



ORIGINAL

## Análisis farmacogenético de la cinética de absorción de ciclosporina en una población española de pacientes trasplantados cardíacos

B. Isla Tejera<sup>a,\*</sup>, M.D. Aumente Rubio<sup>a</sup>, J. Martínez-Moreno<sup>b</sup>, M. Reyes Malia<sup>a</sup>, J.M. Arizón<sup>c</sup> y A. Suárez García<sup>d</sup>

<sup>a</sup>Servicio de Farmacia Hospitalaria, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España

<sup>b</sup>Unidad de Investigación-Fundación Investigación Biomédica de Córdoba (FIBICO), Córdoba, España

<sup>c</sup>Servicio de Cardiología, Hospital Universitario Reina Sofía, Córdoba, España

<sup>d</sup>Departamento de Bioquímica, Facultad de Farmacia, Universidad de Granada, Granada, España

Recibido el 4 de marzo de 2009; aceptado el 28 de julio de 2009

### PALABRAS CLAVE

Farmacogenética;  
Trasplante cardíaco;  
Ciclosporina;  
Farmacocinética

### Resumen

**Objetivo:** Determinar el papel de polimorfismos de nucleótido único localizados en los genes *MDR1*, *CYP3A4* y *CYP3A5* sobre la cinética de absorción de ciclosporina en pacientes trasplantados cardíacos.

**Método:** Se seleccionó una muestra de 30 pacientes adultos sometidos a un primer trasplante de corazón que habían recibido ciclosporina como tratamiento inmunosupresor. En el primer mes después del trasplante se realizó un estudio farmacocinético a cada paciente para determinar los valores del área de concentración de ciclosporina bajo la curva de 12 h, concentración de ciclosporina en estado de equilibrio, concentración de ciclosporina máxima y el tiempo en alcanzar dicha concentración. En todos los pacientes se genotipificaron los polimorfismos de nucleótido único: *MDR1* 3435C > T, *CYP3A4*-390A > G y *CYP3A5* 6986A > G.

**Resultados:** Ser portador del alelo T para el polimorfismo *MDR1* 3435C > T se asoció a valores mayores de área de concentración de ciclosporina bajo la curva de 12 h ( $p = 0,01$ ) y de concentración de ciclosporina en estado de equilibrio ( $p = 0,05$ ), en comparación con los pacientes no portadores de dicho alelo.

**Discusión:** Nuestros resultados muestran que las diferencias genotípicas de *MDR1* 3435C > T podrían explicar parte de la variabilidad interindividual en la absorción de la ciclosporina en la población española de trasplantados cardíacos.

© 2009 SEFH. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

\*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: beatrizislatj@gmail.com (B. Isla Tejera).

#### KEYWORDS

Pharmacogenetics;  
Cardiac transplant;  
Cyclosporine;  
Pharmacokinetics

### Pharmacogenetic analysis of the absorption kinetics of cyclosporine in a population of Spanish cardiac transplant patients

#### Abstract

**Objective:** To determine how single nucleotide polymorphisms located on genes *MDR1*, *CYP3A4* and *CYP3A5* affect the absorption kinetics of cyclosporine in cardiac transplant patients.

**Method:** We selected a sample of 30 adult patients having previously undergone a primary cardiac transplant and who had received cyclosporine as an immunosuppressant. During the first month after the transplant, we performed a pharmacokinetic study of each patient to determine values in the cyclosporine concentration area under the 12-hour curve, steady-state cyclosporine concentration, maximum cyclosporine concentration, and time to reach that concentration. Single nucleotide polymorphisms were genotyped in all patients: *MDR1* 3435C > T, *CYP3A4*-390A > G and *CYP3A5* 6986A > G.

**Results:** Being a carrier of the T-allele for polymorphism *MDR1* 3435C > T is associated with higher values in the cyclosporine concentration area under the 12-hour curve ( $p = 0.01$ ) and in steady-state cyclosporine concentration ( $p = 0.05$ ), compared with those from patients who do not carry that allele.

