

## **Informe final proyecto de investigación 2022**

Dirección General de Investigación –DIGI-

### **Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud**

#### **INFORME FINAL**

Proyecto:

*“Frecuencia de polimorfismos genéticos de CYP3A5 en pacientes guatemaltecos receptores de trasplante renal en terapia inmunosupresora con tacrolimus”*

Partida presupuestal No. 4.8.63.0.19

Código de Proyecto: AP1-2022

Unidad Académica Avaladora: Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia,  
Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas IIQB

Coordinador del Proyecto: Licda. Lesly Yanira Xajil Ramos

Aylin Evelyn Santizo Juárez  
Investigador Titular I

Olga Beatriz Sandoval Ochoa  
Auxiliar de investigación II

Guatemala, 20 febrero 2023

## **Autoridades**

Dra. Alice Burgos Paniagua  
Directora General de Investigación

Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar  
Coordinador General de Programas

Dra. Hilda Elena Valencia de Abril  
Coordinadora Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud

## **Autores**

MSc. Lesly Yanira Xajil Ramos  
Coordinadora del proyecto

M.A. Aylin Evelyn Santizo Juárez  
Investigador Titular I

Br. Olga Beatriz Sandoval Ochoa  
Auxiliar de investigación II

## **Colaboradores:**

Dr. Randal Lou Meda – Fundación para el Niño Enfermo Renal -Fundanier, Hospital Roosevelt  
Dr. Rodrigo José Vargas Rosales – Biofarn, S.A.

Universidad de San Carlos de Guatemala, Dirección General de Investigación (Digi), 2022. El contenido de este informe de investigación es responsabilidad exclusiva de sus autores.

Esta investigación fue cofinanciada con recursos del Fondo de Investigación de la Digi de la Universidad de San Carlos de Guatemala a través de la partida presupuestaria No. 4.8.63.0.19 con código AP1-2022 en el Programa Universitario de Investigación Interdisciplinaria en Salud.

Los autores son responsables del contenido, de las condiciones éticas y legales de la investigación desarrollada.

## 1. Índice general

	<b>Página</b>
<b>2. Resumen y palabras claves</b>	5
Abstract and keyword	5
<b>3. Introducción</b>	6
<b>4. Planteamiento del problema</b>	7
<b>5. Delimitación en tiempo y espacio</b>	9
<b>5.1 Delimitación en tiempo</b>	9
<b>5.2 Delimitación espacial</b>	9
<b>6. Marco teórico</b>	9
<b>7. Estado del arte</b>	19
<b>8. Objetivos</b>	23
<b>9. Hipótesis</b>	23
<b>10. Materiales y métodos</b>	23
<b>10.1 Enfoque de la Investigación</b>	23
<b>10.2 Método</b>	23
<b>10.3 Recolección de información</b>	27
<b>10.4 Técnicas e instrumentos</b>	28
<b>10.5 Procesamiento y análisis de la información</b>	28
<b>11. Resultados y discusión</b>	29
<b>11.1 Resultados</b>	29
<b>11.2 Discusión de resultados</b>	31
<b>12. Referencias</b>	36
<b>13. Apéndice</b>	41
<b>14. Aspectos éticos y legales</b>	51
<b>15. Vinculación</b>	51
<b>16. Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual</b>	52
<b>17. Aporte de la propuesta de investigación a los ODS</b>	52
<b>18. Orden de pago final</b>	53

<b>19. Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación</b>	53
<b>20. Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario</b>	53
<b>21. Visado de la Dirección General de Investigación</b>	54

## 2. Resumen y palabras claves

Actualmente, el trasplante renal es el tratamiento óptimo para pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica terminal. El mantenimiento de esta terapia involucra el abordaje inmunológico con el objetivo de disminuir el riesgo del rechazo del órgano trasplantado, basado en el uso de fármacos inmunosupresores como tacrolimus, que requiere un delicado equilibrio entre eficacia y toxicidad. El mantenimiento de niveles adecuados del fármaco y la respuesta esperada se ve afectado por diversos factores, entre ellos el genético. Variantes alélicas en el gen codificante de la enzima metabolizadora CYP3A5 pueden modificar de forma significativa la respuesta terapéutica a tacrolimus, observándose variabilidad interindividual y étnica en la expresión del mismo. Con el fin de determinar la frecuencia de las variantes alélicas de CYP3A5 para Guatemala, se evaluaron las variantes alélicas presentes en 71 pacientes en tratamiento con tacrolimus o próximos a recibirlo. La genotipificación se desarrolló por PCR-RFLP, incluyendo las variantes alélicas más frecuentemente reportadas. El alelo más frecuente fue CYP3A5\*3 (72.8%). La comparación de las frecuencias obtenidas con las reportadas en otras poblaciones latinoamericanas mostró similitudes en la frecuencia de alelos y fenotipos reportados. El conocimiento de estas variantes permite aportar datos que a futuro constituyan una oportunidad de mejorar la terapia inmunosupresora y el desarrollo de la farmacoterapia individualizada en pacientes con trasplante renal en Guatemala.

**Palabras clave:** Farmacogenética, tacrolimus, terapia inmunosupresora, trasplante renal, enfermedad renal

### Abstract and keyword

Renal transplantation is the optimal treatment for pediatric patients with end-stage chronic kidney disease. The maintenance of this therapy involves an immunological approach to reduce the risk of transplanted organ rejection, based on immunosuppressive drugs such as tacrolimus, which requires a delicate balance between efficacy and toxicity. The maintenance of adequate drug levels and the expected response is affected by several factors, including genetic factors. Allelic variants in the gene encoding the CYP3A5 metabolizing enzyme can significantly modify the therapeutic response to tacrolimus, with interindividual and ethnic variability in its expression. To determine the frequency of CYP3A5 allelic variants for Guatemala, allelic variants present in 71 patients on or about to receive tacrolimus treatment were evaluated. Genotyping was performed by PCR-RFLP, including the most frequently reported allelic variants. The most frequent allele was CYP3A5\*3 (72.8%). Comparison of the frequencies obtained with those reported in other Latin American populations showed similarities in the frequency of alleles and phenotypes reported. This knowledge allows us to provide data that will constitute an opportunity to improve immunosuppressive therapy and development of the individualized pharmacotherapy in renal transplant patients in Guatemala.

**Key words:** Pharmacogenetics, tacrolimus, immunosuppressive therapy, renal transplantation, renal disease.

### 3. Introducción

La Enfermedad Renal Crónica (ERC) se caracteriza por la pérdida progresiva e irreversible de la función renal y representa una de las enfermedades crónicas no transmisibles más frecuentes; además de ser una de las principales causas de muerte en países latinoamericanos, de los que Guatemala forma parte, y también a nivel mundial. Entre las causas y factores de riesgo de esta enfermedad se encuentran la hipertensión arterial, la diabetes, antecedentes familiares y étnicos (Quijada-Ruelas et al., 2020). Este padecimiento afecta tanto a pacientes adultos como pediátricos y constituye un gasto considerable al sistema de salud, sin dejar de lado la magnitud de los efectos que representa para pacientes y cuidadores en su calidad de vida.

Durante los últimos 20 años, varias regiones de Centroamérica y México han experimentado un aumento dramático y de rápida progresión de la enfermedad renal crónica, no provocada por diabetes e hipertensión (Wesseling et al., 2013) y ha causado la muerte temprana de muchas personas en Centroamérica. Varios estudios han establecido una asociación entre el desarrollo de ERC y la ubicación geográfica. En el área mesoamericana, que comprende aproximadamente desde el centro de México hasta Belice, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua y el norte de Costa Rica, esta asociación se ha hecho fuertemente evidente, siendo una gran proporción de estos casos denominados “de causa indeterminada”, acuñándose en este sentido el término "Nefropatía Mesoamericana" (Cerón et al., 2014).

Las Guías KDOQI (National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative) para la evaluación, clasificación y estratificación de la ERC, la clasifican en 5 grados. El grado 5 se refiere a la Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERTC).

Guatemala tiene una población de aproximadamente 17 millones, el 60% de los cuales son menores de 20 años. Se estima que solo el 35% de los pacientes guatemaltecos con ERC Etapa 5 (ERT) son diagnosticados y tratados. Por lo tanto, el costo de muerte y discapacidad por ERC en esta población joven es particularmente profundo. Los programas de ERC tienen que competir con muchas demandas (a menudo consideradas a corto plazo como más urgentes o generalizadas) por recursos de atención médica limitados (Lou-Meda, 2011).

El trasplante renal es el tratamiento óptimo para pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica terminal (ERCT) porque permite un desarrollo psicomotor que no se alcanza con otros métodos de rehabilitación. También se considera que a largo plazo constituye menores costos y ofrece mejor supervivencia que la diálisis en cualquier grupo de edad de pacientes pediátricos. (Guadarrama-Díaz et al., 2013). Se describe hasta 95% de supervivencia del injerto a 5 años del trasplante, mientras que los pacientes sometidos a procedimientos dialíticos presentan una supervivencia de 80%. Hace algunas décadas la edad pediátrica se consideraba de muy alto riesgo para un trasplante renal; sin embargo, gracias a los avances en la técnica quirúrgica de la actualidad, a un mejor conocimiento de la respuesta inmunológica y al desarrollo de nuevos fármacos inmunosupresores, en el presente los pacientes pediátricos representan el mejor porcentaje de sobre vida del injerto de todos los grupos etarios (Cantú-Quintanilla, 2010).

Fundanier (Fundación para Niños con Enfermedades Renales) es la primera iniciativa local para brindar prevención y manejo integral de la enfermedad renal en niños y adolescentes en Guatemala y constituye el centro exclusivo y especializado en el Programa de Terapia de Reemplazo Renal en el país, beneficiando en los últimos 14 años con esta terapia a pacientes pediátricos de toda la

República. Durante este tiempo se han realizado un aproximado de 40 trasplantes renales, brindando seguimiento clínico integral, especialmente en la terapia de inmunosupresión (terapia anti-rechazo) que se basa principalmente en la administración de tacrolimus por vía oral. La fundación admite y brinda el tratamiento de trasplante renal a pacientes en la edad infantil (menor a 18 años); sin embargo, los pacientes continúan en seguimiento y terapia inmunosupresora hasta los 21 años.

En la terapia con inmunosupresores, una dosis demasiado baja podría resultar en rechazo del órgano, y una demasiado alta en toxicidad. Siendo tacrolimus un medicamento con estrecho índice terapéutico, requiere un cuidadoso manejo en el ajuste de la dosis empleada para obtener niveles terapéuticos óptimos, buscando el equilibrio entre eficacia y toxicidad. Al principio del tratamiento, cada paciente recibe una dosis inicial, en función de variables como el peso y la edad; sin embargo, se debe considerar su estrecha ventana terapéutica y la conocida variabilidad interétnica (Muller et al., 2020). En el caso de que los niveles del fármaco se puedan medir en la sangre, la dosis puede ser ajustada hasta un rango aceptable. La variación en los genes (mutaciones y polimorfismos) que codifican proteínas implicadas en la metabolización de los fármacos puede condicionar la concentración sanguínea del principio farmacológicamente activo (Hannachi et al., 2021). En este sentido, se conoce que el tacrolimus es metabolizado por citocromo-P450 reductasas de la familia CYP3A, fundamentalmente CYP3A5 y CYP3A4 (Tavira et al., 2014), siendo el principal determinante de variabilidad interindividual en las dosis de tacrolimus, la actividad del citocromo P450-3A5, codificado por el gen CYP3A5. Se han identificado hasta 9 alelos diferentes en el gen CYP3A5, que confieren distinta actividad a la enzima CYP3A5 dependiendo de los alelos presentes en el individuo, lo que define su fenotipo metabolizador en extensivo, intermedio y pobre, confiriéndole de esta forma la capacidad interindividual de respuesta terapéutica al medicamento (Birdwell et al., 2015).

Dar una dosis inicial de tacrolimus con base en el genotipo CYP3A5 podría reducir el tiempo y el número de modificaciones de dosis necesarias para alcanzar el nivel diana en la sangre. Las diferencias en las frecuencias de los alelos del gen CYP3A5 entre grupos étnicos podrían explicar el mayor requerimiento de dosis o un mayor riesgo de rechazo y nefrotoxicidad (Tavira et al., 2014).

En este proyecto de investigación se determinaron las frecuencias alélicas y fenotípicas de los alelos CYP3A5\*1 y CYP3A5\*3 en pacientes guatemaltecos receptores de trasplante renal atendidos en Fundanier, para determinar su fenotipo metabolizador; conociendo que, desde la década pasada, las pruebas genéticas son consideradas como un enfoque útil y necesario para el tratamiento de la inmunosupresión con tacrolimus en el trasplante de órganos y tejidos. Esto permitió determinar a su vez los fenotipos metabolizadores y su comparación con otras poblaciones latinoamericanas.

#### 4. Planteamiento del problema

El trasplante renal ha sido la opción más idónea en los últimos años para el tratamiento de la Enfermedad Renal Crónica Terminal en niños, ya que permite un desarrollo psicomotor que no se alcanza con otros métodos de rehabilitación y provee mejores condiciones de calidad de vida tanto para los pacientes, como para sus cuidadores. También se considera que a largo plazo constituye

menores costos y ofrece mejor supervivencia que la diálisis en cualquier grupo de edad de pacientes pediátricos (Guadarrama-Díaz et al., 2013). El éxito de esta terapia también se basa en el seguimiento integral de los pacientes, especialmente en mantener el estado inmunológico en un equilibrio tal que permita, prevenir el rechazo del órgano injertado sin dejar de lado la vigilancia de la toxicidad y otros efectos adversos, especialmente el desarrollo de tumores y de infecciones debido a la modificación de la respuesta inmune habitual con el tratamiento inmunosupresor (Halloran, 2004).

El medicamento base de este tratamiento farmacológico es el tacrolimus. Este medicamento posee una estrecha ventana terapéutica y una conocida variabilidad interindividual de respuesta terapéutica fuertemente ligada a factores genéticos, que directamente se relacionan con la etnicidad. Para mantener este equilibrio entre una inmunosupresión excesiva o deficiente, el monitoreo terapéutico del tacrolimus, se lleva a cabo determinando las concentraciones plasmáticas y la dosis puede ser ajustada hasta un valor sanguíneo dentro de un rango aceptable.

