

Inmunosupresión Individualizada: ¿Existe un Papel para los Biomarcadores?

Moderador: Gunnar Brandhorst^{1,*} y Michael Oellerich¹

Expertos: Mercè Brunet², Richard Kowalski³, Alexander Vinks^{4,5} y Pierre Wallemacq⁶

El monitoreo de fármacos terapéuticos (TDM)⁷ de fármacos inmunosupresores ha evolucionado en las últimas décadas. El uso de cromatografía líquida-espectrometría de masas, por ejemplo, actualmente proporciona una cuantificación sólida y altamente específica en el laboratorio clínico. Sin embargo la medición de concentraciones de fármacos inmunosupresores, aún cuando son aplicadas de manera exacta y precisa, no refleja suficientemente el efecto de los fármacos aplicados en células inmunes, debido a la considerable variación interindividual en la sensibilidad de la supresión de la función inmune. El rechazo crónico irreversible al injerto y los efectos colaterales a largo plazo de la terapia de inmunosupresión son aún mayores limitando factores en la medicina de trasplantes. En este contexto, los biomarcadores farmacodinámicos (PD) son una clave potencial para una mayor optimización de la terapia por inmunosupresores.

Los efectos de PD de fármacos inmunosupresores pueden ser evaluados con la ayuda de un creciente número de diferentes biomarcadores. Para alcanzar una inmunosupresión individualizada, estos biomarcadores podrían ser útiles para dichos aspectos como la minimización de terapia inmunosupresora, la optimización de regímenes multidroga que toma en cuenta los efectos sinérgicos y antagónicos de fármacos inmunosupresores, o aún la identificación de pacientes operacionalmente tolerantes después del trasplante de un órgano sólido.

En este Q&A, 4 líderes expertos en el campo del monitoreo con PD de fármacos inmunosupresores com-

parten sus pensamientos en cuanto a los requerimientos analíticos y clínicos, así como la utilidad de los biomarcadores individualizados.

Desde su perspectiva, ¿cuáles son los requerimientos para un biomarcador ideal para la individualización de terapia inmunosupresora, e.g., después de un trasplante de órgano sólido?



Mercè Brunet: En la práctica clínica, todos los biomarcadores pueden tener ciertas limitaciones, y podría ser difícil alcanzar el estatus ideal de biomarcadores ideales. En el trasplante de órganos sólidos, los biomarcadores deberían ser una herramienta útil para optimizar la terapia inmu-

nosupresora e identificar pacientes e riesgo de rechazo. El monitoreo combinado de biomarcadores con la farmacocinética (PK) es un requerimiento para alcanzar la terapia personalizada. Algunos de estos biomarcadores podrían estar fuertemente relacionados con el mecanismo de acción de la droga y pueden reflejar la respuesta personal al tratamiento, mientras que otros biomarcadores están asociados con el daño en el injerto y los resultados clínicos. En cualquier caso, los ensayos de estos biomarcadores deberían ser: (a) exactitud diagnóstica, reproductibilidad sensible y específica; (b) ampliamente disponible, rápida, exacta y barata; y (c) propiamente validado.

¹ Departamento de Química Clínica, Centro Médico Universitario Goettingen, Goettingen, Alemania; ² Departamento de Farmacología y Toxicología, Centro de Diagnóstico Biomédico, Clínica Hospital de Barcelona, Universidad de Barcelona, Barcelona, España; ³ Cylex, Columbia, MD; ⁴ División de Farmacología Clínica, Hospital Infantil del Centro Médico de Cincinnati, OH; ⁵ Departamento de Pediatría, Universidad de Cincinnati, Cincinnati, OH; ⁶ Departamento de Química Clínica, Hospital Universitario de St. Luc, St. Luc, Bélgica.

* Dirigir correspondencia a este autor a: Department of Clinical Chemistry, University Medical Center Goettingen, Robert-Koch-Str. 40, Goettingen 37075, Germany. E-mail gunnar.brandhorst@med.uni-goettingen.de.

Recibido para publicación Diciembre 2 de 2010. Aceptado para publicación Diciembre 6 de 2010.

