

GRAZIELLA D'AGOSTINO RIBEIRO NALDI

**A farmacogenética como preditor de resposta ao tacrolimo em
pacientes transplantados de fígado**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Ciências em
Gastroenterologia

Orientadora: Profa. Dra. Suzane Kioko Ono

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A versão original
está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2024

GRAZIELLA D'AGOSTINO RIBEIRO NALDI

**A farmacogenética como preditor de resposta ao tacrolimo em
pacientes transplantados de fígado**

Dissertação apresentada à Faculdade de
Medicina da Universidade de São Paulo
para obtenção do título de Mestre em
Ciências

Programa de Ciências em
Gastroenterologia

Orientadora: Profa. Dra. Suzane Kioko Ono

(Versão corrigida. Resolução CoPGr 6018/11, de 13 de outubro de 2011. A versão original
está disponível na Biblioteca da FMUSP)

São Paulo

2024

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Preparada pela Biblioteca da
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Naldi, Graziella D'Agostino Ribeiro

A farmacogenômica como preditor de resposta ao tacrolimo em pacientes transplantados de fígado / Graziella D'Agostino Ribeiro Naldi. -- São Paulo, 2023.

Dissertação (mestrado) -- Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.

Programa de Ciências em Gastroenterologia.

Orientadora: Suzane Kioko Ono.

Descritores: 1.Polimorfismo genético
2.Farmacocinética 3.Tacrolimo 4.Transplante de fígado 5.Rejeição de enxerto 6.Infecções 7.Indutores do citocromo P-450 CYP3A

USP/FM/DBD-413/23

Responsável: Erinalva da Conceição Batista, CRB-8 6755

DEDICATÓRIA

Dedico esta dissertação à minha família. Aos meus pais, Pasqualina Ana e Donizetti, pela criação fundamentada no amor, respeito e humildade. Obrigada pelo incentivo constante aos estudos. Devo a vocês tudo o que significo hoje.

Aos meus avôs, especialmente Epitácio (*in memoriam*), que sempre fez questão de estar presente em todas as minhas conquistas.

À minha irmã, Camilla, pela amizade verdadeira.

Ao meu esposo, Lucius, pelo companheirismo e amor incondicional.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ser essencial em minha vida e autor do meu destino.

À minha família e amigos, que foram fundamentais e torceram por mim em todos os momentos.

À minha orientadora, Profa. Dra. Suzane Kioko Ono, pela confiança e ensinamentos nestes anos de convivência. Obrigada por todo o incentivo e dedicação à pesquisa. O seu apoio foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Ao Dr. Lucas Nacif, por ter ajudado, apoiado e acreditado nesse projeto.

Agradeço ao Departamento de Gastroenterologia e toda a equipe de enfermagem que não mediram esforços para me ajudar, em especial à Patrícia que coletou e armazenou o sangue de quase todos os pacientes (doadores e receptores) inclusos nesse trabalho.

Ao Dr. Eduardo Luiz Rachid Cançado, Dra. Luísa Leite Barros e Dr. Celso Teixeira Mendes Junior, pelas sugestões e críticas construtivas dadas no exame de qualificação desta dissertação.

Ao Ricardo di Lazzaro Filho, pela parceria e disponibilidade em analisar os dados genéticos de todos os pacientes (receptores e doadores).

À Vilma Libério, secretária do Programa de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pela disponibilidade e carinho.

A todos do Instituto de Matemática e Estatística – IME, USP e ao Dr. Marcelo Alves Ferreira por todo o suporte na análise estatística, processo fundamental no trabalho.

Aos amigos de grupo, Julia Pires, Ariane Boccoli Minari, Christiane Omosako e Larissa Akeme Nakano agradeço a convivência e compartilhamento de experiências, angústias e alegrias.

À FAPESP, CNPQ e CAPES, pelo financiamento do projeto.

NORMATIZAÇÃO ADOTADA

Esta tese está de acordo com as seguintes normas em vigor no momento desta publicação:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver).

Universidade de São Paulo. Sistema Integrado de Bibliotecas da USP. Diretrizes para apresentação de dissertações e teses da USP: parte IV (Vancouver)/Sistema Integrado de Bibliotecas da USP. Elaborado por Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro, Maria Cláudia Pestana, Maria Cristina Cavarette Dziabas, Eliana Maria Garcia, Maria Fátima dos Santos, Maria Marta Nascimento, Suely Campos Cardoso. 3. ed. rev. ampl. mod. São Paulo: SIBi/USP; 2016.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

Sumário

Lista de abreviaturas e siglas	
Lista de figuras	
Lista de gráficos	
Lista de quadros	
Lista de tabelas	
Resumo	
Abstract	
1. INTRODUÇÃO	22
1.1 Transplante HEPÁTICO E TERAPIA IMUNOSSUPRESSORA	22
1.2 FARMACOCINÉTICA E FARMACODINÂMICA DO TACROLIMO.....	23
1.3 ESTUDO DA FARMACOGENÉTICA ATRAVÉS DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS	24
1.1.1 Enzimas CYP3A4, CYP3A5, POR e glicoproteína-P	25
1.4 JUSTIFICATIVA DO ESTUDO.....	29
2. OBJETIVO.....	32
3. MÉTODOS	34
3.1 DESENHO DO ESTUDO	34
3.2 CASUÍSTICA.....	34
3.2.1 Período e local do estudo	34
3.2.2 Critérios de inclusão.....	34
3.2.3 Critérios de exclusão.....	35
3.3 AVALIAÇÃO DOS DESFECHOS CLÍNICOS PÓS-TRANSPLANTE DE FÍGADO E IDENTIFICAÇÃO DO POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO.....	35

3.3.1 Acompanhamento de três meses.....	35
3.3.2 Avaliação laboratorial.....	35
3.3.3 Classificação da ausência ou presença do desfecho.....	36
3.3.4 Avaliação da concentração sanguínea de tacrolimo.....	37
3.3.5 Coleta de amostras de sangue.....	37
3.3.6 Extração de DNA genômico.....	38
3.3.7 Seleção dos polimorfismos genéticos.....	38
3.3.8 Técnica de Microarray.....	39
3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	39
3.4.1 Tamanho da amostra.....	39
3.4.2 Definição das análises realizadas no estudo.....	39
3.4.3 Análise de dados.....	40
3.5 ASPECTOS ÉTICOS.....	41
4. RESULTADOS.....	43
4.1 DADOS CLÍNICOS E DEMOGRÁFICOS.....	43
4.2 FREQUÊNCIA ALÉLICA E GENOTÍPICA.....	47
4.3 EFEITO DO GENÓTIPO DOS DOENTES RS776746 (<i>CYP3A5</i>), RS10264272 (<i>CYP3A5</i>), RS2740574 (<i>CYP3A4</i>), RS2242480 (<i>CYP3A4</i>), RS35599367 (<i>CYP3A4</i>), RS1057868 (<i>POR</i>), RS1128503 (<i>ABCB1</i>), RS2229109 (<i>ABCB1</i>) E RS9282564 (<i>ABCB1</i>) NA INFEÇÃO, REJEIÇÃO AGUDA E INSUFICIÊNCIA RENAL.....	49
4.3.1 Infecção.....	49
4.3.2 Rejeição aguda.....	51
4.3.3 Lesão renal.....	52
4.4 IMPACTO DOS POLIMORFISMOS RS776746 (<i>CYP3A5</i>), RS10264272 (<i>CYP3A5</i>), RS2740574 (<i>CYP3A4</i>), RS2242480 (<i>CYP3A4</i>), RS35599367 (<i>CYP3A4</i>), RS1057868 (<i>POR</i>), RS1128503 (<i>ABCB1</i>), RS2229109 (<i>ABCB1</i>) E RS9282564 (<i>ABCB1</i>) NA DOSAGEM DE TACROLIMO E CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA.....	54

4.4.1 Genótipos do doador ou do receptor (análise isolada).....	54
4.4.2 Análise combinada dos dados do doador e do receptor	56
5. DISCUSSÃO	59
5.1 DIREÇÕES FUTURAS.....	64
6. CONCLUSÃO.....	67
7. REFERÊNCIAS.....	69
8. ANEXOS	79
8.1 ANEXO A. POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO – GRUPO DE PACIENTES DA ANÁLISE INDIVIDUAL.....	79
8.2 ANEXO B - POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO - GRUPO DE PACIENTES NA ANÁLISE CONJUNTA	80
8.3 ANEXO C - POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO – GENES <i>CYP3A5</i> , <i>CYP3A4</i> E <i>ABCB1</i> DE RECEPTORES QUE APRESENTARAM INFECÇÃO (N=58) OU NÃO (N=39)	81
8.4 ANEXO D - POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO – GENES <i>CYP3A5</i> , <i>CYP3A4</i> , <i>POR</i> E <i>ABCB1</i> DE DOADORES, CUJOS RECEPTORES APRESENTARAM INFECÇÃO (N=58) OU NÃO (N=39)	82
8.5 ANEXO E - ASSOCIAÇÃO DOS GENÓTIPOS DOS DOADORES E RECEPTORES COM O DESFECHO DE INFECÇÃO N (%)	83
8.6 ANEXO F - POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO – GENES <i>CYP3A5</i> , <i>CYP3A4</i> E <i>ABCB1</i> DE RECEPTORES QUE APRESENTARAM REJEIÇÃO (N=17) OU NÃO (N=80)	84
8.7 ANEXO G - POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO – GENES <i>CYP3A5</i> , <i>CYP3A4</i> E <i>ABCB1</i> DE DOADORES, CUJOS RECEPTORES APRESENTARAM REJEIÇÃO (N=17) OU NÃO (N=80).....	85
8.8 ANEXO H - ASSOCIAÇÃO DOS GENÓTIPOS DOS DOADORES E RECEPTORES COM O DESFECHO DE REJEIÇÃO N (%).....	86
8.9 ANEXO I - POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO – GENES <i>CYP3A5</i> , <i>CYP3A4</i> , <i>POR</i> E <i>ABCB1</i> DE RECEPTORES QUE APRESENTARAM INSUFICIÊNCIA RENAL (N=60) OU NÃO (N=37).....	87

8.10 ANEXO J - POLIMORFISMO DE NUCLEOTÍDEO ÚNICO – GENES <i>CYP3A5</i> , <i>CYP3A4</i> , <i>POR</i> E <i>ABCB1</i> DE DOADORES, CUJOS RECEPTORES APRESENTARAM INSUFICIÊNCIA RENAL (N=60) OU NÃO (N=37)	88
8.11 ANEXO K - ASSOCIAÇÃO DOS GENÓTIPOS DOS DOADORES E RECEPTORES COM LESÃO RENAL N (%)	89
8.12 ANEXO L - INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO RS2740574 (<i>CYP3A4</i>) NA DOSAGEM DE TACROLIMO (D) E NA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA (C ₀) (VALORES MÉDIOS ± DESVIO-PADRÃO)	90
8.13 ANEXO M - INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO RS2242480 (<i>CYP3A4</i>) NA DOSAGEM DE TACROLIMO (D) E NA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA (C ₀) (VALORES MÉDIOS ± DESVIO-PADRÃO)	91
8.14 ANEXO N - INFLUÊNCIA DO POLIMORFISMO RS1128503 (<i>ABCB1</i>) NA DOSAGEM DE TACROLIMO (D) E NA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA (C ₀) (VALORES MÉDIOS ± DESVIO-PADRÃO)	92
8.15 ANEXO O - IMPACTO DOS DADOS DO RECEPTOR E DO DOADOR NO POLIMORFISMO RS776746 (<i>CYP3A5</i>) NA DOSAGEM DE TACROLIMO (D) E NA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA (C ₀)	93
8.16 ANEXO Q - IMPACTO DOS DADOS DO RECEPTOR E DO DOADOR NO POLIMORFISMO RS1128503 (<i>ABCB1</i>) NA DOSAGEM DE TACROLIMO (D) E NA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA (C ₀)	95
8.17 ANEXO R - IMPACTO DOS DADOS DO RECEPTOR E DO DOADOR NO POLIMORFISMO RS1057868 (<i>POR</i>) NA DOSAGEM DE TACROLIMO (D) E NA CONCENTRAÇÃO SANGUÍNEA (C ₀)	96
8.18 ANEXO S – APROVAÇÃO CAPPESP	97
8.19 ANEXO T – ARTIGOS SUBMETIDOS PARA PUBLICAÇÃO	100