La variación en los genes (mutaciones y polimorfismos) que codifican proteínas implicadas en la metabolización de tacrolimus puede condicionar la concentración sanguínea del principio farmacológicamente activo (Hannachi et al., 2021). El tacrolimus es metabolizado por sistemas enzimáticos microsomales del citocromo P-450 IIIA (CYP3A4 y CYP3A5) que se encuentra en el tracto gastrointestinal y en el hígado. La dosis de tacrolimus requerida para alcanzar niveles terapéuticos óptimos depende del tipo de polimorfismo que el paciente exprese en la enzima CYP3A5, por lo tanto, su conocimiento es importante para el abordaje clínico para cada paciente. Al conocer el genotipo de acuerdo con las variantes alélicas, que definen el fenotipo metabolizador, los pacientes pueden clasificarse en: metabolizadores intermedios, extensivos o pobres. Esto permite predecir y establecer cuál es el esquema de dosis adecuado para cada paciente, constituyéndose en una herramienta fundamental que actualmente se aplica en otros países (Birdwell et al., 2015). Las diferencias en las frecuencias de los alelos del gen CYP3A5 entre grupos étnicos podrían explicar el mayor requerimiento de dosis o un mayor riesgo de rechazo y nefrotoxicidad (Tavira et al., 2014). Por estos motivos se considera necesario conocer las variantes alélicas de este gen que podrían presentarse en la población guatemalteca (considerando la diversidad étnica del país), lo que permitirá a futuro hacer uso de la farmacogenética como herramienta para la optimización del tratamiento con tacrolimus, ya que el conocimiento y aplicación del fenotipo metabolizador podría reducir el número de ajustes de la dosis y el tiempo necesario para alcanzar la concentración sanguínea deseada. Esto a su vez implica una mejor evolución del tratamiento, menos riesgo de rechazo del órgano trasplantado, disminución en las modificaciones de dosis que a la larga representan disminución en el gasto hospitalario y al sistema de salud en general, relacionado a complicaciones y estancia hospitalaria entre otros, considerando que el costo de mantenimiento de estos tratamientos es alto.

## 5. Delimitación en tiempo y espacio

**6.1 Delimitación en tiempo:** El proyecto se desarrolló en 11 meses de ejecución, iniciando en febrero 2022 y finalizando en diciembre 2022. La recolección de muestras se realizó de marzo a junio 2022. El análisis de muestras se realizó durante 5 meses, de julio a diciembre, con inconvenientes derivados del retraso en la adquisición y disponibilidad del equipo y reactivos e insumos solicitados.

**6.2 Delimitación espacial:** El estudio se desarrolló con pacientes residentes y nativos de la República de Guatemala tratados en la Fundación para el Niño Enfermo Renal (Fundanier), Hospital Roosevelt, en la Ciudad de Guatemala. El análisis molecular de muestras por PCR-RFLP se realizó en colaboración con el Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios en la Ciudad de Guatemala.

## 6. Marco teórico

### Enfermedad Renal Crónica en Pediatría

La Enfermedad Renal Crónica (ERC), es un padecimiento que se caracteriza por la pérdida progresiva e irreversible de la función renal. Dentro de las causas y factores de riesgo de esta enfermedad se encuentran la hipertensión arterial, la diabetes, antecedentes familiares y étnicos (Quijada-Ruelas et al., 2020). Estudios anteriores han informado que la mayoría de los casos de ERC en niños son causados por: anomalías congénitas del riñón y el tracto urinario, 30% -60%; nefropatías hereditarias, 10% -35%; y glomerulopatías, 3% -25%. También se conoce que la progresión a Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERTC) se asocia a factores como: etapa avanzada de ERC al diagnóstico y la presencia de enfermedad glomerular (Cerón et al., 2014).

Las Guías KDOQI (**National Kidney Foundation Kidney Disease Outcomes Quality Initiative**) para la evaluación, clasificación y estratificación de la ERC, la clasifican en 5 grados. Esta clasificación presenta de forma secuencial el apareamiento de las afectaciones comunes de la progresión de la ERC, permitiendo el manejo oportuno y/o preventivo.

Se clasifican en:

**Grado 1, filtración glomerular (FG) > 90 ml/min:** Corresponde al daño renal con filtración glomerular compensada en etapa de hiperfiltración.

**Grado 2, FG 90 - 60 ml/min:** Aparición precoz y subclínica de alteraciones en el metabolismo de fósforo y calcio. La homeostasis fosfocálcica normal es dependiente de la función de la hormona paratiroidea (PTH) y de la vitamina D, que ejercen su acción sobre el intestino, huesos y riñones. Los cambios bioquímicos compensados que se producen en esta etapa son: Aumento de los niveles de fósforo intracelular, que es secundario a la pérdida de filtración glomerular y a la disminución

en el proceso de hidroxilación renal de la vitamina D por pérdida de la masa renal efectiva, resultando en bajos niveles de calcio (hipocalcemia), y un hiperparatiroidismo secundario. Todos estos cambios no se detectan con las mediciones bioquímicas habituales en el laboratorio.

**Grado 3, FG 60-30 ml/min.** En esta etapa se observa habitualmente un aumento inicial de los niveles de hormona paratiroidea plasmática, las afectaciones anteriores van en aumento, disminuye la absorción intestinal de calcio, y la excreción renal de fosfatos se ve comprometida, afectando los niveles de fosfato intracelular, presentándose también los primeros signos de hiperfosfemia.

**Grado 4, FG 30-15 ml/min.** En este grado, sin intervención médica, se expresan todas las alteraciones bioquímicas y clínicas características de la ERC. Se observa alteración irreversible del metabolismo mineral óseo, se profundiza la anemia presentada en grado 3, existe una resistencia periférica a la acción de distintas hormonas (entre las que destaca la hormona del crecimiento), al final de esta etapa existen trastornos compatibles con acidosis metabólica, trastornos hidroelectrolíticos, y manifestaciones clínicas de compromiso cardiovascular tales como trastornos en la hipertensión arterial, en el metabolismo mineral y osteodistrofia renal.

**Grado 5, FG < 15 ml/min.** En este grado de filtración glomerular el desbalance requiere terapia de sustitución renal. En este grado se clasifica la Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERTC) como tal (Cano Sch et al., 2012) (KDOQ, 2015).

## **Abordaje de la Enfermedad Renal Crónica Terminal (ERTC) en Guatemala**

Se ha descrito que factores de exposición ambiental, natural y social están asociadas al desarrollo de ERC en adultos. Varios estudios han establecido una asociación entre el desarrollo de ERC y la ubicación geográfica. En el área mesoamericana, que comprende aproximadamente desde el centro de México hasta Belice, Guatemala, El Salvador, Honduras, Nicaragua y el norte de Costa Rica, esta asociación se ha hecho fuertemente evidente, siendo una gran proporción de casos los denominados “de causa indeterminada”, acuñándose en este sentido el término "Nefropatía Mesoamericana" (Cerón et al., 2014).

Durante los últimos 20 años, varias regiones de Centroamérica y México han experimentado un aumento dramático y de rápida progresión de la enfermedad renal crónica, no provocada por diabetes e hipertensión. Esta epidemia regional de enfermedad renal crónica de origen desconocido se ha denominado actualmente como Nefropatía Mesoamericana (Wesseling et al., 2013) y ha causado la muerte temprana de muchas personas en Centroamérica. La creciente carga de enfermedades renales crónicas (ERC) es un importante problema de salud pública que afectará al sistema de salud de todos los países, especialmente a los que aún no están industrializados.

Fundanier (Fundación para Niños con Enfermedades Renales) fue fundada en 2003 y ha sido el instrumento que facilitó cambios en el sistema de salud guatemalteco, con el fin de establecer un programa integral de Nefrología Pediátrica. Fundanier es la primera iniciativa local para brindar prevención y manejo integral de la enfermedad renal en niños y adolescentes en Guatemala. A

través de un convenio con las Autoridades Nacionales de Salud, Fundanier se involucra en la prevención primaria, secundaria y terciaria de la ERC en la población pediátrica (Lou-Meda, 2011). Es así como Guatemala ha tenido durante las últimas décadas la capacidad para tratar a los niños diagnosticados con ERC de manera integral por medio del sistema nacional de salud, mostrando gran capacidad de atención y crecimiento en servicios especializados de calidad.

Se sabe que el trasplante renal es el tratamiento óptimo-para pacientes pediátricos con enfermedad renal crónica terminal (ERCT) porque permite un desarrollo psicomotor que no se alcanza con otros métodos de rehabilitación. También se considera que a largo plazo constituye menores costos y ofrece mejor supervivencia que la diálisis en cualquier grupo de edad de pacientes pediátricos. (Guadarrama-Díaz et al., 2013)

Se describe hasta 95% de supervivencia del injerto a 5 años del trasplante, mientras que los pacientes sometidos a procedimientos dialíticos presentan una supervivencia mayor o igual al 80%. Hace algunas décadas la edad pediátrica se consideraba de muy alto riesgo para un trasplante renal; sin embargo, gracias a los avances en la técnica quirúrgica de la actualidad, a un mejor conocimiento de la respuesta inmunológica y al desarrollo de nuevos fármacos inmunosupresores, en el presente los pacientes pediátricos presentan el mejor porcentaje de sobre vida del injerto de todos los grupos etarios. El trasplante renal involucra un tratamiento de mantenimiento caro que debe considerarse en la terapéutica (Cantú-Quintanilla, 2010).

## **Trasplante Renal en Guatemala**

Existen estudios que muestran que en países como Guatemala y México sólo entre el 40 y el 60% de la población tiene acceso a diálisis y a un trasplante renal (Cantú-Quintanilla, 2010).

Fundanier apoya actualmente y desde el año 2003, el desarrollo y mantenimiento de la Unidad de Nefrología Pediátrica del Hospital Roosevelt, uno de los hospitales de referencia en la Ciudad de Guatemala. La fundación estableció el único y exclusivo Programa de Terapia de Reemplazo Renal en el país en 2007. La Unidad de Nefrología atiende a pacientes hospitalizados y pacientes ambulatorios de toda Guatemala, y también dirige una clínica renal general. Los pacientes no pagan ningún honorario ni donación como requisito para ser admitidos y pueden ser referidos por cualquier proveedor de atención médica o a través de iniciativa propia.

Un estudio reciente que caracterizó la Enfermedad Renal Crónica en Guatemala demostró que, de 432 pacientes documentados con IRC, 193 padecían de ERC en estadio 5 (ESRD) y que la mayoría de ellos recibían tratamiento de diálisis peritoneal (40,4%), seguido de hemodiálisis (26,4%), trasplante renal (12,4%) y el resto recibía terapia distinta al reemplazo (terapia de mantenimiento, 17,6%) (Cerón et al., 2014). En Guatemala, Fundanier es la entidad que ofrece la terapia de trasplante renal en pacientes pediátricos, brindando seguimiento integral y acompañamiento a dichos pacientes durante todo el proceso, desde la admisión y seguimiento de la terapia inmunosupresora. Todos los pacientes son admitidos y trasplantados en la edad infantil, sin

embargo, muchos de ellos actualmente han llegado a la adultez (más de 18 años) continuando con el seguimiento. La edad de los pacientes atendidos comprende entre los 12 y 21 años, y la mayoría son originarios de la región central y occidental del país.

## **Terapia inmunosupresora post-trasplante renal**

El objetivo del tratamiento inmunosupresor post-trasplante renal es prevenir el rechazo del órgano injertado. Para lograr este objetivo, actualmente se utilizan distintos medicamentos que actúan sobre distintas vías de la respuesta inmune. Con este medicamento se busca obtener el mayor grado de inmunosupresión, sin dejar de lado la vigilancia de la toxicidad y otros efectos adversos, especialmente el desarrollo de tumores y de infecciones debido a la modificación de la respuesta inmune habitual (Halloran, 2004). El tratamiento inmunosupresor óptimo consiste en una terapia inicial con anticuerpos monoclonales o policlonales, orientada a evitar el rechazo temprano y a reducir las dosis de otros fármacos inmunosupresores (especialmente anticalcineurínicos); y una terapia de mantenimiento inmunosupresora con tres fármacos: un inhibidor de la calcineurina (tacrolimus o ciclosporina A), un inhibidor de la síntesis de purinas (micofenolato mofetilo) y esteroides (Bertram L, 2009). En Fundanier la terapia inmunosupresora se basa en dos esquemas: Tacrolimus (dosis 0.1 mg/Kg) con micofenolato (dosis mantenimiento 1000-1200 mg / mt<sup>2</sup>) ó Tacrolimus (dosis 0.1 mg/Kg) con azatioprina. También se emplean algunas estrategias orientadas a mejorar la adherencia y la respuesta favorable al tratamiento tales como: Evaluación y seguimiento de la adherencia terapéutica por métodos directos e indirectos: Monitoreo de niveles sanguíneos de tacrolimus periódicamente, conteo de medicamentos cada mes, revisión de envoltorios vacíos, consulta de atención farmacéutica con carnet de medicamentos con seguimiento en modificación de dosis.

Esta terapia representa un alto costo de mantenimiento para el sistema de salud (más de Q200,000.00 por año/paciente). Los pacientes se benefician de la terapia inmunosupresora por medio de la fundación hasta los 21 años; posterior a ello son trasladados al Instituto Guatemalteco de Seguridad Social para dar continuidad con el tratamiento.

## **Tacrolimus**

El tacrolimus constituye la piedra angular de la inmunosupresión en el trasplante de órganos sólidos. Es un medicamento con estrecha ventana terapéutica utilizado para prevenir el rechazo en los trasplantes de órganos sólidos. Se requiere de un cuidadoso ajuste de la dosis para obtener niveles terapéuticos óptimos. Este medicamento ejerce su mecanismo de acción por medio de la unión a una proteína intracelular conocida como proteína de unión a FK (FKBP-12, del inglés FK binding protein 12). Al formarse el complejo de FKBP–tacrolimus junto con calcio, se produce una inhibición selectiva de la calcineurina; la enzima que normalmente actúa como una fosfatasa

de ciertas proteínas nucleares con función reguladora como el factor nuclear de linfocitos T activados (NFAT). Este factor al ser desfosforilado en condiciones normales, pasa a través de la membrana nuclear, inhibiendo la expresión de diversos genes implicados en la activación de las células T, incluyendo el gen de la interleucina 2 (IL-2), su receptor, el interferón gamma (IFN- $\alpha$ ), el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) y los protooncogenes H-ras y c-myc. De forma simultánea se produce la promoción del factor transformador de crecimiento beta (TGF- $\beta$ ), que también inhibe a la IL-2, provocando la disminución en la proliferación de linfocitos T citotóxicos y disminución en la producción de citocinas. También provoca el desarrollo de fibrosis intersticial, siendo la principal causa de nefrotoxicidad relacionada con los inhibidores de la calcineurina (Prytuła & van Gelder, 2019a). El grado de inhibición de la actividad de la calcineurina y de la producción de IL-2 puede reflejar el equilibrio entre una inmunosupresión excesiva o deficiente (Guadarrama-Díaz et al., 2013).

Se han descrito diversos factores involucrados en la alta variabilidad en la exposición al tacrolimus, tanto inter-paciente (peso, edad, medicación concomitante, polimorfismos genéticos de CYP3A5) como intra-paciente (pobre adherencia terapéutica, dieta, interacciones medicamentosas, diarrea o la administración intercambiable de formulaciones genéricas). Estos factores representan un impacto importante en el resultado clínico (Prytuła & van Gelder, 2019a).