⁷ Abreviaturas no estándar: TDM, monitoreo terapéutico de fármacos; PD, farmacodinámicas; PK, farmacocinéticas; IMPDH, iósina-monofosfatada hidrogenasa; mTOR objetivo mamífero de rapamicina; PCNA, antígeno nuclear de células proliferativas; IFN-, interferón; ELISPOT, enzimas ligadas al punto de inmuoabsorción; Treg, células T reguladoras; SNP, polimorfismo de nucleótido único; CNi inhibidor de calcineurina; DSA, anticuerpo significativo del donador; FKBP12, Proteína 12 vinculante FK506; MPA, inhibidor de calcineurina; DSA, anticuerpo específico del donador; FKBP12, proteína 12 vinculante con FK506; MPA, ácido micofenólico; pS6K1, proteína S6 quinasa p70 ribosomal 1; NGAL, neutrófilo gelatinasa-asociada con lipocalina; IL-2 interleukina 2; AUC, área bajo la curva; NFAT, factor nuclear de células T activadas; TLR, receptor tipo Toll.



Richard Kowalski: Varios fármacos son usados para generar un estado de inmunosupresión en un componente individual inmune de otra manera. Un biomarcador ideal podrá caracterizar de manera cuantitativa la influencia combinatoria de cada droga con la habilidad de reducir una competencia inmune individual. El muestreo podría ser no invasivo y no depender de tiempo de dosificación. Adicionalmente, el biomarcador deberá ser relativamente estable, fácil de detectar y cuantitativo.



Alexander Vinks: En 2001, el Grupo de Trabajo para Definición de Biomarcadores de la HIH, definió un biomarcador como “una característica que es objetivamente medida y evaluada como un indicador de procesos biológicos normales, patológicos o de respuesta farmacológica para una intervención terapéutica.” El término “biomarcador” cubre características medidas con una línea base así como las que son medidas de manera repetida sobre tiempo, antes, durante o después de un tratamiento. Todos los datos clínicos, de laboratorio, imagenología y expresión genética y proteómica pueden ser considerados biomarcadores potenciales. Los requerimientos par un biomarcador ideal dependen altamente del proceso de la enfermedad que uno está investigando. Las siguientes características son importantes para todos los biomarcadores: (a) Deben ser no invasivos, fácilmente medibles, económicos, utilizar plataformas estandarizadas y reproducibles y producir rápidos resultados; (b) deben ser de fuentes fácilmente disponibles, tales como sangre u orina; (c) deben tener una alta sensibilidad diagnóstica, permitir la detección temprana y no mostrar superposición en valores entre los pacientes enfermos y los control sanos; (d) deberán tener una alta especificidad diagnóstica, ser ampliamente regulados (arriba o abajo) específicamente en las muestras de enfermedad y no verse afectados con las condiciones de comorbilidad; (e) las concentraciones del biomarcador deberán variar rápidamente en respuesta al tratamiento; (f) las concentraciones del biomarcador deberán ayudar en la estratificación de riesgos y tener

valores pronósticos en términos de resultados reales; y (g) los biomarcadores deberán ser biológicamente posibles y proporcionar información sobre el mecanismo de la enfermedad subyacente.



Pierre Wallemacq: El biomarcador ideal (o más probablemente una combinación de biomarcadores) debería ser predictivo de un antidonador de inmuno respuesta. Esta respuesta puede provocar tanto rechazo como tolerancia. La predicción temprana de ambas formas puede ser más útil para la individualización de la terapia inmunosupresora. El biomarcador ideal involucrado en la predicción de respuesta inmune debería poder predecir la ocurrencia de desordenes relativos a la inmunosupresión (tumores, desordenes linfoproliferativos post trasplante, infecciones, etc.). Deberían monitorearse con otros biomarcadores los otros efectos colaterales, tales como insuficiencia renal y neurotoxicidad.

¿Cuáles biomarcadores propondrían ustedes como candidatos para alcanzar una inmunosupresión individualizada?

Mercè Brunet: Existen diferentes tipos de biomarcadores que podrían ser considerados.