LISTAS

ABREVIATURAS E SIGLAS

ALT	Alanina aminotransferase
AST	Aspartato aminotransferase
ATP	Adenosina trifosfato
BD	Bilirrubina direta
BI	Bilirrubina indireta
BT	Bilirrubina total
CEA	Centro de estatística aplicada
DNA	Ácido desoxirribonucleico
CPIC	Consórcio de implementação de farmacogenética clínica
CYP	Citocromo
EDTA	Ácido etilenodiaminotetracético (do inglês, <i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>)
FA	Fosfatase alcalina
FKBP12	<i>FK506 binding protein 12kDa</i>
FMUSP	Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo
GGT	Gamaglutamiltransferase
HBV	Hepatite pelo vírus B
HC	Hospital das Clínicas
HCV	Hepatite pelo vírus C
HPD	Máxima densidade <i>a posteriori</i>
ID	Identificação
IME	Instituto de Matemática e Estatística
Máx.	Máximo
Mín.	Mínimo
mg/kg	Miligrama/quilograma
N	Número

NADPH	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (do inglês, <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>)
NASH	Esteato-hepatite não alcoólica (do inglês, <i>nonalcoholic steatohepatitis</i>)
ng/mL	Nanograma/mililitro
OPO	Organização de Procura de Órgão
PCR	Proteína C reativa
PD	<i>Pharmacodynamics</i>
PK	<i>Pharmacokinetics</i>
RNA	Ácido ribonucleico
SNP	Polimorfismo de nucleotídeo único (do inglês, <i>single nucleotide polymorphism</i>)
TCLE	Termo de Consentimento Livre e Esclarecido
EHW	Equilíbrio de Hardy-Weinberg

FIGURAS

Figura 1	Farmacocinética do tacrolimo através das células intestinais e células hepáticas.....	24
Figura 2	Polimorfismo de nucleotídeo único a partir de um segmento do conjunto de referência do genoma humano.....	25
Figura 3	Fluxograma de inclusões de pacientes.....	36
Figura 4	Dose e concentração sanguínea de tacrolimo nos 90 dias pós-transplante (média e desvio-padrão)	45

TABELAS

Tabela 1	Descrição e frequência na população dos alelos variantes dos SNPs rs776746 e rs10264272 (<i>CYP3A5</i>)	26
Tabela 2	Descrição e frequência na população dos alelos variantes dos SNPs rs2740574, rs2242480 e rs35599367 (<i>CYP3A4</i>)	27
Tabela 3	Descrição e frequência na população do alelo variante e referência do SNP rs1057868 (<i>POR</i>).....	28
Tabela 4	Frequência alélica na população dos SNPs rs1128503, rs2229109 e rs9282564 (<i>ABCB1</i>)	29
Tabela 5	Dados demográficos de 97 pacientes transplantados de fígado e de 97 doadores	44
Tabela 6	Imunossupressores utilizados nos três primeiros meses	45
Tabela 7	Resultado dos exames laboratoriais de 97 pacientes durante o acompanhamento de 90 dias (média ± desvio-padrão)	46
Tabela 8	Incidência das complicações desenvolvidas pelos receptores durante o acompanhamento de três meses (n=97)	47
Tabela 9	Causa de óbitos no seguimento (n=9; 9,3%)	47
Tabela 10	Frequência de alelos e genótipos por polimorfismo	48
Tabela 11	Polimorfismos dos genes <i>ABCB1</i> e <i>POR</i> de receptores associados com a infecção (valor $p < 0,05$)	49
Tabela 12	Chance de infecção de acordo com polimorfismos dos genes <i>POR</i> , <i>CYP3A4</i> e <i>CYP3A5</i>	50

Tabela 13	Impacto da combinação do polimorfismo rs1057868 (<i>POR</i>) do receptor e do doador na incidência de infecção n (%)	51
Tabela 14	Chance de rejeição de acordo com polimorfismos dos genes <i>POR</i> e <i>CYP3A4</i>	52
Tabela 15	Chance de insuficiência renal pós-transplante de acordo com polimorfismos dos genes <i>CYP3A5</i> e <i>CYP3A4</i>	53
Tabela 16	Influência do polimorfismo rs776746 (<i>CYP3A5</i>) na dosagem de tacrolimo (D) e concentração sanguínea (C_0) (valores médios \pm desvio-padrão).....	55
Tabela 17	Influência do polimorfismo rs1057868 (<i>POR</i>) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C_0) (valores médios \pm desvio-padrão).....	56

RESUMO

Naldi GDAR. A farmacogenética como preditor de resposta ao tacrolimo em pacientes transplantados de fígado [dissertação]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo 2023.

Introdução: A principal droga imunossupressora utilizada no transplante de fígado desde 1998 na Europa e nos Estados Unidos é o tacrolimo. Contudo, por possuir um índice terapêutico estreito e alta variabilidade inter e intraindividual, o monitoramento sérico do tacrolimo deve ser frequente. O estudo da farmacogenética ocorre mediante identificação de genes relacionados à codificação de proteínas envolvidas na farmacocinética, na farmacodinâmica e/ou em proteínas transmembranas. A identificação de biomarcadores farmacogenéticos que influenciam a exposição e a resposta do tacrolimo tem o potencial de permitir a individualização da dose e de auxiliar no alcance das concentrações sanguíneas-alvo nos primeiros dias após o transplante. **Objetivo:** O objetivo principal do presente estudo foi avaliar a associação entre polimorfismos de nucleotídeo único dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5*, *POR* e *ABCB1* e a rejeição celular aguda em pacientes transplantados de fígado durante os primeiros 90 dias pós-operatório. **Métodos e Pacientes:** Trata-se de estudo de coorte e prospectivo. Os principais critérios de inclusão foram pacientes que receberam transplante ortotópico de fígado e doadores de outubro de 2019 a maio de 2021. Foram excluídos pacientes com retransplante e transplante duplo (rim-fígado). Foram utilizados prontuários eletrônicos para obter dados clínicos nos dias 0, 7, 14, 30 e 90. Para análise dos polimorfismos genéticos foram estudados os *CYP3A4* (*rs2740574*, *rs2242480*, *rs35599367*), *CYP3A5* (*rs2740574*, *rs2242480*, *rs35599367*), *POR* (*rs1057868*) e *ABCB1* (*rs1128503*, *rs2229109*, *rs9282564*) e utilizaram-se o QIAmp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA) para extração de DNA e a técnica de Microarray com o produto Infinium™ Global Screening Array-24 v3.0 BeadChip (Illumina Way, San Diego, CA). **Resultados:** A principal causa de transplante foi hepatite C. O esquema imunossupressor predominante foi associação tripla (tacrolimo, corticoide e micofenolato de sódio ou mofetila). A principal causa de complicação pós-transplante foi lesão renal (61,9), seguida de infecção (59,8%). Não houve diferença significativa nas frequências alélicas dos polimorfismos entre

doadores e receptores. O alelo T variante do SNP rs1057868 (*POR*) está associado com infecção (tanto na análise isolada dos doadores ou receptores quanto na análise combinada dos dados dos doadores e receptores). Os pacientes portadores do alelo T para o SNP rs776746 (*CYP3A5*) e alelo T para o rs1057868 (*POR*) estão relacionados com o desenvolvimento de rejeição celular no pós-transplante. Para os demais SNPs (receptor e/ou doador) não houve associação. **Conclusão:** O polimorfismo rs776746 (*CYP3A5*) e o rs1057868 (*POR*) estão relacionados com o aparecimento de rejeição e infecção no pós-transplante hepático.

Palavras-chave: Polimorfismo genético. Farmacocinética. Tacrolimo. Transplante de fígado. Rejeição do enxerto. Infecções. Indutores do citocromo P-450 CYP3A.

ABSTRACT

NALDI GDAR, Pharmacogenetics as a predictor of response to tacrolimus in liver transplant patients [dissertation]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo" 2023.

Introduction: The main component immunosuppressive therapies used in liver transplantation since 1998 in Europe and the United States is tacrolimus. However, because it has a narrow therapeutic index and high interpatient and inpatient variability, therapeutic drug monitoring of tacrolimus should be frequent. Pharmacogenetics studies the identification of genes involved in pharmacokinetics, pharmacodynamics, and transmembrane process. Identification of pharmacogenetic biomarkers that influence the response to tacrolimus may facilitate dose individualization, contributing to the achievement of target blood concentrations in the first few days after transplantation. **Objective:** The primary aim of this study was to evaluate the association between the single nucleotide polymorphisms of the *CYP3A4*, *CYP3A5*, *ABCB1* and *POR* genes with graft rejection in liver transplant patients during the first ninety days after surgery. **Methods and Patients:** Prospective cohort study. The main inclusion criteria were patients who had received an orthotopic liver transplant and donors from October 2019 to May 2021. Patients with re-transplantation and double transplantation (kidney-liver) were excluded. Electronic medical records were used to obtain clinical data on days 0, 7, 14, 30 and 90. For the analysis of genetic polymorphisms *CYP3A4* (*rs2740574*, *rs2242480*, *rs35599367*), *CYP3A5* (*rs2740574*, *rs2242480*, *rs35599367*), *POR* (*rs1057868*) e *ABCB1* (*rs1128503*, *rs2229109*, *rs9282564*), the QIAmp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA) for DNA extraction and the Microarray technique with the product "Infinium™ Global Screening Array-24 v3.0 BeadChip" (Illumina Way, San Diego, CA) were used. **Results:** The main cause of transplantation was hepatitis C virus. The predominant immunosuppressive regimen was triple association (tacrolimus, corticoids, and mycophenolate sodium or mofetil). The main cause of post-transplant complications was renal dysfunction (61.9%%), followed by infection (59,8%). There was no significant difference in the frequency of polymorphisms for donors and recipients. The T variant allele of SNP *rs1057868* (*POR*) is associated with infection (isolated analysis

and combined analysis) and patients expressing T allele for rs776746 (*CYP3A5*) rs1057868 (*POR*) are related to the development of graft rejection. There was no association for the other SNPs (recipient and/or donor). **Conclusion:** The rs776746 (*CYP3A5*) and rs1057868 (*POR*) polymorphisms are related to the development of rejection and infection after liver transplantation.

Keywords: Polymorphism, genetic. Pharmacokinetics. Tacrolimus. Liver transplantation. Infection. Graft rejection. Cytochrome P-450 CYP3A Inducers.

1. INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 Transplante hepático e terapia imunossupressora

Em 2018, nos Estados Unidos 4,5 milhões de indivíduos foram diagnosticados com doença hepática crônica e cirrose, resultando em 51.642 mortes nesse ano (1).

A única alternativa curativa para pacientes em estágio avançado da doença hepática é o transplante de fígado, que possibilita não apenas aumento da expectativa de vida, mas também melhora na qualidade de vida dos pacientes (2,3).

Um levantamento de dados realizado na Europa mostrou que a taxa de sobrevida pós-transplante de fígado aumentou para 83% no primeiro ano (*versus* 63% em 1985-1989), 71% no quinto ano (*versus* 51% em 1985-1989) e 61% no décimo ano (*versus* 45% em 1985-1989) (3). O aumento da taxa de sobrevida pós-transplante ao longo dos anos está relacionado principalmente com o avanço das terapias imunossupressoras e com o aprimoramento das técnicas cirúrgicas (4).

Além da complexidade da técnica cirúrgica do transplante de fígado, que por si só pode ser responsável por uma série de complicações, o pós-operatório está relacionado a desafios de imunossupressão, com o potencial de apresentar efeitos adversos durante todo o tratamento (2,5).

A principal droga imunossupressora utilizada no transplante de fígado desde 1998 na Europa e nos Estados Unidos é o tacrolimo, o qual tem sido o medicamento de escolha por estar associado ao menor número de episódios de rejeição e à menor taxa de mortalidade quando comparado à ciclosporina (6,7).

Contudo, por possuir um índice terapêutico estreito (margem estreita de segurança, cuja dose terapêutica é próxima da tóxica) e alta variabilidade inter e intraindividual, o monitoramento sérico do tacrolimo deve ser frequente (8).

Atualmente, as estratégias de monitoramento sérico ocorrem por meio do ajuste individual da dose para atingir uma determinada concentração mínima no

sangue (C_0) capaz de minimizar os eventos adversos e prevenir a rejeição do enxerto (9).

Baixas concentrações de tacrolimo no período pós-transplante podem precipitar episódios de rejeição do enxerto, enquanto altas concentrações podem levar à nefrotoxicidade, à neurotoxicidade, ao diabetes, a infecções oportunistas, ao aumento do risco cardiovascular e a malignidades (9).

1.2 Farmacocinética e farmacodinâmica do tacrolimo

A farmacocinética estuda quantitativamente a cronologia dos processos de absorção, distribuição, biotransformação e eliminação das drogas, e a farmacodinâmica estuda o alvo das drogas, o mecanismo de ação e o efeito da droga no organismo (10).

A farmacocinética e a farmacodinâmica são influenciadas pela variabilidade genética de um indivíduo (11). As concentrações plasmáticas do tacrolimo são afetadas pela variabilidade genética tanto do receptor (ação intestinal) quanto do doador (ação hepática) (12), por consequência da metabolização extensa das enzimas *CYP3A5* e *CYP3A4* e do citocromo P450 oxidoreductase (*POR*) (em menores quantidades) presentes no intestino delgado e no fígado (13).

Além dessas enzimas citadas anteriormente, a glicoproteína-P (proteína expressa na superfície celular, codificada pelo gene *ABCB1*), também desempenha papel importante na farmacocinética do tacrolimo (14): bombear xenobióticos do citoplasma para o exterior da célula (15), reduzindo as concentrações intracelulares e lançando o tacrolimo para fora da célula intestinal (Figura 1) (14–16). Esse processo também ocorre nos hepatócitos e nas células renais (15).

O metabolismo de fase I ocorre através das enzimas *CYP3A4*, *CYP3A5* do sistema oxidase, enquanto o metabolismo de fase II ocorre no fígado por desmetilação, glucuronidação, sulfatação, acetilação e conjugação (10,14,17).

Nas células T, o tacrolimo irá se ligar a receptores citoplasmáticos chamados de imunofilinas, no caso o FK506 *binding protein 12kDa* (FKBP12). Esse complexo

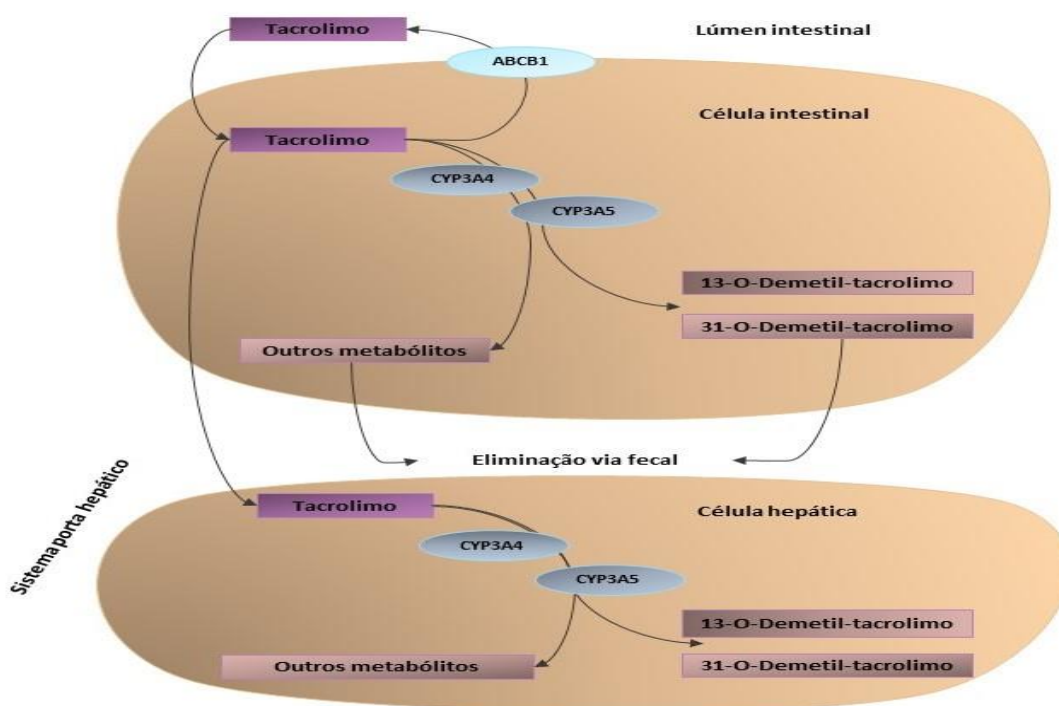
(tacrolimo + FKBP12) irá inativar a calcineurina, uma enzima fundamental na sinalização das células T. Essa inibição irá impedir a transcrição do gene interleucina-2, inibindo sua produção pelos linfócitos CD4. A interleucina-2 tem como principal função a ativação e proliferação dos linfócitos T (18).

1.3 Estudo da farmacogenética através de polimorfismos genéticos

A farmacogenética é uma área da farmacologia clínica que estuda como as variações presentes no genoma dos indivíduos podem influenciar na resposta aos medicamentos (19).

O estudo da farmacogenética ocorre por meio da identificação de genes relacionados à codificação de proteínas envolvidas na farmacocinética, na farmacodinâmica e/ou nas proteínas transmembranas (11).

Figura 1 – Farmacocinética do tacrolimo através das células intestinais e células hepáticas

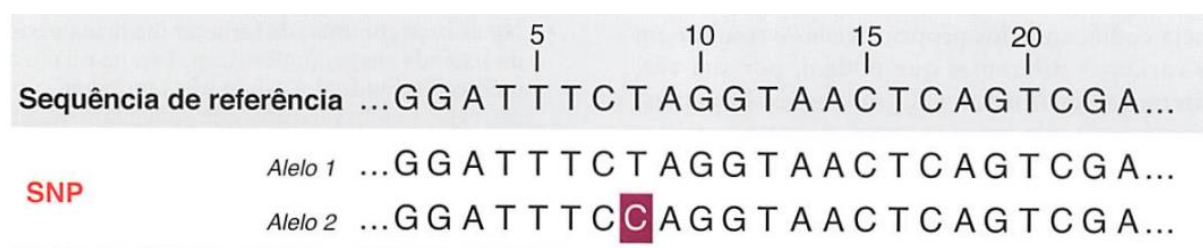


Fonte: Figura adaptada de Barbarino et al. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways (15).

O termo polimorfismo genético é frequentemente utilizado em situações em que ocorrem variações na sequência de ácido desoxirribonucleico (DNA). No entanto, a presença dessa variação não acarreta o aparecimento de doenças (20). Um dos mais comuns é o polimorfismo de nucleotídeo único (SNP) (do inglês, *single nucleotide polymorphism*) (Figura 2) com alteração de apenas um nucleotídeo com frequência maior que 1% na população (20).

A identificação de biomarcadores farmacogenéticos que influenciam a resposta do tacrolimo tem o potencial de permitir a individualização da dose e auxiliar no alcance das concentrações sanguíneas-alvo nos primeiros dias após o transplante (9).

Figura 2 – Polimorfismo de nucleotídeo único a partir de um segmento do conjunto de referência do genoma humano



Fonte: Figura adaptada de McInnes. Thompson & Thompson Genética Médica (21)

Legenda: A primeira linha é o segmento do conjunto de referência do genoma humano. O SNP na posição 8 possui dois alelos: um com o T (corresponde à sequência de referência) e outro com o C (corresponde ao alelo variante).

1.1.1 Enzimas CYP3A4, CYP3A5, POR e glicoproteína-P

A principal enzima envolvida na farmacocinética do tacrolimo é a *CYP3A5*, seguida da *CYP3A4* (9).

A variante mais estudada do *CYP3A5* é o SNP rs776746, sendo que cerca de 89% dos indivíduos são homocigotos para o alelo variante do rs776746. Isso significa que grande parte da população é portadora do alelo variante (alelo variante = ausência da proteína funcional).

Nas Tabelas 1 e 2, estão listados os principais SNPs dos genes *CYP3A5* e *CYP3A4* associados com alterações na resposta do tacrolimo no pós-transplante. Também estão descritas a definição e a frequência na população.

Tabela 1- Descrição e frequência dos alelos variante e referência dos SNPs rs776746 e rs10264272 (*CYP3A5*)

SNP	Alelo	Polimorfismo			Frequência alélica na população			
		Mudança	Descrição	Fenótipo	Global (n=6404)	CA (n=1266)	AF (n=1786)	AS (n=1202)
rs776746	Ref.:T	T>C	Splicing incorreto com uma proteína truncada não funcional	Diminuição da função enzimática	38%	5%	82%	34%
	Var.:C				62%	95%	18%	66%
SNP	Alelo	Mudança	Descrição	Fenótipo	Global (n=5008)	CA (n=1006)	AF (n=1322)	AS (n=1008)
rs10264272	Ref.C	C>T	Splicing incorreto com uma proteína truncada não funcional	Diminuição da função enzimática	95%	99%	85%	100%
	Var.:T				5%	1%	15%	0%

Fonte: dbSNP: the NCBI database of genetic variation. Projeto 1000 Genomas. (22)

Legenda: CA: caucasiano; AF: africano; AS: asiático.

O gene *POR* se expressa no retículo endoplasmático liso do microsoma hepático humano (23). Sua fonte de elétrons é a nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), que fornece elétrons a todos os citocromos microsossomais para que exerçam sua atividade catalítica (23).

Polimorfismo (ou mutação na enzima *POR*) está relacionado com alterações das enzimas *CYP3A4/5*, em consequência da modificação na resposta do metabolismo às drogas (24). Numerosos estudos *in vivo* e *in vitro* confirmaram que mutações na enzima *POR* afetaram a atividade das enzimas do citocromo P450 (24).