**Discussion:** Our results show that genotype differences in *MDR1* 3435C > T can explain part of the variability in cyclosporine absorption among individuals in the population of Spanish cardiac transplant recipients.

© 2009 SEFH. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

## Introducción

El trasplante cardíaco continúa siendo el tratamiento definitivo en pacientes con insuficiencia cardíaca terminal. La ciclosporina A (CsA) es uno de los fármacos empleados con más frecuencia para evitar el rechazo en este tipo de enfermos. Su farmacocinética, al igual que la de otros inhibidores de la calcineurina, se caracteriza por presentar una biodisponibilidad oral generalmente pobre, muy variable e impredecible, y una gran variabilidad interindividual en el metabolismo de primer paso y el aclaramiento sistémico<sup>1</sup>. Desde hace unos años se conoce que gran parte de dicha variabilidad se debe a las diferencias de actividad en la glucoproteína P-gp, *CYP3A4* y *CYP3A5*<sup>2</sup>.

El producto del gen *MDR1* (*ABCB1*) es la glucoproteína P-gp, perteneciente a la familia de transportadores de membrana ABC (subfamilia B). Su actividad, dependiente de ATP, consiste en hacer de bomba para una gran diversidad de sustancias tanto endógenas como exógenas, incluidos los fármacos inmunosupresores utilizados en pacientes trasplantados cardíacos, como los inhibidores de la calcineurina, sirolimus y corticosteroides, de tal modo que elimina estos fármacos del citoplasma y los envía al espacio extracelular<sup>3</sup>.

La familia enzimática CYP está constituida por más de 50 isoenzimas causales del metabolismo oxidativo de muchos compuestos endógenos y exógenos<sup>4</sup>. La subfamilia CYP3A, que representa la mayoría de las proteínas CYP en el hígado humano, metaboliza más del 50% de todos los fármacos utilizados en la actualidad<sup>5</sup>. Está constituida por las isoenzimas *CYP3A4*, *CYP3A5*, *CYP3A7* y *CYP3A43*. *CYP3A4* y *CYP3A5* tienen un perfil de especificidad por sustratos muy similar y son, cuantitativamente, las formas más importantes de esta subfamilia.

En los últimos años se han publicado diversos estudios sobre el efecto que el genotipo de polimorfismos de nucleóti-

do único (SNP) de los genes *MDR1*, *CYP3A4* y *CYP3A5* podría tener en la función de las proteínas que codifican y, por lo tanto, en la farmacocinética de la CsA. A pesar de las evidencias acumuladas en este tiempo, continúa habiendo discrepancias en la interpretación clínica de los resultados de dichos trabajos<sup>6</sup>. Uno de los factores que podría explicarlas es el origen étnico tan diverso de las poblaciones en las que se han llevado a cabo los diferentes estudios. El contexto genético de cada población es un factor de confusión que introduce grandes diferencias en las frecuencias poblacionales de los alelos de estos SNP, lo que hace difícil extrapolar al contexto de la población española los resultados obtenidos en otras poblaciones genéticamente distantes de la nuestra.

Dado que, hasta el momento, no hay ningún estudio de este tipo realizado en pacientes de nuestro entorno, nos propusimos en este trabajo determinar el papel de *MDR1* 3435C > T, *CYP3A4*-390A > G y *CYP3A5* 6986A > G en la cinética de absorción de CsA en una población española de adultos trasplantados cardíacos.

## Métodos

### Población

Se incluyó en el estudio un total de 30 pacientes de origen caucásico (23 varones y 7 mujeres) que tenían una media  $\pm$  desviación estándar de edad de  $43 \pm 14$  (18-67) años cuando se sometieron a un primer trasplante cardíaco ortotópico en el Hospital Universitario Reina Sofía (Córdoba). Todos los pacientes recibieron tratamiento con CsA, junto con corticoides, micofenolato de mofetilo o azatioprina y everolimus o sirolimus, asociado o no a tratamiento inductor con basiliximab o ATG. El tratamiento con CsA se comen-

zó en las primeras 24 h siguientes al trasplante a dosis de 4 mg/kg/día dividida en dos tomas. Después, la dosis fue ajustada para alcanzar un rango terapéutico recomendado para la concentración predosis de CsA (CO) de 200-400 ng/ml durante el primer mes tras el trasplante.