Farmacodinámicos: Se enfocan en la medición del efecto inmuno-modulador de la droga: (a) Inhibición del objetivo [actividad calcineurina, hidrogenasa ionosina-monofosfatada (IMPDH), mamíferos objetivo de rapamicina (mTOR), etc.]; (b) uso de ensayos funcionales para marcadores celulares, e.g., proliferación de linfocitos [medición del antígeno nuclear celular proliferativo (PCNA)], expresión de antígenos de células específicas T y B superficiales y marcadores anticelulares (tales como la expresión citoquinas, de citoquina mRNA y concentración de fármacos); (c) medición de citoquinas medibles; (d) medición de la aloreactividad de interferón (IFN) [enzimas ligadas en punto de inmunoabsorción (ELISPOT)]; y (e) equilibrio entre células T efectoras y células T reguladoras (Tregs) (tolerancia a aloreactividad).

Farmacogenéticos: Muchos polimorfismos de nucleótido simple (SNPs) diferentes y sus asociaciones con respuestas individuales a fármacos y resultados clínicos han sido probados [IMPDH⁸ (inosina 5'-polipéptido 5), UGT1A9 (UDP gluconosil transferasa 1 familia polipéptida A9), ABCB1 (cintas de unión-ATP, sub-familia B (MDR/TAP), miembro 1; anterior-

mente *MDR1*), *IL10* (interleukina 10), *TGFB1* (factor de crecimiento transformante, beta 1)].

Farmacocinéticos: Medición de exposición a la droga en sangre completa intracelular y en tejido.

Richard Kowalski: Un algoritmo basado en la actividad mecánica de objetivos farmacológicos (e.g., calcineurina, nTOR e IMPDH) es un candidato atractivo. Sin embargo, los efectos secundarios de estos compuestos pueden impactar sustancialmente en la función inmune. Por ejemplo, los inhibidores de calcineurina (CNIs) también inhibir la respuesta de linfocitos para antígenos no propios que podrían ser útiles, la advertencia de que los inmunosupresores que hoy en día no son específicos para aloantígenos. Los marcadores tales como el ensayo InmuKnow® (que mide la actividad de ayuda de T a la estimulación no específica), los ensayos ELISPOT que detectan la producción de citoquinas específicas, HLA/DSA (anticuerpo específico HLA de donador) mediciones de anticuerpos y perfil genético para predecir rechazo (cardíaco) son útiles en este escenario.

Alexander Vinks: Desde una perspectiva farmacológica clínica, los candidatos más adecuados como inmunosupresores individualizados son biomarcadores que describen la(s) respuesta(s) de PD para fármacos inmunosupresores y su variabilidad. Esto podría permitir individualizar la dosis basada en aproximaciones que integran PK y PD, por ejemplo aplicando modelos PK/PD como parte de un algoritmo de retroalimentación Bayesian. Los biomarcadores de primer nivel incluyen la droga mecánica objeto de enzimas de calcineurina, IMPDH y mTOR. La ciclosporina ejerce su efecto a través de la unión con ciclofilina, una proteína intracelular de la familia de la inmunofilina, formando un complejo que subsecuentemente inhibe la calcineurina. El tacrolimus se une con otra inmunofilina, la proteína 12 FK506 vinculante (FKBP12) para crear un complejo que inhibe la calcineurina con mayor potencia que la ciclosporina. Los primeros documentos sobre monitoreo de calcineurina aparecieron a mediados de los noventa. Más recientemente, otros grupos han comenzado a investigar la aplicabilidad de la inhibición de la calcineurina como un biomarcador de PD de inmunosupresión y aunque el campo es considerado aún en su infancia, se han reportado varias aplicaciones clínicas que son alentadoras. Un ejemplo prometedor de la aplicación de datos de biomarcador estaba en desarrollo de una ciclosporina

químicamente modificada, voclosporina (ISA247) que se basó en un extenso modelo de datos del biomarcador PK/PD.

