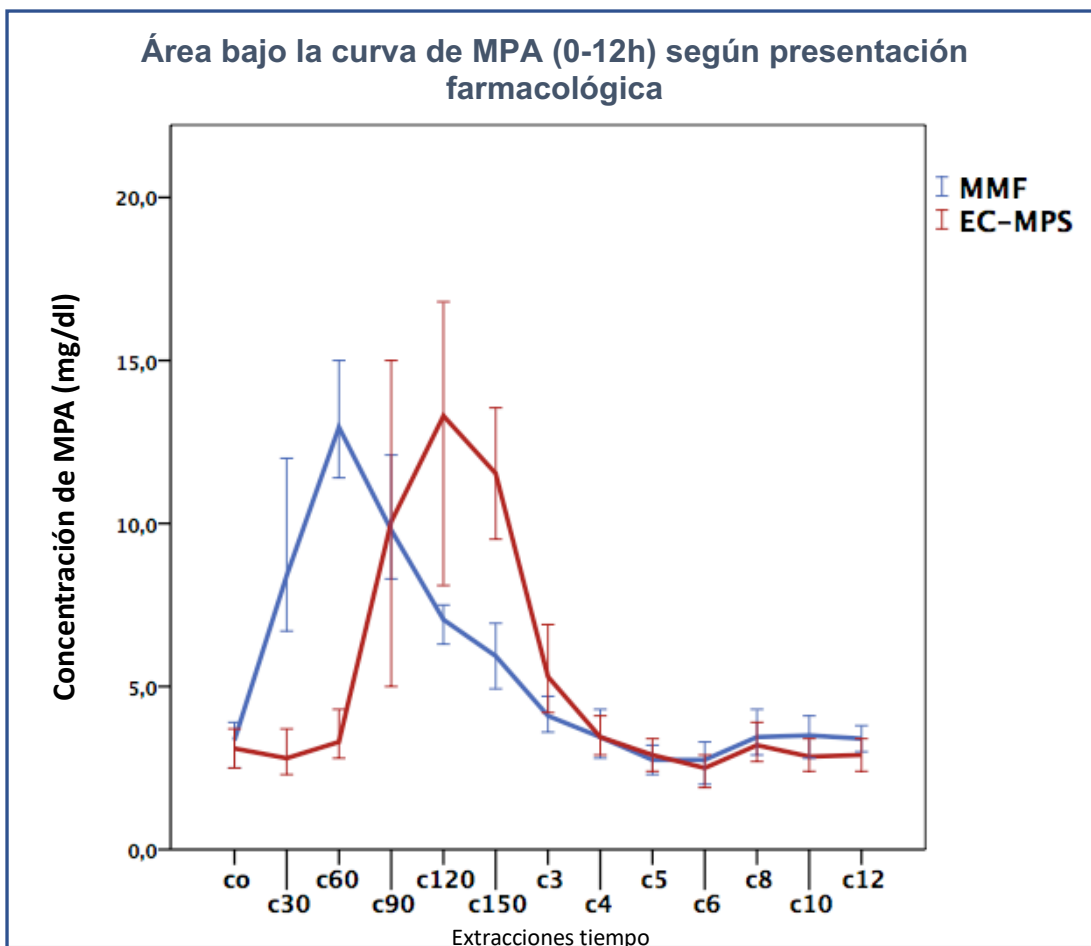


Figura 34. Representación de las curvas de 0-12h de MPA de acuerdo a la presentación farmacológica.

7.2.2 Análisis restringido a pacientes en tratamiento con Prograf®.

7.2.2.1 Descripción de la muestra y ajuste por puntuación de propensión.

Como se ha expuesto previamente, el tratamiento inmunosupresor concomitante al miconfenolato puede interferir en las concentraciones del mismo. Para minimizar potenciales sesgos asociados a la toma de otros inmunosupresores coadyuvantes, se realizó el análisis restringiendo la muestra sólo a pacientes que tomaban el tacrolimus en forma de liberación no retardada (Prograf®, **Astellas Pharma**), En esta muestra, que incluyó un total de 117 pacientes, el polimorfismo fue detectado en 43 (37,06%) de los cuáles, 36 pacientes (31,03%) fueron heterocigotos (CT); y 7 pacientes (6.03%) presentaban la variante homocigota (TT). 74 pacientes fueron pacientes no portadores (62.94%). En la siguiente tabla (27) se exponen los niveles de acuerdo a las variables que previamente se ha descrito influyen en los niveles de MPA. En este caso se exponen los datos tras restringir la muestra a pacientes en tratamiento con Prograf®.

Tratamiento con Prograf® N=117	AUC 0-12h (mgxh/l) media (DE)	Cmax (mg/dl)	Tmax (min/dl)
	65.06 (28.59)	24.32 (13.31)	109.96 (91.98)
Sexo (H Vs. M)	66.88 (31.40) Vs. 61.66(23.40)*	25.04 (14.13) Vs. 22.98(11.64)*	112.5(96.39) Vs. 105.26(84.15)*
>65a /< 65a	65.11 (28.64) Vs. 64.17(29.91)*	25.40(13.76) Vs. 24.25(13.34)*	85.71(26.99) Vs. 111.5(94.46)*
Tº trasplante <2año/>2año	64.93(27.0) Vs. 65.13(29.87)*	23.83(1.39) Vs. 24.67(13.34)*	115.71(107) Vs. 105.82(79.9)*
Creat<2/creat>2	64.11(27.69) Vs. 67.54(31.1)*	25.61 (14.26) Vs. 20.88 (9.74) (p 0.086)*	99.83(74.7) Vs. 136.87(124.5) (p0.05)^
SC>1.7/ SC<1.7	64.15 (28.79) Vs. 67.65 (28.28) *	23.75 (13.00) Vs. 25.97 (14.26) *	109.43(91) Vs. 130(147.9)*
IBPs si/no	67.46(32.26) Vs. 61.55 (19.36)*	23.80 (13.23) Vs. 25.53 (13,75) *	110.34(95.73) Vs. 108.04(91.74)*
Cell Cept/ Myfortic	62.90(27.13) Vs. 66.65(29.7) p 0.048^	20.51(12.33) Vs. 27.16 (13.38) p 0.020^	60.51(26.07) Vs. 146.86(105.6) p < 0.001^
Niveles FK>8/<8	64.08 (26.22) Vs. 66.17(31.33)*	25.26(12.64) Vs.23.22 (14.09)*	110 (86.37) Vs. 109.92(98.9)*
MRP224 CC Vs. CT	61.32(24.28) Vs. 74.31 (34.12) p 0.027	23.81(13.29) Vs. 25.29(13.45)*	101.95(73.34) Vs. 123.48(110.75)*

Tabla 27. Parámetros farmacocinéticos de MPA de acuerdo a variables demográficas, , presentación farmacológica de MPA y polimorfismo MRP2(-24 CT). H: hombre, M: mujer; Tº: tiempo de trasplante; Creat>2: creatinina mayor de 2 mg/dl; SC: superficie corporal mayor (>) y menor (<) de 1.7; IBPs: inhibidores de la bomba de protones. *P ns. ^p < 0.05.

En este caso, pudimos observar que sólo se obtenían concentraciones más altas de micofenolato de forma estadísticamente significativa en pacientes en tratamiento con EC-MPS en comparación con los pacientes que tomaban MMF. Los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT) también mostraban concentraciones más altas de micofenolato que los pacientes no portadores ($p=0.027$)

En la la tabla 28, se resumen las características demográficas de los pacientes, de acuerdo al polimorfismo MRP2 (-24 CT). El grupo de pacientes no portadores del polimorfismo presentó unos niveles de tacrolimus discretamente más altos que el grupo de pacientes portadores, no siendo estas diferencias estadísticamente significativas.

Características basales. (SOLO PROGRAF)	Muestra no ajustada			Muestra ajustada tras puntuación de propensión		
	MRP2 CC (n=74)	MRP2CT&TT (n=43)	P	MRP2 CC (n=42)	MRP2 CT&TT (n=42)	P
Edad (años), media (DE)	50.17(12.14)	53.08(12.78)	0.223	50.19 (12.56)	53.12 (12.9)	0.286
Género femenino, n (%)	27 (36.49)	14 (32.56)	0.693	18 (42.8)	14 (34..00)	1.000
IMC, media (DE)	1.83 (0.24)	1.84 (0.20)	0.804	1.78 (0.24)	1.84 (0.20)	0.115
Creatinina basal, mediana , media (DE)	1.40(1.12- 1.90)	1.60(1.25- 2.14)	0.104	1.61 (0.62)	1.71 (0.57)	0.267
Filtrado Glomerular Basal, (Cockrof) media(DE)	60.39 (18.21)	54.95 (20.01)	0.139	55.48 (18.42)	54.95(20.07)	0.532
Dosis Tacrolimus, mediana, (RIC)	3 (2-5)	3 (2-4.5)	0.676	3 (2-4.5)	3 (2-4.5)	0.454
Niveles tacrolimus, media (DE)	8.27 (2.52)	7.42(1.97)	0.088	8.04(2.11)	7.55 (2.02)	0.271
MMF (Cell Cept)	32 (43.24)	18 (41.86)	1.000	18 (42.86)	18 (42.86)	1.000
EC-MPS (Myfortic)	42 (56.76)	25 (58.14)	1.000	24 (57.14)	24 (57.141)	1.000
Dosis de micofenolato previa a AUC (mg)	574.45(255.98)	550.23(237.50)	0.613	556.42 (251.17)	554.43 (230.83)	0.975
IBPs	49 (67.12)	28 (70.00)	0.834	28 (68.00)	27 (69.70)	0.808
Tiempo trasplante (meses)	43.75(42.04)	44.97(37.07)	0.966	43.81(41.45)	45.07(36.9)	0.896

Tabla 28. Características basales de los grupos de acuerdo al polimorfismo antes y después de macheo de pacientes por puntuación de propensión en muestra restringida a toma de Prograf®.

Para minimizar potenciales sesgos en base a las diferencias observadas entre los grupos en las características basales y previamente descritas en la literatura, se obtuvieron grupos homogéneos tras un pareo por puntuación de propensión. En la tabla 1 se observan las características basales de ambos grupos; después del pareo que muestra grupos más homogéneos y comparables (especialmente en las dosis de micofenolato, función renal basal y niveles de tacrolimus

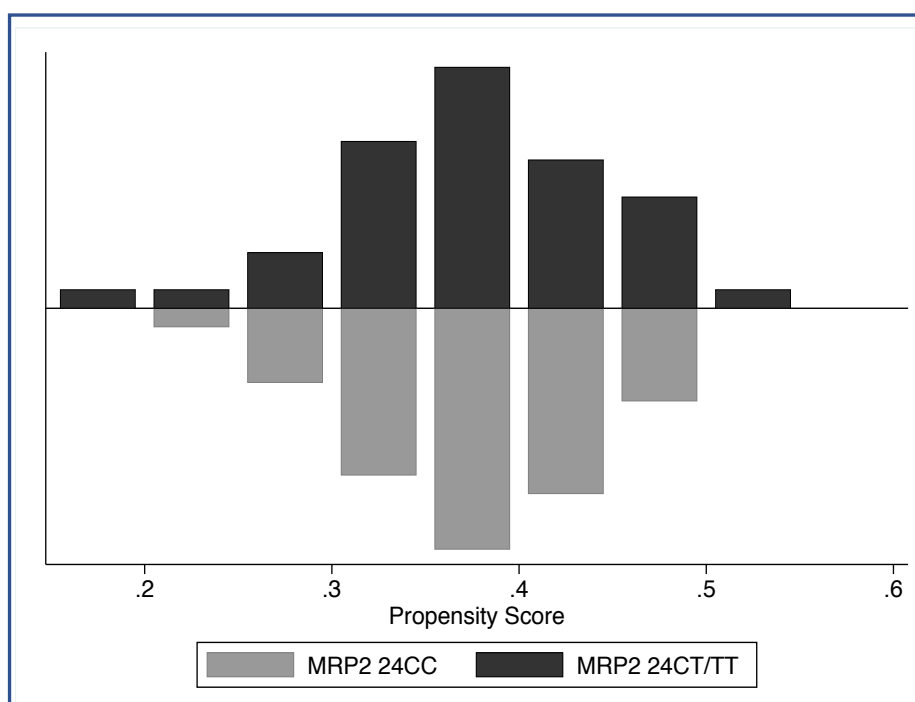


Figura 35. Gráfica que evalúa la efectividad del balanceo de grupos tras el propensity score.

7.2.2.2 Farmacocinética del MPA de acuerdo al SNP MRP2 (-24 CT).

La tabla 29 muestra los parámetros farmacocinéticos que se obtuvieron en cada grupo de acuerdo al polimorfismo (MRP2 24 CC Vs. CT&TT).

Los resultados indican que los pacientes portadores del polimorfismo presentaron niveles de MPA más altos que aquellos pacientes no portadores.

Si comparamos los pacientes portadores del polimorfismo (MRP2 24CT&TT) frente a los pacientes no portadores (MRP2 24CC) se obtuvieron curvas de MPA más altas en el grupo de pacientes portadores del polimorfismo: AUC₀₋₁₂ (mg*h/L) : 61.32 (24.28) Vs. 71.46 (32.82), p 0.064 (muestra no ajustada). Tras la realización del puntuación de propensión estas diferencias se mantuvieron, y alcanzaron la significación estadística (AUC₀₋₁₂ (mg*h/L) : 59.146 (21.36) Vs. 72.157 (34.24) p 0.043 (muestra ajustada).

Si se restringe el análisis a pacientes en tratamiento con EC-MPS (y se excluyen los pacientes en tratamiento con MMF) esta diferencia también fue más acentuada y estadísticamente significativa. AUC₀₋₁₂ (mg*h/L): (MRP2 24CC) 60.23 (22.60) Vs. (MRP2 24CT&TT) 77.43 (36.93), p 0.021. (muestra no ajustada).

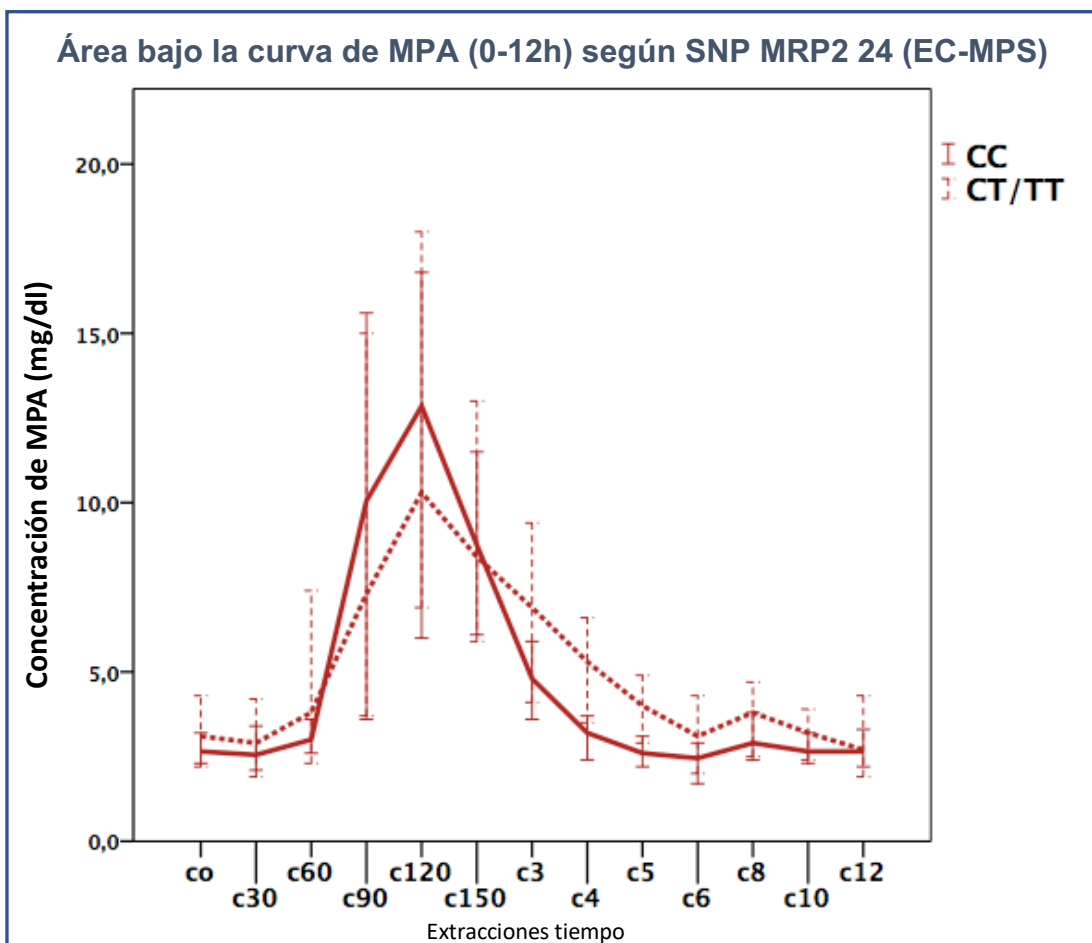


Figura 36. Representación de las curvas de 0-12h de MPA de acuerdo al polimorfismo MRP2 24 (-CT) en pacientes en tratamiento con EC-MPS. Los pacientes no portadores (MRP2 24 CC) presentaron una exposición de MPA más baja que los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 24 (CT&TT).

Si este análisis se realiza sólo a los paciente en tratamiento con MMF no se obtuvieron diferencias en los niveles de MPA- AUC_{0-12h} [62.76 (26.62) Vs. 63.161 (28.79), p 0.961] No obstante, el AUC de MPA en el periodo 6-12h sí fue mayor en los portadores del polimorfismo MRP2 24 CT&TT :[27.17 (15.50) Vs. 20.00 (8.0), p 0.019].