## **El citocromo P450 y la enzima CYP3A5 en el metabolismo de Tacrolimus**

El citocromo CYP es una hemoproteína, cuyo complejo sistema se encuentra particularmente activo en el hígado, el cual participa en el metabolismo de sustratos de naturaleza externa (drogas, pesticidas, procarcinogénicos) e interna (colesterol, ácidos biliares, hormonas esteroidales y ácidos grasos). Este complejo se encuentra ubicado en la mitocondria y en diversos tipos de membranas celulares. La superfamilia de enzimas codificadas por los genes del citocromo P450 incrementa la solubilidad en agua de compuestos extraños ayudando a su eliminación. Entre los múltiples miembros del CYP se consideran varias enzimas que pertenecen a las familias CYP2 y CYP3, las cuales tienen una gran importancia en el metabolismo de los fármacos (Rodríguez González et al., 2014).

En humanos se han identificado cuatro isoenzimas CYP3A diferentes: CYP3A4, CYP3A5, CYP3A7 y CYP3A43. En adultos, la isoenzima dominante es CYP3A4, que se expresa tanto en el intestino como el hígado. CYP3A5 también está presente en estos tejidos, además; de la próstata y el riñón. CYP3A7 predomina en los recién nacidos, pero sus niveles disminuyen progresivamente; mientras aumentan los de CYP3A4 durante los primeros dos años. Su papel como metabolizador de fármacos se considera insignificante en adultos pero en recién nacidos es muy importante conocer su expresión, propiedades metabólicas y regulación, para brindar una farmacoterapia individualizada. (Li & Lampe, 2019) CYP3A43 es menos estudiado, y tan poco se sabe acerca de sus funciones. En el caso de tacrolimus, la presencia de CYP3A4 y CYP3A5 en la

mucosa intestinal y en las células hepáticas contribuye a un efecto de primer paso a medida que se metabolizan las moléculas del fármaco antes de llegar a la circulación sistémica (L. Chen & Prasad, 2018).

El tacrolimus es metabolizado por sistemas enzimáticos microsomales del citocromo P-450 3A (CYP3A4 y CYP3A5) encontrados en el tracto gastrointestinal y en el hígado. La dosis de tacrolimus necesaria para alcanzar niveles terapéuticos óptimos depende del tipo de polimorfismo en la enzima CYP3A5 que el paciente exprese. Los pacientes que expresen la enzima requerirán dosis mayores y quienes la expresen en menor medida pueden requerir dosis menores. El monitoreo terapéutico del tacrolimus se realiza determinando las concentraciones séricas mínimas (niveles en valle). Varios estudios han demostrado una adecuada correlación entre la concentración en sangre y el área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo, y que además esta correlación puede mejorar al utilizar diferentes tiempos de muestreo. Es importante mencionar que la monitorización farmacocinética no refleja la actividad biológica del fármaco precisamente (Guadarrama-Díaz et al., 2013).

Debido a la característica variabilidad farmacocinética del tacrolimus y a su estrecho margen terapéutico, es necesaria la monitorización de las dosis de forma continua durante las primeras semanas posteriores al trasplante con el objetivo de alcanzar niveles plasmáticos adecuados para evitar el rechazo del injerto (niveles demasiado bajos) o la nefrotoxicidad (demasiado altos). Aunque se absorbe de forma rápida a nivel intestinal, su biodisponibilidad oral es muy baja: de la dosis total que recibe un paciente aproximadamente solo el 25 % pasa a la sangre. La concentración plasmática máxima se logra entre una y tres horas después de la toma. La administración, ya sea en dos tomas o en una sola toma diaria (en caso de la forma de liberación prolongada), debería iniciarse dentro de las 24 horas posteriores al trasplante, aunque tanto las pautas de administración, las dosis y sus combinaciones con otros inmunosupresores pueden variar. Los metabolitos son excretados por la orina y la bilis. A nivel intestinal el tacrolimus es sustrato de la glicoproteína-P (PgP) o MDR-1 (multidrug resistance-1), codificada por el gen ABCB18-10. Esta proteína se encuentra en la membrana de los enterocitos y regula el paso de sustancias desde el interior de la célula hacia el espacio extracelular a través de un mecanismo dependiente de adenosín trifosfato (ATP)(Provenzano et al., 2013).

El estrecho margen terapéutico y la alta variabilidad farmacodinámica y farmacocinética entre individuos hacen totalmente necesario medir los niveles plasmáticos de tacrolimus y sus metabolitos para ajustar la dosis por paciente, hasta alcanzar una concentración plasmática adecuada. (Htun et al., 2020)El monitoreo de los niveles valle de tacrolimus es especialmente fundamental durante los primeros días posteriores al trasplante y se realiza inmediatamente antes de cada toma. (S et al., 2016)Para el trasplante renal, se recomienda que los valores sanguíneos totales se hallen entre los 5 y 20 ng/ml durante las primeras semanas posteriores al trasplante, y entre 3 y 12 ng/ml cuando el paciente cambia a la fase de terapia de mantenimiento. El monitoreo

y ajuste de la dosis debe realizarse cuando se realicen cambios en el esquema inmunosupresor, en su forma farmacéutica, o después de la administración de otros fármacos que pudieran provocar interacción e interferencia con su absorción y/o metabolismo (como el clopidogrel y la simvastatina)(Tavira et al., 2014). Estas modificaciones de la dosis también son necesarias cuando existe sospechas de nefrotoxicidad.

Según el estado clínico del paciente se debe evaluar el ajuste posológico que permita una exposición sistémica dentro del margen terapéutico del inmunosupresor, aumentando la probabilidad de lograr la eficacia inmunosupresora y minimizando el riesgo de aparición de reacciones adversas, evaluando constantemente posibles efectos de las interacciones medicamentosas que podrían darse con el uso simultáneo de medicamentos que afectan el efecto farmacológico de tacrolimus (antifúngicos, antiepilépticos y macrólidos) al afectar su biodisponibilidad (Hannachi et al., 2021). Esto se puede lograr con una eficiente intervención en seguimiento farmacoterapéutico y farmacovigilancia (Riva et al., 2013a), que se verían muy bien reforzadas con pruebas farmacogenéticas, específicamente la determinación del fenotipo metabolizador para CYP3A5, principal vía de metabolismo de tacrolimus.

### **Farmacogenética del Tacrolimus, variabilidad étnica y aplicación clínica**

El manejo óptimo de la inmunosupresión en el trasplante de riñón requiere un delicado equilibrio entre eficacia y toxicidad. Para la mayoría de los fármacos cada paciente recibe una dosis inicial en función de variables como el peso y la edad; sin embargo, se debe considerar su estrecha ventana terapéutica y la conocida variabilidad interétnica (Muller et al., 2020a). En la terapia con inmunosupresores, las dosis demasiado bajas podrían resultar en rechazo del órgano, y dosis demasiado altas en toxicidad. La variación en los genes (mutaciones y polimorfismos) que codifican la expresión de proteínas implicadas en la metabolización de los fármacos puede ser condicionante de la concentración sanguínea del principio farmacológicamente activo (Hannachi et al., 2021).

Es conocido que variantes en los genes que codifican las enzimas implicadas en el metabolismo hepático de tacrolimus se ven asociadas a retrasos significativos en alcanzar las concentraciones sanguíneas objetivo y que esto puede predisponer a los receptores de riñón trasplantado al rechazo agudo del órgano, sobre todo cuando se presentan concentraciones más bajas de tacrolimus en las primeras etapas después del trasplante (Tang et al., 2011)(Glowacki et al., 2011) (Min et al., 2010a).

En este sentido, el principal determinante de variabilidad interindividual en las dosis de tacrolimus es la actividad del citocromo P450-3A5, codificado por el gen CYP3A5. Se han identificado hasta 9 alelos diferentes en el gen CYP3A5 (Tabla 1), que confieren distinta actividad a la enzima CYP3A5 dependiendo de los alelos presentes en el individuo, lo que define su fenotipo metabolizador (Tabla 2) (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, Van Schaik, et al., 2015).

**Tabla 1**

*Variantes alélicas de CYP3A5*

Allele	Nucleotide variation	Effect on CYP3A5 protein <sup>a</sup>
*1	Wild type	Normal function
*2	27289G>T	Limited/no data
*3	6986T>C	Loss of function
*4	14665T>C	Limited/no data
*5	12952A>G	Limited/no data
*6	14690C>T	Loss of function
*7	27131_27132insA	Loss of function
*8	3699G>A	Limited/no data
*9	19386C>T 6986T>C	Limited no data

*Nota.* Tomado de (L. Chen & Prasad, 2018).

De todos los polimorfismos del gen codificante de CYP3A5, un cambio de un solo nucleótido (SNP), conocido como CYP3A5\*3 (SNP rs776746), es el principal regulador de la dosis óptima de tacrolimus (Min et al., 2010a). Se conoce que las variantes CYP3A5 \* 1 y \* 3 ocurren con más frecuencia, son las más estudiadas (Thervet, Lorient, Barbier, Buchler, Ficheux, Choukroun, Toupance, Touchard, Alberti, Le Pogamp, et al., 2010) y la distribución de los alelos dentro de la población difiere dependiendo de la etnia (L. Chen & Prasad, 2018)(Provenzano et al., 2013). Esta variante se encuentra en el intrón 3 del gen CYP3A5 y afecta el procesamiento del pre-ARNm, de forma que no permite una unión perfecta entre los exones 3 y 4. El ARNm resultante presentará una secuencia anómala, por lo que es inestable y será eliminado por la célula, dando como resultado final la inhibición de la síntesis de la proteína. De esta manera, los portadores de dos copias (homocigotos) del alelo CYP3A5\*3 carecen de la proteína (no expresores), al contrario de los portadores de al menos una copia del alelo normal (designado como CYP3A5\*1) quienes si expresan la proteína. En resumen, la determinación de CYP3A5\*3 permitiría clasificar a cada paciente en un fenotipo metabolizador lento (homocigotos CYP3A5\*3\*3), metabolizador intermedio o metabolizador rápido (heterocigotos CYP3A5\*1\*3 y homocigotos CYP3A5\*1\*1, respectivamente) dependiendo de los diplotipos expresados (Tabla2). Estos últimos necesitarían las dosis más altas para alcanzar los niveles óptimos de tacrolimus. Otras variantes génicas podrían estar implicadas en la metabolización del tacrolimus, aunque los resultados obtenidos hasta la fecha no son tan concluyentes como los del CYP3A5\*3, que representa especial interés.

**Tabla 2**

Fenotipo metabolizador basado en diplotipos de CYP3A5

Likely phenotype	Genotypes	Examples of diplotypes <sup>a</sup>
Extensive metabolizer (CYP3A5 expresser)	An individual carrying two functional alleles	*1/*1
Intermediate metabolizer (CYP3A5 expresser)	An individual carrying one functional allele and one nonfunctional allele	*1/*3, *1/*6, *1/*7
Poor metabolizer (CYP3A5 nonexpresser)	An individual carrying two nonfunctional alleles	*3/*3, *6/*6, *7/*7, *3/*6, *3/*7, *6/*7

*Nota.* Tomado de (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, Van Schaik, et al., 2015).

Las diferencias en las frecuencias de los alelos del gen CYP3A5 entre grupos étnicos podrían explicar las diferencias en las dosis óptimas entre poblaciones, por ejemplo, el mayor requerimiento de dosis en los afroamericanos, la mayoría de los sujetos de etnia africana son homocigotos CYP3A5\*1\*1 (metabolizadores rápidos), mientras que alrededor del 80 % de los caucásicos son metabolizadores lentos (homocigotos para el alelo CYP3A5\*3). Estas diferencias genéticas podrían también explicar el mayor riesgo de rechazo y nefrotoxicidad entre los pacientes afroamericanos (Muller et al., 2020a). Los sujetos CYP3A5 metabolizadores lentos (80 % de los caucásicos) requieren las dosis más bajas. La tabla 3 muestra la distribución de alelos de CYP3A5 en distintas poblaciones, notándose especial diferencia entre los grupos caucásicos y africano como se mencionó anteriormente (L. Chen & Prasad, 2018). Se conoce, según la base de datos PharmGKB ([www.pharmgkb.org](http://www.pharmgkb.org)), que las variantes más frecuentes en población latinoamericana son CYP3A5\*1(0.17) y CYP3A5\*3(0.77), estimándose en 0.77, encontrándose con más frecuencia individuos portadores de fenotipos metabolizadores pobres (\*3/\*3) (Lamba et al., 2012a) (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, Van Schaik, et al., 2015). Es evidente que los polimorfismos de CYP3A5 han apuntado a alteraciones en el metabolismo de tacrolimus según la etnia y genotipo poblacional, especialmente los alelos \* 1 y \* 3 (Bezerra et al., 2020).

**Tabla 3**

*Frecuencia de alelos de CYP3A5 en distintas poblaciones*

Frequencies of CYP3A5 alleles in biogeographical groups							
CYP3A5 allele	African American/Afro-Caribbean	Central/South Asian	East Asian	European	Latino	Near Eastern	Sub-Saharan African
*1	0.4528548	0.32672024	0.25355196	0.07410407	0.17279238	0.121941924	0.47940862
*3	0.31597915	0.67327976	0.7457923	0.9243815	0.7651353	0.83611745	0.24094562
*6	0.11116607	0.0	0.0006557377	0.0015144596	0.037054006	0.038085584	0.19323565
*7	0.12		0.0	0.0	0.02501835	0.00385505	0.08641013

*Nota.* Tomado de (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, Van Schaik, et al., 2015)

En el gen CYP3A4 se han identificado variantes que podrían afectar a la actividad de este citocromo y, por tanto, los niveles/dosis de sus fármacos sustrato. Alrededor del 40 % del tacrolimus que recibe un paciente sería metabolizado por el P450-3A4; sin embargo, existe evidencia de que tacrolimus se metaboliza en mayor medida por CYP3A5 que por CYP3A4 (Renders et al., 2007a).

El polimorfismo CYP3A4\*1B (SNP rs2740574) en la región promotora del gen (-392 A>G) ha sido relacionado con las dosis de tacrolimus, siendo necesarias dosis mayores del fármaco para los portadores del alelo CYP3A4\*1B. Este efecto podría atribuirse a que este alelo se traduciría en mayores niveles de expresión de la proteína. Por otro parte, se han descrito recientemente algunas variantes alélicas que podrían afectar al metabolismo del tacrolimus, tales como el polimorfismo CYP3A4\*22. Sin embargo, otros estudios no apoyan un efecto significativo de esta variante del CYP3A4 sobre los requerimientos de dosis del medicamento (Tavira et al., 2013). También se conoce la relación en que la mayoría de los portadores del alelo CYP3A4\*22 son a su vez homocigotos para el alelo CYP3A5\*3, por lo que resulta difícil cuantificar su efecto en los pacientes metabolizadores rápidos para CYP3A5 (Tavira et al., 2014), por lo que se considera de mayor valor, la determinación del alelo CYP3A5\*3.