El micofenolatemofetil es una prodroga que rápidamente se convierte en ácido micofenólico (MPA), éste último inhibe la IMPDH, una enzima clave en la síntesis de purinas. Los micofenolatos han reemplazado ampliamente a la azatioprina y actualmente se utilizan en combinación con otros agentes inmunosupresores. La actividad de IMPDH en las células de sangre periférica mononuclear o células CD4⁺ ha sido estudiada ampliamente para evaluar MPA PD. Un importante hallazgo clínico es que los pacientes de trasplante con alta actividad de IMPDH y que recibieron una reducción de dosis tuvieron la mayor incidencia de rechazo agudo. Con base en estos hallazgos, la actividad pre trasplante de IMPDH es actualmente considerada como de ayuda para guiar el nivel requerido de inmunosupresión de MPA. Sin embargo, el rango objetivo P6D óptimo no ha sido completamente caracterizado.

El sirolimus (rapamicina) y everolimus unen a FKBP12 a complejos formados que vinculan un nTOR inhibidor mediante vías de transducción de señal. La inhibición de mTOR eventualmente lleva a la supresión de la síntesis de nuevas proteínas y la detención en la fase G₁-S para el ciclo celular. Uno de los efectores bien caracterizados de mTOR es la proteína ribosomal p70, S6 quinasa 1 (S6K1). Varios ensayos han sido desarrollados y los estudios preliminares sugieren que el estatus de fosforilación del S6K1 podría ser un biomarcador de PD útil para proporcionar información clínicamente relevante en el nivel de la inmunosupresión en pacientes individuales. La tecnología basada en ELISA actualmente está siendo probada, dada su relativa capacidad para cuantificar el estatus de fosforilación de S6K1 como una función de exposición de mTOR, incluyendo otros efectores de las vías de mTOR inducido. En tanto la relación entre la concentración de fármacos y el estatus de fosforilación no es típicamente lineal, la interpretación completa de los datos podría requerir una aproximación del modelo PK/PD.

De manera interesante, los corticoesteroides han sido usados para periodos cortos o largos en casi todos los protocolos, sin embargo no hay estrategias de monitoreo bien desarrolladas. Además, los efectos posteriores pueden ser medidos con cambios en los niveles de citokina, marcadores de proliferación o activación

⁸ Genes humanos: *IMPDH*, inosina 5'-monofosfato dehidrogenasa 1; *CYP3A5*, familia 3 citocromo P450, subfamilia A, polipéptido 5; *UGT1A9*, familia UDP glucuronosil transferasa 1, polipéptido A9; *ABCB1*, cinta vinculante de , sub-familia B (MDR/TAP), miembro 1 (anteriormente *MDR1*); *IL10*, interleukina

10; *TGFB1*, factor transformante de crecimiento, beta 1; *CYP3A4*, citocromo P450, familia 3, sub familia A, polipéptido 4; *ABCC2*, cinta vinculante de ATP, sub-familia C (CFTR/MRP), miembro 2 (anteriormente conocido como *MRP2*); *TPMT*, tiopurina S metil transferasa.

de linfocitos, los marcadores de respuesta de las células inmunes y los predictores potenciales de tolerancia.

Desde un punto de vista clínico, los biomarcadores se requieren también para monitorear toxicidades de los inmunosupresores. Un ejemplo de este enfoque es el uso de biomarcadores de daño al riñón, tales como la neutrofil gelatinasa asociada a lipocalina (NGAL) para la predicción temprana de nefrotoxicidad inducida por ciclosporina.

Pierre Wallemacq: La siguiente lista no es exhaustiva sino que sugiere algunos candidatos potenciales de la literatura actual, incluyendo interleucinas y solubles e intracelulares y antígenos: (a) proliferación de linfocitos (PCNA); (b) expresión de antígenos de superficie de células T (citometría de flujo) (CD3, CD4, CD8, CD25, CD28, CD69, CD95, CD154); (c) ensayo IFN-ELISPOT; (d) cuantificación de interleucina intracelular 2 (IL-2) en células CD8-T, lo que parece ser un marcador PD útil en trasplante de hígado para predecir rechazo del órgano ($P = 0.003$), mejor que la actividad calcineurina; (e) medición de la producción de ATP de células T estimuladas (ensayo Cylex InmuKnow); (f) las actividades de enzimas específicas (IMPDH, calcineurina y demás); (g) Células T reguladoras (Tregs), CD4/CD25alta/expresión FOXP3, CD4/CD25/CD45RO/CD127 expresión baja/alta y citocinas tolerantes (e.g., IL-10, factor transformante de crecimiento factor- β).