Solo Prograf®	Muestra no ajustada			Muestra ajustada (puntuación de propensión)		
	MRP2 CC (n=74)	MRP2CT&TT (n=43)	p	MRP2 CC (n=42)	MRP2 CT&TT (n=42)	p
Co (mg/l)	3.982(3.20)	4.295(3.67)	0.630	3.99 (2.83)	4.32 (3.71)	0.646
Cmax (mg/l)	23.81 (13.29)	25.19 (13.45)	0.592	21.500 (12.53)	25.328 (13.58)	0.256
AUC ₀₋₁₂ (mg*h/L)	61.32 (24.28)	71.46 (32.82)	0.064	59.146 (21.36)	72.157 (34.24)	0.043
AUC ₀₋₆ (mg*h/L)	40.37 (17.95)	46.36 (22.04)	0.113	37.679 (13.94)	46.835 (22.09)	0.042
AUC ₆₋₁₂ (mg*h/L)	20.95 (9.91)	25.95(14.6)	0.069	21.466 (10.43)	25.321 (14.73)	0.133
PACIENTES CON MYFORTIC®	MRP2 CC n=42	MRP2 CT&TT N=25		N=24	N=24	p
AUC ₀₋₁₂ (mg*h/L)	60.23 (22.60)	77.43 (36.93)	0.021	61.713 (25.7)	78.904 (36.97)	0.097
AUC ₀₋₆ (mg*h/L)	40.22 (17.77)	50.26 (24.50)	0.057	39.13 (16.82)	51.245 (24.53)	0.092
AUC ₆₋₁₂ (mg*h/L)	20.00 (9.00)	27.17 (15.51)	0.019	22.58(11.68)	27.658 (15.64)	0.209

Tabla 29. Comparación de parámetros farmacocinéticos de acuerdo al polimorfismo MRP2 24 (-CT) antes y después de macheo de muestra por puntuación de propensión. Muestra restringida a toma de Prograf.®.

De acuerdo a estos resultados se podrían concluir 2 puntos importantes:

- 1) Los niveles de MPA podrían ser más altos en pacientes portadores del polimorfismo MRP2 24 con variante T.
- 2) Estas diferencias podrían ser más evidentes en los pacientes en tratamiento con Myfortic® en comparación con Cell Cept®.

DISCUSIÓN

8. DISCUSIÓN

8.1 Impacto del SNP MRP2 (-24 CT) en el trasplante renal en tratamiento con micofenolato. Farmacocinética y repercusión clínica.

Los resultados de esta investigación ponen de manifiesto que el polimorfismo genético del transportador MRP2 (-24 CT), en homocigosis (TT) o heterocigosis (CT), se comporta como un factor de riesgo de complicaciones asociadas al micofenolato, como son la diarrea y la leucopenia, o a un exceso de inmunosupresión, las infecciones graves de cualquier etiología que requieren hospitalización, infección por CMV y necesidad de cambio de tratamiento inmunosupresor en el paciente trasplantado renal.

Además, esta investigación también demuestra que el SNP MRP2 (-24 CT) tiene un impacto importante en la exposición del ácido micofenólico, siendo esta mayor en los pacientes portadores del polimorfismo.

En la actualidad, disponemos de varios fármacos inmunosupresores, pero presentan un perfil de efectos adversos que en ocasiones implica la suspensión y/o modificación del esquema inmunosupresor para poder adecuarlo mejor a cada paciente²²⁵. Además, sabemos que existe una variabilidad inter individual que hace que algunos pacientes sean más susceptibles que otros a complicaciones graves, incluso con un tratamiento inmunosupresor similar o estándar^{44,78,229}. Existen múltiples líneas de investigación que intentan explicar y “cuantificar” esta variabilidad para poder anticipar la identificación de pacientes susceptibles a tratamientos inmunosupresores y evitar efectos adversos¹.

Estas líneas de investigación consisten en la monitorización de niveles de fármacos inmunosupresores (tacrolimus, ciclosporina, imtor o MPA)^{40,230}, estudios inmunológicos que predicen el estatus de inmunosupresión que tiene el paciente (recuento de linfocitos, estudio funcional de células del sistema inmune, complemento...)²³¹ y características demográficas o tratamientos concomitantes que

pueden influir en las concentraciones de los inmunosupresores (antibióticos, antiepilépticos, edad, sexo, insuficiencia renal.. etc) ^{40, 155}

Hasta la fecha, estas herramientas nos han ayudado al manejo del tratamiento inmunosupresor, pero siguen siendo frecuentes las complicaciones asociadas a la inmunosupresión y aún es difícil identificar al paciente de alto riesgo ^{42,152, 161,162}

En este contexto, en los últimos años se han llevado a cabo múltiples investigaciones que han puesto de manifiesto que la **farmacogenética** puede ser una herramienta útil que nos ayude a identificar estos pacientes de riesgo y adecuar el tratamiento inmunosupresor antes de que desarrolle las potenciales complicaciones¹⁶⁴.

Nuestro trabajo podría ser interesante en este sentido, ya que a la luz de los resultados expuestos, el polimorfismo MRP2 puede identificar este tipo de pacientes de alto riesgo y adaptar el tratamiento inmunosupresor antes de la aparición de complicaciones.

8.2 Repercusión clínica del polimorfismo MRP2 (-24 CT) en el paciente trasplantado renal.

Las investigaciones acerca del polimorfismo MRP2 están siendo más frecuentes en los últimos años, y aún se están intentando dilucidar sus funciones, sus substratos y reguladores. Este transportador perteneciente a la superfamilia de proteínas ABC podría tener un rol importante en procesos de **detoxificación**^{181, 187,188,191, 197}, **inflamación**^{191,193,195, 196}, **infección**¹⁹⁴ **y carcinogénesis**^{197,198,201-203}, incluso independientemente de la toma de un tratamiento inmunosupresor. Si a estas funciones se les suma otra fundamental, como es la participación en el metabolismo de los inmunosupresores³⁵ utilizados de forma habitual, se podría entender que alteraciones en la función de este transportador pudieran asociar complicaciones en el paciente trasplantado renal.

8.2.1 Diarrea.

Los efectos adversos gastrointestinales asociados a la toma de MMF se han descrito en aproximadamente el 45% de los pacientes¹⁰¹. Las complicaciones de la diarrea implican en algunos casos un peor pronóstico en la función del injerto y en la mayoría de los pacientes que lo sufren un detrimento de su calidad de vida²³³. En un porcentaje no despreciable este disconfort puede conllevar la no adherencia al tratamiento y en consecuencia a un alto riesgo de rechazo del injerto²³⁴.

Nuestros resultados muestran que la presencia del polimorfismo MRP2 24 (CT&TT) puede asociar un riesgo de sufrir diarrea aguda grave de hasta 4 veces mayor que los pacientes no portadores (HR 4.54, IC₉₅ 2.210-9.341, p<0.001). También hemos encontrado una asociación similar del polimorfismo con la diarrea crónica (HR 4.71, IC₉₅ 2.39-9.24, p <0.001). En el análisis multivariante sólo la insuficiencia renal moderada se

comporta como factor de riesgo independiente de diarrea en el paciente trasplantado además del polimorfismo.

De acuerdo a nuestros resultados y a las publicaciones previas, el polimorfismo MRP2 (-24 CT) podría suponer una exposición de MPA aumentada y secundario a esto mayor riesgo de diarrea.

La tabla 3 resume los estudios más relevantes que estudiaron la relación entre la farmacocinética del MPA y los síntomas gastrointestinales, ya sea por un aumento de concentraciones del MPA total¹⁴⁶⁻¹⁴⁸, o el libre^{77,145,151} o los propios metabolitos del MPA, como el AcMPAG^{236,237}. Además, existen situaciones como el sexo femenino o la insuficiencia renal que se han relacionado con mayor riesgo de diarrea²³⁷ y también como factores que asocian mayor exposición a MPA, lo que podría reflejar que los síntomas GI son secundarios a una sobreexposición de MPA.

En nuestros resultados, la insuficiencia renal moderada se comporta como un factor de riesgo independiente de diarrea (aguda y crónica), lo que podría ser el reflejo de un exceso de concentraciones de MPA o de sus metabolitos.

Hasta la fecha, nuestros resultados son los primeros que demuestran la asociación del polimorfismo MRP2 (-24 CT) con síntomas GI en el paciente trasplantado renal, aunque están aumentando los estudios que relacionan a las proteínas ABCs con estos síntomas en los últimos años. En el año 2010 un estudio en trasplante cardiaco en niños en tratamiento con micofenolato²³⁹, demuestra la asociación de alteraciones genéticas de los transportadores ABCC2, IMPDH1 y IMPDH2 con diarrea y otros síntomas intestinales, aunque en este estudio no se analiza en concreto el polimorfismo MRP2 (-24 CT). También se ha visto que polimorfismos de otra subfamilia de ABC (MRP4) en pacientes en tratamiento con azatioprina o ciclofosfamida, asocia más síntomas digestivos o neutropenia que aquéllos pacientes no portadores del polimorfismo²⁴⁰.

Por otro lado, en los últimos años se han implicado a las proteínas ABC en procesos de diarrea en pacientes que no reciben tratamiento con micofenolato, lo que podría suponer otro mecanismo de diarrea asociado al polimorfismo MRP2 (-24 CT) independiente de la de la exposición de MPA²⁴¹. Por ejemplo, cada vez son más frecuentes las publicaciones que describen el rol de las proteínas ABC en el proceso de enfermedades inflamatorias intestinales como la colitis ulcerosa o el chron, cuyo síntoma principal es la diarrea^{195,196} por mecanismos relacionados con la detoxificación y paso de tóxicos a través de la barrera intestinal²⁴² o inflamación.

Por tanto, la presencia polimorfismo MRP2 (-24 CT) en el paciente trasplantado renal podría asociar un riesgo aumentado de diarrea, debido a una exposición de MPA excesiva o por mecanismos relacionados con la detoxificación o la inflamación, lo que haría al paciente portador de este polimorfismo más sensible a la toma de MPA, al menos, a dosis estándar.

8.2.2 Leucopenia

Nuestro estudio demuestra por primera vez de forma evidente la asociación entre el polimorfismo de MRP2 (-24 CT) y mayor riesgo de leucopenia aguda (HR 2.53, IC95 1.649-3.874, $p < 0.001$). y recurrente (HR 4.53, IC95 2.191-9.359, $p < 0.001$) en trasplantados renales en tratamiento con micofenolato.

La leucopenia ha sido una complicación que ha sido ampliamente estudiada y atribuida directamente al efecto del micofenolato debido directamente a su mecanismo de acción: inhibición de la vía de las purinas en la médula ósea²⁷. De hecho es una de las razones mas frecuentes por las que se precisa la disminución de dosis o la suspensión del fármaco al menos de forma transitoria^{121,123}. Aunque no es una complicación tan grave como las otras que estamos estudiando (infecciones o

neoplasias) en muchas ocasiones nos informa de un estado de inmunosupresión importante, por lo que complicaciones más graves pueden desarrollarse después si no se modifica el tratamiento inmunosupresor²⁴³

Existen estudios previos que han demostrado que la exposición aumentada de MPA se relaciona con leucopenia¹⁴⁵⁻¹⁵¹ y otros estudios que han observado un mayor riesgo de leucopenia asociado a polimorfismos de enzimas clave del metabolismo del MPA^{170,238,244, 245}

Por tanto, la presencia del polimorfismo MRP2 (-24 CT) podría favorecer una exposición de MPA aumentada, y secundario a esto, mayor riesgo de leucopenia.

Aunque no se ha descrito hasta la fecha ningún polimorfismo de proteínas ABC que asocien un riesgo aumentado de leucopenia en el paciente trasplantado renal, si se ha demostrado esta relación en pacientes con otros tratamientos; por ejemplo en 2008, también se observó un mayor riesgo de leucopenia en aquellos pacientes portadores de un polimorfismo de la familia ABCC2 (rs12762549) que tomaban docetaxel²⁴⁶.

En cuanto a otros factores de riesgo de la aparición de leucopenia en el paciente trasplantado renal sólo hemos podido observar con significación estadística que el tratamiento con timoglobulina (con un comportamiento dosis-dependiente) también es considerado como factor de riesgo independiente. Existen múltiples reportes que describen esta asociación, lo que es interesante de nuestro estudio, es que el polimorfismo MRP2 (-24 CT) se mantiene como factor de riesgo independientemente del tratamiento con timoglobulina. En otras publicaciones, esta asociación sólo se aprecia en pacientes que no reciben depletores de linfocitos T²⁴⁷

En cuanto a la leucopenia recurrente, los factores de riesgo asociados además del polimorfismo MRP2 (-24 CT), fueron la edad >65 años, el sexo femenino, la insuficiencia renal y el tratamiento con timoglobulina (dosis > 3 mg/kg). Estos factores también han sido relacionado de forma histórica con niveles más elevados de MPA^{40, 45,52-58}. Estos resultados podrían ayudar a plantearse al clínico que pacientes mujeres mayores, con insuficiencia renal moderada, que han recibido timoglobulina en dosis > 3mg/kg y /o que

además son portadoras del polimorfismo podrían beneficiarse de dosis bajas de micofenolato o incluso un tratamiento libre de micofenolato desde el inicio del trasplante renal (si no contraindicación), para evitar leucopenias de repetición y probablemente otras complicaciones más graves.

8.2.3 Infecciones graves (sin incluir infección por CMV)

Las infecciones son una de las complicaciones más frecuentes del paciente trasplantado renal²⁴⁸. En este caso sí se trata de complicaciones graves, con un impacto desfavorable en la supervivencia del injerto y del propio paciente.¹⁰⁰ Las infecciones recidivantes también son más frecuentes en el paciente trasplantado renal¹⁰² y están relacionadas con la pérdida del injerto^{249,250}.

Los **factores de riesgo** descritos de forma más frecuente asociados a la infección en el paciente trasplantado renal son la diabetes, el tratamiento de inducción con depletores de linfocitos, el rechazo agudo o el retrasplante²⁵¹.

Como factores de riesgo de mortalidad asociada a infección en el paciente trasplantado renal se han descrito la edad, la diabetes y la neumonía²⁵²

La infección de orina es una de las infecciones más comunes en el paciente trasplantado renal¹¹⁵. Además puede ser grave, siendo un factor predisponente a bacteriemia y sepsis en el paciente trasplantado renal²⁵³. Se han descrito múltiples factores de riesgo, como son la edad o el sexo femenino, o la diabetes¹¹². La presencia de catéteres¹¹⁵, la insuficiencia renal, la toma de ICN¹¹¹ (o incluso la toma de diuréticos)²⁵⁴ también han sido descritos como factores de riesgo de infección de orina.

La neumonía de origen bacteriano es una complicación que en el paciente trasplantado renal común^{255,256}. que puede requerir con frecuencia el ingreso en la unidad de cuidados intensivos, con un riesgo alto de mortalidad^{257,258}

Las infecciones respiratorias de origen viral o atípicas tienen también una incidencia alta en el paciente trasplantado renal y pueden comprometer su pronóstico²⁸⁵ especialmente en el paciente anciano^{286,287}. Los factores predictores descritos de este tipo de infección incluyen el tratamiento de inducción con timoglobulina, el mantenimiento con esteroides o dosis altas de ICN²⁵²

Los resultados de nuestra investigación demuestran una asociación entre la presencia del polimorfismo MRP2 (-24 CT) y un mayor riesgo de infección grave que precisa la hospitalización del paciente.

En nuestros resultados, también se muestran como factores de riesgo la edad mayor de 65 años, la insuficiencia renal moderada, la diabetes con afectación de órgano diana (nefropatía diabética como enfermedad de base) y las dosis de timoglobulina que ha recibido el paciente a partir de 3 mg/ kg (dosis-dependiente), también descritos previamente.

Como en otras complicaciones asociadas al tratamiento inmunosupresor que estamos estudiando, la asociación del polimorfismo MRP2 (-24 CT) con mayor riesgo de infección podría justificarse por **exposiciones de MPA** en rango supratrapéutico de los pacientes portadores del polimorfismo frente a aquellos no portadores. Existen estudios previos que han podido demostrar esta asociación, mediante MPA total^{146,147} o MPA libre^{77,151}.

Por otro lado, la farmacogenética ha sido de especial interés en este ámbito, y han sido estudiadas varias dianas que pudieran justificar una susceptibilidad mayor de los pacientes portadores de polimorfismos a las infecciones, independientemente de los niveles de MPA^{259,260,261,262,263}. No obstante, estos resultados son controvertidos, con muestras de pacientes pequeñas, lo que impide obtener conclusiones claras. Por ejemplo, el estudio de de Pouché²⁶⁴ no muestra ninguna asociación entre polimorfismos genéticos y riesgos de infección.

Aunque la familia de transportadores ABC ha sido originalmente identificada como meros transportadores de fármacos, de forma emergente se está analizando el

rol que juegan en la defensa frente a patógenos y en la regulación del sistema inmune. Como en el caso de la diarrea, la participación de estas proteínas en los procesos de detoxificación e inflamación, podrían ser clave para que pacientes con alteración en la función o expresión de estos transportadores fueran más susceptibles a sufrir más infecciones ²⁴².

Por ejemplo se ha visto el papel de estos transportadores en la eliminación de contaminantes o incluso el humo del cigarrillo ¹⁹⁷. En un estudio publicado recientemente por McPeck M et al en 2019 se describe que el defecto de transportadores de la familia ABCG1 puede favorecer la inflamación y formación de granulomas en el pulmón, debido al déficit de eliminación de patógenos por estos transportadores ²⁶⁵. Incluso se está relacionando alteraciones de estas proteínas con mayor riesgo de enfermedades pulmonares crónicas como el EPOC ¹⁸¹. Estudios recientes describen que en procesos de infección activa, las proteínas ABC podrían favorecer un efecto proinflamatorio a través de una liberación aumentada de prostanoïdes ^{266,267} o de una actividad aumentada de la opsonización de neutrófilos ^{194,242}. También se ha considerado que podrían jugar un papel proinflamatorio en el proceso de endotoxemia ¹⁸³

De nuevo, es importante destacar que estos estudios aún son muy novedosos y que muchos de ellos se realizan en modelos animales e incluso celulares. No obstante, podrían ayudarnos a entender algunos mecanismos por los que alteraciones en la función o expresión de las proteínas de la familia ABC pueden tener repercusión en la infección o inflamación en los seres humanos.

Por tanto, el polimorfismo MRP2 24 (CT&TT) en el paciente trasplantado renal podría suponer una mayor susceptibilidad a infecciones graves en base a una exposición excesiva de MPA, aunque también podría ser secundario a otros mecanismos independientes del tratamiento con micofenolato, resultado de la alteración en las funciones de esta proteína.