Algunos autores han propuesto distintos algoritmos para calcular la dosis inicial de tacrolimus, que incluyen como variable el genotipo CYP3A5, que debería ser determinado antes del trasplante. Dado que las diferencias interindividuales en la dosis de tacrolimus están determinadas por un polimorfismo del gen CYP3A5, teóricamente la inclusión del genotipo en el establecimiento de la dosis, podría reducir el número de ajustes y el tiempo necesario para alcanzar la concentración sanguínea deseada, tal como lo indican la guía clínica para dosificación de

tacrolimus a partir de CYP3A5 publicada en 2015 por la Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC), que muestra la recomendación terapéutica para el abordaje clínico a ser aplicado en los pacientes de acuerdo a su fenotipo metabolizador (metabolizador extensivo, intermedio o pobre) y que determina la necesidad de incrementar o disminuir las dosis iniciales y las dosis de mantenimiento, así como el uso de dosis convencional. Esto constituye la aplicación más valiosa de la farmacogenética como herramienta de apoyo en la clínica. En general, existe fuerte evidencia que las correcciones de dosis de tacrolimus son de 1,5 a 2 veces mayor en pacientes con trasplante de riñón con genotipos CYP3A5 \* 3 / \* 3 en comparación con pacientes con genotipos CYP3A5 \* 1 / \* 1 o \* 1 / \* 3 durante las primeras dos a cuatro semanas después del trasplante, a los seis meses y durante el primer año postrasplante (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, Van Schaik, et al., 2015).

## Técnicas de genotipificación

PCR-RFLP (Reacción en cadena de la polimerasa- Polimorfismos de longitud de fragmentos de restricción)

Es una técnica de análisis en biología molecular que se basa en la combinación de los métodos de amplificación de una región en específico, mediante PCR (Reacción en cadena de la polimerasa), con el método de digestión en fragmentos del producto amplificado utilizando enzimas de restricción. Con este método es posible detectar la presencia de fragmentos específicos del gen a analizar, tales como la presencia de polimorfismos, los cuales alteran la secuencia de nucleótidos del mismo, creando nuevos sitios de restricción o eliminando los existentes en el gen normal, lo que alterará el patrón de los fragmentos de restricción, para luego ser observados en bandas en geles de agarosa, separados por electroforesis.

Para la genotipificación de las variantes de CYP3A5 se utilizan primers (iniciadores) y enzimas de restricción específicas para la región a analizar. El producto final se visualiza al comparar las bandas fluorescentes bajo luz UV, comparándolas con escalas patrones. Esta técnica fue descrita anteriormente por Furken y Muller (Fukuen et al., 2002) (Muller et al., 2020a).

## 7. Estado del arte

La importancia de las variantes genéticas de las enzimas metabolizadoras de medicamento y otras sustancias para explicar las diferencias interindividuales en concentraciones plasmáticas de medicamentos y sus correspondientes efectos farmacodinámicos han sido estudiados y reconocidos cerca de 50 años atrás. Desde los inicios de estudios que hacen evidente las variaciones en las concentraciones plasmáticas de medicamentos y su relación con la presencia de

variaciones polimórficas de las enzimas metabolizadoras de medicamentos en los pacientes, se planteó el objetivo de poder utilizar estos estudios, en la implementación de ajuste de dosis individualizadas (Tomalik-Scharte et al., 2008).

En 2012 se publica la creación de la base de datos “The Pharmacogenomics Knowledgebase (PharmGKB)”, que es un recurso que recoge y difunde información sobre el impacto de la variación genética humana en las respuestas a medicamentos. Esta base proporciona información clínicamente relevante, incluyendo pautas de dosificación, anotaciones en etiquetas de los medicamentos y las asociaciones de genes a los fármacos potencialmente procesables, así como las relaciones genotipo-fenotipo. La base presenta información de alto nivel de evidencia fundamentada en criterios muy bien definidos y basados en revisión cuidadosa de la literatura. Por lo que PharmGKB constituye una fuente útil de información de alta calidad que soporta proyectos de implementación de medicina personalizada (Whirl-Carrillo et al., 2012), desarrollada por medio de la Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC).

Actualmente, la mayoría de estudios realizados se han llevado a cabo en poblaciones norteamericanas, europeas y asiáticas, con lo que ha sido posible su comparación y comprobación de la variabilidad en la genética de poblaciones (Garrido et al., 2013), aunque se ha visto que la población guatemalteca comparte similitudes con el resto de la población latinoamericana.

En 2011 se realizó en Memphis, Estados Unidos un estudio titulado: Development and Implementation of a Pharmacist-Managed Clinical Pharmacogenetics Service, en que se logró la implementación del servicio de farmacogenética clínica en el Hospital St. Jude Children’s Research, en la que los farmacéuticos resolvieron consultas farmacogenéticas que incluyeron la interpretación del resultado y recomendaciones terapéuticas para los fármacos consultados, lográndose muy buena aceptación por parte del área médica, y es en la actualidad uno de los centros más activos en el tema (Crews, 2011).

A nivel Centroamericano, en 2015, se publicó un estudio de farmacogenética en voluntarios sanos nativos centroamericanos, con el fin de evaluar la variabilidad étnica. El estudio demostró diferencias en la frecuencia de algunos biomarcadores farmacogenéticos, demostrando variabilidad étnica entre la población centroamericana y otras poblaciones latinoamericanas (Céspedes-Garro et al., 2015).

En cuanto al estudio de variantes alélicas de CYP3A5 y su aplicación farmacogenética, en 2010 se reportó un estudio que incluyó 236 pacientes trasplantados renales divididos en dos grupos: 120 pacientes (grupo control) recibieron 0,2 mg/kg/día y 116 pacientes (grupo dosis adaptada) una dosis según el genotipo CYP3A5: 0,15 mg/kg/día los metabolizadores lentos (homocigotos CYP3A5\*3\*3, n = 90) y 0,30 mg/kg/día los rápidos (portadores CYP3A5\*1, n = 26). Los pacientes comenzaron a recibir tacrolimus a partir del séptimo día posterior al trasplante, manteniéndose bajo terapia de inducción con basiliximab o con globulina antitimo-cítica durante esa semana. Los dos grupos fueron comparados de acuerdo con valores plasmáticos de tacrolimus (en el rango de

10-15 ng/l) luego de seis dosis orales del medicamento, el tiempo necesario para alcanzar ese rango, número de modificaciones de la dosis hasta alcanzar el rango, entre otras variables. El estudio concluyó de forma favorable, que luego de tres días de tratamiento con tacrolimus había un mayor porcentaje de pacientes que alcanzaban el valor plasmático óptimo (43,2 % frente a 29,1 %;  $P = 0,03$ ) en el grupo de dosis adaptada de acuerdo al genotipo metabolizador, y que estos pacientes también necesitaron menos modificaciones de la dosis (Thervet et al., 2010).

En 2015, la Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) publicó la guía clínica para dosificación de tacrolimus a partir de CYP3A5 (Birdwell et al., 2015), incluyendo además de las indicaciones terapéuticas, también datos sobre las frecuencias de variantes alélicas de este gen encontradas a nivel mundial.

A partir de esto, otros estudios han abordado la aplicación clínica y beneficio de la farmacogenética en la terapia de inmunosupresión en pacientes con trasplante no solo renal si no de diversos órganos o tejidos. Por ejemplo, en 2019 se publicaron los resultados de un estudio que evaluó como el genotipo CYP3A5 afecta el tiempo hasta el nivel terapéutico de tacrolimus en pacientes pediátricos con trasplante renal. El estudio de cohorte incluyó a 55 (56%) personas que expresaron y 43 (44%) que no expresaron el alelo CYP3A5 \* 1. Los expresadores tuvieron un tiempo significativamente más largo para lograr una concentración terapéutica constante de TAC que los no expresadores. Además, los expresadores tenían una tendencia a una mayor incidencia de rechazo temprano del órgano trasplantado (Yanik et al., 2019).

El factor étnico también representa una importancia trascendental en este tipo de estudios y se han reportado que existen diferencias marcadas y significativas en cuanto a la expresión de variantes de CYP3A5 entre distintos grupos poblacionales. En 2020 se realizó un estudio que demostró que los pacientes de raza negra requirieron dosis más altas de tacrolimus que los pacientes de raza blanca, realizado en población sur africana, que confirma otros estudios que reportan datos similares (Muller et al., 2020).

En Guatemala, en 2020 se publicaron los hallazgos de un estudio de aplicación de farmacogenética en pacientes geriátricos tratados con escitalopram, en quienes se identificaron las variantes alélicas de CYP2C19 (\*1,\*2 y \*3), concluyéndose el beneficio de la farmacogenética como herramienta en la terapia de estos pacientes al evaluar el ajuste al tratamiento farmacológico con escitalopram de acuerdo con su perfil farmacogenético (Xajil-Ramos et al., 2020).

En el mismo año, se publicó otro estudio que evaluó la adherencia terapéutica y el estado depresivo o de ansiedad de los pacientes que fueron sometidos a pruebas farmacogenéticas para la isoenzima CYP2C19 de escitalopram en la Clínica del Adulto Mayor y Departamento de Salud Mental del Hospital Roosevelt, haciendo evidente que la farmacogenética constituye un herramienta que complementaria a otras, como la atención farmacéutica, puede representar un valioso aporte en el abordaje clínico de pacientes (Hernández et al., 2020).

En 2020 se reportó un estudio retrospectivo evaluó la estrategia de conservación de tacrolimus postrasplante mediante la inhibición de CYP3A4 utilizando ketoconazol (Inhibidor de CYP3A4) en combinación con tacrolimus en pacientes receptores de trasplante renal que fueron atendidos en la Fundación para el Niño Enfermo Renal (Fundanier), Hospital Roosevelt, en la Ciudad de Guatemala, concluyéndose que los pacientes experimentaron una reducción eficaz de la dosis de tacrolimus con la administración de ketoconazol y que la estrategia permitió una reducción de costos en la terapia inmunosupresora pediátrica (Méndez et al., 2020).

Este es el único antecedente reportado para Guatemala e indica que se han hecho esfuerzos por incluir la farmacogenética en el tratamiento de estos pacientes, sin embargo, en el país aún no se aborda el estudio directo de las variantes alélicas de CYP3A5 y su aplicación en el tratamiento terapéutico de la inmunosupresión con tacrolimus.

## 8. Objetivos

### Objetivo general

Determinar la frecuencia de variantes alélicas del gen codificante de la enzima CYP3A5 (\*1, \*3) en pacientes guatemaltecos receptores de trasplante renal en tratamiento inmunosupresor con tacrolimus.

### Objetivos específicos

- Obtener ADN genómico de muestras recolectadas y genotipificar la región CYP3A5 del citocromo p450 y sus variantes alélicas.
- Determinar las frecuencias alélicas y los fenotipos metabolizadores del gen de la enzima CYP3A5 de los pacientes tratados con tacrolimus.
- Comparar las variantes alélicas del gen codificante de la enzima CYP3A5 identificadas en Guatemala con respecto a las variantes más frecuentes en Latinoamérica.

## 9. Hipótesis

No se establece hipótesis por tratarse de un estudio descriptivo

## 10. Materiales y métodos

### 10.1 Enfoque de la investigación

La investigación de enfoque cuantitativo de tipo descriptivo y transversal.

### 10.2 Método

#### 10.2.1 Metodología

##### Toma de muestras

Luego de la firma de consentimiento informado por el paciente o sus cuidadores (asentimiento informado en los casos que corresponda), adecuado según opinión favorable y dictamen de comité de ética, se procedió a completar la ficha de recolección de datos, describiendo las características propias del paciente, variables socioeducativas, de diagnóstico y del tratamiento farmacológico. Las muestras recolectadas de los pacientes fueron identificadas anónimamente bajo la siguiente nomenclatura: Iniciales del primer nombre y primer apellido del paciente + número correlativo iniciando de 1 (Primer Nombre + Primer apellido + número correlativo) y

fueron almacenadas en contenedor especial bajo resguardo de las instalaciones del Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios.

### *Toma de muestra por hisopado bucal*

- 1) La muestra se recolectó utilizando un hisopo estéril con mango de madera. El hisopo se pasa 10 veces por el lado interno de cada mejilla de manera de abarcar la totalidad del espacio (desde la parte más superior hasta la encía) con el mismo hisopo. Este movimiento debe realizarse haciendo presión suavemente y haciendo girar el hisopo entre pasadas.
- 2) Todas las muestras fueron almacenadas a temperatura ambiente en un ambiente fresco, libre de humedad y evitando exposición solar. Las muestras recabadas en el hisopo fueron eliminadas después de su procesamiento.

### **Determinación de variantes alélicas del gen codificante de CYP3A5**

Esta fase se realizó en las instalaciones del Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios, el cual cuenta con equipo especializado para realizar estos análisis, siendo complementado con las adquisiciones derivadas de compras durante el proyecto. Los análisis fueron desarrollados por los investigadores, quienes cuentan con experiencia en técnicas de biología molecular, farmacogenética, farmacocinética y farmacología clínica.

## **10.2.2 Materiales y equipo**

<b>Materiales y reactivos</b>	<b>Equipo</b>
1. Tarjetas con matriz de recolección de material biológico tipo FTA o Copan Cards.	1. Termociclador
2. Kit de extracción de ADN ReliaPrep™ gDNA Tissue Miniprep System de Promega	2. Fuente de poder
3. Strips *8 microtubos 0.2 mL	3. Cámara de electroforesis
4. Microtubos de 0.2, 0.5 y 1.5mL	4. Transiluminador con cámara fotográfica incorporada
5. Iniciadores/Cebadores (Fukuen et al., 2002) (Muller et al., 2020a)	5. Cuantificador de ácidos nucleicos
6. Enzimas de restricción (SspI)	6. Campana de Flujo laminar vertical
7. Hot Start ADN TaqPolimerasa	7. Pipetas
8. dNTP's 400uM	8. Refrigeradora
9. Cloruro de Magnesio	9. Centrífuga
10. Agua ultrapurificada	10. Vórtex
11. Agarosa	11. Balanza

- |  |  |
|--|--|
| <ol style="list-style-type: none"><li>12. Buffer TBE y PBS</li><li>13. RediLoad</li><li>14. Escaleras de 50 y 100pb</li><li>15. Micropipetas de diferentes volúmenes</li><li>16. Puntas para micropipetas 10, 100 y 1000 ul</li><li>17. Perforador de tarjetas de recolección de muestras</li><li>18. Alcohol 70%</li><li>19. SYBR green</li><li>20. Agua ultrapura libre de nucleasas</li></ol> |  |
|--|--|

## Procedimientos

La detección de variantes alélicas CYP3A5\*1 y CYP3A5\*3 se realizó mediante la detección de Polimorfismos de Longitud de Fragmentos de Restricción (RFLP). Los resultados fueron analizados por electroforesis en gel de agarosa. El método aplicado en este estudio se ha basado en el descrito por Muller en 2020.

## Extracción y purificación de ADN

La obtención de ADN se realizó a través de células de tejido recolectadas por hisopado bucal. El ADN fue extraído a través del kit ReliaPrep™ gDNA Tissue Miniprep System y siguiendo las instrucciones del fabricante. Este paso involucra proceso de calentamiento de muestras en columnas en thermomixer y la verificación de la pureza del ADN y concentración a través del cuantificador de ácidos nucleicos (Qubit 4.0).