### Genotipificación

La genotipificación de cada SNP se realizó mediante *polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism* (PCR-RFLP). Se utilizó para cada reacción de PCR 300 ng de ADN genómico, 0,2 µl de Taq polimerasa 5 U/µl, 2 µl de PCR Buffer 10x sin Mg<sup>2+</sup>, 1,6 µl de MgCl<sub>2</sub> 25 mmol, 1,6 µl de dNTPs 2 mmol (Dominion MBL, Córdoba, España) y 1 µl (15 pmol/µl) de cada cebador (Isogen Life Bioscience BV, Maarsse, Países Bajos), todo ello en un volumen final de 20 µl de H<sub>2</sub>O. En la tabla 1 se muestran las secuencias de los cebadores utilizados para cada SNP. Los productos obtenidos en cada PCR fueron sometidos a digestión con una enzima de restricción, separados mediante electroforesis no desnaturante en gel de agarosa al 2% y, finalmente, visualizados en el transiluminador ultravioleta Gel Printer Plus (Tecnología para Diagnóstico e Investigación S.A., Madrid, España).

#### MDR1 3435C > T

El ADN se desnaturizó a 94 °C durante 5 min, seguido de 40 ciclos consistentes cada uno de una primera fase de desnaturalización (94 °C, 35 s), otra de alineamiento (56 °C, 35 s) y finalmente una de elongación (72 °C, 40 s), con una extensión final de 7 min a 72 °C. A continuación, 10 µl del producto obtenido de la PCR se sometieron a digestión con 10 U de la enzima de restricción Mbol y 2 µl 10x Buffer R (Fermentas, Madison, Estados Unidos) en un volumen final de 30 µl durante 16 h a 37 °C. Los fragmentos de digestión correspondían a los genotipos TT (390pb), CT (390pb + 230pb + 160pb) y CC (230pb + 160pb).

#### CYP3A4-290A > G

Se desnaturizó en ADN de la muestra a 94 °C durante 5 min, seguido de 40 ciclos consistentes cada uno de una primera fase de desnaturalización (94 °C, 35 s), otra de alineamiento (59 °C, 35 s) y finalmente una de elongación (72 °C, 40 s), con una extensión final de 7 min a 72 °C. A continuación, 10 µl del producto obtenido de la PCR se sometieron a digestión con 5 U de la enzima de restricción Mbol y 2 µl 10x Buffer B (Fermentas, Madison, Estados Unidos) en un volumen final de 30 µl, durante 16 h a 37 °C. Los productos obtenidos se sepa-

raron mediante electroforesis no desnaturante de agarosa, en este caso, al 4%. Los fragmentos de digestión correspondían a los genotipos GG (210pb + 175pb), AG (210pb + 175 pb + 169 pb + 41pb) y AA (175pb + 169pb + 41pb).

#### CYP3A5 6986A > G

En el diseño de los cebadores para la reacción de PCR de este SNP se realizó una serie de modificaciones de las secuencias obtenidas con Primer3, de modo que en el oligonucleótido en Fw se cambió un nucleótido para eliminar el sitio de reconocimiento natural de SspI y en el oligonucleótido Rev se generó un sitio que originaba el corte por dicha enzima en caso de R = A. Con cada muestra, el ADN se desnaturizó a 94 °C durante 5 min, seguido de 40 ciclos consistentes cada uno de una primera fase de desnaturalización (94 °C, 35 s), otra de alineamiento (52 °C, 35 s) y finalmente una de elongación (72 °C, 40 s), seguida de la extensión final de 7 min a 72 °C. A continuación, 10 µl del producto obtenido de la PCR se sometieron a digestión con 10 U de SspI y 2 µl 10x Buffer G (Fermentas, Madison, Estados Unidos) en un volumen final de 30 µl, durante 16 h a 37 °C. Los fragmentos de digestión correspondían a los genotipos AA (167pb + 50pb), AG (217pb + 167pb + 50pb) y GG (217 pb).