8.2.4 Infección por CMV.

La infección por CMV es una complicación del trasplante frecuente que asocia una importante comorbilidad y mortalidad en el paciente trasplantado renal ^{103, 268}

Hasta la fecha se han descrito varios factores predictores de infección por CMV siendo el estatus serológico de riesgo uno de los más importantes, por lo que se han diseñado estrategias de prevención para minimizar el riesgo en estos pacientes ¹¹⁶. Otros factores a tener en cuenta son la edad o el tratamiento de inducción con timoglobulina ²⁶⁹ así como la insuficiencia renal o el rechazo ²⁷⁰

Nuestros resultados relacionan de forma significativa la presencia del polimorfismo MRP2 24 (CT&TT) con un riesgo mayor de sufrir infección por CMV comparado con los pacientes no portadores. Hasta la fecha, nuestro estudio es el primero que describe de forma clara esta relación en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato.

Los mecanismos por los que esta alteración genética pueda contribuir a un mayor riesgo de infección por CMV podría relacionarse con un aumento en las concentraciones de MPA asociadas al polimorfismo MRP2 así como una alteración en las funciones del propio MRP2, probablemente relacionadas con el sistema inmune (efecto pro inflamatorio y/o alteración de las células NK entre otros) .

Las publicaciones que han analizado la relación entre los niveles de MPA y la infección por CMV son escasos y con una calidad científica reducida ²⁷². No obstante, sí existen publicaciones en pacientes trasplantados renales en tratamiento con micofenolato que relacionan el sexo femenino o la insuficiencia renal con mayor riesgo de infección por CMV ²⁷² (factores que también se han asociado con mayores concentraciones de MPA) ^{40,46,55}. por lo que se podría extrapolar que el polimorfismo del MRP2 (-24 CT) podría asociar un riesgo aumentado de infección por CMV gracias a exposiciones más altas de MPA en los pacientes portadores.

Por otro lado, se ha podido observar en publicaciones recientes que las proteínas ABC podrían tener algún rol en alteraciones del sistema inmune como en la función de

las interleuquinas o de las células NK^{202, 203}. Precisamente han aumentado las publicaciones que relacionan alteraciones del sistema inmune (interleuquinas o células NK) con mayor riesgo de infección por CMV^{282, 283}, por lo que polimorfismos genéticos que alteren estas proteínas podrían tener mayor riesgo de infección por CMV²⁷⁵⁻²⁸¹. Además, el micofenolato también podría actuar de forma dirigida en las células NK y en las interleuquinas²⁷

Bajo esta premisa, el polimorfismo MRP2 (-24 CT) podría asociar un riesgo aumentado de infección de CMV en los pacientes trasplantados renales, secundario a exposiciones más altas de MPA y posibles alteraciones del sistema inmune (incluso independientemente de los niveles de MPA) entre otros.

En el análisis multivariante se muestran como otros factores de riesgo de infección por CMV la edad mayor de 65 años, la insuficiencia renal moderada y el estatus serológico de alto riesgo (Donante +/- receptor -). Estos resultados son consistentes con publicaciones previas, en los que se describen como factores de riesgo la insuficiencia renal y el status serológico de riesgo²²⁴ En nuestros resultados, como en otras publicaciones previas, el tratamiento con timoglobulina e incluso dosis altas, no asocia mayor riesgo de infección por CMV, probablemente gracias a las estrategias de prevención con ganciclovir y/o valganciclovir, que se indican especialmente en el paciente que recibe timoglobulina.²⁷¹

Como en el caso de la leucopenia, gracias a estos resultados podría ser recomendable que ante un paciente añoso, con insuficiencia renal moderada y status serológico de riesgo que además presente el polimorfismo MRP2 (-24 CT) se planteara de entrada dosis bajas de micofenolato o incluso otra alternativa de esquema inmunosupresor, por ejemplo basado en imtor¹²⁰ para minimizar el riesgo de infección por CMV y probablemente otras complicaciones relacionadas (otras infecciones más graves o neoplasia).

8.2.5 Neoplasia.

En múltiples estudios se ha observado un incremento de la incidencia de cáncer entre los pacientes trasplantados ²⁶⁴.

En un metaanálisis publicado en el Lancet en 2007 Grulich et al²⁸⁶ compararon la incidencia de cáncer en pacientes con VIH/SIDA frente a los pacientes trasplantados renales. Los resultados en ambas poblaciones fueron similares, por lo que concluyeron que el factor predisponente al aumento de incidencia de tumores frente a la población general era la inmunosupresión¹¹⁷. De la misma forma, un registro australiano de 28.855 pacientes concluyó que el factor de riesgo más importante asociado a neoplasia en el paciente trasplantado es la inmunosupresión ²⁸⁷

Los tumores más frecuentemente descritos inicialmente fueron linfomas, pulmón o hígado y se relacionaron con el tratamiento inmunosupresor y etiología viral (VEB, human papillomavirus (HPV) o VHC ¹⁰⁵. En estudios publicados posteriormente (registros que incluyeron más de 100000 pacientes) añadieron a la lista de tumores más frecuentes los de riñón, corazón, pulmón, piel próstata, vejiga, tiroides y colorrectal ²⁸⁸. Otro concepto a tener en cuenta es que el pronóstico del paciente con diagnóstico de cáncer en el paciente trasplantado renal es peor que en la población general y probablemente se diagnostican en un estadio más avanzado que en la población general ⁹⁹

Los factores de riesgo mas frecuentemente descritos han sido los virus oncogénicos el tratamiento con azatioprina y ciclosporina o tacrolimus ^{99, 289}, la timoglobulina, el sexo masculino, el tabaco, la edad, la exposición solar y la raza caucásica^{117, 288,289}. Aunque de forma menos consistente que el tratamiento con ICN o azatioprina, el tratamiento con micofenolato (MMF) también se ha relacionado con mayor riesgo de neoplasia. ¹⁰⁷

Nuestros resultados exponen que la edad mayor de 65 años y el tratamiento con timoglobulina son los únicos factores de riesgo de neoplasia que alcanza la significación estadística.

No obstante, en el análisis realizado en la muestra ajustada tras el puntuación de propensión se observa una tendencia hacia un mayor riesgo de cáncer en los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT) frente a los pacientes no portadores (HR 1.8, IC₉₅ 0.956-3.402, p 0.068). Estos resultados no alcanzan la significación estadística, pero hasta la fecha, es el primer estudio que muestra una posible asociación entre este polimorfismo y el desarrollo de cáncer en el paciente trasplantado renal.

Debido a que la neoplasia es un evento poco frecuente y que el tiempo de desarrollo es largo, en número de eventos de nuestra muestra es bajo (n=61) por lo que la potencia estadística del análisis es reducida. Probablemente al ampliar la muestra y/o el tiempo de seguimiento estas diferencias alcancen la significación estadística.

Los mecanismos que pueden contribuir a estos hallazgos podrían justificarse como lo hemos hecho con las complicaciones previamente descritas en esta investigación. Por un lado el polimorfismo MRP2 (-24 CT) podría implicar una exposición de MPA aumentada lo que podría suponer un exceso en el grado de inmunosupresión del paciente portador. Además, el polimorfismo MRP2 (-24 CT) podría estar implicado en alteraciones de detoxificación, inflamación crónica y carcinogénesis, de forma independiente a la toma de MPA lo que podría suponer que aquellos pacientes portadores del polimorfismo sean aún más sensibles a la toma de este fármaco.

En el caso concreto del paciente trasplantado renal, el tratamiento inmunosupresor ha sido históricamente el factor de riesgo más importante asociado al desarrollo de neoplasias.²⁸⁶ Sin embargo, también se ha podido comprobar que existen pacientes con mayor riesgo de tumores aún con un régimen inmunosupresor similar.

Existen resultados contradictorios relativos a la relación entre la dosis o niveles de inmunosupresores y el desarrollo de neoplasias. Un artículo publicado en 2017 reporta que niveles de tacrolimus por encima de 11 ng/ml entre el mes 6-12 asocia un riesgo mayor de desarrollo de cáncer ¹⁰⁸, no obstante 4 meses después de esta publicación, esta asociación no se confirma en un estudio de cáncer de pulmón.²⁹⁰ Los

artículos que estudian los niveles de MPA y el riesgo de cáncer son pocos y poco concluyentes. Esta relación es difícil de demostrar, ya que la neoplasia es una complicación que se desarrolla a largo plazo y probablemente secundaria a múltiples factores²⁰⁴

La farmacocinética también ha intentado encontrar alteraciones genéticas clave que pudieran ayudar a identificar individuos más sensibles al desarrollo del cáncer. En 2007 aparecen estudios que muestran polimorfismos en la vía del metabolismo del folato que asocian mayor riesgo de carcinoma escamoso de piel (MTHFR:C677T)²⁹¹ También se ha descrito el rol de la superfamilia de enzimas UGTs en el metabolismo de endobioticos y xenobióticos.²⁹² o incluso ya se han relacionado (SNP T-275A y C-2152T) con un riesgo aumentado de cáncer colorrectal¹⁶⁹.

En el caso de la familia de proteínas ABC hasta ahora no se ha identificado ningún polimorfismo que se asocie con un riesgo aumentado de cáncer en humanos. Sin embargo, sí hay indicios de que esta asociación sea factible, ya que en los últimos años han aumentado las investigaciones que demuestran que estas proteínas están implicadas en el proceso de carcinogénesis^{188,190,191,195-198}. Además, estas proteínas se han visto implicadas en procesos de inmunovigilancia lo que puede favorecer la carcinogénesis y la progresión tumoral. Por ejemplo, en el año 2012 se publicó un estudio donde se demostró que el transportador ABCG1 regula de forma intrínseca las funciones de las células NK²⁰² y en el 2017 se demuestra que el subgrupo de la misma familia ABCA7 también regula (en este caso de forma extrínseca) la función y desarrollo de las células NK²⁰³ El paciente trasplantado renal reúne unas condiciones que podría favorecer el desarrollo de neoplasias, como son la inflamación crónica, el déficit del sistema inmunológico secundario al tratamiento inmunosupresor, comorbilidades e infecciones frecuentes o persistentes, lo que son pilares importantes para el inicio del proceso. La progresión tumoral en nuestros pacientes se ve facilitada por este microambiente y por un déficit en el proceso de inmunovigilancia, como efecto propio del tratamiento inmunosupresor, en el que se ven implicados el sistema inmune

adaptativo e innato (células NK^{293,294,295} , células T reguladoras, TH17, células dendríticas, células mieloides supresoras, macrófagos tipo 2..) ²⁰⁴

Por tanto, en el paciente trasplantado renal, el tratamiento inmunosupresor podría ser el principal contribuyente de las alteraciones del sistema inmune y desarrollo de cáncer, pero además, alteraciones en las funciones del transportador MRP2 también podrían jugar un papel en el desarrollo de neoplasias.

8.2.6 Cambios de inmunosupresión

El manejo del paciente trasplantado renal implica un equilibrio entre maximizar la supervivencia del injerto y minimizar los eventos asociados a la inmunosupresión.

En los últimos años se ha conseguido controlar el riesgo de rechazo pero las complicaciones asociadas a la inmunosupresión son aún muy elevadas, lo que obligan a cambiar el régimen inmunosupresor de mantenimiento a largo del seguimiento ¹²¹ .

Hasta la fecha no existe la combinación perfecta y única de inmunosupresores, ya que cada uno de estos fármacos tiene un perfil de eficacia y de efectos adversos que es preciso individualizar en cada paciente. ²⁹⁷.

La combinación imtor + dosis reducidas de ICN ha sido hasta la fecha la más recomendada para el control o reducción de infecciones por CMV, replicación del poliovirus BK o aparición de tumores ^{120, 141} Esta combinación consiste en un régimen libre de micofenolato con dosis bajas de ICN e imtor lo que en principio aportaría un mejor control de estas infecciones o neoplasias sin mayor tasa de rechazo ²⁹⁸ .

Sin embargo, algunos autores defienden que esta modificación puede suponer mayor riesgo de rechazo ^{130,137,139,140} en pacientes no bien seleccionados o mayor tasa de efectos adversos ¹³⁶⁻¹³⁸ asociados al tratamiento con imtor, no beneficiándose estos pacientes del cambio.

Además, el cambio del tratamiento inmunosupresor no deja de ser un dato negativo de la evolución del paciente trasplantado, ya que en general refleja una mala

tolerancia o un fracaso del tratamiento inicial e incluso se considera un factor de riesgo de otras complicaciones²⁹⁹

Nuestros resultados muestran que los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 24CT&TT precisan con más frecuencia la modificación del tratamiento inmunosupresor. Estos datos son probablemente el reflejo de que los pacientes portadores del polimorfismo sufren más complicaciones asociadas a la inmunosupresión que los pacientes no portadores.

Además del polimorfismo MRP2 (-24 CT), la edad superior a 65 años, el género femenino, el tabaquismo y el tratamiento con timoglobulina (dosis-dependiente) son factores predictores de la necesidad de cambio de tratamiento inmunosupresor. De nuevo, estos resultados vuelven a ser el reflejo de pacientes que sufren probablemente un exceso de inmunosupresión de forma crónica: el sexo femenino o la edad, como factores que asocian niveles más altos de micofenolato o el tratamiento con timoglobulina, que *persé*, asocia más riesgo de complicaciones infecciosas o neoplasia. Curiosamente, el tabaquismo también se comporta como un factor predictor de cambio de tratamiento inmunosupresor, probablemente reflejo de mayor riesgo de neoplasia o infecciones. No obstante, además de estos factores de riesgo, el polimorfismo MRP2 (-24 CT) sigue siendo un factor de riesgo independiente, probablemente reflejo de un factor predictor independiente de las complicaciones previamente descritas.

En una revisión publicada recientemente por van Setten et al. (2019) se recopilan los resultados de las publicaciones realizadas con este propósito hasta el momento de su publicación. Los autores identificaron polimorfismos en los transportadores *TGFB1*, *CYP3A5*, y *ABCB1* que podrían predecir eventos relacionados con el trasplante (rechazo, concentraciones de inmunosupresores, o infecciones)²¹⁹.

Nuestros resultados podrían apoyar la utilidad de la identificación del polimorfismo MRP2 24 CT&TT como una herramienta complementaria que ayude a seleccionar mejor a los pacientes que podrían beneficiarse de un régimen

inmunosupresor libre de MPA, previo a padecer complicaciones y con menor riesgo de rechazo o intolerancia a imtor.

Precisamente el paciente trasplantado renal se podría beneficiar de una herramienta predictora de necesidad de cambio de tratamiento antes de sufrir las complicaciones. La identificación de pacientes de riesgo gracias a la identificación el polimorfismo sería bastante útil en este contexto.

Por tanto, y a la luz de estos resultados, los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT) que se acompañen de otros factores de riesgo como la edad > 65 años, el sexo femenino, status serológico de alto riesgo infección por CMV, insuficiencia renal moderada, tratamiento con timoglobulina a dosis altas y/o fumadores podrían beneficiarse de un régimen inmunosupresor basado en imtor desde fases iniciales del trasplante renal, para evitar complicaciones asociadas al micofenolato o a un exceso de inmunosupresor antes de que el paciente las desarrolle.

8.2.7 Supervivencia.

Para finalizar esta discusión, podríamos resumir que el polimorfismo del transportador MRP2 24CT&TT podría ser un marcador predictor de mayor riesgo de diarrea, leucopenia infecciones graves, infección por CMV, necesidad de modificación de tratamiento inmunosupresor e incluso neoplasia. También hemos realizado un análisis de mortalidad (por cualquier causa) y ya que las diferencias no alcanzan la significación estadística no podemos concluir que los pacientes portadores del polimorfismo tuvieron una supervivencia más baja frente a los pacientes no portadores del polimorfismo (HR 2.193 IC95 0.89-5.40 p 0.087). No obstante, sería interesante ampliar la muestra y el tiempo de estudio para confirmar estos resultados. De acuerdo a los resultados observados a lo largo de nuestra investigación, sería fácil de entender que estos pacientes con mayor riesgo de complicaciones tengan en definitiva un pronóstico vital menos favorable.

En una publicación reciente, se han descrito como factores predictores de mayor mortalidad del paciente trasplantado renal la edad, la patología cardiovascular, la diabetes, la infección urinaria post trasplante, el tratamiento del rechazo, el cáncer, la nefropatía por BK e infecciones graves³⁰². Sería conveniente aumentar la muestra y el tiempo de seguimiento de nuestro estudio para confirmar estos datos; y que estos resultados se validen en otros grupos de trabajo, ya que sería el primer polimorfismo descrito hasta la fecha que pudiera predecir complicaciones tan importantes en el paciente trasplantado renal.

8.3 Impacto del polimorfismo MRP2 (-24 CT) en la farmacocinética del MPA.

Los resultados de nuestra investigación demuestran dos conceptos importantes en cuanto al impacto del polimorfismo del transportador MRP2 (-24 CT) en la farmacocinética del MPA.

- 1) Los niveles de MPA son más altos en aquellos pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT).
- 2) Estas diferencias son más evidentes en los pacientes en tratamiento con EC-MPS que en los que toman MMF.

Nuestro estudio incluye un número mayor de pacientes que los estudios publicados hasta la fecha, y se ha realizado un ajuste de la muestra de acuerdo a los factores influyentes en los niveles de MPA más relevantes descritos hasta ahora (función renal, dosis de MPA pre realización de curva, niveles de tratamiento inmunosupresor concomitante, sexo, edad, superficie corporal y tratamiento con IBPs). De acuerdo a lo descrito previamente, estos resultados son coherentes con los publicados hasta la

fecha, en los que los niveles de MPA son mayores en los pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT). Que estas diferencias sean mayores en los pacientes que toman EC-MPS Vs. MMF tiene una explicación fisiológica con fundamento y hasta la fecha nuestro estudio es el primero que realiza esta comparación.

Como hemos descrito previamente, los estudios realizados hasta la fecha tienen importantes limitaciones: 1) han incluido a un número pequeño de pacientes, 2) las curvas de concentraciones de MPA no contemplaron puntos que reflejaran la circulación enterohepática, o 3) la medicación inmunosupresora de los pacientes no fue realmente susceptible a la influencia del polimorfismo, ya que incluía ciclosporina, que produce un efecto inhibitor sobre MRP2, y se atenúa el efecto del polimorfismo; o MMF, menos sensible a la influencia de la circulación enterohepática.