Na metanálise realizada por Da-Hoon Lee et al. (25), procedeu-se à análise de seis estudos observacionais (1.061 pacientes transplantados renais), os quais

mostraram que pacientes portadores do genótipo variante TT (gene *POR*, rs1057868) apresentam menor concentração de tacrolimo quando comparados com os transportadores do genótipo CC.

Tabela 2- Descrição e frequência dos alelos variante e referência dos SNPs rs2740574, rs2242480 e rs35599367 (*CYP3A4*)

SNP	Alelo	Polimorfismo			Frequência alélica na população			
		Mudança	Descrição	Fenótipo	Global (n=5008)	CA (n=1006)	AF (n=1322)	AS (n=978)
rs2740574	Ref.:C	C>T	Mutação na região promotora (aumento da expressão)	Aumento da atividade enzimática	23%	3%	77%	0%
	Var.:T				77%	97%	23%	100%
rs2242480	Ref.C	C>T	Substituição no íntron	Aumento da atividade enzimática	58%	92%	15%	63%
	Var.:T				42%	8%	85%	37%
rs35599367	Ref.:G	G>A	Redução da expressão e da atividade RNAm do CYP3A4	Diminuição da função enzimática	98%	95%	100%	100%
	Var.:A				2%	5%	0%	0%

Fonte: dbSNP: the NCBI database of genetic variation. Projeto 1000 Genomas (22).

Legenda: CA: caucasiano; AF: africano; AS: asiático.

A Tabela 3 mostra a frequência populacional do principal polimorfismo do gene *POR*.

A glicoproteína-P é uma proteína expressa na superfície celular, codificada pelo gene *ABCB1* e está relacionada com a resistência de muitas drogas (16). Sua localização permite que proteja as células de xenobióticos tóxicos, excretando ativamente esse composto para fora das células (16). No entanto, a influência dos polimorfismos do gene *ABCB1* sobre a farmacocinética do tacrolimo ainda permanece incerta.

Tabela 3- Descrição e frequência dos alelos variante e referência do SNP rs1057868 (POR)

Polimorfismo			Frequência alélica na população			
SNP ID	Mudança	Alelos	Global (n=5008)	CA (n=1006)	AF (n=1322)	AS (n=978)
rs1057868	C>T	Ref.:C	71%	3%	77%	0%
		Var.:T	77%	97%	23%	100%

Fonte: dbSNP: the NCBI database of genetic variation. Projeto 1000 Genomas (22).

Legenda: CA: caucasiano; AF: africano; AS: asiático

Na metanálise realizada por Yuan Liu et al. (26), nove estudos observacionais foram avaliados (558 receptores de transplante de fígado). Os receptores portadores do genótipo CC (rs1045642, *ABCB1*), apresentaram uma dose significativamente maior de tacrolimo do que os pacientes homocigotos TT ($p=0,014$).

Já em outra metanálise recente (27), Naushad et al. investigaram a influência das variantes genéticas do polimorfismo do gene *ABCB1* (rs1045642) na concentração e na dose do tacrolimo. No entanto, não encontraram influência estatisticamente significativa na relação de dose/concentração do tacrolimo no primeiro mês pós-transplante para os genótipos do gene *ABCB1*.

Existem vários polimorfismos citados em literatura. Neste trabalho, porém, serão abordados os seguintes SNPs: rs1128503, rs2229109, rs9282564. A frequência alélica (variante e referência) desses SNPs está descrita na Tabela 4.

Apesar da existência de vários estudos, a literatura ainda é controversa em relação à realização de teste genético para direcionamento da dose inicial de tacrolimo.

Ainda existem lacunas na literatura que necessitam ser exploradas sobre a influência dos SNPs e os desfechos no pós-operatório de transplante hepático.

Tabela 4- Frequência alélica dos SNPs rs1128503, rs2229109 e rs9282564 (ABCB1)

Polimorfismo			Frequência alélica na população			
SNP ID	Mudança	Alelos	Global (n=5008)	CA (n=1006)	AF (n=1322)	AS (n=978)
rs1128503	A>G	Ref.:A	43%	43%	21%	69%
		Var.:G	57%	57%	79%	37%
rs2229109	C>T	Ref.:C	96%	96%	99%	100%
		Var.:T	4%	4%	1%	0%
rs9282564	T>C	Ref.:T	91%	90%	98%	100%
		Var.:C	9%	10%	2%	0%

Fonte: dbSNP: the NCBI database of genetic variation. Projeto 1000 Genomas (22).

Legenda: CA: caucasiano; AF: africano; AS: asiático.

1.4 Justificativa do estudo

Dessa forma, não é nenhuma surpresa que o perfil genético de um indivíduo que será submetido ao transplante hepático possa alterar significativamente os resultados farmacológicos no pós-transplante (28,29). Portanto, os fatores genéticos, como causa de variações em respostas farmacológicas, têm sido cada vez mais aceitos internacionalmente (30,31).

Embora exista correlação entre alguns SNPs e parâmetros farmacocinéticos, infelizmente, na prática clínica de transplante de órgãos sólidos, os testes genéticos não são utilizados em razão da escassez de estudos clínicos com resultados sólidos (19).

Este estudo avalia os SNPs da principal via farmacocinética do tacrolimo e a influência desses genótipos nos desfechos associados com o pós-operatório de 90 dias (rejeição aguda, infecção e lesão renal).

Na literatura, poucos estudos avaliaram a associação entre os SNPs das enzimas metabolizadoras do tacrolimo (*CYP3A5*, *CYP3A4*, *POR*), e do gene *ABCB1* em pacientes transplantados de fígado.

2. OBJETIVO

2. OBJETIVO

O objetivo principal do presente trabalho é avaliar associação entre os SNPs dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5*, *ABCB1* e *POR* com a rejeição celular aguda em pacientes transplantados de fígado durante os primeiros 90 dias pós-operatório.

Os objetivos secundários são identificar a frequência alélica de um conjunto de SNPs pré-determinados dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5*, *ABCB1* e *POR* na população estudada (receptores e doadores de transplante de fígado) e avaliar a associação entre os SNPs dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5*, *ABCB1* e *POR* e duas complicações frequentes no pós-operatório de transplante de fígado (infecção e lesão renal).

3. MÉTODOS

3. MÉTODOS

3.1 Desenho do estudo

Estudo observacional, prospectivo, coorte e unicêntrico em pacientes transplantados hepáticos.

3.2 Casuística

3.2.1 Período e local do estudo

Foram incluídos pacientes da Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), que preenchiam os critérios de elegibilidade entre o período de outubro de 2019 até maio de 2021. Foram avaliadas amostras de sangue dos doadores e receptores de transplante hepático de pacientes adultos. As amostras de sangue dos doadores e receptores foram coletadas antes do procedimento cirúrgico pela equipe da Organização de Procura de Órgão (OPO) e por técnicos de enfermagem do centro cirúrgico, respectivamente. Essas amostras foram armazenadas em refrigeradores no laboratório de investigações médicas, após extração de DNA genômico, o qual, depois de extraído, foi encaminhado para o laboratório de análise genômica (empresa terceirizada) para realização da técnica de genotipagem.

Utilizou-se o prontuário eletrônico do HCFMUSP para obtenção de dados clínicos, resultado de exames laboratoriais e laudos histológicos dos receptores de fígado. Para informações demográficas dos doadores, foram utilizadas as fichas preenchidas pela equipe da OPO.

3.2.2 Critérios de inclusão

Os critérios de inclusão foram os seguintes:

- a) pacientes com idade superior a 18 anos;
- b) assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE);

- c) receptores que realizaram o transplante de fígado ortotópico no Hospital das Clínicas, cuja amostra de sangue havia sido coletada antes do procedimento cirúrgico (pré-operatório imediato); e
- d) amostra de sangue do doador coletada antes do procedimento cirúrgico pela equipe da OPO.

3.2.3 Critérios de exclusão

Os critérios de exclusão foram os seguintes:

- a) pacientes que realizaram transplante hepático previamente com necessidade de retransplante;
- b) pacientes que necessitaram de retransplante ou que foram a óbito nos primeiros 7 dias pós-operatório (a causa geralmente está associada a complicações cirúrgicas, defeito de aloenxerto primário ou complicações relacionadas ao receptor e não ao regime imunossupressor);
- c) pacientes cuja coleta da amostra do receptor ou do doador não estivesse disponível ou estivesse inadequada para a análise; e
- d) pacientes que fizeram transplante duplo rim/fígado.

A Figura 3 demonstra o fluxograma dos pacientes incluídos.

3.3 Avaliação dos desfechos clínicos pós-transplante de fígado e identificação de polimorfismos de nucleotídeo único

3.3.1 Acompanhamento de três meses

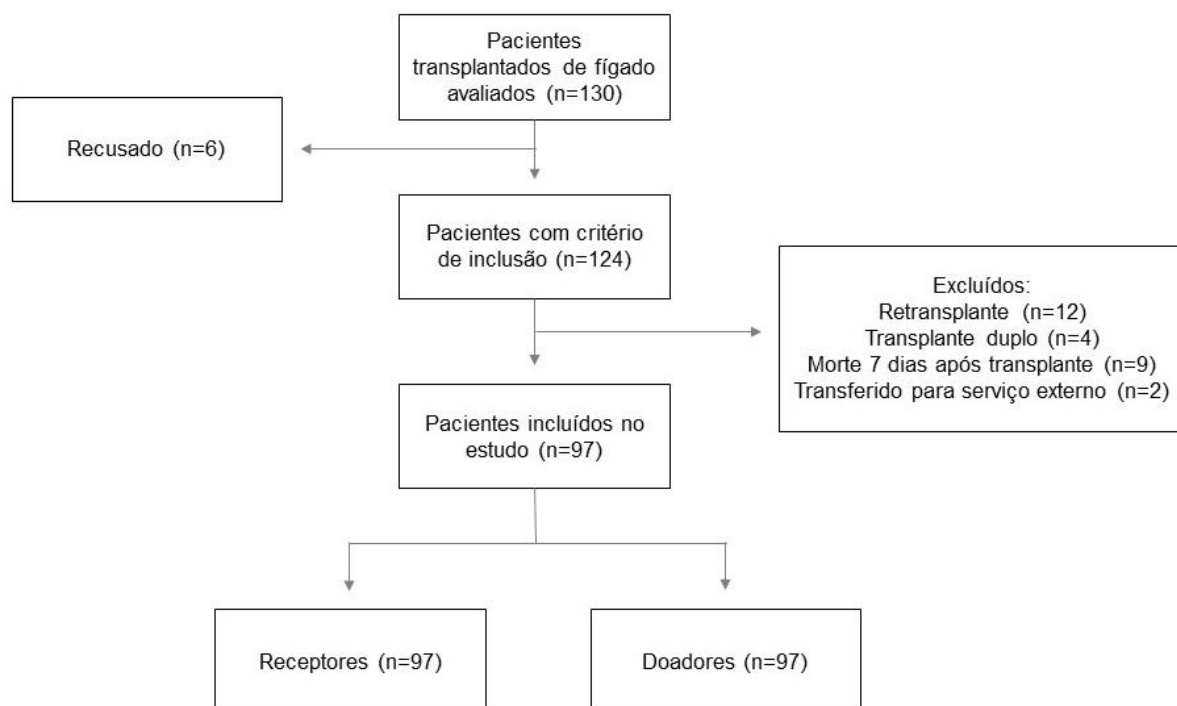
Todos os receptores de transplante de fígado selecionados para este estudo foram monitorados durante três meses pós-transplante por meio da coleta de dados em prontuários eletrônicos nos dias 0, 7, 14, 30 e 90 pós-cirurgia.