### Estudio farmacocinético

**Extracción de muestras.** La determinación de las concentraciones de CsA se realizó con muestras de sangre total, utilizando EDTA como anticoagulante. Las extracciones se realizaron una vez que el fármaco había alcanzado el estado de equilibrio estacionario (esto es, al menos, una vez pasados 3 días sin precisar ajuste de dosis). Para el cálculo de la AUC<sub>0-12h</sub>, los tiempos de extracción fueron 0,5, 1, 2, 3, 4, 6, 8 y 12 h tras la dosis matutina de CsA.

**Método de determinación.** Las concentraciones de CsA en sangre se determinaron por el método de inmunoanálisis de fluorescencia polarizada FPIA-AxSYM (Abbott Diagnostics, Abbott Park, Estados Unidos).

**Parámetros farmacocinéticos.** Los parámetros farmacocinéticos, derivados por métodos no compartimentales, fueron la máxima concentración observada (C<sub>máx</sub>, ng/ml), el tiempo en alcanzar la máxima concentración observada (T<sub>máx</sub>, h) y área de concentración bajo la curva entre las 0 y 12 h de la dosis (AUC<sub>0-12h</sub>, ng/h/ml), calculada por el método trapezoidal, y la concentración plasmática en el estado estacionario (C<sub>ss</sub>,

**Tabla 1** Secuencia de los cebadores utilizados para la genotipificación de los polimorfismos analizados

SNP (dbSNP)	Secuencias de los cebadores
MDR1 3435C > T (rs1045642)	Fw: 5'-TGT TTT CAG CTG CTT GAT GGC AAA-3' Rev: 5'-GGT AAC AAC TAA CCC AAA CAG GA-3'
CYP3A4-290A > G (rs11539969)	Fw: 5'-GGA ATG AGG ACA GCC ATA GAG ACA AGG GGA-3' Rev: 5'-CCT TTC AGC TCT GTG TTG CTC TTT GCT G-3'
CYP3A5 6986A > G (rs776746)	Fw: 5'-CAA TTT TTC ACT GAC CTC ATA TTC T-3' Rev: 5'-TGC GTT CCG AAG TAT ACT ACT ACC CAT TAC ACC AGG TTT GTC CCT TCT TTA T-3'

SNP: *single nucleotide polymorphism*; dbSNP: *single nucleotide polymorphism database reference number*.

ng/ml), calculada como  $C_{ss} = AUC_{0-12h} / \text{intervalo de dosificación}$ . También se ajustaron los valores de  $AUC_{0-12}$  según la dosis (D, mg/kg) y el peso (kg) de cada paciente; de este modo, se obtuvieron las variables  $AUC_{0-12}/D$  y  $AUC_{0-12}/D/\text{peso}$ .

### Aspectos éticos

El estudio fue elaborado respetando los principios fundamentales establecidos en la Declaración de Helsinki (1964), el Convenio del Consejo de Europa relativo a los derechos humanos y la biomedicina (1997), la Declaración Universal de la UNESCO sobre el genoma humano y los derechos humanos (1997), así como cumpliendo los requisitos establecidos en la legislación española en el ámbito de la investigación biomédica, la protección de datos de carácter personal y la bioética. El proyecto se sometió a evaluación del Comité de Ética e Investigación Clínica del Hospital Universitario Reina Sofía. Todos los pacientes recibieron información acerca del estudio y se les solicitó el consentimiento informado escrito antes de entrar en él.

### Análisis de los datos

Para examinar la homogeneidad poblacional, se analizaron las frecuencias genotípicas de los diferentes SNP, frente a las frecuencias esperadas según el equilibrio de Hardy-Weinberg, mediante el test de la  $\chi^2$  con la corrección de continuidad de Yates. Se utilizó el test de Shapiro-Wilk para comprobar el grado de ajuste a un modelo de distribución normal de los valores de las diferentes variables cuantitativas. Los resultados se expresan como mediana y su variabilidad se presenta,

entre paréntesis, como intervalo entre el primero y el tercer cuartil. Para los contrastes de hipótesis se utilizó el test de Kruskal-Wallis. Los valores de las diferentes variables se procesaron y analizaron en el entorno de programación libre para análisis estadístico R (GNU). Se consideró estadísticamente significativos los valores de  $p < 0,05$ .