8.3.1 Efecto del SNP MRP2 (-24 CT) en la exposición de MPA

El transportador MRP2 juega un papel fundamental en el metabolismo de los fármacos inmunosupresores más frecuentes, como son el micofenolato³⁵ y el tacrolimus³⁷

Varios estudios han investigado el efecto del SNP de ABCC2 c. (-24 CT) sobre la exposición a MPA pero han mostrado resultados dispares y poco clarificadores. Naesens et al. evaluaron el impacto de 7 polimorfismos de ABCC2 en la farmacodinámica del MPA y observaron que el promotor **rs717620** (-24 CT) y la asociación con niveles más altos de MPA con respecto a los pacientes no portadores, siendo también relevantes estas diferencias en los pacientes con insuficiencia hepática moderada²¹⁰. En el estudio de Fukuda et al. también se observó una concentración más alta de MPA en pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT), pero asociado a otro polimorfismo de la familia UGT. (UGT1A9-440T o UGT2B7-900G)²¹¹. Lloberas et al²¹³ y Picard et al.²¹⁶ pudieron observar niveles más altos de MPA (AUC 0-12h) en pacientes portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT) en aquéllos en tratamiento con

MMF+ Ciclosporina, aunque estas diferencias no se encontraron en los pacientes en tratamiento con tacrolimus+sirolimus. En un estudio reciente realizado en 408 trasplantados chinos por Li et al, observaron que las concentraciones predosis (co) fueron mayores en los pacientes portadores de este mismo polimorfismo, alcanzando la significación estadística la comparación del modelo recesivo (TT Vs. CT&CC).²¹⁰

Varias publicaciones no han logrado demostrar que el polimorfismo MRP2 (- 24 CT) se asocie de forma clara a concentraciones más altas de MPA. El estudio de Miura²¹⁴ et al. describe niveles discretamente más altos en el grupo de pacientes portadores del polimorfismo, pero no se alcanzó la significación estadística,; al igual que en otro estudio de Picard et al.²¹⁵, cuyo tratamiento concomitante fue sirolimus y tacrolimus. En este caso, las concentraciones fueron mayores de forma decreciente en portadores homocigotos y heterocigotos frente a no portadores. No obstante estas diferencias no fueron estadísticamente significativa.

Por otro lado, autores como Zhang et al.²¹⁶ o Geng²¹² et al. no encontraron diferencias en sus estudios, también realizado en trasplantados renales, en esta ocasión de origen chino. Incluso existen estudios que describen de forma significativa niveles de MPA más bajos en pacientes portadores del polimorfismo, como el de Lloberaset al.²¹³, realizado en pacientes trasplantados renales en tratamiento con tacrolimus y sirolimus. En ese estudio también se analizó el MPA libre, con resultados similares a los realizados con MPA total.

Existen varios factores que podrían explicar las diferencias de nuestros resultados con estas publicaciones.

a) Se realizan curvas de concentraciones abreviadas en el estudio de Fukuda y de Naesens, lo que de acuerdo con las consideraciones de autores como Tett¹⁵⁵ o de Winter^{303,304} no tendrían validez para el estudio de un segundo pico de MPA debido a la circulación enterohepática. La realización de estas curvas abreviadas (en lugar de curvas completas de 12h) podría obviar el efecto de la alteración genética de este transportador. Nuestra investigación utiliza 13 extracciones para calcular el AUC de MPA,

por lo que se disminuye el potencial sesgo descrito y hacen nuestros resultados más fiables.

b) En muchos de estos trabajos, como en el de Geng 2011 ²¹² o Zhang 2008 ²¹⁶, el tratamiento inmunosupresor concomitante al micofenolato es la ciclosporina, lo que podría atenuar el efecto del polimorfismo MRP2 (-24 CT) por inhibición del MRP2.

c) Muchos de estos estudios incluyeron pocos pacientes y lo que es más relevante, pocos portadores del polimorfismo, por lo que tienen poca potencia para demostrar las diferencias en los niveles de MPA de acuerdo al polimorfismo (Tabla 6). Hasta la fecha, nuestra investigación es el trabajo con mayor número de curvas de MPA realizado para el estudio del impacto en su farmacocinética del polimorfismo MRP2 (-24 CT) y además incluye un porcentaje alto de pacientes portadores del polimorfismo.

d) Los estudios publicados que han analizado el impacto del polimorfismo MRP2 (-24 CT) en la farmacocinética del MPA sólo incluyeron pacientes en tratamiento con MMF, por lo que el efecto de esta alteración genética puede no ser tan importante con esta formulación, y sí con EC-MPS, ya que es más sensible a la influencia de la circulación enterohepática.

8.3.2 Efecto del SNP MRP2 (-24 CT) en la exposición de MPA en los pacientes en tratamiento con EC-MPS

En los resultados de nuestro estudio podemos observar que en la muestra total de pacientes no hubo diferencias de concentraciones de MPA de acuerdo al tipo de presentación farmacológica de micofenolato (MMF Vs. EC-MPS). (AUC 0-12h: 62,17 (26,52) Vs. 62,49(28,48), p 0.876. En la muestra restringida a los pacientes con Prograf[®], sí podemos observar niveles más altos de MPA en los pacientes que toman EC-MPS

con respecto a los pacientes en tratamiento con MMF. [66.65 (29.7), Vs. 62.90 (27.13), p 0.048].

Lo que parece aún más relevante es que las diferencias observadas en los niveles de MPA de acuerdo al polimorfismo MRP2 (-24 CT) son más importantes en los pacientes en tratamiento con EC-MPS [AUC_{0-12h} CC= 60.23 (22.60) Vs. AUC_{0-12h} CC&TT= 77.43 (36.90), p=0.021] que en los pacientes en tratamiento con MMF (62.76 (26.62) Vs. 63.161 (28.79), p 0.961). En los pacientes en tratamiento con MMF no se aprecian diferencias entre pacientes portadores o no del polimorfismo con respecto a las concentraciones de MPA en AUC de 12h, no obstante, en el AUC en el periodo 6-12h sí son mayores en los portadores del polimorfismo (CT&TT=27.17(15.50) Vs CC= 20.00 (0.0), p 0.019)

Estas diferencias que nosotros observamos, y que no han sido descritas en ninguna publicación hasta la fecha, podrían ser debidas a que exista una mayor influencia de MRP2 en el metabolismo del EC-MPS frente al del MMF . Por tanto, las alteraciones de este trasportador tendrían más relevancia en los pacientes en tratamiento con EC-MPS^{44,86}.

La mayoría de los estudios que han analizado el efecto del polimorfismo MRP2 (-24 CT) en los niveles de MPA se realizaron en pacientes que recibían MMF, y no hicieron este análisis en pacientes en tratamiento con EC-MPS (Tabla 6).

Además, al igual que en nuestro estudio, existen datos de la literatura que también apoyan que el tratamiento con EC-MPS asocia niveles más altos de MPA que el MMF. Aunque los estudios de bioequivalencia describieron que el AUC 0-12h de ambas moléculas fue equivalente (AUC 12h -MMF 58.39 Vs. EC-MPS 57.43), existen algunas diferencias en su metabolismo (mayor Tmax, mayor Cmax y mayor influencia de la circulación enterohepática)⁸⁶ De hecho, en un análisis detallado de los estudios que se realizaron para demostrar la bioequivalencia de ambas moléculas, se pudo observar la exposición de MPA son mayores en los pacientes que toman EC-MPS Vs. MMF, aunque en no se alcanza la significación estadística. (Tabla 2).

Por ejemplo, en otro estudio realizado por Bude et al. en 2007⁹⁶, donde la medicación concomitante fue tacrolimus (21 pacientes), no observaron diferencias estadísticamente significativas, pero en el grupo de EC-MPS el AUC de MPA fue discretamente mayor comparado con el grupo que recibía MMF. (43.7 +/-17.4 ug Xh/mL Vs. 39.9+/-11.6 ug Xh/mL). En el estudio de Tedesco et al.⁸⁷ (tratamiento concomitante con ciclosporina) las concentraciones de MPA también fueron mayores en los pacientes en tratamiento con EC-MPS (74,7 ug Xh/mL) Vs. 61,4 ug Xh/mL), p ns.

Estos autores consideran que estas diferencias son las aceptadas en el concepto de bioequivalencia, con diferencias aceptables si el ratio de variabilidad es menor de 1.25. No obstante, en los resultados de Tedesco et al. , se objetivaron diferencias mayores en el intervalo de confianza del coeficiente de bioequivalencia, ya que sobrepasa el límite superior (1,29). Existen autores como Tett et al., que consideran que, en este sentido el comportamiento farmacocinético de ambas moléculas no es similar y por tanto no son equivalentes¹⁵⁵. Es importante destacar que todos estos estudios manejan un número pequeño de pacientes, aunque son estudios cross over y con AUC plasmáticas completas, con más de 10 extracciones, lo que se considera apto para la identificación de diferencias entre las dos formulaciones¹⁵⁵.

Si a estas diferencias poco importantes se le suma el efecto del tacrolimus (en lugar de ciclosporina) y el efecto del polimorfismo MRP2 (-24 CT) se puede justificar con facilidad que los pacientes en tratamiento con tacrolimus y EC-MPS que sean portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT) tendrán concentraciones más altas de MPA. De hecho, en nuestro estudio, llos niveles de MPA que observamos en los pacientes con tacrolimus + EC-MPS portadores del polimorfismo se encuentran en el rango teórico de toxicidad¹⁴³ (77.43 (36.93) mg/l*h).

A la luz de nuestros resultados, y de acuerdo con la bibliografía previa, consideramos que las presentaciones EC-MPS y MMF sí podrían ser bioequivalentes en términos de farmacocinética en la población general. No obstante es probable que, en presencia de alteraciones genéticas de proteínas relacionadas con la circulación

enterohepática (como el polimorfismo MRP2 (-24 CT), y en tratamiento concomitante con tacrolimus, las concentraciones de MPA en pacientes en tratamiento con EC-MPS pueden ser mayores con respecto a las concentraciones de MPA en tratamiento con MMF. En estos pacientes, el tratamiento con MMF podría ser más adecuado, ya que las concentraciones serán más predecibles. También podría plantearse la administración de EC-MPS a dosis más bajas que en los pacientes no portadores del polimorfismo MRP2 (-24 CT). No obstante, sería recomendable que este estudio se realizara por otros grupos para validar nuestros resultados.

9. Limitaciones del estudio.

Nuestro estudio presenta algunas limitaciones a tener en cuenta para la interpretación de los resultados.

9.1 Estudio de repercusión clínica del polimorfismo de MRP2 (-24 CT):

Se trata de un estudio que puede incluir sesgos de selección, clasificación o factores de confusión. Sin embargo, se trata de una cohorte de pacientes consecutivos, con un porcentaje pequeño de pérdidas iniciales y de seguimiento, que analiza una población muy controlada a través de las consultas de trasplante y de hospitalización. Las técnicas realizadas para la determinación de las variables a estudio son de alta validez y fiabilidad se han realizado test estadísticos robustos.

9.2 Estudio de farmacocinética.

El estudio de farmacocinética no incluye los mismos pacientes que el estudio realizado para el análisis de eventos adversos. Sin embargo, el análisis farmacocinético requiere una muestra muy homogénea (misma dosis de fármacos concomitantes, mismo perfil de comorbilidades, tiempo de trasplante, función renal, composición corporal, etc) que de cualquier modo no sería válida para el estudio de eventos adversos

asociados al trasplante. Sí es interesante destacar que la distribución del polimorfismo MRP2 (-24 CT) fue similar en las dos muestras a estudio.

No se realizó la determinación de MPA libre, que en estudios previos se ha relacionado con toxicidad clínica de sobredosificación de MPA.

El tamaño muestral, aunque sea el mayor de los estudios publicados hasta la fecha, sigue siendo pequeño para poder obtener conclusiones definitivas.

Para minimizar sesgos, se tuvieron en cuenta el tratamiento concomitante inmunosupresor, el tratamiento con IBPs, la función renal, el IMC y el sexo. En cuanto a la raza, todos los pacientes a los que se le realizaron curvas de MPA fueron caucásicos.

9.3 Validez Externa:

Se trata de un estudio unicéntrico, que requiere la confirmación de estos resultados en otras poblaciones.

CONCLUSIONES.

1. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) asocia un riesgo incrementado de **diarrea, diarrea crónica, leucopenia, leucopenia recurrente, infecciones graves, infecciones por CMV y necesidad de cambio de tratamiento inmunosupresor** en el paciente trasplantado renal en tratamiento con micofenolato.
2. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) podría asociar un riesgo incrementado de **neoplasia y mortalidad** (por todas las causas) en el paciente trasplantado renal en tratamiento con micofenolato, pero que nuestros análisis no alcanza la significación estadística.
3. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) asocia **concentraciones plasmáticas de MPA más altas** que los pacientes no portadores del polimorfismo.
4. El SNP MRP2 (-24 CT) (heterocigosis y homocigosis) asocia **concentraciones aún más elevadas de MPA** en los pacientes cuya presentación farmacológica es EC-MPS, que incluso podrían alcanzar el rango de toxicidad.

REFERENCIAS

1. Tucker GT. Personalized Drug Dosage - Closing the Loop. Pharm Res. 9 de diciembre de 2016;
2. Bruhn O, Cascorbi I. Polymorphisms of the drug transporters ABCB1, ABCG2, ABCC2 and ABCC3 and their impact on drug bioavailability and clinical relevance. Expert Opin Drug Metab Toxicol. octubre de 2014;10(10):1337-54.
3. Wagner M, Earley AK, Webster AC, Schmid CH, Balk EM, Uhlig K. Mycophenolic acid versus azathioprine as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. Cochrane Database Syst Rev. 3 de diciembre de 2015;(12):CD007746.
4. Roche Pharmaceuticals. CellCept® Product Information; 2012. http://www.roche-australia.com/content/dam/internet/corporate/roche/en_AU/files/transplant/cellcept-pi.pdf. Accessed 25 Nov 2017.)
5. Mycophenolate mofetil for the treatment of a first acute renal allograft rejection: three-year follow-up. The Mycophenolate Mofetil Acute Renal Rejection Study Group. Transplantation. 27 de abril de 2001;71(8):1091-7.
6. Danovitch GM. Mycophenolate mofetil in renal transplantation: results from the U.S. randomized trials. Kidney Int Suppl. diciembre de 1995;52:S93-96.
7. A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. Transplantation. 15 de abril de 1996;61(7):1029-37.
8. Sollinger HW. Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. Transplantation. 15 de agosto de 1995;60(3):225-32.
9. Halloran P, Mathew T, Tomlanovich S, Groth C, Hooftman L, Barker C. Mycophenolate mofetil in renal allograft recipients: a pooled efficacy analysis of three randomized, double-blind, clinical studies in prevention of rejection. The International Mycophenolate Mofetil Renal Transplant Study Groups. Transplantation. 15 de enero de 1997;63(1):39-47.

10. Transplant 2002. American Transplant Congress. April 26-May 1, 2002. Washington, DC, USA. Abstracts. Am J Transplant. 2002;2 Suppl 3:138-515.
11. Novartis Australia. Myfortic® Product Information; 2012. <http://www.tga.gov.au/pdf/auspar/auspar-mycophenolate-sodium-130517-pi.pdf>.
(Accessed 25 Nov 2017.)
12. Gardiner KM, Tett SE, Staats CE. Multinational Evaluation of Mycophenolic Acid, Tacrolimus, Cyclosporin, Sirolimus, and Everolimus Utilization. Ann Transplant. 5 de enero de 2016;21:1-11.
13. Villarroel MC, Hidalgo M, Jimeno A. Mycophenolate mofetil: An update. Drugs Today (Barc). julio de 2009;45(7):521-32.
14. Mele TS, Halloran PF. The use of mycophenolate mofetil in transplant recipients. Immunopharmacology. mayo de 2000;47(2-3):215-45.
15. van Gelder T, Hesselink DA. Mycophenolate revisited. Transpl Int. mayo de 2015;28(5):508-15.
16. Mourad G, Glyda M, Albano L, Viklicky O, Merville P, Tyden G, et al. Incidence of Posttransplantation Diabetes Mellitus in De Novo Kidney Transplant Recipients Receiving Prolonged-Release Tacrolimus-Based Immunosuppression With 2 Different Corticosteroid Minimization Strategies: ADVANCE, A Randomized Controlled Trial. Transplantation. agosto de 2017;101(8):1924-34.
17. Koehl GE, Wagner F, Stoeltzing O, Lang SA, Steinbauer M, Schlitt HJ, et al. Mycophenolate mofetil inhibits tumor growth and angiogenesis in vitro but has variable antitumor effects in vivo, possibly related to bioavailability. Transplantation. 15 de marzo de 2007;83(5):607-14.
18. Haug C, Schmid-Kotsas A, Linder T, Jehle PM, Bachem MG, Gruenert A, et al. The immunosuppressive drug mycophenolic acid reduces endothelin-1 synthesis in endothelial cells and renal epithelial cells. Clin Sci (Lond). agosto de 2002;103 Suppl 48:76S-80S.

19. Domhan S, Muschal S, Schwager C, Morath C, Wirkner U, Ansorge W, et al. Molecular mechanisms of the antiangiogenic and antitumor effects of mycophenolic acid. *Mol Cancer Ther.* junio de 2008;7(6):1656-68.
20. Olejarz W, Bryk D, Zapolska-Downar D. Mycophenolate mofetil--a new atheropreventive drug? *Acta Pol Pharm.* junio de 2014;71(3):353-61.
21. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL-S, O'Connell PJ, Allen RDM, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med.* 11 de diciembre de 2003;349(24):2326-33.
22. Weir MR, Ward MT, Blahut SA, Klassen DK, Cangro CB, Bartlett ST, et al. Long-term impact of discontinued or reduced calcineurin inhibitor in patients with chronic allograft nephropathy. *Kidney Int.* abril de 2001;59(4):1567-73.
23. Flechner SM, Kobashigawa J, Klintmalm G. Calcineurin inhibitor-sparing regimens in solid organ transplantation: focus on improving renal function and nephrotoxicity. *Clin Transplant.* febrero de 2008;22(1):1-15.
24. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gurkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med.* 20 de diciembre de 2007;357(25):2562-75.
25. Roodnat JI, Hilbrands LB, Hene RJ, de Sevaux RGL, Smak Gregoor PJH, Kal-van Gestel JA, et al. 15-year follow-up of a multicenter, randomized, calcineurin inhibitor withdrawal study in kidney transplantation. *Transplantation.* 15 de julio de 2014;98(1):47-53.
26. de Weerd AE, Betjes MGH. ABO-Incompatible Kidney Transplant Outcomes: A Meta-Analysis. *Clin J Am Soc Nephrol.* 7 de agosto de 2018;13(8):1234-43.
27. Allison AC, Eugui EM. Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action. *Immunopharmacology.* mayo de 2000;47(2-3):85-118.
28. Sintchak MD, Fleming MA, Futer O, Raybuck SA, Chambers SP, Caron PR, et al. Structure and mechanism of inosine monophosphate dehydrogenase in complex with the immunosuppressant mycophenolic acid. *Cell.* 14 de junio de 1996;85(6):921-30.