## Amplificación de fragmentos del gen CYP3A5

Se realizó mediante el siguiente protocolo con un volumen final de 25µL:

- 2.5 mM magnesium chloride (Promega)
- 0.2 mM deoxyribonucleotide triphosphate dNTP's (Promega)
- 0.5 U GoTaq Flexi DNA Polymerase (Promega)
- 1 × Green GoTaq Flexi Reaction Buffer (Promega, USA)
- 10% RediLoad
- 0.40 µM cada iniciador“Forward” y “Reverse”
- 100 ng de ADN genómico
- Agua estéril desionizada

## Iniciadores, endonucleasas de restricción y condiciones de amplificación y digestión para la detección de polimorfismos de CYP3A5

Variante	Forward	Reverse	Endonucleasa	Ciclo de amplificación
CYP3A5*3	CATCAGTTAGTAG ACAGATGA	GGTCCAAACAGGGA AGAAATA	SspI	94°C, 3 min 94°C, 30 s 51 °C, 30 s 72 °C, 30 s 72°C, 10 min  Ta, ext: 51°C, 30 s

### Análisis de resultados de PCR-RFLP

Los fragmentos fueron separados a través de un gel de agarosa al 3% 120 voltios por 90 minutos en cámara de electroforesis. Las bandas de ADN fueron reveladas por una solución SYBR SAFE y visualizadas por UV mediante Transiluminador, con lo que se determinó la presencia de variantes de acuerdo a la posición e intensidades de bandas, lo que indica la presencia y tamaño de fragmentos de interés de la siguiente manera:

Bandas	Genotipo
168, 148 y 125 pb	*1/*3
168 y 125 pb	*3/*3
148 y 125 pb	*1/*1

Los fenotipos metabolizadores se determinaron de acuerdo con la presencia o ausencia de las variantes alélicas (CYP3A5\*1 y CYP3A5\*3) y los correspondientes genotipos:

Metabolizador extensivo: CYP3A5 \*1/\*1, Metabolizador intermedio: CYP3A5 \*1/\*3 y Metabolizador pobre: CYP3A5 \*3/\*3. Estos resultados fueron trasladados al médico tratante acompañados de una recomendación de ajuste de dosis en los casos que se considere necesario de acuerdo a las guías de práctica clínica para tacrolimus de la Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) (Birdwell et al., 2015).

## Descarte de muestras

Las muestras recabadas en los hisopos y los productos de su procesamiento fueron eliminadas después de su análisis de acuerdo a los procedimientos para muestras biológicas.

## 10.3 Recolección de información

### Recolección de datos

#### Tamaño de muestra:

La muestra consistió en la totalidad de pacientes contactados a través de la Fundación para el Niño Enfermo Renal en Guatemala, con antecedente de trasplante renal o próximos a trasplante, en función de los criterios de inclusión (71 pacientes). La muestra comprende pacientes mayores o menores de edad (18 años) debido a que la fundación admite y brinda tratamiento de trasplante renal durante la edad infantil (menor de 18 años), pero siguen siendo tratados en este centro hasta la edad de 21 años.

#### Método de muestreo:

El método de muestreo a utilizar fue no probabilístico, específicamente un muestreo por obtención de voluntarios, que consistió en la invitación a participar hasta alcanzar la muestra deseada, en este caso la totalidad de pacientes que cumplen los criterios de inclusión.

Las entrevistas y muestras fueron recolectadas en las instalaciones de la Fundación para el Niño Enfermo Renal en la Ciudad de Guatemala. Esto se realizó y supervisó por personal capacitado en toma de muestras y abordaje de pacientes.

#### Criterios de inclusión:

- Pacientes con antecedente de trasplante renal nativos guatemaltecos, de cualquier sexo y edad, en tratamiento de inmunosupresión establecida con tacrolimus.
- Pacientes candidatos a trasplante renal en lista de espera, nativos guatemaltecos, de cualquier sexo y edad.
- Pacientes que accedieron participar de forma voluntaria en el estudio mediante presentación de consentimiento informado del padre, tutor o cuidador y asentimiento de cada niño, cuando correspondió.

#### Criterios de exclusión:

- Personas que no aceptaron participar voluntariamente en el estudio o que presentaron una condición no apta para proveer una muestra.
- Pacientes con antecedente de trasplante renal en tratamiento de inmunosupresión con medicamentos diferentes a tacrolimus.

## 10.4 Técnicas e instrumentos

### **Abordaje clínico de pacientes y recolección de muestra:**

Para la recolección de datos se diseñó una ficha técnica en la cual se incluyeron datos relacionados con el diagnóstico, el tratamiento inmunosupresor con tacrolimus, demás tratamiento farmacológico, además de datos demográficos y datos de la muestra, tales como peso corporal, edad, nivel de educación, tipo de inmunosupresión utilizada, adherencia percibida a la medicación, tipo de trasplante, meses después del trasplante, origen étnico (autoinformado) y etiología de la enfermedad renal crónica. Estos datos se recolectaron mediante el abordaje de pacientes en entrevista con los voluntarios y fueron almacenados en base de datos diseñada para este fin. Los datos fueron resguardados y fueron de uso confidencial y exclusivo de los investigadores.

## 10.5 Procesamiento y análisis de la información

Los datos fueron procesados en una base de datos de Excel validada para garantizar la consistencia de los datos recolectados los procedimientos de control de calidad y exploración de datos, así como su exportación al software R donde fueron analizados.

El resumen y la organización de datos se realizó a través de tablas de frecuencias absolutas y porcentajes, representados por cuadros. Las variables cuantitativas fueron resumidas a través de medidas de tendencia central y de dispersión.

Se calculó la frecuencia de variantes alélicas y fenotípicas para el gen CYP3A5 en población guatemalteca, por lo que se utilizó cálculo de frecuencias alélicas con el modelo de Hardy-Weinberg, y el algoritmo de Nei para distancias genéticas. La muestra fue determinada utilizando  $d$  de Cohen con una potencia de 80% y un valor alfa de (0.05).

## 11 Resultados y discusión

### 11.1 Resultados

**Tabla 4**  
**Datos demográficos (N=71)**

	<b>Expresores CYP3A5</b> *1/*1 (AA) *1/*3 (AG)	<b>No expresores CYP3A5</b> *3/*3 (GG)
<i>n</i> (%)	27(38.0)	44(62.0)
Edad (años), media	15	16
Meses postrasplante, mediana	44.0 (7-126)	63.5 (7-148)
Etnia, <i>n</i> (%)		
Mestizo	25(17.8)	44(62.0)
Indígena	2(2.8)	0 (0)
Sexo, <i>n</i> (%)		
Femenino	13(18.3)	16(22.5)
Masculino	14(19.7)	28(39.4)

**Tabla 5**  
**Frecuencias alélicas y genotípicas de  
CYP3A5**

Genotipos	<i>n</i> = 71	
	<i>n</i> (%)	HWE $\chi^2$
*1/*1 (AA)	4(5.6)	0.1122
*1/*3 (AG)	23(32.4)	0.0627
*3/*3 (GG)	44(62.0)	0.0088
Alelo *1	21.8	
Alelo *3	78.2	

Prueba HWE  $\chi^2$  Hardy–Weinberg (P > 0.05)

**Fuente: Proyecto API-2022**

**Tabla 6**

*Frecuencias de las variantes alélicas del gen codificante de la enzima CYP3A5(\*1, \*3) en pacientes guatemaltecos receptores de trasplante renal en tratamiento inmunosupresor con tacrolimus*

CYP3A5 allele	African American/ Afro-Caribbean	Central/South Asian	East Asian	European	Latino	Near Eastern	Sub-Saharan African	Guatemala (actual)
*1	0.4528548	0.32672024	0.25355196	0.07410407	0.17279238	0.121941924	0.47940862	0.21830986
*3	0.31597915	0.67327976	0.7457923	0.9243815	0.7651353	0.83611745	0.24094562	0.78169014

(Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, van Schaik, et al., 2015)

Comparación de las frecuencias alélicas del gen CYP3A5 \*1 y \*3 con las descritas para otras poblaciones geográficas; se observa similitud con la población latina, Asia del este y europea.

**Tabla 7**

*Comparación de las frecuencias genotípicas observadas en Guatemala (extrema derecha) con los observados en otras poblaciones para la región CYP3A5 \*1/\*1; \*1/\*3 y \*3/\*3.*

CYP3A5 allele	African American/ Afro-Caribbean	Central/South Asian	East Asian	European	Latino	Near Eastern	Sub-Saharan African	Guatemala (actual)
*1/*1	0.20507748	0.106746115	0.064288594	0.005491413	0.029857205	0.014869832	0.22983262	<b>0.05633803</b>
*1/*3	0.28618535	0.43994826	0.3781942	0.13700086	0.26441908	0.20391554	0.23102282	<b>0.32394366</b>
*3/*3	0.099842824	0.45330563	0.5562062	0.85448116	0.585432	0.6990924	0.058054794	<b>0.61971831</b>

(Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, van Schaik, et al., 2015)

Nuevamente se observa similitud con la población latina, asiática del este, europea y oriente medio

**Tabla 8**

***Frecuencias Alélicas y Fenotípicas de CYP3A5 en receptores de trasplante renal en Latinoamérica.***

Population	N	CYP3A5					Ref
		Frecuencias alélicas (%)		Genotypic frecuencias (%)			
		*1 (A)	*3 (G)	*1/*1 (A/A)	*1/*3 (G/A)	3/*3 (G/G)	
Argentina	48			0	21	79	<i>Ferraris, J 2022</i>
Argentina	21			5	9	86	<i>Larriba, J 2010</i>
Brasil*	909			4	29	55	<i>Suarez-Kurtz, G 2014</i>
Brasil	108	26	74	11	31	58	<i>Cusinato, D 2014</i>
Ecuador	634	12	88	2	20	78	<i>Simuesa, B 2008</i>
México	291	27	73	6	42	52	<i>García, P 2012</i>
México	42			5	45	50	<i>Alvarez A, 2016</i>
México	52	26	74	6	40	54	<i>Romano, S 2018</i>
Perú	77	10	90	1	18	58	<i>Marsh et al. 2015</i>
Guatemala	71	22	78	6	32	62	<i>Actual 2022</i>
El Salvador		14	76				
Nicaragua		14	76				
Puerto Rico	55	20	80				

\* Se determinaron otros polimorfismos distintos a CYP3A5\*3

## 11.2 Discusión de resultados

Es de gran importancia la determinación de las frecuencias alélicas y fenotípicas de los polimorfismos de CYP3A5 para una población específica, considerando que las variantes alélicas presentan diferencias en su frecuencia en los distintos grupos biogeográficos (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, van Schaik, et al., 2015).

La variante no funcional más frecuente y mejor estudiado de CYP3A5 corresponde a CYP3A5\*3 (rs776746). Esta variante presenta un polimorfismo de nucleótido simple, con una sustitución A>G en la posición 6986 en el intrón 3 del gen, que resulta en un procesamiento incorrecto del ARN mensajero

y en una proteína no funcional al presentar G (Guanina) en esta posición, mientras que la presencia de A (Adenina) define a CYP3A5\*1. CYP3A5\*1 se presenta en menor frecuencia en varias poblaciones a diferencia del alelo CYP3A5\*3 (Min et al., 2010b).

En este estudio se determinó la presencia de las variantes CYP3A5\*1 y CYP3A5\*3 consideradas por ser las más frecuentemente reportadas en otras poblaciones y por la relevancia en la práctica clínica que representan, incluyendo la población latinoamericana. Estas variantes alélicas fueron determinadas mediante el análisis por PCR-RFLP (Muller et al., 2020b), determinándose como más frecuente para la población guatemalteca en estudio, el alelo \*3 (78.2%), en contraste con el alelo \*1(21.8%) (Tabla 5). A su vez, se identificaron diferencias en los genotipos expresados en el grupo estudiado: \*1/\*1 (5.6%), \*1/\*3 (32.4%) y \*3/\*3 (62.0%) (Tabla 5).

Las frecuencias alélicas (Tabla 5) se distribuyen según el modelo de Hardy-Weinberg para el gen CYP3A5 en estudio; esto permitió establecer que la población en estudio se encuentra en equilibrio; lo cual es útil para futuras investigaciones; pues en teoría cuando una población ha alcanzado el equilibrio de Hardy-Weinberg; las frecuencias alélicas no varían al pasar de una generación a otra (Salazar-Granara A, 2016) Pero más importante que estos supuestos teóricos, el equilibrio Hardy-Weinberg aporta validez a los resultados obtenidos; pues permite detectar algún problema metodológico en los estudios farmacogenéticos y es por ello que se calcula para cada SNP estudiado. (Oscanoa & Amado-Tineo, 2022)

El alelo CYP3A5\*3 representa el alelo más frecuente en todas las poblaciones asociado a la expresión de enzimas menos activas. La presencia de este alelo se relaciona a una mayor concentración sanguínea de tacrolimus, por lo que pacientes portadores de este alelo se consideran “no expresores” de la enzima y logran mantener mejores niveles terapéuticos del fármaco. Por el contrario la variante \*1 se considera de alta expresión y por lo tanto los pacientes portadores de un genotipo homocigoto (\*1/\*1) o heterocigoto (\*1/\*3) son clasificados como “expresores” de la enzima CYP3A5 en quienes puede observarse alta actividad metabolizadora de tacrolimus, lo que refleja bajos niveles plasmáticos del fármaco en sangre y por lo tanto, un riesgo de rechazo del injerto. Estudios previos demuestran que los individuos portadores de CYP3A5\*1 tienen una mayor tasa de aclaramiento de tacrolimus que los portadores de los otros genotipos. En individuos portadores del genotipo \*1/\*1 tienen un aclaramiento

más alto que los individuos \*1/\*3, que a su vez tienen un aclaramiento más alto que los individuos \*3/\*3 (Lamba et al., 2012b).

La situación ideal es aquella en la que la concentración plasmática objetivo de tacrolimus es lo suficientemente alta para prevenir el rechazo del trasplante, pero a su vez lo suficientemente baja para minimizar la toxicidad. Esto se complementa en la actualidad con el monitoreo farmacocinético, lo que permite el ajuste más preciso de dosis de tacrolimus. La farmacocinética clínica y la farmacogenómica se han utilizado en diversos estudios para el desarrollo de modelos farmacocinéticos poblacionales que involucran una serie de variables que permiten determinar la dosis correcta para cada paciente en individual.

Recientemente ha demostrado que el genotipo más frecuente para CYP3A5 (\*3/\*3) en la población Guatemalteca; se encuentra asociado a una rápida progresión de la enfermedad renal crónica; (odds ratio ajustado [aOR] 4,190, intervalo de confianza [IC] del 95 %: 1,268, 13,852) definida como una disminución de la tasa de filtración glomerular  $>5$  ml/min/1.73 m<sup>2</sup>/año en pacientes de Malasia. Por lo que; la sola determinación del genotipo ya puede constituir una contribución importante para la terapia personalizada del paciente renal, además de considerar otros factores de riesgo para la ERC como el uso de antihipertensivos, el tabaquismo, etc.(Lee et al., 2021)

Las frecuencias de los alelos encontradas en este estudio fueron semejantes a las observadas en las poblaciones asiáticas y europeas, así como las reportadas para la población latinoamericana (Tabla 6) (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, van Schaik, et al., 2015). Al comparar los resultados obtenidos para la población guatemalteca con otras poblaciones latinoamericanas (Tabla 8), se observa similitud en lo reportado para países como México, Argentina, Ecuador, Brasil, Perú, Nicaragua, y Puerto Rico, que demuestran una alta frecuencia del alelo \*3 sobre el alelo \*1. Esta semejanza en el predominio de la variante \*3, pudiera relacionarse al mestizaje entre la población nativa guatemalteca y otras poblaciones, como la europea que históricamente migró a diferentes sitios del continente americano. En contraste puede observarse también que las poblaciones africanas presentan frecuencias menores del alelo \*3 que se consideran significativas para la relevancia clínica que representan sus diplotipos (Tabla 6 y Tabla 7).