3.3.2 Avaliação laboratorial

Na rotina assistencial da Divisão de Gastroenterologia e Hepatologia, a investigação diagnóstica de pacientes pós-transplantes de fígado compreende os seguintes exames: leucograma, proteína C reativa (PCR), creatinina sérica, ureia,

alanina aminotransferase (ALT), aspartato aminotransferase (AST), fosfatase alcalina (FA), gamaglutamiltransferase (GGT), bilirrubina direta/indireta/total, biópsia do enxerto (quando necessário) e concentração sanguínea de tacrolimo.

Figura 3 – Fluxograma de inclusões de pacientes



No presente estudo, esses resultados foram consultados com o objetivo de não apenas classificar a presença ou a ausência de desfechos pós-transplante, como aparecimento de rejeição aguda, infecção e insuficiência renal, mas também de informar a concentração sanguínea de tacrolimo.

3.3.3 Classificação da ausência ou presença do desfecho

Os critérios utilizados para classificação de ausência ou presença de desfecho estão descritos a seguir:

- a) rejeição aguda: a presença de rejeição aguda foi considerada positiva quando registradas as alterações histológicas observadas em biópsia,

conforme critérios Banff (32). Outra situação considerada como presença de rejeição foi a evolução em prontuário eletrônico pela equipe médica da prescrição de pulsoterapia com melhora das enzimas hepáticas após a administração da medicação;

- b) infecção: foram consideradas infecções bacterianas, fúngicas ou virais identificadas em qualquer sítio, mediante análise de exames laboratoriais (aumento do PCR, leucograma acima do valor de referência, uso de antibióticos e presença de cultura positiva); e
- c) insuficiência renal: classificou-se como positivo para lesão renal aguda o paciente que apresentou aumento da creatinina sérica $> 1,5$ vez em relação à linha de base dos últimos sete dias anteriores, conforme classificação RIFLE (do inglês, *Risk, Injury, Failure; Loss, End-Stage Renal Disease*)(33).

Esses dados foram coletados em 0, 7, 14, 30 e 90 dias após o transplante hepático.

3.3.4 Avaliação da concentração sanguínea de tacrolimo

O tacrolimo foi administrado por via oral e mantido em todos os pacientes. A dose inicial foi 0,10-0,15 mg/kg/dia, administrada em duas doses diárias.

A avaliação da concentração sanguínea do tacrolimo ocorreu conforme rotina do laboratório central, sendo coletada uma hora antes do horário habitual da tomada da medicação, ou seja, 12 horas após a última administração da droga.

O resultado do nível sanguíneo de tacrolimo foi coletado por meio do prontuário eletrônico em 0, 7, 14, 30 e 90 dias após o transplante hepático.

3.3.5 Coleta de amostras de sangue

As amostras de sangue foram coletadas no dia da inclusão do paciente no estudo. Foram coletados 20 mL de sangue venoso de cada paciente. As amostras de sangue dos pacientes foram armazenadas em tubos contendo ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) (do inglês, *ethylenediaminetetraacetic acid*) como anticoagulante. Amostra foi centrifugada, e o plasma, separado e congelado a -70°

Celsius. A camada leucocitária (*buffy coat*) foi separada do restante da amostra e submetida à extração do DNA.

3.3.6 Extração de DNA genômico

O DNA genômico foi isolado de leucócitos com o QIAmp® DNA Blood Mini Kit (Qiagen, Valencia, CA) de acordo com instruções do fabricante.

Para quantificação e avaliação da pureza do DNA genômico, utilizou-se o espectrofotômetro Nanodrop (NanoDrop Technologies, Wilmington, EUA). Foram utilizadas amostras de DNA com razão A260/A280 entre 1,8 e 2,0 com concentração superior a 20 ng/μL.

3.3.7 Seleção dos polimorfismos genéticos

3.3.7.1 Método de identificação

Para a seleção dos SNPs dos genes candidatos, foi utilizado o método descrito a seguir.

Inicialmente, foram selecionados genes envolvidos na farmacocinética dos inibidores da calcineurina a partir de informações disponíveis nas seguintes bases de dados públicas: National Center for Biotechnology Information (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>), The Pharmacogenomics Knowledge Base (<https://www.pharmgkb.org/>) e Database of Human Genetic Variation: SNPedia (<https://www.snpedia.com/>). Os genes que foram estudados no contexto de metabolização de drogas em pacientes transplantados de fígado receberam prioridade de seleção.

Posteriormente, foram escolhidos os polimorfismos utilizando os seguintes critérios: (i) funcionalidade do SNP quando disponível; (ii) frequência do alelo raro (MAF) (do inglês, *minor allele frequency*) maior ou igual a (\geq) 5%.

Os SNPs selecionados foram: *CYP3A4* (rs2740574, rs2242480, rs35599367), *CYP3A5* (rs776746 e rs10264272), *POR* (rs1057868) e *ABCB1* (rs1128503, rs2229109 e rs9282564).

3.3.8 Técnica de Microarray

Para realização da técnica de Microarray, utilizaram-se o protocolo do produto “Infinium™ Global Screening Array-24 v3.0 BeadChip” (Illumina Way, San Diego, CA) e, para automatização da técnica, o equipamento Freedom EVO® (Tecan, Männedorf, CH).

Para a leitura dos dados foi utilizado o aparelho iScan.

A análise de DNA genômico, através da técnica de Microarray foi realizada pela empresa Genera Laboratoriais Ltda.

3.4 Análise estatística

3.4.1 Tamanho da amostra

Amostragem por acessibilidade ou conveniência.

3.4.2 Definição das análises realizadas no estudo

No estudo, foram realizadas a análise individual dos genótipos (receptor *versus* doador) e a análise compartilhada dos genótipos (receptor e doador), conforme descrito a seguir:

- a) análise individual: a análise individual consistiu na avaliação separada dos dados dos doadores e dos receptores (Anexo A);
- b) análise conjunta: ao contrário da análise individual, nessa análise foram avaliados os dados dos dois pacientes (genótipos dos receptores e genótipos dos doadores). A análise conjunta visa identificar se a compatibilidade de genótipos de doadores e receptores irá mudar a resposta dos desfechos analisados.

No entanto, não foi possível separar apenas por homocigoto selvagem, heterocigoto e homocigoto variante em razão do número insuficiente de pacientes para a análise. Os pacientes (receptores e doadores) foram separados em grupos de expressores ou não expressores da proteína (Anexo B).

Para os seguintes SNPs, a análise conjunta não foi realizada em razão do número insuficiente de pacientes: 10264272 (*CYP3A5*), rs35599367 (*CYP3A4*), rs1128503 (*ABCB1*), rs9282564 (*ABCB1*), rs2229109 (*ABCB1*).

3.4.3 Análise de dados

Realizou-se a análise dos dados em parceria com o Instituto de Matemática e Estatística (IME) da Universidade de São Paulo (USP) no Centro de Estatística Aplicada (CEA).

Os resultados da análise descritiva foram expressos em média, mediana, valores mínimos e máximos e, também, distribuição de frequência.

Os dados contínuos foram avaliados utilizando o teste de Shapiro-Wilk para verificar a normalidade da sua distribuição, e o teste de Levene, para verificar a homogeneidade das variâncias entre os grupos, quando necessário.

O teste do qui-quadrado ou o teste de homogeneidade exato de Fisher foi utilizado para comparação da frequência dos genótipos dos doadores e receptores, bem como para análise de associação dos desfechos com os genótipos dos doadores e dos receptores (análise individual e análise conjunta).

Na análise individual (doadores *versus* receptores), a associação com os polimorfismos foi estabelecida por meio do modelo de regressão logística bayesiana. A variável resposta foi definida como dicotômica e procedeu-se à regressão logística, com três modelos, um para cada desfecho (infecção, insuficiência renal e rejeição aguda). Os modelos foram desenvolvidos utilizando a decomposição de Cholesky e a estimação de betas e matriz de correlação R, para infecção, rejeição e lesão renal.

Para a análise conjunta (doadores e receptores), os resultados de infecção, rejeição e lesão renal foram modelados por regressão logística utilizando o método de validação cruzada para estimar a precisão dos modelos.

As variáveis foram comparadas de acordo com o grupo ou a categoria por meio do teste ANOVA ou do teste de Kruskal-Wallis, conforme os tipos de distribuição dos

dados. Assim, as médias dos valores de um grupo são comparadas com os valores médios dos outros grupos por meio do teste, sendo o ANOVA usado em distribuições normais de dados, e o Kruskal-Wallis, nas distribuições não normais.

O equilíbrio de Hardy-Weinberg foi determinado pelo teste qui-quadrado de Pearson (teste χ^2).

A determinação da frequência de alelos e genótipos da população de doadores e receptores ocorreu mediante a distribuição de frequência.

Todas as análises foram realizadas no software R versão 4.1.1 (2021-08-10) – "Kick Things" Copyright (C) 2021 The R Foundation for Statistical Computing.

Para a inferência bayesiana, não foi utilizado o valor de p , mas sim o intervalo de máxima densidade *a posteriori* (HPD), que é equivalente a intervalo de confiança (34). Foram considerados significantes os coeficientes que não apresentaram o zero em seu intervalo. A matriz de correlação apresentou todas as estimativas de ρ próximas de zero, sem significância estatística.

Para os demais testes, o nível de significância foi de 5%.

3.5 Aspectos éticos

O presente estudo foi realizado de acordo com os padrões éticos estabelecidos na Declaração de Helsinque de 1964 e suas alterações posteriores ou padrões éticos comparáveis. Todos os receptores assinaram o TCLE previamente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do HCFMUSP, e os doadores tiveram liberação de TCLE pelo CEP, CAAE: 20229919.6.0000.0068.

4. RESULTADOS

4. RESULTADOS

4.1 Dados clínicos e demográficos

Foram incluídos 97 pacientes transplantados de fígado e seus respectivos doadores conforme descritos na Figura 3, apresentada previamente. Todos os enxertos foram provenientes de 97 doadores falecidos.

Tanto as características demográficas e etiológicas dos 97 receptores do fígado quanto as características demográficas dos 97 doadores estão apresentadas na Tabela 5.

A idade mediana dos receptores no momento do transplante de fígado foi de 59,80 (18,58 – 71,84), e a mediana de idade dos doadores no momento do transplante foi de 49,35 (6,32 – 76,29).

Dos 97 receptores, 40 (41,2%) eram no sexo feminino e 57 (58,7%) do sexo masculino. Não houve diferença significativa de homens e mulheres entre os grupos de receptores e doadores ($p=0,9427$), sinalizando uma proporção igual de homens e mulheres entre os grupos.

A hepatite C foi a principal causa de transplante de fígado ($n=39$) observada na coorte (Tabela 5).

O esquema imunossupressor utilizado na coorte está descrito na Tabela 6. A principal associação (67%) foi de tacrolimo, prednisona e micofenolato de sódio/mofetila. Não houve caso de monoterapia.