### Resultados

La distribución de frecuencias alélicas de los SNP genotipificados en nuestra población era concordante con el equilibrio de Hardy-Weinberg:  $MDR1\ 3435C > T$  (CC, 8; CT, 16; TT, 6;  $\chi^2 = 0,386$ ;  $p = 0,534$ ; D = 0,827),  $CYP3A4-390A > G$  (GG, 26; GA, 4; AA, 0;  $\chi^2 = 1,028$ ;  $p = 0,310$ ; D = 0,134) y  $CYP3A5\ 6986A > G$  (TT, 27; TG, 3; GG, 0;  $\chi^2 = 2,457$ ;  $p = 0,116$ ; D = 0,075).

Debido a que el tamaño muestral era pequeño, se procedió a reagrupar los genotipos de los pacientes en función de la presencia o no de uno de los dos alelos, con el fin de ganar potencia estadística. De este modo, en la tabla 2 se muestran los resultados del análisis efectuado para encontrar diferencias en los parámetros farmacocinéticos en función de la presencia o no de los distintos alelos mayoritarios de  $MDR1\ 3435C > T$ ,  $CYP3A4-390A > G$  y  $CYP3A5\ 6986A > G$  en nuestra población. Los portadores del alelo T para el polimorfismo  $MDR1\ 3435C > T$  presentaron valores mayores de  $AUC_{0-12}$  ( $p = 0,01$ ) y de  $C_{ss}$  ( $p = 0,05$ ), en comparación con los pacientes no portadores de dicho alelo, sin diferencias estadísticamente significativas en los demás parámetros farmacocinéticos analizados.

**Tabla 2** Diferencias en los parámetros farmacocinéticos en función de los genotipos de  $MDR1\ 3435C > T$ ,  $CYP3A4-390A > G$  y  $CYP3A5\ 6986A > G$

SNP (dbSNP)	Genotipos	$AUC_{0-12}$ (ng/h/ml)	$AUC_{0-12}/D$ (ng/h/ml/mg)	$AUC_{0-12}/D/\text{peso}$ (ng/h/ml)/(mg/kg)	$T_{\text{máx}}$ (h)	$C_{\text{máx}}$ (ng/ml)	$C_{ss}$ (ng/ml)
$MDR1\ 3435C > T$ rs1045642	TT/TC (n = 22)	6.686 (5.583-7.050)	40,1 (27,7-47,2)	2.508 (2.111-2.927)	2 (1-2)	1.137 (1.030-1.380)	554 (481-587)
	CC (n = 8)	4.569 (4.165-4.811)	31,6 (23,7-38,7)	2.479 (1.960-3.059)	2 (1-2)	1.326 (865-1.511)	340 (301-435)
	p	0,010	0,241	0,815	0,794	0,959	0,05
$CYP3A4 -390A > G$ rs2740574	AA (n = 26)	6.188 (4.701-6.977)	34,5 (27,0-45,2)	2.333 (1.931-2.917)	2 (1-2)	1.107 (975-1.380)	554 (460-593)
	GA/GG (n = 4)	5.420 (5.084-6.522)	50,8 (41,2-52,5)	3.104 (3.015-3.432)	2 (1,50-2)	1.340 (1.306-1.364)	562 (507-598)
	p	0,833	0,202	0,239	0,771	0,372	0,762
$CYP3A5\ 6986A > G$ rs776746	GG (n = 27)	5.970 (4.694-6.913)	32,4 (27,0-46,1)	2.333 (1.931-2.929)	2 (1-2)	1.137 (1.000-1.380)	554 (459-593)
	GA/AA (n = 3)	7.052 (6.236-7.364)	43,8 (42,1-49,0)	2.927 (2.874-3.021)	2 (1,50-2)	1.188 (1.078-1.288)	587 (519-613)
	p	0,285	0,175	0,516	0,770	0,893	0,656