Se conoce que la expresión del gen CYP3A5 afecta directamente la respuesta terapéutica en pacientes tratados con tacrolimus, por lo que la determinación del fenotipo metabolizador (expresor o no expresor) es fundamental para un buen control de la terapia inmunosupresora en el postrasplante. (Rojas et al., 2015) Existe evidencia sobre la influencia de variantes genéticas de CYP3A5 en el tiempo necesario para alcanzar niveles adecuados de tacrolimus, así como en el número de modificaciones a las dosis, de manera que la dosificación basada en el conocimiento del genotipo CYP3A5 tiene el potencial de aumentar la proporción de los pacientes que alcanzan las concentraciones sanguíneas deseadas de forma temprana después del trasplante (Thervet, Lorient, Barbier, Buchler, Ficheux, Choukroun, Toupance, Touchard, Alberti, le Pogamp, et al., 2010).

Los individuos homocigotos para el alelo \*1, portadores de dos alelos funcionales, son considerados como metabolizadores extensivos o expresores de CYP3A5. Los individuos heterocigotos (\*1/\*3) son portadores de un alelo funcional y uno no funcional y por lo tanto se consideran como metabolizadores intermedios y expresores de CYP3A5. En ambas situaciones, es necesario el ajuste de dosis, con el fin de lograr niveles sanguíneos óptimos que permitan una buena terapia inmunosupresora, tal como lo recomienda la actual guía clínica para dosificación de tacrolimus según genotipos de la Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) (Birdwell, Decker, Barbarino, Peterson, Stein, Sadee, Wang, Vinks, He, Swen, Leeder, van Schaik, et al., 2015).

Por otro lado, los pacientes tratados con tacrolimus no expresores de la enzima, pueden presentar riesgo de toxicidad renal y de otras reacciones adversas por la acumulación plasmática derivada de una baja actividad metabólica de CYP3A5 (Prytuła & van Gelder, 2019b). Esto se ha evidenciado en múltiples estudios que relacionan la influencia de los polimorfismos de CYP3A5 en los parámetros farmacocinéticos de la terapia inmunosupresora del trasplante renal con tacrolimus (Krall et al., 2021) (Buendía et al., 2020) (Renders et al., 2007b).

También es importante mencionar el efecto producido por las interacciones entre medicamentos, alimentos y otras sustancias que pueden actuar como inhibidores o inductores de la actividad de CYP3A5, la evidencia reportada del efecto que puede ocasionar la formulación del fármaco, así como otras variables de importancia clínica como la adherencia terapéutica entre otros (Quijada Ruelas et al.,

2020) (Riva et al., 2013b). En este sentido se retoma el hecho que la respuesta terapéutica a tacrolimus es multifactorial, por lo que el abordaje debe ser integral y complementario (Prytuła & van Gelder, 2019b). Esto se ha evidenciado en distintos estudios que asocian las variables que influyen en la respuesta farmacoterapéutica inmunosupresora y en otras áreas de relevancia clínica como los antineoplásicos (Gándara-Mireles et al., 2022), desarrollando modelos farmacocinéticos poblacionales que permiten determinar una dosis específica para un paciente específico al evaluar las variables que pueden afectar directamente los parámetros farmacocinéticos, tales como la edad, el estado nutricional, parámetros bioquímicos o la presencia de otros polimorfismos genéticos como ABCB1 (MDR1), ABCC2 (MRP2), etnicidad, entre otros (X. Chen et al., 2020) (Lu et al., 2019) (Kirubakaran et al., 2020).

Debido a la importancia clínica que representa CYP3A5 en el metabolismo de tacrolimus, (y su utilidad en el ajuste de dosis (Hamzah et al., 2014)) y de otros fármacos, el aumento evidente de casos de Enfermedad Renal Crónica, su relación con la ubicación geográfica que hace referencia a la "Nefropatía Mesoamericana" (Cerón et al., s/f), el acceso actual a la terapia de reemplazo y al conocimiento de la gran diversidad étnica de la población guatemalteca, se considera relevante la evaluación de las variantes alélicas en población más diversa que involucre individuos de distintos grupos biogeográficos guatemaltecos y recomendar la genotipificación de todos los pacientes con problemas renales; para que reciban una terapia más personalizada.

Un estudio realizado en México, demostró diferencias en las frecuencias alélicas y genotípicas de CYP3A5 en distintas poblaciones indígenas, lo cual es importante para el establecimiento de grupos de riesgo cuando estas diferencias se asocian a la respuesta terapéutica a ciertos fármacos, o bien al riesgo de algunos padecimientos (Galaviz-Hernández et al., 2020). Este estudio evidenció la ausencia de genotipos no expresores de CYP3A5 en los individuos indígenas; sin embargo, la muestra del estudio actual no incluyó la diversidad étnica necesaria, por lo que para una perspectiva futura se recomienda realizar estudios orientados a los grupos amerindios guatemaltecos.

El conocimiento de estos datos permitirá el aporte de información para su futura inclusión en la práctica clínica estableciendo el desarrollo de la medicina personalizada y de precisión en Guatemala.

## 12. Referencias

- Bertram L, K. (2009). Special Issue: KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients. *American Journal of Transplantation*, 9, S1–S155.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2009.02834.x>
- Bezerra, L. S., Santos-Veloso, M. A. O., de Oliveira, S. B. L., Dias, A. A. P., de Carvalho-Filho, Â. T., Gonzaga-Neto, P. P., & de Melo, P. S. V. (2020). Tacrolimus therapeutic efficacy in post-liver transplant patients with cytochrome P450 3A5 (CYP3A5) genetic polymorphisms. En *Revista do Colegio Brasileiro de Cirurgioes* (Vol. 47, Número 1, pp. 1–8). Colegio Brasileiro de Cirurgioes. <https://doi.org/10.1590/0100-6991e-20202384>
- Birdwell, K. A., Decker, B., Barbarino, J. M., Peterson, J. F., Stein, C. M., Sadee, W., Wang, D., Vinks, A. A., He, Y., Swen, J. J., Leeder, J. S., van Schaik, R. H. N., Thummel, K. E., Klein, T. E., Caudle, K. E., & MacPhee, I. A. M. (2015). Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 98(1), 19–24. <https://doi.org/10.1002/cpt.113>
- Birdwell, K. A., Decker, B., Barbarino, J. M., Peterson, J. F., Stein, C. M., Sadee, W., Wang, D., Vinks, A. A., He, Y., Swen, J. J., Leeder, J. S., Van Schaik, R., Thummel, K. E., Klein, T. E., Caudle, K. E., & Macphee, I. (2015). *Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing*.  
<https://doi.org/10.1002/cpt.113>
- Buendía, J. A., Halac, E., Bosaleh, A., Garcia de Davila, M. T., Invertasa, O., & Bramuglia, G. (2020). Frequency of cyp3a5 genetic polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in pediatric liver transplantation. *Pharmaceutics*, 12(9), 1–7.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12090898>
- Cano Sch, F., Rojo, A. L., & Luisa Ceballos, M. O. (2012). Volumen 83-Número 2 ACTUALIDAD CLINICAL OVERVIEW. En *Rev Chil Pediatr* (Vol. 83, Número 2).
- Cantú-Quintanilla, G. (2010). Acceso a trasplante renal de paciente fallecido en pacientes pediátricos en america latina. *Persona y Bioética*, 14(2), 151–162.
- Cerón, A., Fort, M. P., Morine, C. M., & Lou-Meda, R. (s/f). Chronic kidney disease among children in Guatemala. En *Rev Panam Salud Publica* (Vol. 36, Número 6).
- Chen, L., & Prasad, G. V. R. (2018). CYP3A5 polymorphisms in renal transplant recipients: Influence on tacrolimus treatment. En *Pharmacogenomics and Personalized Medicine* (Vol. 11, pp. 23–33). Dove Medical Press Ltd. <https://doi.org/10.2147/PGPM.S107710>
- Chen, X., Wang, D. D., Xu, H., & Li, Z. P. (2020). Initial dosage optimization of tacrolimus in Chinese pediatric patients undergoing kidney transplantation based on population pharmacokinetics and pharmacogenetics. *Expert Review of Clinical Pharmacology*, 13(5), 553–561. <https://doi.org/10.1080/17512433.2020.1767592>

- Fukuen, S., Fukuda, T., Maune, H., Ikenaga, Y., Yamamoto, I., Inaba, T., & Azuma, J. (2002). Novel detection assay by PCR-RFLP and frequency of the CYP3A5 SNPs, CYP3A5  $\tilde{A}$  3 and  $\tilde{A}$  6, in a Japanese population. En *Pharmacogenetics* (Vol. 12). Lippincott Williams & Wilkins Pharmacogenetics.
- Galaviz-Hernández, C., Lazalde-Ramos, B. P., Lares-Asseff, I., Macías-Salas, A., Ortega-Chavez, M. A., Rangel-Villalobos, H., & Sosa-Macías, M. (2020). Influence of Genetic Admixture Components on CYP3A5\*3 Allele-Associated Hypertension in Amerindian Populations From Northwest Mexico. *Frontiers in Pharmacology, 11*. <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.00638>
- Gándara-Mireles, J. A., Lares-Asseff, I., Reyes Espinoza, E. A., Fierro, I. V., Castañeda, V. L., Cordova Hurtado, L. P., González, C. D., Romero, L. P., & Reyes, H. A. (2022). Impact of single-nucleotide variants and nutritional status on population pharmacokinetics of Doxorubicin, and its effect on cardiotoxicity in children with leukemia. *Journal of Oncology Pharmacy Practice*. <https://doi.org/10.1177/10781552221117810>
- Glowacki, F., Lionet, A., Buob, D., Labalette, M., Allorge, D., Provôt, F., Hazzan, M., Noël, C., Broly, F., & Cauffiez, C. (2011). CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms in donor and recipient: Impact on Tacrolimus dose requirements and clinical outcome after renal transplantation. *Nephrology Dialysis Transplantation, 26*(9), 3046–3050. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr253>
- Guadarrama-Díaz, E. O., Inés Del Pilar García-Roca, M., Reyes-Pérez, H., & Medeiros, M. (2013). Correlación de la farmacocinética con la farmacodinamia del tacrolimus en el tratamiento de pacientes pediátricos con trasplante renal Correlation between pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in the treatment of pediatric renal transplant patients. En *Bol Med Hosp Infant Mex* (Vol. 70, Número 3).
- Halloran, P. F. (2004). Immunosuppressive Drugs for Kidney Transplantation. *New England Journal of Medicine, 351*(26), 2715–2729. <https://doi.org/10.1056/nejmra033540>
- Hamzah, S., Teh, L. K., Siew, J. S. K., Ahmad, G., Wong, H. S., Zakaria, Z. A., & Salleh, M. Z. (2014). Pharmacogenotyping of CYP3A5 in predicting dose-adjusted trough levels of tacrolimus among Malaysian kidney-transplant patients. *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology, 92*(1). <https://doi.org/10.1139/cjpp-2013-0128>
- Hannachi, I., Chadli, Z., Kerkeni, E., Kolsi, A., Hammouda, M., Chaabane, A., Ben Fredj, N., Touitou, Y., Boughattas, N. A., & Aouam, K. (2021). Influence of CYP3A polymorphisms on tacrolimus pharmacokinetics in kidney transplant recipients. *Pharmacogenomics Journal, 21*(1), 69–77. <https://doi.org/10.1038/s41397-020-00179-4>
- Htun, Y. Y., Than, N. N., & Swe, H. K. (2020). Effect of cytochrome P450 3A5 polymorphism on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Korean Journal of Transplantation, 34*(1). <https://doi.org/10.4285/kjt.2020.34.1.24>
- Kirubakaran, R., Stocker, S. L., Hennig, S., Day, R. O., & Carland, J. E. (2020). Population Pharmacokinetic Models of Tacrolimus in Adult Transplant Recipients: A Systematic Review. En *Clinical Pharmacokinetics* (Vol. 59, Número 11, pp. 1357–1392). Adis. <https://doi.org/10.1007/s40262-020-00922-x>

- Krall, P., Yañez, D., Rojo, A., Delucchi, Á., Córdova, M., Morales, J., Boza, P., de la Rivera, A., Espinoza, N., Armijo, N., Castañeda, L. E., Farfán, M. J., & Salas, C. (2021). CYP3A5 and UGT1A9 Polymorphisms Influence Immunosuppressive Therapy in Pediatric Kidney Transplant Recipients. *Frontiers in Pharmacology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.653525>
- Lamba, J., Hebert, J. M., Schuetz, E. G., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2012a). *PharmGKB summary: very important pharmacogene information for CYP3A5*. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328351d47f>
- Lamba, J., Hebert, J. M., Schuetz, E. G., Klein, T. E., & Altman, R. B. (2012b). PharmGKB summary: Very important pharmacogene information for CYP3A5. *Pharmacogenetics and Genomics*, 22(7), 555–558. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e328351d47f>
- Lee, F. Y., Islahudin, F., Nasiruddin, A. Y. A., Gafor, A. H. A., Wong, H. S., Bavanandan, S., Saffian, S. M., Redzuan, A. M., Tahir, N. A. M., & Makmor-Bakry, M. (2021). Effects of CYP3A5 polymorphism on rapid progression of chronic kidney disease: A prospective, multicentre study. *Journal of Personalized Medicine*, 11(4). <https://doi.org/10.3390/jpm11040252>
- Li, H., & Lampe, J. N. (2019). Neonatal cytochrome P450 CYP3A7: A comprehensive review of its role in development, disease, and xenobiotic metabolism. En *Archives of Biochemistry and Biophysics* (Vol. 673). <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.108078>
- Lou-Meda, R. (2011). Prevention of CKD in Guatemala. *Clinical Nephrology*, 74 Suppl 1. <https://doi.org/10.5414/cnp74s126>
- Lu, Z., Bonate, P., & Keirns, J. (2019). Population pharmacokinetics of immediate- and prolonged-release tacrolimus formulations in liver, kidney and heart transplant recipients. *British Journal of Clinical Pharmacology*, 85(8), 1692–1703. <https://doi.org/10.1111/bcp.13952>
- Min, S. Il, Kim, S. Y., Ahn, S. H., Min, S. K., Kim, S. H., Kim, Y. S., Moon, K. C., Oh, J. M., Kim, S. J., & Ha, J. (2010a). CYP3A5 \*1 allele: Impacts on early acute rejection and graft function in tacrolimus-based renal transplant recipients. *Transplantation*, 90(12), 1394–1400. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181fa93a4>
- Min, S. il, Kim, S. Y., Ahn, S. H., Min, S. K., Kim, S. H., Kim, Y. S., Moon, K. C., Oh, J. M., Kim, S. J., & Ha, J. (2010b). CYP3A5 \*1 allele: Impacts on early acute rejection and graft function in tacrolimus-based renal transplant recipients. *Transplantation*, 90(12), 1394–1400. <https://doi.org/10.1097/TP.0b013e3181fa93a4>
- Muller, W. K., Dandara, C., Manning, K., Mhandire, D., Ensor, J., Barday, Z., & Freercks, R. (2020a). CYP3A5 polymorphisms and their effects on tacrolimus exposure in an ethnically diverse South African renal transplant population. *South African Medical Journal*, 110(2), 159–166. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.2020.v110i2.13969>
- Muller, W. K., Dandara, C., Manning, K., Mhandire, D., Ensor, J., Barday, Z., & Freercks, R. (2020b). CYP3A5 polymorphisms and their effects on tacrolimus exposure in an ethnically