29. Allison AC, Eugui EM. Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing acute and chronic allograft rejection. *Transplantation*. 15 de octubre de 2005;80(2 Suppl):S181-190
30. Srinivas TR, Kaplan B, Meier-Kriesche HU. Mycophenolate mofetil in solid-organ transplantation. *Expert Opin Pharmacother*. diciembre de 2003;4(12):2325-45.
31. Nakamura M, Ogawa N, Shalabi A, Maley WR, Longo D, Burdick JF. Positive effect on T-cell regulatory apoptosis by mycophenolate mofetil. *Clin Transplant*. 2001;15 Suppl 6:36-40
32. Quemeneur L, Flacher M, Gerland L-M, Ffrench M, Revillard J-P, Bonnefoy-Berard N. Mycophenolic acid inhibits IL-2-dependent T cell proliferation, but not. *J Immunol*. 1 de septiembre de 2002;169(5):2747-55.
33. Ohata K, Espinoza JL, Lu X, Kondo Y, Nakao S. Mycophenolic acid inhibits natural killer cell proliferation and cytotoxic function: a possible disadvantage of including mycophenolate mofetil in the graft-versus-host disease prophylaxis regimen. *Biol Blood Marrow Transplant*. febrero de 2011;17(2):205-13.
34. Dong S, Geng L, Shen M-D, Zheng S-S. Natural Killer Cell Activating Receptor NKG2D Is Involved in the Immunosuppressive Effects of Mycophenolate Mofetil and Hepatitis B Virus Infection. *Am J Med Sci*. mayo de 2015;349(5):432-7.
35. Sherwin CMT, Fukuda T, Brunner HI, Goebel J, Vinks AA. The evolution of population pharmacokinetic models to describe the enterohepatic recycling of mycophenolic acid in solid organ transplantation and autoimmune disease. *Clin Pharmacokinet*. enero de 2011;50(1):1-24.
36. Srinivas TR, Meier-Kriesche H-U, Kaplan B. Pharmacokinetic principles of immunosuppressive drugs. *Am J Transplant*. febrero de 2005;5(2):207-17.
37. Ogasawara K, Chitnis SD, Gohh RY, Christians U, Akhlaghi F. Multidrug resistance-associated protein 2 (MRP2/ABCC2) haplotypes significantly affect the pharmacokinetics of tacrolimus in kidney transplant recipients. *Clin Pharmacokinet*. septiembre de 2013;52(9):751-62.

38. Colom H, Lloberas N, Andreu F, Caldes A, Torras J, Oppenheimer F, et al. Pharmacokinetic modeling of enterohepatic circulation of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *Kidney Int.* junio de 2014;85(6):1434-43.
39. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2007;46(1):13-58.
40. van Hest RM, Mathot RAA, Pescovitz MD, Gordon R, Mamelok RD, van Gelder T. Explaining variability in mycophenolic acid exposure to optimize mycophenolate mofetil dosing: a population pharmacokinetic meta-analysis of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* marzo de 2006;17(3):871-80.
41. Roberts MS, Magnusson BM, Burczynski FJ, Weiss M. Enterohepatic circulation: physiological, pharmacokinetic and clinical implications. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(10):751-90.
42. Arns W, Cibrik DM, Walker RG, Mourad G, Budde K, Mueller EA, et al. Therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplant patients treated with mycophenolate mofetil: review of the literature. *Transplantation.* 27 de octubre de 2006;82(8):1004-12.
43. Shum B, Duffull SB, Taylor PJ, Tett SE. Population pharmacokinetic analysis of mycophenolic acid in renal transplant recipients following oral administration of mycophenolate mofetil. *Br J Clin Pharmacol.* agosto de 2003;56(2):188-97
44. Shipkova M, Armstrong VW, Oellerich M, Wieland E. Mycophenolate mofetil in organ transplantation: focus on metabolism, safety and tolerability. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* octubre de 2005;1(3):505-26.
45. Borrows R, Chusney G, James A, Stichbury J, Van Tromp J, Cairns T, et al. Determinants of mycophenolic acid levels after renal transplantation. *Ther Drug Monit.* agosto de 2005;27(4):442-50.
46. Tornatore KM, Meaney CJ, Wilding GE, Chang SS, Gundroo A, Cooper LM, et al. Influence of sex and race on mycophenolic acid pharmacokinetics in stable African

- American and Caucasian renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* abril de 2015;54(4):423-34.
47. Cho EK, Han DJ, Kim SC, Burckart GJ, Venkataramanan R, Oh JM. Pharmacokinetic study of mycophenolic acid in Korean kidney transplant patients. *J Clin Pharmacol.* julio de 2004;44(7):743-50.
48. Li P, Shuker N, Hesselink DA, van Schaik RHN, Zhang X, van Gelder T. Do Asian renal transplant patients need another mycophenolate mofetil dose compared with Caucasian or African American patients? *Transpl Int.* octubre de 2014;27(10):994-1004.
49. Schweitzer EJ, Yoon S, Fink J, Wiland A, Anderson L, Kuo PC, et al. Mycophenolate mofetil reduces the risk of acute rejection less in African-American than in Caucasian kidney recipients. *Transplantation.* 27 de enero de 1998;65(2):242-8.
50. Neylan JF. Immunosuppressive therapy in high-risk transplant patients: dose-dependent efficacy of mycophenolate mofetil in African-American renal allograft recipients. U.S. Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group. *Transplantation.* 15 de noviembre de 1997;64(9):1277-82.
51. Shaw LM, Korecka M, Aradhya S, Grossman R, Bayer L, Innes C, et al. Mycophenolic acid area under the curve values in African American and Caucasian renal transplant patients are comparable. *J Clin Pharmacol.* junio de 2000;40(6):624-33.
52. Mudge DW, Atcheson BA, Taylor PJ, Pillans PI, Johnson DW. Severe toxicity associated with a markedly elevated mycophenolic acid free fraction in a renal transplant recipient. *Ther Drug Monit.* agosto de 2004;26(4):453-5.
53. Nowak I, Shaw LM. Mycophenolic acid binding to human serum albumin: characterization and relation to pharmacodynamics. *Clin Chem.* julio de 1995;41(7):1011-7.
54. Shaw LM, Nowak I. Mycophenolic acid: measurement and relationship to pharmacologic effects. *Ther Drug Monit.* diciembre de 1995;17(6):685-9.
55. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, Hene R, Hoitsma A, Squifflet JP, et al. The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* diciembre de 1998;64(6):672-83.
56. de Winter BCM, van Gelder T, Sombogaard F, Shaw LM, van Hest RM, Mathot RAA. Pharmacokinetic role of protein binding of mycophenolic acid and its

- glucuronide metabolite in renal transplant recipients. *J Pharmacokinet Pharmacodyn.* diciembre de 2009;36(6):541-64.
57. Kim H, Long-Boyle J, Rydholm N, Orchard PJ, Tolar J, Smith AR, et al. Population pharmacokinetics of unbound mycophenolic acid in pediatric and young adult patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation. *J Clin Pharmacol.* noviembre de 2012;52(11):1665-75.
58. Shipkova M, Armstrong VW, Kuypers D, Perner F, Fabrizi V, Holzer H, et al. Effect of cyclosporine withdrawal on mycophenolic acid pharmacokinetics in kidney transplant recipients with deteriorating renal function: preliminary report. *Ther Drug Monit.* diciembre de 2001;23(6):717-21.
59. Smak Gregoor PJ, van Gelder T, Hesse CJ, van der Mast BJ, van Besouw NM, Weimar W. Mycophenolic acid plasma concentrations in kidney allograft recipients with or without cyclosporin: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant.* marzo de 1999;14(3):706-8.
60. van Gelder T, Klupp J, Barten MJ, Christians U, Morris RE. Comparison of the effects of tacrolimus and cyclosporine on the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Ther Drug Monit.* abril de 2001;23(2):119-28.
61. Hesselink DA, van Hest RM, Mathot RAA, Bonthuis F, Weimar W, de Bruin RWF, et al. Cyclosporine interacts with mycophenolic acid by inhibiting the multidrug resistance-associated protein 2. *Am J Transplant.* mayo de 2005;5(5):987-94.
62. Trkulja V, Lalic Z, Nad-Skegro S, Lebo A, Granic P, Lovric M, et al. Effect of cyclosporine on steady-state pharmacokinetics of MPA in renal transplant recipients is not affected by the MPA formulation: analysis based on therapeutic drug monitoring data. *Ther Drug Monit.* agosto de 2014;36(4):456-64.
63. Deters M, Kirchner G, Koal T, Resch K, Kaefer V. Influence of cyclosporine on the serum concentration and biliary excretion of mycophenolic acid and 7-O-mycophenolic acid glucuronide. *Ther Drug Monit.* abril de 2005;27(2):132-8.
64. Van Gelder T, Klupp J, Barten MJ, Christians U, Morris RE. Co-administration of tacrolimus and mycophenolate mofetil does not increase mycophenolic acid (MPA) exposure, but co-administration of cyclosporine inhibits the enterohepatic recirculation

- of MPA, thereby decreasing its exposure. *J Heart Lung Transplant.* febrero de 2001;20(2):160-1.
65. van Gelder T, Smak Gregoor PJ, Weimar W. Drug interaction between mycophenolate mofetil and tacrolimus detectable within therapeutic mycophenolic acid monitoring in renal transplant patients. *Ther Drug Monit.* octubre de 2000;22(5):639.
66. Zucker K, Tsaroucha A, Olson L, Esquenazi V, Tzakis A, Miller J. Evidence that tacrolimus augments the bioavailability of mycophenolate mofetil through the inhibition of mycophenolic acid glucuronidation. *Ther Drug Monit.* febrero de 1999;21(1):35-43.
67. Cattaneo D, Perico N, Gaspari F, Gotti E, Remuzzi G. Glucocorticoids interfere with mycophenolate mofetil bioavailability in kidney transplantation. *Kidney Int.* septiembre de 2002;62(3):1060-7.
68. Flechner SM, Goldfarb D, Modlin C, Feng J, Krishnamurthi V, Mastroianni B, et al. Kidney transplantation without calcineurin inhibitor drugs: a prospective, randomized trial of sirolimus versus cyclosporine. *Transplantation.* 27 de octubre de 2002;74(8):1070-6.
69. Flechner SM, Zhou L, Derweesh I, Mastroianni B, Savas K, Goldfarb D, et al. The impact of sirolimus, mycophenolate mofetil, cyclosporine, azathioprine, and steroids on wound healing in 513 kidney-transplant recipients. *Transplantation.* 27 de diciembre de 2003;76(12):1729-34.
70. David-Neto E, Takaki KM, Agena F, Romano P, Sumita NM, Mendes ME, et al. Diminished mycophenolic acid exposure caused by omeprazole may be clinically relevant in the first week posttransplantation. *Ther Drug Monit.* junio de 2012;34(3):331-6.
71. Kees MG, Steinke T, Moritz S, Rupprecht K, Paulus EM, Kees F, et al. Omeprazole impairs the absorption of mycophenolate mofetil but not of enteric-coated mycophenolate sodium in healthy volunteers. *J Clin Pharmacol.* agosto de 2012;52(8):1265-72.
72. Rissling O, Glander P, Hambach P, Mai M, Brakemeier S, Klonower D, et al. No relevant pharmacokinetic interaction between pantoprazole and mycophenolate in renal

- transplant patients: a randomized crossover study. *Br J Clin Pharmacol.* noviembre de 2015;80(5):1086-96.
73. Kiberd BA, Wrobel M, Dandavino R, Keown P, Gourishankar S. The role of proton pump inhibitors on early mycophenolic acid exposure in kidney transplantation: evidence from the CLEAR study. *Ther Drug Monit.* febrero de 2011;33(1):120-3.
74. Bullingham RE, Nicholls AJ, Kamm BR. Clinical pharmacokinetics of mycophenolate mofetil. *Clin Pharmacokinet.* junio de 1998;34(6):429-55.
75. Mignat C. Clinically significant drug interactions with new immunosuppressive agents. *Drug Saf.* abril de 1997;16(4):267-78.
76. Tedesco-Silva HJ, Felipe CR, Slade A, Schmouder RL, Medina Pestana JO. Chronopharmacokinetics of mycophenolic acid and its glucuronide and acyl glucuronide metabolites in kidney transplant recipients converted from cyclosporine to everolimus. *Ther Drug Monit.* diciembre de 2012;34(6):652-9.
77. Weber LT, Shipkova M, Armstrong VW, Wagner N, Schutz E, Mehls O, et al. The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for total and free mycophenolic Acid in pediatric renal transplant recipients: a report of the german study group on mycophenolate mofetil therapy. *J Am Soc Nephrol.* marzo de 2002;13(3):759-68
78. Velickovic-Radovanovic RM, Jankovic SM, Milovanovic JR, Catic-Dordevic AK, Spasic AA, Stefanovic NZ, et al. Variability of mycophenolic acid elimination in the renal transplant recipients - population pharmacokinetic approach. *Ren Fail.* mayo de 2015;37(4):652-8.
79. Nazemian F, Mohammadpur A-H, Abtahi B, Naghibi M. Pharmacokinetics of mycophenolic acid during the early period after renal transplant. *Exp Clin Transplant.* diciembre de 2007;5(2):658-63.
80. Frymoyer A, Verotta D, Jacobson P, Long-Boyle J. Population pharmacokinetics of unbound mycophenolic acid in adult allogeneic haematopoietic cell transplantation: effect of pharmacogenetic factors. *Br J Clin Pharmacol.* febrero de 2013;75(2):463-75.
81. Park JM, Lake KD, Cibrik DM. Impact of changing from cyclosporine to tacrolimus on pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal transplant recipients with diabetes. *Ther Drug Monit.* octubre de 2008;30(5):591-6.

82. Parker G, Bullingham R, Kamm B, Hale M. Pharmacokinetics of oral mycophenolate mofetil in volunteer subjects with varying degrees of hepatic oxidative impairment. *J Clin Pharmacol.* abril de 1996;36(4):332-44.
83. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, Maes B, Coosemans W, Pirenne J, et al. Long-term changes in mycophenolic acid exposure in combination with tacrolimus and corticosteroids are dose dependent and not reflected by trough plasma concentration: a prospective study in 100 de novo renal allograft recipients. *J Clin Pharmacol.* agosto de 2003;43(8):866-80.
84. Patterson SD, Zariffa NM, Montague TH, Howland K. Non-traditional study designs to demonstrate average bioequivalence for highly variable drug products. *Eur J Clin Pharmacol.* noviembre de 2001;57(9):663-70.
85. Arns W, Breuer S, Choudhury S, Taccard G, Lee J, Binder V, et al. Enteric-coated mycophenolate sodium delivers bioequivalent MPA exposure compared with mycophenolate mofetil. *Clin Transplant.* abril de 2005;19(2):199-206.
86. Budde K, Bauer S, Hambach P, Hahn U, Roblitz H, Mai I, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic comparison of enteric-coated mycophenolate sodium and mycophenolate mofetil in maintenance renal transplant patients. *Am J Transplant.* abril de 2007;7(4):888-98.
87. Tedesco-Silva H, Bastien M-C, Choi L, Felipe C, Campestrini J, Picard F, et al. Mycophenolic acid metabolite profile in renal transplant patients receiving enteric-coated mycophenolate sodium or mycophenolate mofetil. *Transplant Proc.* marzo de 2005;37(2):852-5.
88. Johnston A, He X, Holt DW. Bioequivalence of enteric-coated mycophenolate sodium and mycophenolate mofetil: a meta-analysis of three studies in stable renal transplant recipients. *Transplantation.* 15 de diciembre de 2006;82(11):1413-8.
89. Budde K, Tedesco-Silva H, Pestana JM, Glander P, Neumayer H-H, Felipe CR, et al. Enteric-coated mycophenolate sodium provides higher mycophenolic acid predose levels compared with mycophenolate mofetil: implications for therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit.* junio de 2007;29(3):381-4.