Tabela 5 – Dados demográficos de 97 pacientes transplantados de fígado e de 97 doadores

Parâmetros	Receptores (n=97)	Doadores (n=97)	Valor de p*
<i>Idade, anos (min-máx.)</i>	59,8 (18,6 -71,8)	49,3 (6,3 -76,3)	p<0,001
<i>Sexo, feminino/masc. (n)</i>	40/57	38/59	p=0,9427
<i>Etnia, n (%)</i>			
Asiático	2 (2,1%)		
Euro-brasileiro	78 (83%)		
Afro-brasileiro	14 (14,9)		
<i>Peso, kg (média ± DP)</i>	69,8 ± 13,7		
<i>Doença primária, n (%)</i>			
HCV- relacionado à cirrose	39/97 (40,0%)		
Associado a carcinoma hepatocelular	15/39 (38,5%)		
Associado a etilismo	2/39 (5,1%)		
Associado a cirrose biliar primária	1 (2,6%)		
HBV- relacionado à cirrose	18/97 (18,6%)		
Associado a carcinoma hepatocelular	6/18 (33,3%)		
Associado a etilismo	1 (5,6%)		
Associado a Colangite Esclerosante Primária	1 (5,6%)		
NASH	11/97 (11,3%)		
Associado a carcinoma hepatocelular	1/11 (9,1%)		
Associado a etilismo	1/11 (9,1%)		
Etilismo	4 (4,1%)		
Associado a carcinoma hepatocelular	3/4 (75,0%)		
Associado a esquistossomose	1/4 (25,0%)		
Outras	21/97 (21,6%)		
Criptogênica	9/21(42,8%)		
Autoimune	3/21 (14,2%)		
Colangite Esclerosante Primária	4/21 (19,0%)		
Esquistossomose	2/21 (9,5%%)		
Hepatite Fulminante	1/21 (4,7%)		
Doença de Caroli	1/21 (4,7%)		
Colangite Esclerosante Secundária	1/21 (4,7%)		

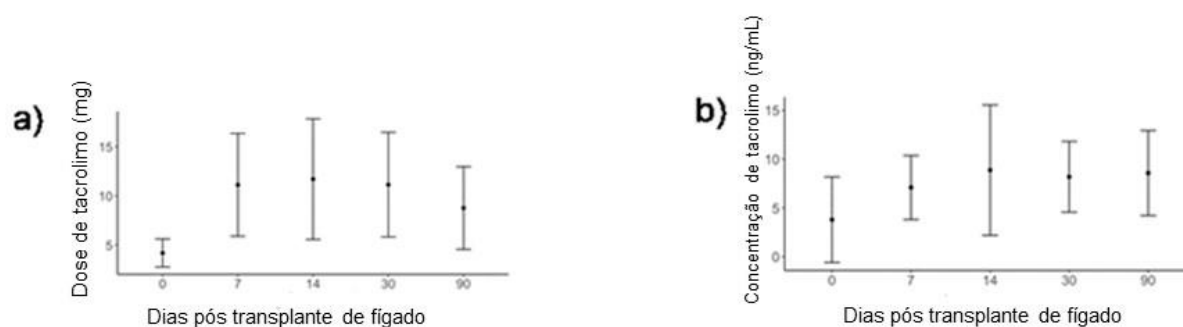
Legenda: DP: desvio-padrão; mín.: mínimo; máx.: máximo; HCV: hepatite pelo vírus C; HBV: hepatite pelo vírus B; NASH: esteato-hepatite não alcoólica.

Tabela 6 – Imunossupressores utilizados nos três primeiros meses

Esquema imunossupressor	N (%)
Tac	0 (0%)
Tac/prednisona	31 (31,9%)
Tac/prednisona/micofenolato de mofetila ou de sódio	59 (60,8%)
Tac/prednisona/micofenolato de mofetila ou de sódio/everolimos	7 (7,2%)

Legenda: Tac: tacrolimo.

A dose inicial de tacrolimo foi 4 mg/dia e, em seguida, houve um ajuste para alcançar a concentração mínima ideal (gráficos 4a e 4b) entre os níveis de 6 ng/mL e 10 ng/mL (esses valores podem ser ajustados a depender da etiologia, idade, comorbidades e outros fatores que pode influenciar no nível ideal) durante as primeiras quatro semanas após o transplante hepático e, posteriormente, entre 4 ng/mL 8 ng/mL (Gráficos 4a e 4b) (35).

Figura 4 – Dose e concentração sanguínea de tacrolimo nos 90 dias pós-transplante (média e desvio-padrão).

Os resultados laboratoriais dos receptores ao longo dos 90 dias de acompanhamento estão descritos na Tabela 7. De maneira global, todas as enzimas canaliculares, função renal e leucócitos apresentaram atividade normal após 90 dias do transplante.

Tabela 7 – Resultado dos exames laboratoriais de 97 pacientes durante o acompanhamento de 90 dias (média ± desvio-padrão)

Variável	Dia 0	Dia 7	Dia 14	Dia 30	Dia 90
ALT (U/L)	187±702	198±162,5	66±61,5	44±111,2	31±40,6
AST (U/L)	288±1123	49±30,2	28±24,9	29±54,7	22±22,5
FA (U/L)	150±92	239±152,2	209±125,1	189±144	137±236
GGT (U/L)	140±122	554±391,4	405±327,1	258±284,3	148±271
BI (mg/dL)	1,2±1,4	0,2±0,2	0,1±0,1	0,2±0,1	0,2±,2
BD (mg/dL)	3,7±5,7	1,6±2,0	0,9±0,9	0,7±1,0	0,5±1,4
BT (mg/dL)	4,9±6,7	1,8±2,2	1,0±1,0	0,8±1,1	0,7±1,6
Creatinina (mg/dL)	1,2±1,2	2,0±1,6	2,0±1,6	1,6±1,0	1,3±0,5
Ureia (mg/dL)	42±24,4	87±55,7	69±46,0	58±27,3	52±18,2
Leucócitos (mil/mm ³)	5,1±2,3	9,1±6,4	8,5±4,6	6,5±2,9	4,7±2,2
PCR (mg/L)	17,6±22,3	60,2±67,9	65,4±63,5	36,7±53,9	14,5±44,5

Legenda: ALT: alanina aminotransferase (VR: <35 U/L); AST: aspartato aminotransferase (VR: < 35 U/L); FA: fosfatase alcalina (VR: 40 U/L e 150 U/L); GGT: gamaglutamiltransferase (homem: até 85 U/L; mulher: até 38 U/L); BI: bilirrubina indireta (VR: até 0,5 mg/dL); BD: bilirrubina direta (VR: até 1,0 mg/dL); BT: bilirrubina total (VR: entre 0,2 mg/dL e 1,20 mg/dL); creatinina (VR: homem: 0,7 e 1,3 mg/dL; mulher: 0,6 e 1,2 mg/dL); Ureia: (VR: 10 a 45 mg/dL); Leucócitos (VR: 4 a 11 mil/mm³); PCR: proteína C reativa (VR: <5,0 mg/L).

Na Tabela 8, descreve-se a incidência das complicações observadas no pós-transplante de fígado. A insuficiência renal foi a principal complicação observada no pós-transplante (n=60) e apenas 13 pacientes não apresentaram nenhuma das complicações estudadas (infecções, insuficiência renal ou rejeição celular).

Dos pacientes que apresentaram rejeição celular (n=17), apenas quatro pacientes não realizaram biópsia hepática e tiveram apenas registro em prontuário médico.

Tabela 8 – Incidência das complicações desenvolvidas pelos receptores durante o acompanhamento de três meses (n=97)

Complicação pós-transplante	N	(%)
Infecção	58/97	59,8%
Lesão renal	60/97	61,9%
Rejeição aguda (leve/moderada/grave)	17/97	17,5%
Ausência de complicações	13/97	13,4%

A principal causa de óbito foi choque séptico em 44,4% (n=4) dos que faleceram após o transplante de fígado (Tabela 9). A taxa de mortalidade foi 9,3% (n=9) na população estuda.

Tabela 9 – Causa de óbitos no seguimento (n=9; 9,3%).

Causas	Frequência n (%)
Choque séptico	4 (44,44%)
Choque refratário	3 (33,33%)
Tromboembolismo	1(11,11%)
Síndrome respiratória aguda	1(11,11%)

4.2 Frequência Alélica e Genotípica

A frequência dos alelos e genótipos dos polimorfismos estudados está descrita na Tabela 10 e não difere entre os grupos de receptores e doadores ($p>0,05$).

Os polimorfismos estudados estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, com exceção do marcador rs2242480 (CYP3A4) dos doadores, conforme Tabela 10.

Tabela 10 – Frequência de alelos e genótipos por polimorfismo

Gene	Polimorfismo	Alelo freq. %		Genótipo freq. (n, %)						EHW (p)
		Referência/ Variante								
CYP3A5		T	C	TT	TC	CC				
R	rs776746	19,59%	80,41%	6 6,19%	26 26,80%	65 67,01%				0,1602
D		24,74%	75,26%	8 8,25%	32 32,99%	57 58,76%				0,2711
CYP3A5		C	T	CC	TC	TT				
R	rs10264272	97,94%	2,06%	93 95,88%	4 4,12%	0 0%				0,7717
D		94,85%	5,15%	87 89,69%	10 10,31%	0 0%				0,4609
CYP3A4		C	T	CC	CT	TT				
R	rs2740574	14,43%	85,57%	3 3,09%	22 22,68%	72 74,23%				0,4422
D		20,62%	79,38%	6 6,19%	28 28,87%	63 64,95%				0,2604
CYP3A4		C	T	CC	TC	TT				
R	rs2242480	74,74%	25,26%	55 56,70%	35 36,08%	7 7,22%				0,6652
D		71,65%	28,35%	56 57,73%	27 27,84%	14 14,43%				0,0025
CYP3A4		G	A	GG	AG	AA				
R	rs35599367	98,97%	1,03%	95 97,94%	2 2,06%	0 0%				0,8852
D		98,45%	1,55%	94 96,91%	3 3,09%	0 0%				0,8281
POR		C	T	CC	TC	TT				
R	rs1057868	75,77%	24,23%	54 55,67%	39 40,21%	4 4,12%				0,3357
D		77,32%	22,68%	58 59,79%	34 35,05%	5 5,15%				0,9952
ABCB1		A	G	AA	AG	GG				
R	rs1128503	31,77%	68,23%	10 10,42%	41 42,71%	45 46,88%				0,8842
D		40,21%	59,79%	12 12,37%	54 55,67%	31 31,96%				0,1175
ABCB1		C	T	CC	TC	TT				
R	rs2229109	94,85%	5,15%	87 89,69%	10 10,31%	0 0%				0,4609
D		97,94%	2,06%	93 95,88%	4 4,12%	0 0%				0,7717
ABCB1		T	C	TT	TC	CC				
R	rs9282564	95,36%	4,64%	88 90,72%	9 9,28%	0 0,00%				0,8842
D		94,33%	5,67%	87 89,69%	9 9,28%	1 1,03%				0,1175

Legenda: R: receptor; D: doador. A coluna esquerda da frequência do alelo representa o alelo referência (ou comum), e a coluna direita representa o alelo variante; EHW: equilíbrio de Hardy-Weinberg (do inglês, *Hardy-Weinberg equilibrium*).

4.3 Efeito do genótipo dos doentes rs776746 (*CYP3A5*), rs10264272 (*CYP3A5*), rs2740574 (*CYP3A4*), rs2242480 (*CYP3A4*), rs35599367 (*CYP3A4*), rs1057868 (*POR*), rs1128503 (*ABCB1*), rs2229109 (*ABCB1*) e rs9282564 (*ABCB1*) na infecção, rejeição aguda e insuficiência renal

Para fins de melhor entendimento iniciaremos a partir daqui a análise dos polimorfismos primeiramente de forma isolada (doadores OU receptores) e posteriormente a análise conjunta (doadores E receptores).