- diverse South African renal transplant population. *South African Medical Journal*, 110(2), 159–166. <https://doi.org/10.7196/SAMJ.2020.v110i2.13969>
- Oscanoa, T. J., & Amado-Tineo, J. (2022). Metodología de investigación en Farmacogenética: estudios de casos y controles. *ACTA MEDICA PERUANA*, 39(2). <https://doi.org/10.35663/amp.2022.392.2346>
- Provenzani, A., Santeusano, A., Mathis, E., Notarbartolo, M., Labbozzetta, M., Poma, P., Provenzani, A., Polidori, C., Vizzini, G., Polidori, P., & D'Alessandro, N. (2013). Pharmacogenetic considerations for optimizing tacrolimus dosing in liver and kidney transplant patients. *World Journal of Gastroenterology*, 19(48), 9156–9173. <https://doi.org/10.3748/wjg.v19.i48.9156>
- Prytuła, A., & van Gelder, T. (2019a). Clinical aspects of tacrolimus use in paediatric renal transplant recipients. En *Pediatric Nephrology* (Vol. 34, Número 1, pp. 31–43). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-3892-8>
- Prytuła, A., & van Gelder, T. (2019b). Clinical aspects of tacrolimus use in paediatric renal transplant recipients. En *Pediatric Nephrology* (Vol. 34, Número 1, pp. 31–43). Springer Verlag. <https://doi.org/10.1007/s00467-018-3892-8>
- Quijada Ruelas, A. I., Sotelo Quiñonez, T. I., Garcia Flores, R., Campos Rivera, N. H., & Acosta Quiroz, C. O. (2020). Intervención telefónica para mejorar adherencia terapéutica en niños con enfermedad renal. *Horizonte Sanitario*, 19(2), 255–264. <https://doi.org/10.19136/hs.a19n2.3650>
- Quijada-Ruelas, A. I., Sotelo-Quíñonez, T. I., García-Flores, R., Campos-Rivera, N. H., & Acosta-Quiroz, C. O. (2020). Telephone intervention to improve therapeutic adherence in children with kidney disease. *Horizonte sanitario*, 19(2), 255–264. <https://doi.org/10.19136/hs.a19n2.3650>
- Renders, L., Frisman, M., Ufer, M., Mosyagin, I., Haenisch, S., Ott, U., Caliebe, A., Dechant, M., Braun, F., Kunzendorf, U., & Cascorbi, I. (2007a). CYP3A5 genotype markedly influences the pharmacokinetics of tacrolimus and sirolimus in kidney transplant recipients. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 81(2), 228–234. <https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100039>
- Renders, L., Frisman, M., Ufer, M., Mosyagin, I., Haenisch, S., Ott, U., Caliebe, A., Dechant, M., Braun, F., Kunzendorf, U., & Cascorbi, I. (2007b). CYP3A5 genotype markedly influences the pharmacokinetics of tacrolimus and sirolimus in kidney transplant recipients. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 81(2), 228–234. <https://doi.org/10.1038/sj.clpt.6100039>
- Riva, N., Cáceres Guido, P., Rousseau, M., Dip, M., Monteverde, M., Inventarza, O., Mato, G., & Schaiquevich, P. (2013a). Farmacovigilancia de inhibidores de calcineurina en trasplante renal y hepático pediátrico. *Farmacia Hospitalaria*, 37(6), 441–449. <https://doi.org/10.7399/FH.2013.37.6.778>
- Riva, N., Cáceres Guido, P., Rousseau, M., Dip, M., Monteverde, M., Inventarza, O., Mato, G., & Schaiquevich, P. (2013b). Farmacovigilancia de inhibidores de calcineurina en trasplante renal y hepático pediátrico. *Farmacia Hospitalaria*, 37(6), 441–449. <https://doi.org/10.7399/FH.2013.37.6.778>

- Rodríguez González, M. J., Idania, D., & Guerra, R. (2014). El sistema citocromo P450 y el metabolismo de xenobióticos Cytochrome P450 system and xenobiotic metabolism. En *Revista Cubana de Farmacia* (Vol. 48, Número 2).
- Rojas, L., Neumann, I., Herrero, M. J., Bosó, V., Reig, J., Poveda, J. L., Megías, J., Bea, S., & Aliño, S. F. (2015). Effect of CYP3A5\*3 on kidney transplant recipients treated with tacrolimus: A systematic review and meta-analysis of observational studies. En *Pharmacogenomics Journal* (Vol. 15, Número 1). <https://doi.org/10.1038/tpj.2014.38>
- S, S., N, G., & R Nair, R. (2016). Pharmacogenomics of CYP3A5 Polymorphism: Predicting Dose-adjusted Trough Levels of Tacrolimus in South Indian Renal Transplant Patients. *Journal of Pharmacogenomics & Pharmacoproteomics*, 7(3). <https://doi.org/10.4172/2153-0645.1000161>
- Tang, H. L., Xie, H. G., Yao, Y., & Hu, Y. F. (2011). Lower tacrolimus daily dose requirements and acute rejection rates in the CYP3A5 nonexpressers than expressers. *Pharmacogenetics and Genomics*, 21(11), 713–720. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e32834a48ca>
- Tavira, B., Coto, E., Diaz-Corte, C., Alvarez, V., López-Larrea, C., & Ortega, F. (2013). A search for new CYP3A4 variants as determinants of tacrolimus dose requirements in renal-transplanted patients. *Pharmacogenetics and Genomics*, 23(8), 445–448. <https://doi.org/10.1097/FPC.0b013e3283636856>
- Tavira, B., Díaz-Corte, C., Coronel, D., Ortega, F., & Coto, E. (2014). Farmacogenética del tacrolimus: ¿del laboratorio al paciente? *Nefrología*, 34(1), 11–17. <https://doi.org/10.3265/Nefrologia.pre2013.Nov.12267>
- Thervet, E., Lorient, M. A., Barbier, S., Buchler, M., Ficheux, M., Choukroun, G., Toupance, O., Touchard, G., Alberti, C., Le Pogamp, P., Moulin, B., Le Meur, Y., Heng, A. E., Subra, J. F., Beaune, P., & Legendre, C. (2010). Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 87(6), 721–726. <https://doi.org/10.1038/clpt.2010.17>
- Thervet, E., Lorient, M. A., Barbier, S., Buchler, M., Ficheux, M., Choukroun, G., Toupance, O., Touchard, G., Alberti, C., le Pogamp, P., Moulin, B., le Meur, Y., Heng, A. E., Subra, J. F., Beaune, P., & Legendre, C. (2010). Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 87(6), 721–726. <https://doi.org/10.1038/clpt.2010.17>
- Wesseling, C., Crowe, J., Hogstedt, C., Jakobsson, K., Lucas, R., & Wegman, D. H. (2013). The epidemic of chronic kidney disease of unknown etiology in Mesoamerica: A call for interdisciplinary research and action. *American Journal of Public Health*, 103(11), 1927–1930. <https://doi.org/10.2105/AJPH.2013.301594>

## 13. Apéndices

### 13.1 Apéndice 1: Fotografías

#### 13.1.1 Lectura y explicación de consentimiento informado a pacientes



Nombre del archivo: consentimiento.individual.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: Lectura y explicación de consentimiento informado a pacientes menores de edad de manera individual, en acompañamiento de sus padres o tutores legales.

Lugar: Clínica Fundación para el Niño Enfermo Renal-FUNDANIER- Ciudad de Guatemala



Nombre del archivo: explicacion.consentimiento.grupal.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: Lectura y explicación de consentimiento informado a pacientes menores de edad de manera individual, en acompañamiento de sus padres o tutores legales.

Lugar: Sala de espera Fundación para el Niño Enfermo Renal-FUNDANIER- Ciudad de Guatemala

## 13.1.2 Toma de muestras



Nombre del archivo: toma.muestra.primer.hisopo.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: Apertura de primer hisopo estéril para recolección de muestra en presencia de su padre o tutor legal.

Lugar: Clínica Fundación para el Niño Enfermo Renal-FUNDANIER- Ciudad de Guatemala



Nombre del archivo: toma.muestra.segundo.hisopo.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: Apertura de segundo hisopo estéril para recolección de muestra en paciente mayor de edad.

Lugar: Clínica Fundación para el Niño Enfermo Renal-FUNDANIER- Ciudad de Guatemala

## 13.1.3 Proceso de Extracción de ADN



Nombre del archivo: extraccion.unifarmagen.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: Extracción de ADN en instalaciones de UNIFARMAGEN para verificar la metodología a emplear al momento de recolectar las muestras de los pacientes.

Lugar: Instalaciones de la Unidad de Investigación Farmacogenéticas y Farmacogenómicas-UNIFARMAGEN-



Nombre del archivo: extraccion.unifarmagen.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: Extracción de ADN en muestras de pacientes

Lugar: Instalaciones de la Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios

## 13.1.3 Proceso de cuantificación de ADN



Nombre del archivo: cuantificacion.unifarmagen.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: cuantificación de ADN para verificar el método a utilizar en instalaciones UNIFARMAGEN

Lugar: Instalaciones Unidad de investigaciones farmacogenéticas y farmacogenómicas.

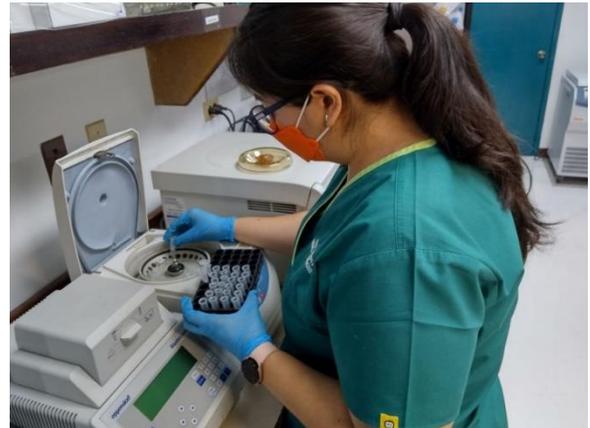
Nombre del archivo:

preparacionmx.pacientes.jpg

Créditos del Autor: O.Sandoval

Descripción: preparación de ADN extraído de pacientes para su cuantificación.

Lugar: Instalaciones de Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios



Nombre del archivo: cuantificacion.pacientes.jpg

Créditos del Autor: O. Sandoval

Descripción: cuantificación de ADN muestras de pacientes

Lugar: Instalaciones de Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios

## 13.1.5 Proceso de Preparación de mix de amplificación y digestión enzimática



Nombre del archivo: mastermix.O.Sandoval.jpg  
Créditos del Autor: O.Sandoval  
Descripción: Realización de cálculos y pipeteo para preparación de master mix de amplificación y digestión enzimática  
Lugar: Instalaciones Unidad de investigaciones farmacogenéticas y farmacogenómicas- UNIFARMAGEN-



Nombre del archivo: termociclador.ciclos.digestion.jpg  
Créditos del Autor: O.Sandoval  
Descripción: Directora de la Unidad de Investigación explica y programa ciclos de digestión propuestos para el método.  
Lugar: Instalaciones Unidad de investigaciones farmacogenéticas y farmacogenómicas- UNIFARMAGEN-



Nombre del archivo: verificacion.mastermix.jpg  
Créditos del Autor: O.Sandoval  
Descripción: Investigadora realiza cálculos y prepara el master mix propuesto.  
Lugar: Instalaciones Unidad de investigaciones farmacogenéticas y farmacogenómicas- UNIFARMAGEN-



Nombre del archivo: uso.protocolo.termociclador.jpg  
Créditos del Autor: O.Sandoval  
Descripción: Auxiliar de investigación utiliza protocolo de digestión, previamente programado por la Directora de la Unidad para este método.  
Lugar: Instalaciones Unidad de investigaciones farmacogenéticas y farmacogenómicas- UNIFARMAGEN-



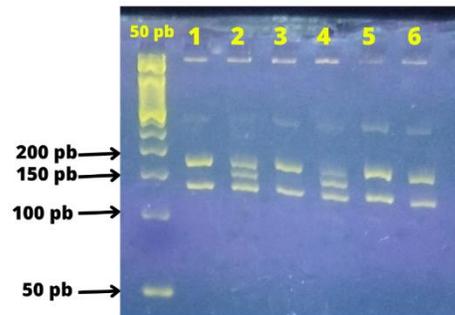
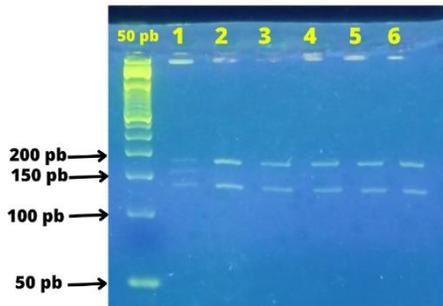
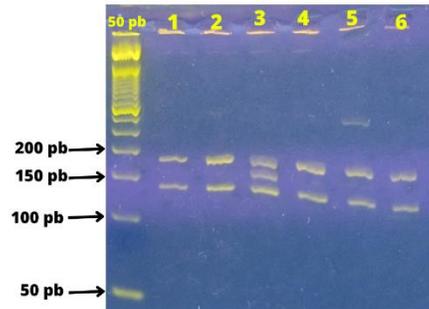
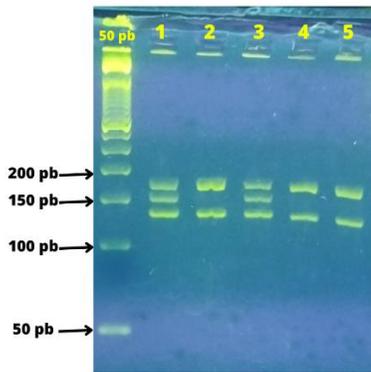
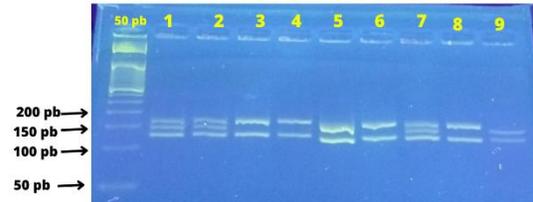
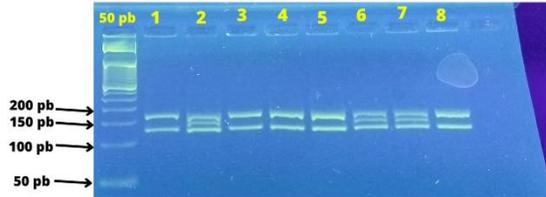
Nombre del archivo: verificacion.digestion.jpg  
Créditos del Autor: O.Sandoval  
Descripción: Investigadora prepara muestras para someterlas a digestión con el método propuesto.  
Lugar: Instalaciones Unidad de investigaciones farmacogenéticas y farmacogenómicas- UNIFARMAGEN-