90. de Winter BCM, van Gelder T, Glander P, Cattaneo D, Tedesco-Silva H, Neumann I, et al. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid : a comparison between enteric-coated mycophenolate sodium and mycophenolate mofetil in renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2008;47(12):827-38.
91. Brooks EK, Tett SE, Isbel NM, McWhinney B, Staats CE. Evaluation of Multiple Linear Regression-Based Limited Sampling Strategies for Enteric-Coated Mycophenolate Sodium in Adult Kidney Transplant Recipients. *Ther Drug Monit.* abril de 2018;40(2):195-201.
92. Staats CE, Tett SE. Maximum a posteriori Bayesian estimation of mycophenolic Acid area under the concentration-time curve: is this clinically useful for dosage prediction yet? *Clin Pharmacokinet.* 1 de diciembre de 2011;50(12):759-72.
93. Budde K, Curtis J, Knoll G, Chan L, Neumayer H-H, Seifu Y, et al. Enteric-coated mycophenolate sodium can be safely administered in maintenance renal transplant patients: results of a 1-year study. *Am J Transplant.* febrero de 2004;4(2):237-43.
94. Salvadori M, Holzer H, Civati G, Sollinger H, Lien B, Tomlanovich S, et al. Long-term administration of enteric-coated mycophenolate sodium (EC-MPS; myfortic) is safe in kidney transplant patients. *Clin Nephrol.* agosto de 2006;66(2):112-9.
95. Bunnapradist S, Sampaio MS, Wilkinson AH, Pham P-T, Huang E, Kuo H-T, et al. Changes in the small bowel of symptomatic kidney transplant recipients converted from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium. *Am J Nephrol.* 2014;40(2):184-90.
96. Budde K, Glander P, Kramer BK, Fischer W, Hoffmann U, Bauer S, et al. Conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in maintenance renal transplant recipients receiving tacrolimus: clinical, pharmacokinetic, and pharmacodynamic outcomes. *Transplantation.* 27 de febrero de 2007;83(4):417-24.
97. Bolin P, Tanriover B, Zibari GB, Lynn ML, Pirsch JD, Chan L, et al. Improvement in 3-month patient-reported gastrointestinal symptoms after conversion from mycophenolate

- mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in renal transplant patients. *Transplantation*. 15 de diciembre de 2007;84(11):1443-51.
98. Gardiner KM, Tett SE, Staats CE. Is Conversion from Mycophenolate Mofetil to Enteric-Coated Mycophenolate Sodium Justifiable for Gastrointestinal Quality of Life? *Drugs R D*. diciembre de 2018;18(4):271-82.
99. Miao Y, Everly JJ, Gross TG, Tevar AD, First MR, Alloway RR, et al. De novo cancers arising in organ transplant recipients are associated with adverse outcomes compared with the general population. *Transplantation*. 15 de mayo de 2009;87(9):1347-59.
100. Schachtner T, Stein M, Reinke P. Sepsis after renal transplantation: Clinical, immunological, and microbiological risk factors. *Transpl Infect Dis*. junio de 2017;19(3).
101. Tielemans MM, van Boekel GAJ, van Gelder T, Tjwa ET, Hilbrands LB. Immunosuppressive drugs and the gastrointestinal tract in renal transplant patients. *Transplant Rev (Orlando)*. abril de 2019;33(2):55-63.
102. Hollyer I, Ison MG. The challenge of urinary tract infections in renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. abril de 2018;20(2):e12828.
103. Brennan DC. Cytomegalovirus in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. abril de 2001;12(4):848-55.
104. Jamboti JS. BK virus nephropathy in renal transplant recipients. *Nephrology (Carlton)*. agosto de 2016;21(8):647-54.
105. Schrem H, Schneider V, Kurok M, Goldis A, Dreier M, Kaltenborn A, et al. Independent Pre-Transplant Recipient Cancer Risk Factors after Kidney Transplantation and the Utility of G-Chart Analysis for Clinical Process Control. *PLoS One*. 2016;11(7):e0158732.
106. Sandal S, Chen T, Cantarovich M. The Challenges with the Cardiac Evaluation of Liver and Kidney Transplant Candidates. *Transplantation*. 3 de septiembre de 2019;

107. Crane GM, Powell H, Kostadinov R, Rocafort PT, Rifkin DE, Burger PC, et al. Primary CNS lymphoproliferative disease, mycophenolate and calcineurin inhibitor usage. *Oncotarget*. 20 de octubre de 2015;6(32):33849-66.
108. Lichtenberg S, Rahamimov R, Green H, Fox BD, Mor E, Gafter U, et al. The incidence of post-transplant cancer among kidney transplant recipients is associated with the level of tacrolimus exposure during the first year after transplantation. *Eur J Clin Pharmacol*. julio de 2017;73(7):819-26.
109. Cherikh WS, Kauffman HM, McBride MA, Maghirang J, Swinnen LJ, Hanto DW. Association of the type of induction immunosuppression with posttransplant lymphoproliferative disorder, graft survival, and patient survival after primary kidney transplantation. *Transplantation*. 15 de noviembre de 2003;76(9):1289-93.
110. Garrett GL, Blanc PD, Boscardin J, Lloyd AA, Ahmed RL, Anthony T, et al. Incidence of and Risk Factors for Skin Cancer in Organ Transplant Recipients in the United States. *JAMA Dermatol*. 1 de marzo de 2017;153(3):296-303.
111. Bige N, Zafrani L, Lambert J, Peraldi M-N, Snanoudj R, Reuter D, et al. Severe infections requiring intensive care unit admission in kidney transplant recipients: impact on graft outcome. *Transpl Infect Dis*. agosto de 2014;16(4):588-96.
112. Vidal E, Torre-Cisneros J, Blanes M, Montejo M, Cervera C, Aguado JM, et al. Bacterial urinary tract infection after solid organ transplantation in the RESITRA cohort. *Transpl Infect Dis*. diciembre de 2012;14(6):595-603.
113. Bosn J *Basic Med Sci*. 2018 Sep 16.)
114. Leal R, Pinto H, Galvao A, Rodrigues L, Santos L, Romaozinho C, et al. Early Rehospitalization Post-Kidney Transplant Due to Infectious Complications: Can We Predict the Patients at Risk? *Transplant Proc*. mayo de 2017;49(4):783-6.
115. de Souza RM, Olsburgh J. Urinary tract infection in the renal transplant patient. *Nat Clin Pract Nephrol*. mayo de 2008;4(5):252-64.

116. Fernandez-Ruiz M, Arias M, Campistol JM, Navarro D, Gomez-Huertas E, Gomez-Marquez G, et al. Cytomegalovirus prevention strategies in seropositive kidney transplant recipients: an insight into current clinical practice. *Transpl Int.* septiembre de 2015;28(9):1042-54.
117. Vajdic CM, van Leeuwen MT, Webster AC, McCredie MRE, Stewart JH, Chapman JR, et al. Cutaneous melanoma is related to immune suppression in kidney transplant recipients. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* agosto de 2009;18(8):2297-303.
118. Sprangers B, Nair V, Launay-Vacher V, Riella LV, Jhaveri KD. Risk factors associated with post-kidney transplant malignancies: an article from the Cancer-Kidney International Network. *Clin Kidney J.* junio de 2018;11(3):315-29.
119. Sherston SN, Carroll RP, Harden PN, Wood KJ. Predictors of cancer risk in the long-term solid-organ transplant recipient. *Transplantation.* 27 de marzo de 2014;97(6):605-11
120. Mallat SG, Tanios BY, Itani HS, Lotfi T, McMullan C, Gabardi S, et al. CMV and BKPyV Infections in Renal Transplant Recipients Receiving an mTOR Inhibitor-Based Regimen Versus a CNI-Based Regimen: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized, Controlled Trials. *Clin J Am Soc Nephrol.* 7 de agosto de 2017;12(8):1321-36.
121. Vanhove T, Kuypers D, Claes KJ, Evenepoel P, Meijers B, Naesens M, et al. Reasons for dose reduction of mycophenolate mofetil during the first year after renal transplantation and its impact on graft outcome. *Transpl Int.* agosto de 2013;26(8):813-21.
122. Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int.* 2000;13(5):313-26.
123. McAdams-DeMarco MA, Law A, Tan J, Delp C, King EA, Orandi B, et al. Frailty, mycophenolate reduction, and graft loss in kidney transplant recipients. *Transplantation.* abril de 2015;99(4):805-10.
124. Shrestha BM. Two Decades of Tacrolimus in Renal Transplant: Basic Science and Clinical Evidences. *Exp Clin Transplant.* febrero de 2017;15(1):1-9.

125. Snowsill TM, Moore J, Mujica Mota RE, Peters JL, Jones-Hughes TL, Huxley NJ, et al. Immunosuppressive agents in adult kidney transplantation in the National Health Service: a model-based economic evaluation. *Nephrol Dial Transplant*. 1 de julio de 2017;32(7):1251-9.
126. Hiramoto LL, Tedesco-Silva H, Medina-Pestana JO, Felipe CR. Tolerability of mycophenolate sodium in renal transplant recipients. *Int J Clin Pharm*. diciembre de 2018;40(6):1548-58
127. Yanik EL, Gustafson SK, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ, Hess GP, et al. Sirolimus use and cancer incidence among US kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. enero de 2015;15(1):129-36.
128. Kauffman HM, Cherikh WS, Cheng Y, Hanto DW, Kahan BD. Maintenance immunosuppression with target-of-rapamycin inhibitors is associated with a reduced incidence of de novo malignancies. *Transplantation*. 15 de octubre de 2005;80(7):883-9.
129. Knoll GA, Kokolo MB, Mallick R, Beck A, Buenaventura CD, Ducharme R, et al. Effect of sirolimus on malignancy and survival after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis of individual patient data. *BMJ*. 24 de noviembre de 2014;349:g6679.
130. Pascual J, Berger SP, Witzke O, Tedesco H, Mulgaonkar S, Qazi Y, et al. Everolimus with Reduced Calcineurin Inhibitor Exposure in Renal Transplantation. *J Am Soc Nephrol*. julio de 2018;29(7):1979-91.
131. Favi E, Spagnoletti G, Salerno MP, Pedroso JA, Romagnoli J, Citterio F. Tacrolimus plus mycophenolate mofetil Vs.. cyclosporine plus everolimus in deceased donor kidney transplant recipients: three-yr results of a single-center prospective clinical trial. *Clin Transplant*. agosto de 2013;27(4):E359-367.
132. Shi G, Ozog S, Torbett BE, Compton AA. mTOR inhibitors lower an intrinsic barrier to virus infection mediated by IFITM3. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 23 de octubre de 2018;115(43):E10069-78.
133. Wolf S, Hoffmann VS., Habicht A, Kauke T, Bucher J, Schoenberg M, et al. Effects of mTOR-Is on malignancy and survival following renal transplantation:

- A systematic review and meta-analysis of randomized trials with a minimum follow-up of 24 months. *PLoS One*. 2018;13(4):e0194975.
134. Budde K, Becker T, Arns W, Sommerer C, Reinke P, Eisenberger U, et al. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet*. 5 de marzo de 2011;377(9768):837-47.
135. Budde K, Zeier M, Witzke O, Arns W, Lehner F, Guba M, et al. Everolimus with cyclosporine withdrawal or low-exposure cyclosporine in kidney transplantation from Month 3: a multicentre, randomized trial. *Nephrol Dial Transplant*. 1 de junio de 2017;32(6):1060-70.
136. Campbell SB, Walker R, Tai SS, Jiang Q, Russ GR. Randomized controlled trial of sirolimus for renal transplant recipients at high risk for nonmelanoma skin cancer. *Am J Transplant*. mayo de 2012;12(5):1146-56.
137. Heilman RL, Younan K, Wadei HM, Mai ML, Reddy KS, Chakkerla HA, et al. Results of a prospective randomized trial of sirolimus conversion in kidney transplant recipients on early corticosteroid withdrawal. *Transplantation*. 15 de octubre de 2011;92(7):767-73
138. Smith MPW, Newstead CG, Ahmad N, Lewington AJP, Tibble S, Lodge JPA, et al. Poor tolerance of sirolimus in a steroid avoidance regimen for renal transplantation. *Transplantation*. 27 de febrero de 2008;85(4):636-9.
139. Qazi Y, Shaffer D, Kaplan B, Kim DY, Luan FL, Peddi VR, et al. Efficacy and Safety of Everolimus Plus Low-Dose Tacrolimus Versus Mycophenolate Mofetil Plus Standard-Dose Tacrolimus in De Novo Renal Transplant Recipients: *Am J Transplant*. mayo de 2017;17(5):1358-69.
140. Bouamar R, Shuker N, Osinga JAJ, Clahsen-van Groningen MC, Damman J, Baan CC, et al. Conversion from tacrolimus to everolimus with complete and early glucocorticoid withdrawal after kidney transplantation: a randomised trial. *Neth J Med*. enero de 2018;76(1):14-26.

141. de Fijter JW. Cancer and mTOR Inhibitors in Transplant Recipients. *Transplantation*. enero de 2017;101(1):45-55.
142. He L, Deng J, Yang B, Jiang W. Efficacy and safety of everolimus plus low-dose calcineurin inhibitor Vs.. mycophenolate mofetil plus standard-dose calcineurin inhibitor in renal transplant recipients: A systematic review and meta-analysis. *Clin Nephrol*. mayo de 2018;89(5):336-44.
143. Sommerer C, Muller-Krebs S, Schaier M, Glander P, Budde K, Schwenger V, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of enteric-coated mycophenolate sodium: limited sampling strategies and clinical outcome in renal transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. abril de 2010;69(4):346-57.
144. van Gelder T, Tedesco Silva H, de Fijter JW, Budde K, Kuypers D, Arns W, et al. Renal transplant patients at high risk of acute rejection benefit from adequate exposure to mycophenolic acid. *Transplantation*. 15 de marzo de 2010;89(5):595-9
145. Atcheson BA, Taylor PJ, Mudge DW, Johnson DW, Hawley CM, Campbell SB, et al. Mycophenolic acid pharmacokinetics and related outcomes early after renal transplant. *Br J Clin Pharmacol*. marzo de 2005;59(3):271-80.
146. Mourad M, Malaise J, Chaib Eddour D, De Meyer M, Konig J, Schepers R, et al. Correlation of mycophenolic acid pharmacokinetic parameters with side effects in kidney transplant patients treated with mycophenolate mofetil. *Clin Chem*. enero de 2001;47(1):88-94.
147. Mourad M, Malaise J, Chaib Eddour D, De Meyer M, Konig J, Schepers R, et al. Pharmacokinetic basis for the efficient and safe use of low-dose mycophenolate mofetil in combination with tacrolimus in kidney transplantation. *Clin Chem*. 2001;47(7):1241-8.
148. Borrows R, Chusney G, Loucaidou M, James A, Lee J, Tromp JV, et al. Mycophenolic acid 12-h trough level monitoring in renal transplantation: association with acute rejection and toxicity. *Am J Transplant*. enero de 2006;6(1):121-8.
149. Pillans PI, Rigby RJ, Kubler P, Willis C, Salm P, Tett SE, et al. A retrospective analysis of mycophenolic acid and cyclosporin concentrations with acute rejection in renal transplant recipients. *Clin Biochem*. febrero de 2001;34(1):77-81.

150. Kaplan B. Mycophenolic acid trough level monitoring in solid organ transplant recipients treated with mycophenolate mofetil: association with clinical outcome. *Curr Med Res Opin.* diciembre de 2006;22(12):2355-64.
151. Cattaneo D, Gaspari F, Ferrari S, Stucchi N, Del Priore L, Perico N, et al. Pharmacokinetics help optimizing mycophenolate mofetil dosing in kidney transplant patients. *Clin Transplant.* diciembre de 2001;15(6):402-9.
152. Kuypers DRJ, Vanrenterghem Y, Squifflet JP, Mourad M, Abramowicz D, Oellerich M, et al. Twelve-month evaluation of the clinical pharmacokinetics of total and free mycophenolic acid and its glucuronide metabolites in renal allograft recipients on low dose tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit.* octubre de 2003;25(5):609-22.
153. Luszczynska P, Pawinski T. Therapeutic Drug Monitoring of Mycophenolic Acid in Lupus Nephritis: A Review of Current Literature. *Ther Drug Monit.* diciembre de 2015;37(6):711-7.
154. Bennett WM. Immunosuppression with mycophenolic acid: one size does not fit all. *J Am Soc Nephrol.* septiembre de 2003;14(9):2414-6.
155. Tett SE, Saint-Marcoux F, Staatz CE, Brunet M, Vinks AA, Miura M, et al. Mycophenolate, clinical pharmacokinetics, formulations, and methods for assessing drug exposure. *Transplant Rev (Orlando).* abril de 2011;25(2):47-57.
156. Le Guellec C, Bourgoin H, Buchler M, Le Meur Y, Lebranchu Y, Marquet P, et al. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of mycophenolic acid concentrations in stable renal transplant patients. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(4):253-66.
157. Cai W, Ye C, Sun X, Qin K, Qin Y, Zhao D, et al. Limited sampling strategy for predicting area under the concentration-time curve for mycophenolic Acid in Chinese adults receiving mycophenolate mofetil and tacrolimus early after renal transplantation. *Ther Drug Monit.* junio de 2015;37(3):304-10.
158. Chen B, Shao K, An H-M, Shi H-Q, Lu J-Q, Zhai X-H, et al. Population Pharmacokinetics and Bayesian Estimation of Mycophenolic Acid Exposure in Chinese

- Renal Allograft Recipients After Administration of EC-MPS. *J Clin Pharmacol.* abril de 2019;59(4):578-89.
159. Sanchez Fructuoso AI, Perez-Flores I, Calvo N, Valero R, Matilla E, Ortega D, et al. Limited-sampling strategy for mycophenolic acid in renal transplant recipients receiving enteric-coated mycophenolate sodium and tacrolimus. *Ther Drug Monit.* junio de 2012;34(3):298-305.
160. Jia Y, Peng B, Li L, Wang J, Wang X, Qi G, et al. Estimation of Mycophenolic Acid Area Under the Curve With Limited-Sampling Strategy in Chinese Renal Transplant Recipients Receiving Enteric-Coated Mycophenolate Sodium. *Ther Drug Monit.* febrero de 2017;39(1):29-36.
161. Kuypers DRJ. Immunosuppressive drug monitoring - what to use in clinical practice today to improve renal graft outcome. *Transpl Int.* febrero de 2005;18(2):140-50.
162. Knight SR, Morris PJ. Does the evidence support the use of mycophenolate mofetil therapeutic drug monitoring in clinical practice? A systematic review. *Transplantation.* 27 de junio de 2008;85(12):1675-85.
163. Moyer AM, Caraballo PJ. The challenges of implementing pharmacogenomic testing in the clinic. *Expert Rev Pharmacoecon Outcomes Res.* diciembre de 2017;17(6):567-77.
164. Barraclough KA, Lee KJ, Staatz CE. Pharmacogenetic influences on mycophenolate therapy. *Pharmacogenomics.* marzo de 2010;11(3):369-90.
165. Betonico GN, Abudd-Filho M, Goloni-Bertollo EM, Pavarino-Bertelli E. Pharmacogenetics of mycophenolate mofetil: a promising different approach to tailoring immunosuppression? *J Nephrol.* agosto de 2008;21(4):503-9.
166. Ekbal NJ, Holt DW, Macphee IA. Pharmacogenetics of immunosuppressive drugs: prospect of individual therapy for transplant patients. *Pharmacogenomics.* mayo de 2008;9(5):585-96.