$AUC_{0-12}$ : área de concentración bajo la curva entre las 0 y 12 h de la dosis;  $AUC_{0-12}/D$ : área de concentración bajo la curva entre las 0 y 12 h de la dosis normalizada por la dosis;  $AUC_{0-12}/D/\text{peso}$ : área de concentración bajo la curva entre las 0 y 12 h de la dosis normalizada por la dosis y el peso;  $C_{\text{máx}}$ : concentración máxima observada;  $C_{ss}$ : concentración media en estado de equilibrio;  $T_{\text{máx}}$ : tiempo en alcanzar la concentración máxima observada.

Los valores se expresan como mediana (primer cuartil-tercer cuartil). Para los contrastes de hipótesis se utilizó el test de Kruskal-Wallis y se consideró diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de  $p$  era  $< 0,05$ .

## Discusión

Hasta la fecha, los estudios destinados a analizar aspectos farmacogenéticos de la CsA no han encontrado una clara relación entre los diferentes polimorfismos de *MDR1*, *CYP3A4* y *CYP3A5* y sus parámetros farmacocinéticos<sup>7-9</sup>. Min et al llevaron a cabo un análisis, en 14 voluntarios sanos, de los que 11 eran de origen afroamericano y 3, caucásico, del efecto de *MDR1 3435C > T* y *CYP3A4-290A > G* en la cinética de absorción de la CsA ( $AUC_{0-24\text{ h}}$ ,  $T_{\text{máx}}$ ,  $C_{\text{máx}}$ ,  $t_{1/2}$  y  $CL/F$ )<sup>10</sup>. Encontraron que los portadores del alelo A de *CYP3A-290A > G* presentaron mayores valores de  $AUC_{0-24\text{ h}}/D$  y menores de  $CL/F$ . Respecto a *MDR1 3435C > T*, aunque la  $C_{\text{máx}}$  y el  $AUC_{0-24\text{ h}}$  en el grupo de CT y TT fue el 15 y el 22% mayor que en el grupo CC, ninguna de estas diferencias fueron estadísticamente significativas. Anglicheau et al<sup>11</sup> estudiaron en 100 pacientes de origen caucásico, trasplantados renales y en situación estable, la influencia de los polimorfismos *MDR1 [-129T > C, 1236C > T, 2677G > (T/A), 3435C > T]* y *CYP3A5 6986A > G* en los valores de concentración antes de la dosis de CsA ( $C_0$ ),  $C_{\text{máx}}$ ,  $AUC_{0-4\text{ h}}$ ,  $AUC_{0-12\text{ h}}$ , en valores absolutos y normalizados por la dosis. Tan sólo encontraron una asociación débil entre *MDR1 1236C > T* y los valores de  $C_{\text{máx}}/D$  y  $AUC_{0-4\text{ h}}/D$ , que consideraron insuficientes para la optimización de la dosis en la práctica clínica. Ninguno de los parámetros farmacocinéticos se asoció con *CYP3A5 6986A > G*. Mai et al<sup>12</sup> realizaron, en 98 pacientes trasplantados renales de origen caucásico, un análisis retrospectivo del efecto de diferentes haplotipos de *MDR1* en la farmacocinética de CsA en situación estable. No observaron diferencias en el análisis por haplotipos en los valores de  $C_0$ , de concentración de CsA tras 2 h de la dosis ( $C_2$ ) ni  $AUC_{0-12\text{ h}}$ . Kuzuya et al<sup>13</sup> realizaron un estudio en 97 pacientes trasplantados renales de origen asiático, en los que se analizó el efecto de *MDR1 [-129T > C, 1236C > (T/A), 3435C > T]*. El intervalo desde el trasplante fue de 2-17 (media, 7) años. Los parámetros farmacocinéticos analizados fueron  $AUC_{0-2\text{ h}}$ ,  $C_{\text{máx}}$  y  $C_{\text{mín}}$ . Estos autores no observaron diferencias significativas entre la dosis requerida de CsA y los polimorfismos estudiados de *MDR1*.