## 13.1.6 Preparación de geles de agarosa para electroforesis



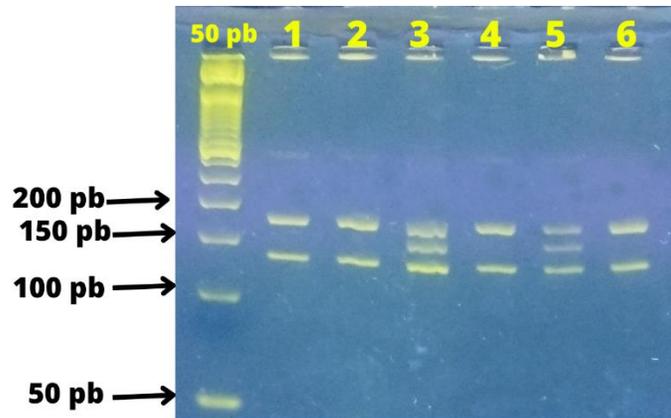
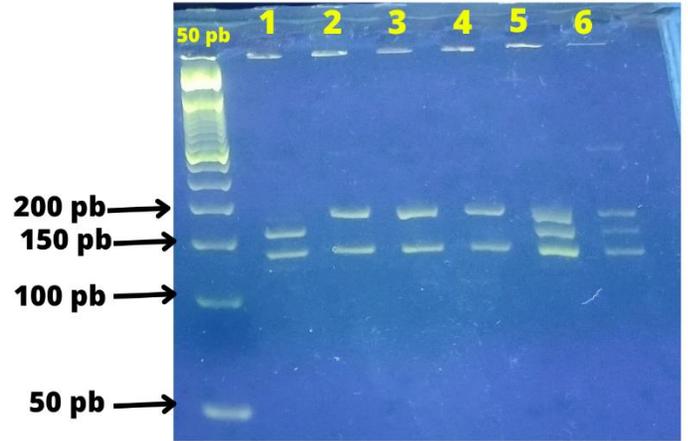
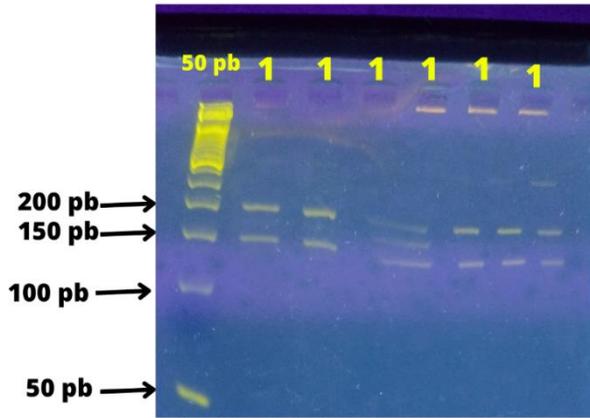
Nombre del archivo: geles.agarosa.jpg  
Créditos del Autor: O.Sandoval  
Descripción: Auxiliar de investigación prepara gel de agarosa al 3% p/v con ayuda de un microondas.  
Lugar: Instalaciones de Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios

## 13.2 Apéndice 2: Fotografías de geles de electroforesis PCR-RFLP



# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-



## 13.3 Apéndice 3: Resultados de diplotipos y fenotipos metabolizadores de pacientes FUNDANIER

Número	CÓDIGO PACIENTE	Diplotipo	Fenotipo metabolizador CYP3A5
01	OG-01	*3/*3	Metabolizador Pobre
02	OR-02	*1/*3	Metabolizador Intermedio
03	RR-03	*1/*3	Metabolizador Intermedio
04	SM-04	*1/*3	Metabolizador Intermedio
05	BG-05	*3/*3	Metabolizador Pobre
06	EH-06	*3/*3	Metabolizador Pobre
07	JH-07	*1/*1	Metabolizador Extensivo
08	IP-08	*3/*3	Metabolizador Pobre
09	LP-09	*1/*3	Metabolizador Intermedio
10	AV-10	*1/*3	Metabolizador Intermedio
11	MF-11	*3/*3	Metabolizador Pobre
12	NA-12	*3/*3	Metabolizador Pobre
13	MA-13	*3/*3	Metabolizador Pobre
14	VG-14	*1/*3	Metabolizador Intermedio
15	ET-15	*1/*3	Metabolizador Intermedio
16	WR-16	*3/*3	Metabolizador Pobre
17	DO-17	*3/*3	Metabolizador Pobre
18	SA-18	*3/*3	Metabolizador Pobre
19	TS-19	*1/*3	Metabolizador Intermedio
20	SS-20	*1/*3	Metabolizador Intermedio
21	KS-21	*3/*3	Metabolizador Pobre
22	AB-22	*1/*3	Metabolizador Intermedio
23	MC-23	*1/*3	Metabolizador Intermedio
24	RM-24	*3/*3	Metabolizador Pobre
25	NR-25	*3/*3	Metabolizador Pobre
26	HC-26	*1/*1	Metabolizador Extensivo
27	GM-27	*3/*3	Metabolizador Pobre
28	GR-28	*1/*3	Metabolizador Intermedio
29	AL-29	*3/*3	Metabolizador Pobre
30	KM-30	*1/*1	Metabolizador Extensivo
31	JR-31	*1/*3	Metabolizador Intermedio
32	OG-32	*3/*3	Metabolizador Pobre
33	FD-33	*1/*3	Metabolizador Intermedio
34	LO-34	*3/*3	Metabolizador Pobre

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

35	DM-35	*3/*3	Metabolizador Pobre
36	JP-36	*3/*3	Metabolizador Pobre
37	CA-37	*3/*3	Metabolizador Pobre
38	DP-38	*1/*3	Metabolizador Intermedio
39	BR-39	*3/*3	Metabolizador Pobre
40	YY-40	*3/*3	Metabolizador Pobre
41	JM-41	*3/*3	Metabolizador Pobre
42	HP-42	*1/*3	Metabolizador Intermedio
43	EG-43	*3/*3	Metabolizador Pobre
44	GR-44	*3/*3	Metabolizador Pobre
45	GG-45	*3/*3	Metabolizador Pobre
46	EC-46	*3/*3	Metabolizador Pobre
47	JM-47	*3/*3	Metabolizador Pobre
48	JN-48	*3/*3	Metabolizador Pobre
49	CC-49	*1/*3	Metabolizador Intermedio
50	CS-50	*3/*3	Metabolizador Pobre
51	LG-51	*1/*3	Metabolizador Intermedio
52	JY-52	*3/*3	Metabolizador Pobre
53	FS-53	*3/*3	Metabolizador Pobre
54	JM-54	*3/*3	Metabolizador Pobre
55	AO-55	*3/*3	Metabolizador Pobre
56	JC-56	*1/*3	Metabolizador Intermedio
57	GF-57	*3/*3	Metabolizador Pobre
58	EQ-58	*3/*3	Metabolizador Pobre
59	WA-59	*3/*3	Metabolizador Pobre
60	YC-60	*1/*1	Metabolizador Extensivo
61	DM-61	*3/*3	Metabolizador Pobre
62	EG-62	*3/*3	Metabolizador Pobre
63	AL-63	*3/*3	Metabolizador Pobre
64	DS-64	*1/*3	Metabolizador Intermedio
65	JA-65	*1/*3	Metabolizador Intermedio
66	KR-66	*3/*3	Metabolizador Pobre
67	JV-67	*3/*3	Metabolizador Pobre
68	PC-68	*1/*3	Metabolizador Intermedio
69	GO-69	*3/*3	Metabolizador Pobre
70	SC-70	*1/*3	Metabolizador Intermedio
71	HG-71	*3/*3	Metabolizador Pobre

## 14. Aspectos éticos y legales

El protocolo fue aprobado por el Comité de Ética Independiente del Hospital Roosevelt. Los pacientes fueron abordados mediante un consentimiento y asentimiento informado.

Se garantizó resguardo de la información y ningún dato personal fue expuesto. Toda la información se almacenó bajo custodia de los investigadores en las instalaciones del Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios.

## 15. Vinculación

Esta investigación se vincula con las siguientes entidades:

1. Fundanier (Fundación para Niños con Enfermedades Renales), Hospital Roosevelt, Guatemala.
2. Laboratorio de Inmunología del Servicio de Trasplante Renal del Hospital San Juan de Dios.
3. Unidad de Investigaciones en Farmacogenética y Farmacogenómica de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC
4. Emprendimiento Biofarn. S.A.
5. Servicio de Consulta Terapéutica y Toxicológica SECOTT, Subprograma de Farmacia Hospitalaria, Programa EDC, Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia, USAC.
6. Red Latinoamericana de Implementación y Validación de Guías Clínicas y Farmacogenómicas (RELIVAF), a través del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED bajo el código de proyecto 219RT0572.
7. Sociedad Latinoamericana de Farmacogenómica y Medicina Personalizada (SOLFAGEM)
8. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social de Guatemala

## 16. Estrategia de difusión, divulgación y protección intelectual

Presentación de resultados finales en Fundanier (Fundación para Niños con Enfermedades Renales), Hospital Roosevelt, Guatemala.

Conferencia titulada: “APLICACIÓN DE PCR-RFLP EN FARMACOGENÉTICA” dirigida a estudiantes y profesionales organizada por la Unidad de Investigaciones en Farmacogenética y Farmacogenómica UNIFARMAGEN, de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

Organización de conferencia de presentación de resultados en Hospital Roosevelt dirigida a médicos, miembros del Subcomité de Farmacovigilancia y demás personal de salud.

Publicaciones científicas orientadas a la perspectiva de la necesidad de generar investigación farmacogenética en Guatemala, se pretende publicar en una revista indizada por parte de todos los integrantes del equipo de investigación.

Participación en presentaciones orales, sesiones póster y demás actividades científicas en congresos nacionales e internacionales de los resultados parciales o totales.

Socialización a través de la Red Latinoamericana de Implementación y Validación de Guías Clínicas y Farmacogenómicas (RELIVAF), a través del Programa Iberoamericano de Ciencia y Tecnología para el Desarrollo CYTED.

## 17. Aporte de la propuesta de investigación a los ODS:

Esta investigación aporta nuevos conocimientos en el abordaje de pacientes beneficiados con trasplante renal, que permitirán mejorar a futuro de forma significativa el tratamiento farmacológico al incluir la práctica de la farmacogenética, considerando que estos pacientes requieren necesidades especiales de atención debido a la naturaleza y complejidad de la enfermedad y a la escasez de opciones terapéuticas, sin dejar atrás los costos que representan las complicaciones derivadas de la no optimización del tratamiento.

En este sentido, esta investigación contribuye al avance del cumplimiento de las 10 Prioridades Nacionales de Desarrollo del Plan Nacional de Desarrollo K'atun, Nuestra Guatemala 2032, específicamente la Prioridad de Acceso a Servicios de Salud, en el objetivo de desarrollo sostenible 3 (ODS 3), que indica: “Garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades”, esto a su vez a través de las metas 3.4: “Para 2030, reducir en un tercio la mortalidad prematura por enfermedades no transmisibles mediante la prevención y el tratamiento.” y la meta 3.b.: “Apoyar las actividades de investigación y desarrollo de vacunas y medicamentos para las enfermedades transmisibles y no transmisibles que afectan primordialmente a los países en desarrollo y facilitar el acceso a medicamentos”.

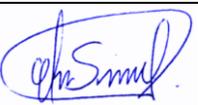
Considerando que la enfermedad renal crónica es una de las patologías que mas afectan a la población guatemalteca, con un riesgo mayor atribuido a la región mesoamericana y que el

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

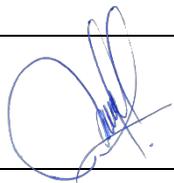
trasplante renal se ha constituido en la terapia óptima en pacientes pediátricos y adultos, se considera que esta investigación responde a los objetivos antes planteados.

## 18. Orden de pago final

Nombres y apellidos	Categoría (investigador /auxiliar)	Registro de personal	Procede pago de mes (Sí / No)	Firma
Lesly Yanira Xajil Ramos	Coordinador de Proyecto	20160165	SI	
Aylin Evelyn Santizo Juárez	Investigador Titular VI	20000720	No	
Olga Beatriz Sandoval Ochoa	Auxiliar de investigación II	20220651	No	

## 19. Declaración del Coordinador(a) del proyecto de investigación

El Coordinador de proyecto de investigación con base en el *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación*, artículos 13 y 20, deja constancia que el personal contratado para el proyecto de investigación que coordina ha cumplido a satisfacción con la entrega de informes individuales por lo que es procedente hacer efectivo el pago correspondiente.

Lesly Yanira Xajil Ramos	
Fecha: 20 febrero 2023	

## 20. Aval del Director(a) del instituto, centro o departamento de investigación o Coordinador de investigación del centro regional universitario

De conformidad con el artículo 13 y 19 del *Reglamento para el desarrollo de los proyectos de investigación financiados por medio del Fondo de Investigación* otorgo el aval al presente informe final de las actividades realizadas en el proyecto “Frecuencia de polimorfismos genéticos de CYP3A5 en pacientes guatemaltecos receptores de trasplante renal en terapia inmunosupresora con

# Informe final proyecto de investigación 2022

Dirección General de Investigación –DIGI-

*tacrolimus*” en mi calidad de *Director del Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas IIQB*, mismo que ha sido revisado y cumple su ejecución de acuerdo a lo planificado.

<b>Vo.Bo Dra. María Eunice Enríquez Cotón</b> <b>Directora</b> <b>Instituto de Investigaciones Químicas y Biológicas IIQB</b>	<b>Firma</b>   Dra. María Eunice Enríquez Cottón Directora
<b>Fecha: 20/02/2023</b>	

## 21. Visado de la Dirección General de Investigación

<b>Vo.Bo. Dra. Hilda Elena Valencia de Abril</b> <b>Coordinadora del Programa Universitario de</b> <b>Investigación Interdisciplinaria en Salud</b>	<b>Firma</b> 
<b>Fecha: 20/02/2023</b>	

<b>Vo.Bo. Ing. Agr. MARN Julio Rufino Salazar</b> <b>Coordinador General de Programas Universitarios</b> <b>de Investigación</b>	<b>Firma</b>  Ing. MARN Julio Rufino Salazar Pérez Coordinador General de programas de Investigación, Digi-Usac
<b>Fecha: 20/02/2023</b>	