167. van Schaik RHN, van Agteren M, de Fijter JW, Hartmann A, Schmidt J, Budde K, et al. UGT1A9 -275T>A/-2152C>T polymorphisms correlate with low MPA exposure and acute rejection in MMF/tacrolimus-treated kidney transplant patients. *Clin Pharmacol Ther.* septiembre de 2009;86(3):319-27.
168. Desai AA, Innocenti F, Ratain MJ. UGT pharmacogenomics: implications for cancer risk and cancer therapeutics. *Pharmacogenetics.* agosto de 2003;13(8):517-23.
169. Calvo N, Shabaka A, Rodriguez Cubillo B, Lopez de la Manzanara V, Perez-Flores I, Moreno de la Higuera MA, et al. Presence of T-275A and C-2152T Polymorphisms of the Promoter Region of Uridine Diphosphate-Glucuronosyltransferase 1A9 Increases Mortality From Digestive Tumors: Results After 10 Years of Follow-up in a Renal Transplant Population. *Transplant Proc.* noviembre de 2016;48(9):2947-9.
170. Gensburger O, Van Schaik RHN, Picard N, Le Meur Y, Rousseau A, Woillard J-B, et al. Polymorphisms in type I and II inosine monophosphate dehydrogenase genes and association with clinical outcome in patients on mycophenolate mofetil. *Pharmacogenet Genomics.* septiembre de 2010;20(9):537-43.
171. Choudhuri S, Klaassen CD. Structure, function, expression, genomic organization, and single nucleotide polymorphisms of human ABCB1 (MDR1), ABCC (MRP), and ABCG2 (BCRP) efflux transporters. *Int J Toxicol.* agosto de 2006;25(4):231-59.
172. Juliano RL, Ling V. A surface glycoprotein modulating drug permeability in Chinese hamster ovary cell mutants. *Biochim Biophys Acta.* 11 de noviembre de 1976;455(1):152-62.
173. Paulusma CC, Oude Elferink RP. The canalicular multispecific organic anion transporter and conjugated hyperbilirubinemia in rat and man. *J Mol Med (Berl).* junio de 1997;75(6):420-8.
174. Ghanem CI, Manautou JE. Modulation of Hepatic MRP3/ABCC3 by Xenobiotics and Pathophysiological Conditions: Role in Drug Pharmacokinetics. *Curr Med Chem.* 2019;26(7):1185-223.

175. Sakamoto M, Suzuki H, Yura K. Relationship between conformation shift and disease related variation sites in. *Biophys Physicobiol.* 2019;16:68-79.
176. Leslie EM, Deeley RG, Cole SP. Toxicological relevance of the multidrug resistance protein 1, MRP1 (ABCC1) and related transporters. *Toxicology.* 5 de octubre de 2001;167(1):3-23.
177. Buchler M, Konig J, Brom M, Kartenbeck J, Spring H, Horie T, et al. cDNA cloning of the hepatocyte canalicular isoform of the multidrug resistance protein, cMrp, reveals a novel conjugate export pump deficient in hyperbilirubinemic mutant rats. *J Biol Chem.* 21 de junio de 1996;271(25):15091-8.
178. Chan LMS, Lowes S, Hirst BH. The ABCs of drug transport in intestine and liver: efflux proteins limiting drug absorption and bioavailability. *Eur J Pharm Sci.* enero de 2004;21(1):25-51.
179. Scheffer GL, Pijnenborg ACLM, Smit EF, Muller M, Postma DS, Timens W, et al. Multidrug resistance related molecules in human and murine lung. *J Clin Pathol.* mayo de 2002;55(5):332-9.
180. Torky A-RW, Stehfest E, Viehweger K, Taege C, Foth H. Immuno-histochemical detection of MRPs in human lung cells in culture. *Toxicology.* 28 de febrero de 2005;207(3):437-50.
181. van der Deen M, de Vries EGE, Timens W, Scheper RJ, Timmer-Bosscha H, Postma DS. ATP-binding cassette (ABC) transporters in normal and pathological lung. *Respir Res.* 20 de junio de 2005;6:59.
182. Zhang L, Xu P, Cheng Y, Wang P, Ma X, Liu M, et al. Diet-induced obese alters the expression and function of hepatic drug-metabolizing enzymes and transporters in rats. *Biochem Pharmacol.* junio de 2019;164:368-76.
183. Hartmann G, Cheung AKY, Piquette-Miller M. Inflammatory cytokines, but not bile acids, regulate expression of murine hepatic anion transporters in endotoxemia. *J Pharmacol Exp Ther.* octubre de 2002;303(1):273-81.

184. Ciriaci N, Andermatten RB, Razori MV, Schuck VS., Miszczuk GS, Medeot AC, et al. Role of ERK1/2 in TNFalpha-induced internalization of Abcc2 in rat hepatocyte couplets. *Biochem Pharmacol.* junio de 2019;164:311-20.
185. Ding Y, Wang R, Zhang J, Zhao A, Lu H, Li W, et al. Potential Regulation Mechanisms of P-gp in the Blood-Brain Barrier in Hypoxia. *Curr Pharm Des.* 2019;25(10):1041-51.
186. Kharangarh S, Sandhu H, Tangadpalliwar S, Garg P. Predicting Inhibitors for Multidrug Resistance Associated Protein-2 Transporter by Machine Learning Approach. *Comb Chem High Throughput Screen.* 2018;21(8):557-66.
187. Dietrich CG, de Waart DR, Ottenhoff R, Bootsma AH, van Gennip AH, Elferink RP. Mrp2-deficiency in the rat impairs biliary and intestinal excretion and influences metabolism and disposition of the food-derived carcinogen. *Carcinogenesis.* mayo de 2001;22(5):805-11.
188. Dietrich CG, de Waart DR, Ottenhoff R, Schoots IG, Elferink RP. Increased bioavailability of the food-derived carcinogen. *Mol Pharmacol.* mayo de 2001;59(5):974-80.
189. Hirouchi M, Kusahara H, Onuki R, Ogilvie BW, Parkinson A, Sugiyama Y. Construction of triple-transfected cells [organic anion-transporting polypeptide (OATP) 1B1/multidrug resistance-associated protein (MRP) 2/MRP3 and OATP1B1/MRP2/MRP4] for analysis of the sinusoidal function of MRP3 and MRP4. *Drug Metab Dispos.* octubre de 2009;37(10):2103-11.
190. Grisk O, Steinbach AC, Ciecholewski S, Schluter T, Kloting I, Schmidt H, et al. Multidrug resistance-related protein 2 genotype of the donor affects kidney graft function. *Pharmacogenet Genomics.* abril de 2009;19(4):276-88.
191. Dietrich CG, Ottenhoff R, de Waart DR, Oude Elferink RP. Role of MRP2 and GSH in intrahepatic cycling of toxins. *Toxicology.* 5 de octubre de 2001;167(1):73-81.

192. Kawase A. [Alterations in expression and function of ABC transporters and ERM proteins in inflammation]. *Yakugaku Zasshi*. 2014;134(9):925-9.
193. Kawase A, Norikane S, Okada A, Adachi M, Kato Y, Iwaki M. Distinct alterations in ATP-binding cassette transporter expression in liver, kidney, small intestine, and brain in adjuvant-induced arthritic rats. *J Pharm Sci*. agosto de 2014;103(8):2556-64.
194. Zukauskas A, Mrsny RJ, Cortes Barrantes P, Turner JR, Leong JM, McCormick BA. Transporters MRP1 and MRP2 Regulate Opposing Inflammatory Signals To Control Transepithelial Neutrophil Migration during *Streptococcus pneumoniae* Lung Infection. *mSphere*. 5 de julio de 2018;3(4).
195. Pazos M, Siccardi D, Mummy KL, Bien JD, Louie S, Shi HN, et al. Multidrug resistance-associated transporter 2 regulates mucosal inflammation by facilitating the synthesis of hepxilin A3. *J Immunol*. 1 de diciembre de 2008;181(11):8044-52.
196. Englund G, Jacobson A, Rorsman F, Artursson P, Kindmark A, Ronnblom A. Efflux transporters in ulcerative colitis: decreased expression of BCRP (ABCG2) and Pgp (ABCB1). *Inflamm Bowel Dis*. marzo de 2007;13(3):291-7.
197. Mustra Rakic J, Liu C, Veeramachaneni S, Wu D, Paul L, Chen C-YO, et al. Lycopene Inhibits Smoke-Induced Chronic Obstructive Pulmonary Disease and Lung Carcinogenesis by Modulating Reverse Cholesterol Transport in Ferrets. *Cancer Prev Res (Phila)*. julio de 2019;12(7):421-32.
198. Andersen V, Svenningsen K, Knudsen LA, Hansen AK, Holmskov U, Stensballe A, et al. Novel understanding of ABC transporters ABCB1/MDR/P-glycoprotein, ABCC2/MRP2, and ABCG2/BCRP in colorectal pathophysiology. *World J Gastroenterol*. 7 de noviembre de 2015;21(41):11862-76.
199. Sharpe AH, Freeman GJ. The B7-CD28 superfamily. *Nat Rev Immunol*. febrero de 2002;2(2):116-26.

200. Russel FGM, Koenderink JB, Masereeuw R. Multidrug resistance protein 4 (MRP4/ABCC4): a versatile efflux transporter for drugs and signalling molecules. *Trends Pharmacol Sci.* abril de 2008;29(4):200-7.
201. Maeng H-J, Lee W-J, Jin Q-R, Chang J-E, Shim W-S. Upregulation of COX-2 in the lung cancer promotes overexpression of multidrug resistance protein 4 (MRP4) via PGE2-dependent pathway. *Eur J Pharm Sci.* 1 de octubre de 2014;62:189-96.
202. Sag D, Wingender G, Nowyhed H, Wu R, Gebre AK, Parks JS, et al. ATP-binding cassette transporter G1 intrinsically regulates invariant NKT cell development. *J Immunol.* 1 de diciembre de 2012;189(11):5129-38.
203. Nowyhed HN, Chandra S, Kiosses W, Marcovecchio P, Andary F, Zhao M, et al. ATP Binding Cassette Transporter ABCA7 Regulates NKT Cell Development and Function by Controlling CD1d Expression and Lipid Raft Content. *Sci Rep.* 16 de enero de 2017;7:40273.
204. Gallo A, Miele M, Badami E, Conaldi PG. Molecular and cellular interplay in virus-induced tumors in solid organ recipients. *Cell Immunol.* 16 de febrero de 2018;103770.
205. Hinoshita E, Uchiumi T, Taguchi K, Kinukawa N, Tsuneyoshi M, Maehara Y, et al. Increased expression of an ATP-binding cassette superfamily transporter, multidrug resistance protein 2, in human colorectal carcinomas. *Clin Cancer Res.* junio de 2000;6(6):2401-7.
206. Ito K, Suzuki H, Sugiyama Y. Single amino acid substitution of rat MRP2 results in acquired transport activity for taurocholate. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* octubre de 2001;281(4):G1034-1043.

207. Bustos-Cruz RH, Martinez LR, Garcia JC, Barreto GE, Suarez F. New ABCC2 rs3740066 and rs2273697 Polymorphisms Identified in a Healthy Colombian Cohort. *Pharmaceutics*. 17 de julio de 2018;10(3).
208. Nguyen TD, Markova S, Liu W, Gow JM, Baldwin RM, Habashian M, et al. Functional characterization of ABCC2 promoter polymorphisms and allele-specific expression. *Pharmacogenomics J*. octubre de 2013;13(5):396-402
209. Naesens M, Kuypers DRJ, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Multidrug resistance protein 2 genetic polymorphisms influence mycophenolic acid exposure in renal allograft recipients. *Transplantation*. 27 de octubre de 2006;82(8):1074-84.
210. Li L-Q, Chen D-N, Li C-J, Li Q-P, Chen Y, Fang P, et al. Impact of UGT2B7 and ABCC2 genetic polymorphisms on mycophenolic acid metabolism in Chinese renal transplant recipients. *Pharmacogenomics*. noviembre de 2018;19(17):1323-34.
211. Fukuda T, Goebel J, Cox S, Maseck D, Zhang K, Sherbotie JR, et al. UGT1A9, UGT2B7, and MRP2 genotypes can predict mycophenolic acid pharmacokinetic variability in pediatric kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit*. diciembre de 2012;34(6):671-9.
212. Geng F, Jiao Z, Dao Y-J, Qiu X-Y, Ding J-J, Shi X-J, et al. The association of the UGT1A8, SLCO1B3 and ABCC2/ABCG2 genetic polymorphisms with the pharmacokinetics of mycophenolic acid and its phenolic glucuronide metabolite in Chinese individuals. *Clin Chim Acta*. 11 de abril de 2012;413(7-8):683-90.
213. Lloberas N, Torras J, Cruzado JM, Andreu F, Oppenheimer F, Sanchez-Plumed J, et al. Influence of MRP2 on MPA pharmacokinetics in renal transplant recipients- results of the Pharmacogenomic Substudy within the Symphony Study. *Nephrol Dial Transplant*. noviembre de 2011;26(11):3784-93.
214. Miura M, Satoh S, Inoue K, Kagaya H, Saito M, Inoue T, et al. Influence of SLCO1B1, 1B3, 2B1 and ABCC2 genetic polymorphisms on mycophenolic acid pharmacokinetics in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol*. diciembre de 2007;63(12):1161-9.

215. Picard N, Yee SW, Woillard J-B, Lebranchu Y, Le Meur Y, Giacomini KM, et al. The role of organic anion-transporting polypeptides and their common genetic variants in mycophenolic acid pharmacokinetics. *Clin Pharmacol Ther.* enero de 2010;87(1):100-8.
216. Zhang W-X, Chen B, Jin Z, Yu Z, Wang X, Chen H, et al. Influence of uridine diphosphate (UDP)-glucuronosyltransferases and ABCC2 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics of mycophenolic acid and its metabolites in Chinese renal transplant recipients. *Xenobiotica.* noviembre de 2008;38(11):1422-36.
217. Picard N, Marquet P. The influence of pharmacogenetics and cofactors on clinical outcomes in kidney transplantation. *Expert Opin Drug Metab Toxicol.* junio de 2011;7(6):731-43.
218. Kiang TKL, Partovi N, Shapiro RJ, Berman JM, Collier AC, Ensom MHH. Regression and Genomic Analyses on the Association Between Dose-Normalized Mycophenolic Acid Exposure and Absolute Neutrophil Count in Steroid-Free, De Novo Kidney Transplant Recipients. *Clin Drug Investig.* noviembre de 2018;38(11):1011-22.
219. van Setten J, Warmerdam EG, Groot OQ, de Jonge N, Keating B, Asselbergs FW. Non-HLA Genetic Factors and Their Influence on Heart Transplant Outcomes: A Systematic Review. *Transplant Direct.* febrero de 2019;5(2):e422.
220. *World Health Organization. April 2013. Archived from the original on 17 July 2014. Retrieved 9 July 2014.*
221. Onuoha C, Arshad J, Astle J, Xu M, Halene S. Novel Developments in Leukopenia and Pancytopenia. *Prim Care.* diciembre de 2016;43(4):559-73.
222. Aguado JM, Silva JT, Fernandez-Ruiz M, Cordero E, Fortun J, Gudiol C, et al. Management of multidrug resistant Gram-negative bacilli infections in solid organ transplant recipients: SET/GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations. *Transplant Rev (Orlando).* enero de 2018;32(1):36-57
223. Aydin A, Ahmed K, Zaman I, Khan MS, Dasgupta P. Recurrent urinary tract infections in women. *Int Urogynecol J.* junio de 2015;26(6):795-804.
224. Torre-Cisneros J, Aguado JM, Caston JJ, Almenar L, Alonso A, Cantisan S, et al. Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplant recipients:

- SET/GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations. *Transplant Rev (Orlando)*. julio de 2016;30(3):119-43.
225. Lim MA, Kohli J, Bloom RD. Immunosuppression for kidney transplantation: Where are we now and where are we going? *Transplant Rev (Orlando)*. enero de 2017;31(1):10-7.
226. Haas M. The Revised (2013) Banff Classification for Antibody-Mediated Rejection of Renal Allografts: Update, Difficulties, and Future Considerations. *Am J Transplant*. mayo de 2016;16(5):1352-7.
227. Bia M, Adey DB, Bloom RD, Chan L, Kulkarni S, Tomlanovich S. KDOQI US commentary on the 2009 KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis*. agosto de 2010;56(2):189-218.
228. Origen J, Lopez-Medrano F, Fernandez-Ruiz M, Polanco N, Gutierrez E, Gonzalez E, et al. Should Asymptomatic Bacteriuria Be Systematically Treated in Kidney Transplant Recipients? Results From a Randomized Controlled Trial. *Am J Transplant*. octubre de 2016;16(10):2943-53.
229. Todorova EK, Huang S-HS, Kobrzynski MC, Filler G. What is the inpatient variability of mycophenolic acid trough levels? *Pediatr Transplant*. noviembre de 2015;19(7):669-74.
230. van Hest R, Mathot R, Vulto A, Weimar W, van Gelder T. Predicting the usefulness of therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: a computer simulation. *Ther Drug Monit*. abril de 2005;27(2):163-7.
231. Fernandez-Ruiz M, Lopez-Medrano F, Varela-Pena P, Morales JM, Garcia-Reyne A, San Juan R, et al. Hypocomplementemia in kidney transplant recipients: impact on the risk of infectious complications. *Am J Transplant*. marzo de 2013;13(3):685-94.
232. Calmet FH, Yarur AJ, Pukazhendhi G, Ahmad J, Bhamidimarri KR. Endoscopic and histological features of mycophenolate mofetil colitis in patients after solid organ transplantation. *Ann Gastroenterol*. septiembre de 2015;28(3):366-73.
233. Chan L, Mulgaonkar S, Walker R, Arns W, Ambuhl P, Schiavelli R. Patient-reported gastrointestinal symptom burden and health-related quality of life following

- conversion from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium. *Transplantation*. 15 de mayo de 2006;81(9):1290-7.
234. Sellares J, de Freitas DG, Mengel M, Reeve J, Einecke G, Sis B, et al. Understanding the causes of kidney transplant failure: the dominant role of antibody-mediated rejection and nonadherence. *Am J Transplant*. febrero de 2012;12(2):388-99.
235. Shipkova M, Armstrong VW, Weber L, Niedmann PD, Wieland E, Haley J, et al. Pharmacokinetics and protein adduct formation of the pharmacologically active acyl glucuronide metabolite of mycophenolic acid in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit*. junio de 2002;24(3):390-9.
236. Heller T, van Gelder T, Budde K, de Fijter JW, Kuypers D, Arns W, et al. Plasma concentrations of mycophenolic acid acyl glucuronide are not associated with diarrhea in renal transplant recipients. *Am J Transplant*. julio de 2007;7(7):1822-31.
237. Spasic A, Catic-Dordevic A, Velickovic-Radovanovic R, Stefanovic N, Dzodic P, Cvetkovic T. Adverse effects of mycophenolic acid in renal transplant recipients: gender differences. *Int J Clin Pharm*. junio de 2019;41(3):776-84.
238. Woillard J-B, Rerolle J-P, Picard N, Rousseau A, Drouet M, Munteanu E, et al. Risk of diarrhoea in a long-term cohort of renal transplant patients given mycophenolate mofetil: the significant role of the UGT1A8 2 variant allele. *Br J Clin Pharmacol*. junio de 2010;69(6):675-83.
239. Ohmann EL, Burckart GJ, Brooks MM, Chen Y, Pravica V, Girmata DM, et al. Genetic polymorphisms influence mycophenolate mofetil-related adverse events in pediatric heart transplant patients. *J Heart Lung Transplant*. mayo de 2010;29(5):509-16.
240. Mrp4 aza diarrea
241. Moon C, Zhang W, Ren A, Arora K, Sinha C, Yarlagadda S, et al. Compartmentalized accumulation of cAMP near complexes of multidrug resistance

- protein 4 (MRP4) and cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) contributes to drug-induced diarrhea. *J Biol Chem.* 1 de mayo de 2015;290(18):11246-57.
242. Szabady RL, McCormick BA. Control of neutrophil inflammation at mucosal surfaces by secreted epithelial products. *Front Immunol.* 2013;4:220.
243. Redelman-Sidi G, Michielin O, Cervera C, Ribi C, Aguado JM, Fernandez-Ruiz M, et al. ESCMID Study Group for Infections in Compromised Hosts (ESGICH) Consensus Document on the safety of targeted and biological therapies: an infectious diseases perspective (Immune checkpoint inhibitors, cell adhesion inhibitors, sphingosine-1-phosphate receptor modulators and proteasome inhibitors). *Clin Microbiol Infect.* junio de 2018;24 Suppl 2:S95-107.
244. Pazik J, Oldak M, Podgorska M, Lewandowski Z, Sitarek E, Ploski R, et al. Lymphocyte counts in kidney allograft recipients are associated with IMPDH2 3757T>C gene polymorphism. *Transplant Proc.* octubre de 2011;43(8):2943-5.
245. Jacobson PA, Schladt D, Oetting WS, Leduc R, Guan W, Matas AJ, et al. Genetic determinants of mycophenolate-related anemia and leukopenia after transplantation. *Transplantation.* 15 de febrero de 2011;91(3):309-16.
246. Kiyotani K, Mushiroda T, Kubo M, Zembutsu H, Sugiyama Y, Nakamura Y. Association of genetic polymorphisms in SLCO1B3 and ABCC2 with docetaxel-induced leukopenia. *Cancer Sci.* mayo de 2008;99(5):967-72.
247. Varnell CD, Fukuda T, Kirby CL, Martin LJ, Warshaw BL, Patel HP, et al. Mycophenolate mofetil-related leukopenia in children and young adults following kidney transplantation: Influence of genes and drugs. *Pediatr Transplant.* noviembre de 2017;21(7).
248. Cowan J, Bennett A, Fergusson N, McLean C, Mallick R, Cameron DW, et al. Incidence Rate of Post-Kidney Transplant Infection: A Retrospective Cohort Study Examining Infection Rates at a Large Canadian Multicenter Tertiary-Care Facility. *Can J Kidney Health Dis.* 2018;5:2054358118799692.