Hay diferentes campos de aplicación que han enfatizado biomarcadores individuales, e.g., identificación de pacientes operacionalmente tolerantes, así como la estratificación de riesgo tanto para infección como rechazo. ¿En cuál de estos campos tienen los biomarcadores una oportunidad de tener impacto?

Mercè Brunet: con referencia a la identificación de pacientes operacionalmente tolerantes, los biomarcadores de genomas y proteogenomas pueden ayudar a alcanzar esta meta, pero se espera que solo cerca del 10 al 15% de los pacientes con trasplante de hígado y del 5 al 10% de riñón podrán ser identificados y considerados como pacientes operacionalmente tolerantes y, como consecuencia, candidatos para destete y retiro de la inmunosupresión. Los biomarcadores predictivos de riesgo de rechazo o infección pueden tener un impacto tremendo en el resultado de mejora clínica de los receptores, en pacientes adultos y pediátricos, en un periodo cercano después del trasplante y en el periodo de mantenimiento de tratamiento inmunosupresivo.

Richard Kowalski: En el contexto de la tolerancia operacional, la estratificación de riesgo podría no ser benéfica si la terapia inmunosupresora no se requiere. El riesgo define a pacientes no tolerantes. Solo un

pequeño porcentaje de receptores de trasplante de órganos sólidos demostraron tolerancia operacional y las expectativas son que una proporción significativa de pacientes con trasplante requerirán inmunosupresión a lo largo de la vida. Este grupo mayor de pacientes podría ciertamente beneficiarse de biomarcadores que asisten cuando se balancea la cantidad de inmunosupresión para evitar riesgos de infección o rechazo. Últimamente, la meta de ambos enfoques es minimizar la cantidad de requerimiento de inmunosupresores.

Alexander Vinks: Varios estudios han tratado de analizar series de tratamientos biológicos en células de sangre periférica de receptores de trasplante operacionalmente tolerantes en un intento de definir una “huella digital” multiparamétrica de tolerancia. Un enfoque prometedor que merece estudios más profundos se presentó en un reciente reporte en el que el uso de biomarcadores para soportar la implementación de terapéuticas personalizadas en trasplante. Estos investigadores describieron un enfoque completo de tres vías usando biomarcadores y ensayos inmunológicos que incluyen (a) evaluación de riesgo pre trasplante evaluación y estratificación de riesgo, (b) predicción de riesgo de episodios de rechazo y resultado del injerto a largo plazo y (c) identificación de pacientes operacionalmente tolerantes. El resumen de rúbricas incluye genes codificadores de células T y células receptoras de células asesinas naturales, proteínas involucradas en proliferación de células y número de T reg circulantes en subgrupos (e.g., CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺Tregs). La evaluación integrada de estos ensayos podrá proporcionar un mecanismo novedoso para tener ideas sobre los factores inmunológicos de riesgo y qué constituye la tolerancia operacional del injerto. Esto constituye el primer paso en la investigación de paneles de diagnóstico no invasivo para guiar la intensidad terapéutica y predecir tolerancia como parte de las estrategias de ingestión de fármacos. Alternativamente la eficacia de monitoreo más generalizado de la función celular inmune por medición de los incrementos de ATP intracelular en células T CD4⁺ después de la activación por estimulación mitogénica se han reportado en numerosos estudios. Los datos de estudios de el único ensayo de monitoreo inmune realizado por la Administración de los EU de Alimentos y Drogas (Immuknow, Gylex) sugiere una utilidad clínica para predecir riesgo relativo de infección o rechazo agudo.

Pierre Wallemacq: No hay identificación de biomarcadores específicos en ninguno de estos campos que haya sido alcanzado. La identificación apropiada de biomarcadores para tolerancia operacional podría ser de ayuda para la predicción de rechazo, así como ellos tienen un objetivo común: los antígenos del

donador. Por otro lado, las reacciones inmunes hacia los agentes infecciosos podrían tener un panel de diferentes objetivos. Un impacto clínicamente relevante podría ser mejor obtenida del progreso en la predicción a la tolerancia.