4.3.1 Infecção

4.3.1.1 Genótipos dos doadores ou receptores (análise isolada)

Para o desfecho infecção, observou-se evidência de associação para os polimorfismos do receptor, o gene *POR* (rs1057868) e o gene *ABCB1* (rs1128503).

O genótipo CT (rs1057868, gene *POR*) estaria mais associado à infecção (OR = 3,82; intervalo HPD 95% [0,3 - 2,4]), enquanto o genótipo CC com menor frequência de infecção ($p=0,006$) (Tabela 11). Referente ao polimorfismo do gene *ABCB1* (rs1128503) dos receptores, os genótipos AA e AG apresentaram mais infecção do que os genótipos GG ($p=0,0394$) (Tabela 11).

Tabela 11 - Polimorfismos dos genes *ABCB1* e *POR* de receptores associados com a infecção (valor $p<0,05$)

Gene Polimorfismo	Genótipo	Infecção		Sem infecção		Total	Valor-p
		Freq.	(%)	Freq.	(%)		
<i>ABCB1</i> rs1128503	AA	6	(10,5%)	4	(10,3%)	10	0,0394
	AG	30	(52,6%)	11	(28,2%)	41	
	GG	21	(36,8%)	24	(61,5%)	45	
<i>POR</i> rs1057868	CC	25	(43,1%)	29	(74,4%)	54	0,006
	CT	30	(51,7%)	9	(23,1%)	39	
	TT	3	(5,2%)	1	(2,6%)	4	

Alguns polimorfismos dos receptores não foram associados com infecção no pós-operatório, porém apresentaram aumento da probabilidade de infecção para determinados genótipos.

Para o gene *CYP3A4*, os genótipos GG e TT do rs35599367 e rs2740574, respectivamente, OR = 3866,09 (intervalo HPD de 95% [0,3 - 20,3]) e OR = 5,31 (intervalo HPD de 95% [0,4 - 3,11]), apresentam chance aumentada de desenvolver infecção do que os genótipos GA e CC, respectivamente. E para o gene *CYP3A5*, o genótipo TT do polimorfismo rs776746, OR=28,5 (intervalo HPD de 95% [0,8 - 6,25]), apresenta chance aumentada de desenvolver infecção do que o genótipo CC (Tabela 12).

Observou-se, também, redução de 6% na chance de infecção a cada acréscimo de um ano na idade do doador (Tabela 12).

Para o desfecho de infecção em que não foi encontrado evidência de associação, os dados encontram-se nos Anexos C e D.

Tabela 12 - Chance de infecção de acordo com polimorfismos dos genes *POR*, *CYP3A4* e *CYP3A5*.

Variável	Doador/ Receptor	Genótipo	Referência	Beta	Exp. (beta)	HPD (95%)	
Intercepto				1,25		-2,78	13,46
Idade	Doador			-0,06	0,9	-0,1	-0,02
rs1057868	Receptor	CT	CC	1,34	3,8	0,3	2,4
rs35599367	Receptor	GG	GA	8,26	3866,1	0,3	20,3
rs2740574	Receptor	TT	CC	1,67	5,3	0,4	3,11
rs776746	Receptor	TT	CC	3,35	28,5	0,8	6,25

Legenda: HPD: máxima densidade e *a posteriori*; Exp.: Exponencial do coeficiente beta

4.3.1.2 Análise conjunta dos dados do doador e do receptor

A análise combinada dos genótipos dos receptores e dos doadores encontrou evidência de associação para o gene *POR* (rs1057868) com a infecção ($p=0,003$), mostrando que os pacientes expressores para o gene *POR* (rs1057868) (doador TT, CT/receptor TT, CT) têm maior probabilidade de infecção do que os doentes não expressores (doador CC/receptor CC) (Tabela 13).

Para os demais polimorfismos, não houve evidência de associação com infecção nesta análise (Anexo E).

Tabela 13 - Impacto da combinação do polimorfismo *POR* (rs1057868) do receptor e do doador na incidência de infecção n (%)

	NN (n=32)	NS (n=26)	SN (n=22)	SS (n=17)
Infecção				
Sim	11 (34%)	21 (81%)	14 (64%)	12 (71%)
Não	21 (66%)	5 (19%)	8 (36%)	5 (29%)

p-valor = 0,003.

NN: doador e receptor não expressor (genótipo CC); NS: doador não expressor (genótipo CC) e receptor expressor (genótipo TT ou CT); SN: doador expressor (genótipo: TT ou CT) e receptor não expressor (genótipo CC); SS: doador e receptor expressor (TT ou CT).

4.3.2 Rejeição aguda

4.3.2.1 Genótipos do doador ou do receptor (análise isolada)

Não houve evidência de associação a 5% de significância dos genótipos dos receptores e doadores com o desfecho de rejeição aguda (Anexos F e G). No entanto, observou-se maior probabilidade de desenvolver rejeição para determinados genótipos de receptores e doadores.

A chance de rejeição no pós-transplante de fígado de um receptor com genótipos CT e TT (rs1057868) é de 0,17 (intervalo HPD de 95% [-3,44, -0,38]) e de 0,0001 (intervalo HPD de 95% [-23,07, -0,71]), respectivamente, menor que os

portadores do genótipo CC. Igualmente, observou-se diminuição da chance de um receptor apresentar rejeição quando o doador é portador do genótipo TT do polimorfismo rs2740574 (OR: 0,29, HPD de 95% [-2,47, -0,03]) (Tabela 14).

4.3.2.2 Análise combinada dos dados do doador e do receptor

Não houve evidência de associação entre os genótipos estudados ($p > 0,05$) e o desfecho de rejeição (Anexo H).

No entanto, o modelo de regressão logística encontrou influência dos pacientes expressores (SS) de *CYP3A5* (rs776746) e *POR* (rs1057868) no desenvolvimento de rejeição aguda pós-transplante hepático ($p = 0,028$; acurácia: 82,47%).

Tabela 14 - Chance de rejeição de acordo com polimorfismos dos genes *POR* e *CYP3A4*

Variável	Receptor/ Doador	Genótipo	Referência	Beta	Exp. (beta)	HPD (95%)	
Intercepto				-0,06		-0,12	-0,02
rs1057868	Receptor	CT	CC	-1,77	0,17	-3,44	-0,38
rs1057868	Receptor	TT	CC	-9,04	0,0001	-23,07	-0,71
rs2740574	Doador	TT	CC	-1,24	0,29	-2,47	-0,03

Legenda: HPD: máxima densidade e *a posteriori*; Exp.: Exponencial do coeficiente beta

4.3.3 Lesão renal

4.3.3.1 Genótipos do doador ou do receptor

Não houve evidência de associação a 5% de significância dos genótipos dos receptores e doadores com o desfecho de lesão renal (Anexos I e J). No entanto, houve maior probabilidade de desenvolver lesão renal para determinados genótipos de receptores e doadores.

Receptores portadores dos genótipos CT e TT (rs776746) apresentam mais chance de desenvolver lesão renal (OR= 12,18; HPD de 95% [0,53, 5,19]) e (OR: 41,68; HPD de 95% [0,72, 7,57]), respectivamente, do que os portadores do genótipo CC.

Igualmente, observou-se que os portadores dos genótipos TT (rs2740574) e GG (rs35599367) têm maior probabilidade de lesão renal (OR=9,21; HPD de 95% [0,18, 4,93]) e (OR=437,03; HPD de 95% [0,63, 15,12]) do que um receptor com os genótipos CC e GA, respectivamente (Tabela 15).

4.3.3.2 Análise combinada dos dados dos doadores e receptores

Não houve evidência de associação entre os genótipos estudados ($p > 0,05$) e o desfecho de insuficiência renal (Anexo K). Também não houve qualquer influência desses genótipos no desenvolvimento de lesão renal ($p = 0,1498$).

Tabela 15- Chance de lesão renal pós-transplante de acordo com polimorfismos dos genes *CYP3A5* e *CYP3A4*

Variável	Receptor/ Doador	Genótipo	Referência	Beta	Exp. (beta)	HPD (95%)	
Intercepto				3,12		0,28	6,25
rs776746	Receptor	CT	CC	2,5	12,18	0,53	5,19
rs776746	Receptor	TT	CC	3,73	41,68	0,72	7,54
rs2740574	Receptor	TT	CC	2,22	9,21	0,18	4,93
rs35599367	Receptor	GG	GA	6,08	437,03	0,63	15,12

Legenda: HPD: máxima densidade e *a posteriori*; Exp.: Exponencial do coeficiente beta

4.4 Impacto dos polimorfismos rs776746 (*CYP3A5*), rs10264272 (*CYP3A5*), rs2740574 (*CYP3A4*), rs2242480 (*CYP3A4*), rs35599367 (*CYP3A4*), rs1057868 (*POR*), rs1128503 (*ABCB1*), rs2229109 (*ABCB1*) e rs9282564 (*ABCB1*) na dosagem de tacrolimo e concentração sanguínea

4.4.1 Genótipos do doador ou do receptor (análise isolada)

A concentração sanguínea e a dose de tacrolimo diferem nos diferentes polimorfismos estudados. Ao analisar os pacientes portadores dos genótipos TT, CT e CC do polimorfismo rs776746 (*CYP3A5*), observa-se os pacientes (doadores) portadores do genótipo CC (rs776746, *CYP3A5*) atingiram a concentração sanguínea acima 6 ng/mL mais rapidamente do que os pacientes portadores dos genótipos TT. Os receptores com genótipo TT não alcançaram concentração sanguínea acima de 8 ng/mL em nenhum momento pós-transplante.

Em relação aos genótipos dos receptores, houve diferença significativa da dose entre os grupos (CC, CT e TT) no 7^o e no 90^o dia. Essa diferença de dose resultou em concentração sanguínea (C_0) mais elevada para o genótipo CC e mais baixa para o genótipo TT ($p < 0,05$) (Tabela 16).

Não houve relação entre os genótipos dos doadores e dos receptores para o polimorfismo rs2740574 (*CYP3A4*). No entanto, a concentração sanguínea dos pacientes com genótipo TT é diferente da dos pacientes com genótipo CC (Anexo L).

Referente ao polimorfismo rs1057868 (*POR*), todos os pacientes (CC, CT e TT) apresentaram concentração sanguínea de tacrolimo acima de 6 ng/mL durante o período entre o 7^o e o 90^o dia.