249. Bodro M, Linares L, Chiang D, Moreno A, Cervera C. Managing recurrent urinary tract infections in kidney transplant patients. *Expert Rev Anti Infect Ther.* septiembre de 2018;16(9):723-32.
250. Britt NS, Hagopian JC, Brennan DC, Pottebaum AA, Santos CAQ, Gharabagi A, et al. Effects of recurrent urinary tract infections on graft and patient outcomes after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 1 de octubre de 2017;32(10):1758-66.
251. Alangaden GJ, Thyagarajan R, Gruber SA, Morawski K, Garnick J, El-Amm JM, et al. Infectious complications after kidney transplantation: current epidemiology and associated risk factors. *Clin Transplant.* agosto de 2006;20(4):401-9.
252. Faure E, Lionet A, Kipnis E, Noel C, Hazzan M. Risk factors for Pneumocystis pneumonia after the first 6 months following renal transplantation. *Transpl Infect Dis.* octubre de 2017;19(5).
253. Lee JR, Bang H, Dadhania D, Hartono C, Aull MJ, Satlin M, et al. Independent risk factors for urinary tract infection and for subsequent bacteremia or acute cellular rejection: a single-center report of 1166 kidney allograft recipients. *Transplantation.* 27 de octubre de 2013;96(8):732-8.
254. Casper J, Schmitz J, Brasen JH, Khalifa A, Schmidt BMW, Einecke G, et al. Renal transplant recipients receiving loop diuretic therapy have increased urinary tract infection rate and altered medullary macrophage polarization marker expression. *Kidney Int.* noviembre de 2018;94(5):993-1001.
255. Kupeli E, Ulubay G, Colak T, Ozdemirel TS, Ozyurek BA, Akcay S, et al. Pulmonary complications in renal recipients after transplantation. *Transplant Proc.* marzo de 2011;43(2):551-3.
256. Kara S, Sen N, Kursun E, Yabanoglu H, Yildirim S, Akcay S, et al. Pneumonia in Renal Transplant Recipients: A Single-Center Study. *Exp Clin Transplant.* marzo de 2018;16 Suppl 1(Suppl 1):122-5.

257. Silva RM da, Freitas FGR de, Bafi AT, Silva Junior HT, Roza B de A. Factors associated with hospital mortality in renal transplant patients admitted to the intensive care unit with acute respiratory failure. *J Bras Nefrol.* diciembre de 2017;39(4):433-40.
258. Hemmersbach-Miller M, Alexander BD, Sudan DL, Pieper C, Schmader KE. Single-center analysis of infectious complications in older adults during the first year after kidney transplantation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* enero de 2019;38(1):141-8.
259. Ducloux D, Deschamps M, Yannaraki M, Ferrand C, Bamoulid J, Saas P, et al. Relevance of Toll-like receptor-4 polymorphisms in renal transplantation. *Kidney Int.* junio de 2005;67(6):2454-61.
260. Niknam A, Karimi MH, Yaghobi R, Geramizadeh B, Roozbeh J, Salehipour M, et al. The Association Between Viral Infections and Co-stimulatory Gene Polymorphisms in Kidney Transplant Outcomes. *Jundishapur J Microbiol.* agosto de 2016;9(8):e31338.
261. Wojtowicz A, Gresnigt MS, Lecompte T, Bibert S, Manuel O, Joosten LAB, et al. IL1B and DEFB1 Polymorphisms Increase Susceptibility to Invasive Mold Infection After Solid-Organ Transplantation. *J Infect Dis.* 15 de mayo de 2015;211(10):1646-57.
262. Wu X-X, Wan Q-Q, Ye Q-F, Zhou J-D. Correlation of tumor necrosis factor-beta and interleukin-1 gene cluster polymorphism with susceptibility to bacteremia in patients undergoing kidney transplantation. *Chin Med J (Engl).* 2013;126(24):4603-7.
263. Das LK, Ide K, Tanaka A, Morimoto H, Shimizu S, Tanimine N, et al. Fc-gamma receptor 3A polymorphism predicts the incidence of urinary tract infection in kidney-transplant recipients. *Hum Immunol.* abril de 2017;78(4):357-62.
264. Pouche L, Koitka M, Stojanova J, Woillard J-B, Monchaud C, Villeneuve C, et al. A candidate gene approach of the calcineurin pathway to identify variants associated with clinical outcomes in renal transplantation. *Pharmacogenomics.* marzo de 2016;17(4):375-91.
265. McPeck M, Malur A, Tokarz DA, Lertpiriyapong K, Gowdy KM, Murray G, et al. Alveolar Macrophage ABCG1 Deficiency Promotes Pulmonary Granulomatous Inflammation. *Am J Respir Cell Mol Biol.* septiembre de 2019;61(3):332-40.

266. Lin ZP, Zhu Y-L, Johnson DR, Rice KP, Nottoli T, Hains BC, et al. Disruption of cAMP and prostaglandin E2 transport by multidrug resistance protein 4 deficiency alters cAMP-mediated signaling and nociceptive response. *Mol Pharmacol.* enero de 2008;73(1):243-51.
267. Furugen A, Yamaguchi H, Tanaka N, Shiida N, Ogura J, Kobayashi M, et al. Contribution of multidrug resistance-associated proteins (MRPs) to the release of prostanoids from A549 cells. *Prostaglandins Other Lipid Mediat.* octubre de 2013;106:37-44.
268. Luna E, Caravaca F, Ferreira F, Fernandez N, Martin P, Vargas ML, et al. Effect of Cytomegalovirus Infection on Survival of Older Kidney Transplant Patients (D+/R+): Impact of Valganciclovir Prophylaxis Versus Preemptive Therapy. *Transplant Proc.* noviembre de 2016;48(9):2931-7
269. Chiasakul T, Townamchai N, Jutivorakool K, Chanchaoenthana W, Thongprayoon C, Watanatorn S, et al. Risk Factors of Cytomegalovirus Disease in Kidney Transplant Recipients: A Single-Center Study in Thailand. *Transplant Proc.* octubre de 2015;47(8):2460-4.
270. Feng S, Yang J, Wang W, Hu X, Liu H, Qian X, et al. Incidence and Risk Factors for Cytomegalovirus Infection in Patients With Kidney Transplantation: A Single-Center Experience. *Transplant Proc.* octubre de 2016;48(8):2695-9.
271. Ono G, Medina Pestana JO, Aranha Camargo LF. Late cytomegalovirus (CMV) infections after kidney transplantation under the preemptive strategy: Risk factors and clinical aspects. *Transpl Infect Dis.* abril de 2019;21(2):e13035.
272. Savassi-Ribas F, Gomes Dos Santos de Almeida S, Baez CF, Magalhaes de Souza L, Wagner TCS, Matuck TA, et al. Impact assessment and investigation of factors associated with herpesviruses viremia in the first year of renal transplantation. *J Med Virol.* 29 de agosto de 2019;
273. Hoffmann TW, Halimi J-M, Buchler M, Velge-Roussel F, Goudeau A, Al Najjar A, et al. Association between a polymorphism in the IL-12p40 gene and cytomegalovirus reactivation after kidney transplantation. *Transplantation.* 27 de mayo de 2008;85(10):1406-11.

274. Saadi MI, Yaghobi R, Karimi MH, Geramizadeh B, Ramzi M, Zakerinia M. Association of the costimulatory molecule gene polymorphisms and active cytomegalovirus infection in hematopoietic stem cell transplant patients. *Mol Biol Rep.* octubre de 2013;40(10):5833-42.
275. Hattori Y, Tanaka H, Teranishi J, Ishida H, Makiyama K, Miyajima E, et al. Influence of cytochrome P450 3A5 polymorphisms on viral infection incidence in kidney transplant patients treated with tacrolimus. *Transplant Proc.* 2014;46(2):570-3.
276. Fernandez-Ruiz M, Corrales I, Arias M, Campistol JM, Gimenez E, Crespo J, et al. Association between individual and combined SNPs in genes related to innate immunity and incidence of CMV infection in seropositive kidney transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2015 May;15(5):1323–35.
277. Niknam A, Karimi MH, Yaghobi R, Geramizadeh B, Roozbeh J, Salehipour M, et al. The Association Between Viral Infections and Co-stimulatory Gene Polymorphisms in Kidney Transplant Outcomes. *Jundishapur J Microbiol.* 2016 Aug;9(8):e31338.
278. Misra MK, Pandey SK, Kapoor R, Sharma RK, Agrawal S. Cytotoxic T-lymphocyte antigen 4 gene polymorphism influences the incidence of symptomatic human cytomegalovirus infection after renal transplantation. *Pharmacogenet Genomics.* enero de 2015;25(1):19-29.
279. Vu D, Shah T, Ansari J, Sakharkar P, Yasir Q, Naraghi R, et al. Interferon-gamma gene polymorphism +874 A/T is associated with an increased risk of cytomegalovirus infection among Hispanic renal transplant recipients. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc.* 2014 Oct;16(5):724–32.
280. Makwana NB, Foley B, Lee S, Fernandez S, Irish AB, Price P. Asymptomatic CMV infections in long-term renal transplant recipients are associated with the loss of FcRgamma from LIR-1+ NK cells. *Eur J Immunol.* 2016 Nov;46(11):2597–608.

281. Manuel O, Wojtowicz A, Bibert S, Mueller NJ, van Delden C, Hirsch HH, et al. Influence of IFNL3/4 polymorphisms on the incidence of cytomegalovirus infection after solid-organ transplantation. *J Infect Dis*. 2015 Mar 15;211(6):906–14.
282. Leone F, Gigliotti P, La Russa A, Lofaro D, Perri A, Vizza D, et al. NFKB1 promoter polymorphism: A new predictive marker of cytomegalovirus infection after kidney transplantation. *Transpl Infect Dis Off J Transplant Soc*. 2018 Nov 15;e13027.
283. Lopez-Botet M, Vilches C, Redondo-Pachon D, Muntasell A, Pupuleku A, Yelamos J, et al. Dual Role of Natural Killer Cells on Graft Rejection and Control of Cytomegalovirus Infection in Renal Transplantation. *Front Immunol*. 2017;8:166.
284. Reusing JOJ, Feitosa EB, Agena F, Pierrotti LC, Azevedo LSF, Kotton CN, et al. Cytomegalovirus prophylaxis in seropositive renal transplant recipients receiving thymoglobulin induction therapy: Outcome and risk factors for late CMV disease. *Transpl Infect Dis*. octubre de 2018;20(5):e12929.
285. Grulich AE, van Leeuwen MT, Falster MO, Vajdic CM. Incidence of cancers in people with HIV/AIDS compared with immunosuppressed transplant recipients: a meta-analysis. *Lancet*. 7 de julio de 2007;370(9581):59-67.
286. Krynitz B, Edgren G, Lindelof B, Baecklund E, Brattstrom C, Wilczek H, et al. Risk of skin cancer and other malignancies in kidney, liver, heart and lung transplant recipients 1970 to 2008--a Swedish population-based study. *Int J Cancer*. 15 de marzo de 2013;132(6):1429-38.
287. Safaeian M, Robbins HA, Berndt SI, Lynch CF, Fraumeni JFJ, Engels EA. Risk of Colorectal Cancer After Solid Organ Transplantation in the United States. *Am J Transplant*. marzo de 2016;16(3):960-7.
288. Robbins HA, Clarke CA, Arron ST, Tatalovich Z, Kahn AR, Hernandez BY, et al. Melanoma Risk and Survival among Organ Transplant Recipients. *J Invest Dermatol*. noviembre de 2015;135(11):2657-65.
289. Aref A, Sharma A, Halawa A. Smoking in Renal Transplantation; Facts Beyond Myth. *World J Transplant*. 24 de abril de 2017;7(2):129-33.

290. Fox BD, Ashquar F, Raviv Y, Rozengarten D, Straichman O, Izhakian S, et al. Tacrolimus Levels Are Not Associated with Risk of Malignancy in Lung Transplant Recipients. *Ann Transplant*. 14 de noviembre de 2017;22:677-81.
291. Laing ME, Dicker P, Moloney FJ, Ho WL, Murphy GM, Conlon P, et al. Association of methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and the risk of squamous cell carcinoma in renal transplant patients. *Transplantation*. 15 de julio de 2007;84(1):113-6.
292. Nagar S, Rimmel RP. Uridine diphosphoglucuronosyltransferase pharmacogenetics and cancer. *Oncogene*. 13 de marzo de 2006;25(11):1659-72.
293. Zhu L, Aly M, Wang H, Karakizlis H, Weimer R, Morath C, et al. Changes of NK cell subsets with time post-transplant in peripheral blood of renal transplant recipients. *Transpl Immunol*. agosto de 2018;49:59-71.
294. Peraldi M-N, Berrou J, Venot M, Chardiny V, Durrbach A, Vieillard V, et al. Natural Killer Lymphocytes Are Dysfunctional in Kidney Transplant Recipients on Diagnosis of Cancer. *Transplantation*. noviembre de 2015;99(11):2422-30.
295. Zhu L, Aly M, Wang H, Karakizlis H, Weimer R, Morath C, et al. Decreased NK cell immunity in kidney transplant recipients late post-transplant and increased NK-cell immunity in patients with recurrent miscarriage. *PLoS One*. 2017;12(10):e0186349.
296. Haenisch S, Zimmermann U, Dazert E, Wruck CJ, Dazert P, Siegmund W, et al. Influence of polymorphisms of ABCB1 and ABCC2 on mRNA and protein expression in normal and cancerous kidney cortex. *Pharmacogenomics J*. febrero de 2007;7(1):56-65.
297. Caletti C, Manuel Ferraro P, Corvo A, Tessari G, Sandrini S, Capelli I, et al. Impact of 3 Major Maintenance Immunosuppressive Protocols on Long-term Clinical Outcomes: Result of a Large Multicenter Italian Cohort Study Including 5635 Renal Transplant Recipients. *Transplant Proc*. febrero de 2019;51(1):136-9.
298. Lim WH, Russ GR, Wong G, Pilmore H, Kanellis J, Chadban SJ. The risk of cancer in kidney transplant recipients may be reduced in those maintained on everolimus and reduced cyclosporine. *Kidney Int*. abril de 2017;91(4):954-63.

299. De Simone P, Carrai P, Coletti L, Ghinolfi D, Petruccelli S, Filipponi F. Modification of immunosuppressive therapy as risk factor for complications after liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* abril de 2017;31(2):199-209.
300. Ware N, MacPhee IAM. Current progress in pharmacogenetics and individualized immunosuppressive drug dosing in organ transplantation. *Curr Opin Mol Ther.* junio de 2010;12(3):270-83.
301. Sanchez-Lazaro I, Herrero MJ, Jordan-De Luna C, Boso V, Almenar L, Rojas L, et al. Association of SNPs with the efficacy and safety of immunosuppressant therapy after heart transplantation. *Pharmacogenomics.* 2015;16(9):971-9.
302. Abeling T, Scheffner I, Karch A, Broecker V, Koch A, Haller H, et al. Risk factors for death in kidney transplant patients: analysis from a large protocol biopsy registry. *Nephrol Dial Transplant.* 31 de mayo de 2018;
303. de Winter BCM, van Gelder T, Mathot RAA, Glander P, Tedesco-Silva H, Hilbrands L, et al. Limited sampling strategies drawn within 3 hours postdose poorly predict mycophenolic acid area-under-the-curve after enteric-coated mycophenolate sodium. *Ther Drug Monit.* octubre de 2009;31(5):585-91.
304. de Winter BCM, Mathot RAA, Sombogaard F, Vulto AG, van Gelder T. Nonlinear relationship between mycophenolate mofetil dose and mycophenolic acid exposure: implications for therapeutic drug monitoring. *Clin J Am Soc Nephrol.* marzo de 2011;6(3):656-63.