¿Existe una estrategia óptima para alcanzar la minimización de la terapia inmunosupresora en este contexto?

Mercè Brunet: La minimización podría establecerse desde la evidencia del monitoreo de biomarcadores específicos. La minimización empírica puede favorecer un incremento en aloreactividad y la aparición de rechazo y/o daño del injerto.

Los candidatos para la minimización deberían ser seleccionados con base en: (a) análisis de firmas de expresión de genes (micro arreglos); (b) análisis del genotipo de células T y B; (c) análisis de Tregs (tolerancia) y (d) medición de células T efectoras (IFN-ELISPOT; IFN-, expresión CD3⁺ y CD8⁺)/rechazo). El proceso de minimización debe ser monitoreada de manera muy cercana para detectar la reactividad de respuesta del sistema inmune.

Richard Kowalski: Ninguna estrategia es probable que trabaje para todos los pacientes. Dicho esto, el uso de una detección de “tolerancia” para categorizar a los pacientes como los que necesitan inmunosupresión y los que no, seguido de evaluaciones de riesgo, podrá proporcionar una estrategia general minimizando la terapia inmunosupresora. Dependiendo de la especificidad del estudio de tolerancia, ambos grupos podrán beneficiarse de evaluaciones de rutina de riesgo para evitar eventos adversos asociados sobre o en condiciones de inmunosupresión.

Alexander Vinks: Los fármacos inmunosupresores pueden ser completamente retirados en algunos receptores de trasplante, por lo común referidos como “operacionalmente” tolerantes. La predicción del nivel de sobre inmunosupresión con un riesgo incrementado de infecciones y malignidades sigue siendo un problema clínico de importancia. La caracterización de estos pacientes, sin embargo, no se ha realizado a detalle. A pesar del hecho de que una concentración de fármacos es un biomarcador establecido para exposición, lo que se asocia con efectos clínicos y toxicidad relacionada con la droga, el rechazo agudo y los eventos adversos asociados con fármacos ocurren a pesar de las concentraciones aparentemente “terapéuticas” de fármacos.

La caracterización de estos pacientes, sin embargo, no se ha realizado en detalle. Además del hecho de que la concentración de fármacos es un biomarcador establecido para la exposición, lo que está asociado con efectos clínicos y toxicidad relacionada con la droga, el

rechazo agudo y los eventos adversos relacionados con la droga ocurren a pesar de concentraciones aparentemente “terapéuticas” de la droga. Esto da luz sobre la necesidad continua de un mejor establecimiento de concentraciones de dosis tanto de pacientes como en la relación de respuesta. La integración de guías de PK (no solo los números TM) con biomarcadores PD, como se mencionó anteriormente en relación con índices inmunológicos, será un buen primer paso a través de la minimización inmunosupresora.

¿La optimización analítica de TDM convencional podrá mejorar aún más los resultados clínicos por venir?

Mercè Brunet: La optimización analítica de TDM puede jugar un papel en la mejora de los resultados clínicos. Los nuevos enfoques basados en la medición de fármacos inmunosupresores en tejidos y junto con los linfocitos han mostrado una mejor relación entre la concentración de droga y los efectos biológicos. Por otro lado, nosotros apenas acabamos de ser advertidos de que la PK combinada con Pd (reflejando la respuesta del individuo) es la forma para lograr terapias personalizadas.

Richard Kowalski: El desarrollo de un algoritmo, como se ha descrito previamente, que mide los efectos combinatorios de varios fármacos inmunosupresores en la competencia inmune podrían mejorar los resultados clínicos. Hay muchas dificultades con el desarrollo de este tipo de algoritmo, incluyendo las diferencias de PK/PD bien documentadas entre individuos. Además, los inmunosupresores de la próxima generación tales como betatacept, son agentes terapéuticos no “convencionales”. Las concentraciones de sangre/plasma de estos agentes no son directamente monitoreadas después de la dosificación.