Por otro lado, hay otros trabajos que, de igual manera que el nuestro, sí encuentran relación entre algunos polimorfismos de *MDR1*, *CYP3A4* y *CYP3A5* y los parámetros farmacocinéticos de la CsA. De este modo, el trabajo realizado por Balram et al<sup>14</sup> en un subgrupo de pacientes asiáticos trasplantados cardíacos demostró que los pacientes con genotipo CC presentaban un  $AUC_{0-4\text{ h}}$  un 11% menor que los portadores del genotipo TT. En nuestro estudio, observamos una diferencia aún mayor, ya que los portadores del genotipo TT presentaron un  $AUC_{0-12\text{ h}}$  un 5,3 y un 38% mayor en comparación con los portadores de los genotipos CT y CC, respectivamente. Chowbay et al<sup>15</sup> analizaron, en 275 voluntarios sanos y 14 pacientes trasplantados cardíacos de origen asiático, la influencia de *MDR1 [1236C > T, 2677G > (T/A), 3435C > T]* y *CYP3A-290A > G* en los valores de  $AUC_{0-12\text{ h}}$ ,  $AUC_{0-4\text{ h}}$ ,  $C_{\text{máx}}$  y  $C_{\text{mín}}$  en situación estable tras el trasplante. Estos autores encontraron que los valores de  $AUC_{0-12\text{ h}}$ ,  $AUC_{0-4\text{ h}}$  y  $C_{\text{máx}}$  fueron mayores en los pacientes que presentaban el haplotipo T-T-T de *MDR1*. En la misma línea, Barnard et al<sup>16</sup> recientemente observaron que eran necesarias dosis mayores de CsA para los portadores del genotipo CC de *MDR1*, frente a los portadores de CT y TT, durante 3 y 12 meses después del trasplante.

A diferencia de otros autores, no pudimos observar diferencias significativas en los parámetros cinéticos analizados para los SNP de los genes *CYP3A4* y *CYP3A5*, probablemente por una insuficiente potencia estadística debido a la baja frecuencia alélica de los SNP analizados y al menor tamaño muestral de nuestro estudio.

La variabilidad genotípica asociada a la raza/etnia de las poblaciones elegidas, el tipo de trasplante, las variables seleccionadas para el análisis farmacocinético, así como el momento tras la cirugía en el que se llevó a cabo el estudio, podrían ser factores determinantes de los diferentes resultados observados. Éstos justificarían, al menos en parte, algunas de las discrepancias en los resultados de los estudios publicados hasta la fecha. Por ejemplo, en relación con la distribución de frecuencias de los alelos de *MDR1 3435C > T* se han observado grandes diferencias según la raza de la población estudiada<sup>17</sup>. Así, en la población afroamericana es mucho más predominante el alelo C que en la población caucásica, lo que implica que la mayoría de las personas de origen afroamericano presentan un genotipo CC, asociado a mayor expresión de P-gp; en cambio, en asiáticos hay una baja frecuencia para el alelo C. En consecuencia, estas variaciones influyen en los resultados de estudios sobre la biodisponibilidad de muchos fármacos, entre ellos la CsA. Por todo ello, consideramos importante realizar un estudio sobre los factores farmacogenéticos que pueden influir en la cinética de absorción de la CsA basado en las frecuencias genotípicas de dichos SNP en la población española<sup>18</sup>.

En conclusión, nuestros resultados concuerdan con los datos publicados por algunos autores respecto al polimorfismo *3435C > T* de *MDR1*, en el sentido de que las diferencias genotípicas de dicho SNP podrían explicar parte de la variabilidad interindividual en la absorción de la CsA observada en la población de nuestro entorno.

## Agradecimientos

Los autores desean agradecer a Elier y Fe sus sabias recomendaciones en el proceso de genotipificación durante la fase de análisis en el laboratorio.