Alexander Vinks: Ante esto, nosotros no tenemos en la actualidad biomarcadores predictivos de resultados, continuaremos tratando los pacientes trasplantados de acuerdo con sus concentraciones de droga, como se ha hecho exitosamente en el pasado. La convencional TDM ha contribuido tremendamente con la forma en que dosificamos a los pacientes actualmente. Más importante, el número creciente de estudios prospectivos muestra que las estrategias guía para dosificar PK pueden mejorar los próximos resultados clínicos al optimizar el logro del objetivo de la exposición para cada uno de los fármacos en su régimen. Las áreas para la expansión de nuevos análisis incluyen el monitoreo de concentraciones de CNI intracelular en células objetivo y tejidos, determinación de metabolitos de CNI (incluyendo metabólicos) y el uso de concentraciones de fármacos libres (e.g., para micofenolatos). Esto nos

permitirá para diferenciar mejor las necesidades de cada paciente individual y el más ampliamente definido “rango terapéutico”. La generación de objetivos terapéuticos para la combinación de nuevas drogas y en diferentes poblaciones trasplantadas serán agregados útiles al arsenal convencional de TDM.

Pierre Wallemacq: Lo más probable es que si, pero de manera moderada. El principal progreso esperado vendrá de una mejor interpretación y uso de la TDM convencional, independientemente de la optimización analítica. Tal progreso podrá ser alcanzado mejorando la predicción del AUC (área bajo la curva) de la TDM convencional (basada en estrategias de limitación de muestras, población PK con estimadores Bayesian, etc.) y de la predicción de concentraciones de fármacos en células objetivo (linfocitos).

¿Cómo evalúan ustedes las oportunidades para los perfiles farmacogenético o de expresión genética para una inmunosupresión individualizada?

Mercè Brunet: Es bien conocido que los polimorfismos de los genes pueden predecir los resultados de PK y PD después del trasplante. Estudios previos han mostrado que algunos polimorfismos en genes codificando proteínas implicadas en el transporte de fármacos inmunosupresores y el metabolismo puede tener un papel en la exposición y efecto de estos agentes. Los polimorfismos genéticos en *CYP3A5*, *CYP3A4* (familia 3 citocromo P450, subfamilia A, polipéptido 4), *MDR1*, *UGT1A9*, *ABCC2* [ATP-cinta vinculante, subfamilia C (CFTR/MRP), miembro 2; mejor conocido como *MRP2*] y *TPMT* (tiopurina S-metiltransferasa) tienen un impacto en de tacrolimus, el metabolismo y transporte de MPA y azatioprina, respectivamente. La contribución exacta para el cuidado de los pacientes ha sido evaluada tanto en ensayos clínicos multicentros como en experiencias de centros unitarios con el objetivo de estudiar su impacto en exposición a fármacos y la incidencia de rechazo y eventos adversos. Los resultados obtenidos, principalmente en trasplante de riñón, sugieren que no hay datos actualmente que apoyen el análisis sistemático de estos polimorfismos en todos los pacientes que son tratados, por lo que la solicitud de algunos SNPs específicos podría estar basada en razones clínicas para los pacientes tratados.

En relación con el establecimiento de perfiles de expresión genética, en primer lugar, los resultados demuestran que estos perfiles pueden ser una herramienta útil para identificar pacientes con riesgo de rechazo, pacientes con un perfil de tolerancia operativa o candidatos a minimización o retiro de la inmunosupresión. Se requiere de estudios posteriores de receptores de trasplante de órgano sólido para evaluar el impacto clínico y la aplicación de rutina de dichos análisis genético y proteómico.

Richard Kowalski: No se sabe lo suficiente sobre los diferentes matices de la terapia inmunosupresora para depender solamente de un perfil individual de expresión farmacogenética/genética para la terapia de ajuste/minimización. Sin embargo, estas herramientas son útiles para estimar la depuración metabólica de ciertos fármacos, determinando si un individuo está predispuesto a toxicidad de fármacos conocidos y evaluando el riesgo de rechazo (cardíaco) en trasplante de órganos sólidos. Continuar con la investigación incluyendo el uso de datos proteómicos aumenta la oportunidad de que estas tecnologías sean empleadas para terapias de individualización inmunosupresora.

Alexander Vinks: La “fruta Madura” actual son las enzimas relacionadas con la droga PK y el transportador de fármacos SNP y haplotipos que predicen entre las diferencias de pacientes en capacidad metabólica [e.g., *CYP3A5* y genotipo P-gp (P-glicoproteína) para una estratificación de dosis a priori de tacrolimus y sirolimus; genotipos *UGT1A9* y *MRP2* para predecir la exposición a fármacos y la probabilidad de eventos adversos]. Las diferencias relacionadas con el nuevo y emocionante genotipo PD tal como la actividad del perfil IMPDH, con acceso a la identificación a priori de pacientes que responden con menor probabilidad a la terapia estándar y que requiere un tratamiento más preciso.

Existen muchas publicaciones que describen la variabilidad genética en moléculas que afectan la inmunidad innata y adaptativa. La expresión del factor nuclear de las células T activadas (NFAT)-genes regulados (IL-2 codificado, factor estimulante de granulocitos-colonias macrófagos, IFN) es un biomarcador para un grado más alto de inmunosupresión funcional y es un ejemplo de tecnología genómica que puede probar ser útil en predecir el nivel de inmunosupresión inducida por CNI. Otra aplicación reciente de asociación genotipo-fenotipo es el impacto del sistema del receptor tipo Toll (TLR) en los resultados de trasplante temprano y tardío de riñón. Esto puede representar una promesa en futuras estrategias terapéuticas. Finalmente, la tecnología de micro rayos de alto rendimiento puede proporcionar patrones no sesgados, simultáneos de expresión global a través de muchos experimentos diferentes, por lo que ofrecer una propuesta para estudiar cambios transcripcionales específicos de la enfermedad en biopsias de tejidos, sangre periférica y otros biofluidos. Si la traslación de datos genómicos y la asociación del estudio de datos de éstos [incluyendo epigenéticos (metilación de DNA y modificación de las histonas), datos de expresión genética de RNA y pequeños estudios de RNA interferente)] del laboratorio a la clínica han comprobado no ser una tarea fácil.

Pierre Wallemacq: La farmacogenética ha probado claramente su papel en variaciones inexplicable en con-

centraciones de sangre dependiendo de la expresión de actividad de CYP3A5. Este conocimiento antes del trasplante permitirá tener una elección más rápida de la dosificación óptima para alcanzar el estado de equilibrio más rápidamente. No está claro si dichas ventajas producen un mejor resultado clínico, debido a que la TDM podría detectar de cualquier manera, niveles inapropiados en la sangre. Además, las concentraciones de sangre proporcionan información aproximada de la exposición de los pacientes (útil para detectar baja y sobreexposición) pero no pueden establecer una relación clara con los resultados clínicos. El papel de la farmacogenética en la predicción de concentraciones de fármacos intracelulares puede ser más prometedora (tejido de riñón para efectos colaterales, linfocitos para actividad farmacológica, etc.) debido a que está relacionado más directamente con los resultados clínicos.

Contribuciones de los autores: todos los autores confirmaron que contribuyeron al contenido intelectual de este documento y alca-

nzaron los siguientes requerimientos: *a)* contribuciones significativas en la concepción y diseño, adquisición o el análisis e interpretación de datos; *b)* elaboración revisión del contenido intelectual del artículo y *c)* aprobación final del artículo publicado.

Declaración de potenciales conflictos de interés de los autores: al presentar el manuscrito, todos los autores llenaron la forma de Declaración de potenciales conflictos de interés de los autores: Posibles conflictos de Interés:

Función de consultor o asesor: No se declara.

Propiedad del archivo: R. Kowalski, Cylex.

Honorarios: No se declara.

Fondo de investigación: A. Vinks, Roche Laboratories.

Testimonio de los expertos: No se declara.

Función del patrocinador: las organizaciones que aportaron los fondos no desempeñaron ningún papel en el diseño del estudio, elección de los pacientes enrolados, revisión e interpretación de los datos, o en la preparación o aprobación del manuscrito.

Reconocimientos: A. Vinks fue amablemente auspiciado por Jens W. Goebel y Prasad Devarajan.

Previously published online at DOI:10.1373/clinchem.2010.159871