## Bibliografía

1. Duna CJ, Wagstaff AJ, Perry CM, Plosker GL, Goa KL. Cyclosporin: an updated review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (neoral)1 in organ transplantation. *Drugs*. 2001;61:1957-2016.
2. Hesselink DA, Gelder TV, Van Schaik RH. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitors: one step closer toward individualized immunosuppression? *Pharmacogenomics*. 2005;6:323-37.
3. Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, Hori R, Romano T. Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. *J Biol Chem*. 1993;268:6077-80.
4. Evans WE, McLeod HL. Pharmacogenomics-drug disposition, drug targets, and side effects. *N Engl J Med*. 2003;348:538-49.
5. Aoyama T, Yamano S, Waxman DJ, Lapenson DP, Meyer UA, Fischer V, et al. Cytochrome P-450 hPCN3, a novel cytochrome P-450 IIIA gene product that is differentially expressed in adult human liver. cDNA and deduced amino acid sequence and distinct specificities of cDNA-expressed hPCN1 and hPCN3 for the

- metabolism of steroid hormones and cyclosporine. *J Biol Chem.* 1989;264:10388-95.
6. Masuda S, Inui K. An up-date review on individualized dosage adjustment of calcineurin inhibitors in organ transplant patients. *Pharmacol Ther.* 2006;112:184-98.
  7. Min DI, Ellingrod VL. C3435T mutation in exon 26 of the human MDR1 gene and cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther Drug Monit.* 2002;24:400-4.
  8. Mourad M, Wallemacq P, De Meyer M, Malaise J, De Pauw L, Edouard DC, et al. Biotransformation enzymes and drug transporters pharmacogenetics in relation to immunosuppressive drugs: impact on pharmacokinetics and clinical outcome. *Transplantation.* 2008;85 Suppl 7:S19-24.
  9. Thervet E, Anglicheau D, Legendre C, Beaune P. Role of pharmacogenetics of immunosuppressive drugs in organ transplantation. *Ther Drug Monit.* 2008;30:143-50.
  10. Anglicheau D, Legendre C, Beaune P, Thervet E. Cytochrome P450 3A polymorphisms and immunosuppressive drugs: an update. *Pharmacogenomics.* 2007;8:835-49.
  11. Anglicheau D, Thervet E, Etienne I, De Ligny BH, Le Meur Y, Touchard G, et al. CYP3A5 and MDR1 genetic polymorphisms and cyclosporine pharmacokinetics after renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther.* 2004;75:422-33.
  12. Mai I, Störmer E, Goldammer M, Johné A, Krüger H, Budde K, et al. MDR1 haplotypes do not affect the steady-state pharmacokinetics of cyclosporine in renal transplant patients. *J Clin Pharmacol.* 2003;43:1101-7.
  13. Kuzuya T, Kobayashi T, Moriyama N, Nagasaka T, Yokohama I, Uchida K, et al. Amlodipine, but not MDR1 polymorphisms, alters the pharmacokinetics of cyclosporine A in Japanese kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2003;76:865-8.
  14. Balram C, Sharma A, Sivathasan C, Lee EJ. Frequency of C3435T single nucleotide MDR1 genetic polymorphism in an Asian population: phenotypic-genotypic correlates. *Br J Clin Pharmacol.* 2003;56:78-83.
  15. Chowbay B, Cumaraswamy S, Cheung YB, Zhou Q, Lee EJ. Genetic polymorphisms in MDR1 and CYP3A4 genes in Asians and the influence of MDR1 haplotypes on cyclosporin disposition in heart transplant recipients. *Pharmacogenetics.* 2003;13:89-95.
  16. Barnard JB, Richardson S, Sheldon S, Fildes J, Pravica V, Hutchinson IV, et al. The MDR1/ABCB1 gene, a high-impact risk factor for cardiac transplant rejection. *Transplantation.* 2006;82:1677-82.
  17. Ameyaw MM, Regateiro F, Li T, Liu X, Tariq M, Mobarek A, et al. MDR1 pharmacogenetics: frequency of the C3435T mutation in exon 26 is significantly influenced by ethnicity. *Pharmacogenetics.* 2001;11:217-21.
  18. Bernal ML, Sinues B, Fanlo A, Mayayo E. Frequency distribution of C3435T mutation in exon 26 of the MDR1 gene in a Spanish population. *Ther Drug Monit.* 2003;25:107-11.