Tabela 16 - Influência do polimorfismo rs776746 (*CYP3A5*) na dosagem de tacrolimo (D) e concentração sanguínea (C_0) (valores médios \pm desvio-padrão)

	Genótipo do doador			Genótipo do receptor		
	CC (n=57)	CT (n=32)	TT (n=7)	CC (n=65)	CT (n=26)	TT (n=6)
<i>Dia 0</i>						
D ^a	0,06 \pm 0,02	0,06 \pm 0,02	0,06 \pm 0,01	0,06 \pm 0,02	0,06 \pm 0,02	0,04 \pm 0,01
C ₀ ^b	4,27 \pm 5,45	3,37 \pm 2,12	2,21 \pm 0,89	3,96 \pm 4,10	3,67 \pm 5,45	2,70 \pm 1,42
<i>Dia 7</i>						
D	0,15 \pm 0,09	0,17 \pm 0,07	0,17 \pm 0,08	0,14 \pm 0,07	0,20 \pm 0,09	0,13 \pm 0,08
C ₀	6,92 \pm 3,40	7,86 \pm 3,26	5,26 \pm 1,27	7,42 \pm 3,38	6,42 \pm 2,23	6,47 \pm 5,62
<i>Dia 14</i>						
D	0,16 \pm 0,09	0,17 \pm 0,10	0,20 \pm 0,10	0,15 \pm 0,09	0,20 \pm 0,11	0,15 \pm 0,08
C ₀	9,13 \pm 8,30	8,23 \pm 3,63	6,96 \pm 3,25	8,98 \pm 7,69	8,00 \pm 3,54	7,75 \pm 5,98
<i>Dia 30</i>						
D	0,15 \pm 0,08	0,17 \pm 0,09	0,19 \pm 0,09	0,15 \pm 0,08	0,19 \pm 0,09	0,12 \pm 0,07
C ₀	8,68 \pm 4,00	7,64 \pm 3,06	7,20 \pm 2,88	8,53 \pm 3,88	7,93 \pm 2,92	5,72 \pm 2,54
<i>Dia 90</i>						
D	0,12 \pm 0,07	0,14 \pm 0,07	0,13 \pm 0,05	0,11 \pm 0,06	0,15 \pm 0,08	0,14 \pm 0,05
C ₀	8,65 \pm 2,54	8,04 \pm 6,03	10,43 \pm 6,25	8,17 \pm 3,31	9,86 \pm 6,57	7,82 \pm 2,10

^a mg/kg/day; ^b ng/mL. Legenda: C: alelo variante; T: alelo referência. Os valores em negrito apresentam $p < 0,05$.

Os receptores portadores do genótipo TT (rs1057868 [*POR*]) utilizaram uma dose maior do que os pacientes com genótipos CC e CT ($p < 0,05$) (Tabela 17).

No 90º dia, houve diferença significativa entre os genótipos dos pacientes na concentração sanguínea de tacrolimo ou na dose para os polimorfismos rs776746 (Tabela 16), rs224280 (Anexo M), rs1057868 (Tabela 17), rs1128503 (Anexo N).

Tabela 17 - Influência do polimorfismo rs1057868 (*POR*) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C_0) (valores médios \pm desvio-padrão)

	Genótipo do doador			Genótipo do receptor		
	CC (n=58)	CT (n=34)	TT (n=5)	CC (n=54)	CT (n=39)	TT (n=4)
<i>Dia 0</i>						
D ^a	0,06 \pm 0,02	0,06 \pm 0,02	0,07 \pm 0,03	0,06 \pm 0,02	0,06 \pm 0,02	0,05 \pm 0,02
C ₀ ^b	4,04 \pm 4,41	3,42 \pm 4,67	3,64 \pm 1,73	3,84 \pm 5,42	3,71 \pm 2,70	4,20 \pm 2,99
<i>Dia 7</i>						
D	0,15 \pm 0,07	0,16 \pm 0,09	0,19 \pm 0,09	0,17 \pm 0,09	0,14 \pm 0,07	0,19 \pm 0,05
C ₀	7,21 \pm 3,32	6,94 \pm 3,35	6,78 \pm 2,82	7,04 \pm 3,07	6,56 \pm 2,73	12,98 \pm 5,81
<i>Dia 14</i>						
D	0,15 \pm 0,08	0,18 \pm 0,11	0,21 \pm 0,04	0,18 \pm 0,09	0,15 \pm 0,10	0,11 \pm 0,06
C ₀	9,10 \pm 8,17	7,78 \pm 3,57	9,16 \pm 3,61	9,37 \pm 8,17	7,29 \pm 3,36	11,00 \pm 6,47
<i>Dia 30</i>						
D	0,15 \pm 0,08	0,17 \pm 0,10	0,20 \pm 0,04	0,17 \pm 0,08	0,15 \pm 0,09	0,10 \pm 0,06
C ₀	8,10 \pm 3,80	7,99 \pm 2,89	10,48 \pm 5,65	7,69 \pm 3,29	8,61 \pm 3,64	11,13 \pm 6,54
<i>Dia 90</i>						
D	0,12 \pm 0,06	0,13 \pm 0,08	0,13 \pm 0,05	0,14 \pm 0,07	0,11 \pm 0,06	0,10 \pm 0,08
C ₀	8,01 \pm 2,64	8,60 \pm 4,40	14,60 \pm 1,62	8,95 \pm 4,64	7,84 \pm 4,04	1,33 \pm 2,22

^a mg/kg/day; ^b ng/mL. Legenda: C: alelo referência; T: alelo variante.

Os valores em negrito apresentam $p < 0,05$.

4.4.2 Análise combinada dos dados do doador e do receptor

A análise combinada dos genótipos do receptor e do doador para o polimorfismo rs776746 (*CYP3A5*) mostrou diferença significativa de dose entre os grupos de pacientes (NN, NS, SN e SS), em vários momentos de seguimento (no 7^o e no 90^o dia) (Anexo O).

Houve diferença significativa da dose de tacrolimo entre os grupos NN e SS. Os pacientes no grupo SS só atingiram a concentração sanguínea acima de 6 ng/mL no 14^o dia. No entanto, no 90^o dia ainda apresentaram medições abaixo de 6 ng/mL.

Para os polimorfismos rs2740574 (*CYP3A4*), rs1128503 (*ABCB1*) e rs1057868 (*POR*), também é possível observar diferença de dose entre os grupos de pacientes NN e SS, porém sem significância estatística (Anexos P, Q e R).

Os pacientes SS utilizaram maior dose de tacrolimo e com mais dificuldade em manter a concentração sanguínea superior a 6 ng/mL. Os pacientes mistos (NS e SN), por outro lado, apresentaram características intermediárias e mantiveram o valor-alvo dentro do intervalo de referência.

5. DISCUSSÃO

5. DISCUSSÃO

A principal causa de transplante de fígado no estudo foi a de pacientes com cirrose pelo vírus da hepatite C e pelo vírus da hepatite B associado ou não com outras etiologias.

A causa primária de transplante de fígado no departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas, em 2014, foi cirrose pelo vírus da hepatite C (47,7%) (36). Essa informação é semelhante aos dados apresentados neste trabalho, com 40% dos pacientes transplantados portadores do vírus da hepatite C. Observou-se esse mesmo perfil em levantamento de dados realizado na Europa, no qual a doença primária foi o vírus B e/ou C (37).

Segundo orientações publicadas no protocolo do Ministério da Saúde (38), o medicamento de escolha para indução da imunossupressão (primeiros três meses pós-transplante) e o esquema de manutenção (após três meses do transplante) é o tacrolimo. Neste estudo, foram avaliados os primeiros três meses pós-transplante de fígado, e todos os pacientes fizeram uso de tacrolimo.

O esquema imunossupressor predominante nessa coorte foi a associação de tacrolimo, corticosteroide e micofenolato de mofelita ou de sódio (MMF ou MFS).

Outros países, como Espanha(39) e China (40) também utilizaram a terapia tripla (tacrolimo, corticoide e micofenolato de mofetila ou de sódio) predominantemente no pós-transplante de fígado.

A utilização da terapia combinada de imunossupressores pode diminuir a incidência de complicações no pós-transplante, em razão do efeito sinérgico de seus diferentes mecanismos de ação. Em revisão sistemática, avaliou-se o uso de tacrolimo isolado *versus* tacrolimo com MMF. Não houve diminuição da lesão renal entre os grupos, porém o uso de tacrolimo mais MMF foi associado a menor risco de rejeição aguda (*versus* tacrolimo isolado) (41).

Os pacientes iniciaram tacrolimo 0,1 mg/kg a cada 12 horas, conforme preconizado no protocolo do Ministério da Saúde e em diretrizes internacionais (35,38).

Os polimorfismos estudados estão em equilíbrio de Hardy-Weinberg, com exceção do marcador rs2242480 (*CYP3A4*) dos doadores. O motivo pelo qual um polimorfismo está em desvio de equilíbrio de Hardy-Weinberg pode ser incerto. Segundo Hosking et al. (42), motivos inespecíficos, desconhecidos e erros de genotipagem são os principais. No entanto, é possível que o desvio do equilíbrio tenha ocorrido ao acaso.

As frequências dos polimorfismos dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5*, *POR* e *ABCB1* de receptores e doadores de transplante hepático são similares às de amostras da população brasileira analisadas pelo conjunto de dados SABE-WGS-1171(hg38), com exceção do rs12721627 (*CYP3A4*) que não possui dado catalogado. Também são similares às de amostra da população global analisada pelo projeto 1000genomes.

O polimorfismo do *CYP3A5* (rs776746) é um polimorfismo com menor frequência do alelo referência em relação ao alelo variante, o que significa que, na maioria das populações, é mais comum ser não expressor do *CYP3A5* (presença do alelo C) (43).

Neste trabalho, a frequência do alelo T (alelo referência) é de 19,6% nos receptores (*versus* 80,4% do alelo C, variante) e de 24,7% nos doadores (*versus* 75,3% do alelo C, variante). Além disso, as variantes rs2242480 e rs2740574 (*CYP3A4*) apresentam de moderado a forte desequilíbrio de ligação com o rs776746 (*CYP3A5*) (43). Isso quer dizer que o efeito de rs224280 e rs2740574 está relacionado com o rs776746, ou seja, 67% dos indivíduos caucasianos que possuem a variante T (rs2740574) também possuem o alelo selvagem (T) do rs776746 (16).

Outros polimorfismos que também apresentam menor frequência do alelo referência em relação ao alelo variante são o rs2740574 (*CYP3A4*) e o rs1128503 (*ABCB1*).

A nefrotoxicidade foi a principal complicação observada no pós-transplante, e 61,9% (60/97) dos pacientes apresentaram essa complicação nos primeiros três meses. A nefrotoxicidade pode ser aguda e, portanto, reversível, ou crônica com duração superior a três meses, podendo levar à lesão renal irreversível (44).

A disfunção renal após o transplante hepático pode ocorrer em consequência de lesão renal preexistente, do perioperatório ou do desenvolvimento dessa disfunção no pós-transplante (45). Infelizmente, é uma complicação frequente com incidência relatada de 12% a 95%(45).

Segundo revisão (46), a nefrotoxicidade induzida pelos inibidores da calcineurina é um dos principais efeitos colaterais observados em pacientes que utilizam tacrolimo ou ciclosporina. No estudo de Karin et al. (47), a incidência de nefrotoxicidade foi de 44% nos pacientes que utilizaram tacrolimo no pós-transplante renal.

Apesar da alta frequência de lesão renal, este estudo não encontrou associação entre os genótipos dos genes estudados com o aumento da incidência de lesão renal no pós-transplante.

Debette-Gratien et al. (48) também estudaram a associação da nefrotoxicidade no pós-transplante e polimorfismos dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5* e *ABCB1*. No entanto, nenhum polimorfismo estudado apresentou impacto na diminuição da função renal durante 10 anos de acompanhamento.

Sabe-se que a lesão renal pós-transplante está relacionada com aumento do risco de mortalidade (45). A utilização de marcadores que estão relacionados ao aumento da chance de lesão renal pós-transplante pode auxiliar no monitoramento precoce de lesão renal pós-transplante.

Nessa coorte, a incidência de infecção foi de 59,8% (58/97) e de rejeição foi 17,5% (17/97), sendo que apenas quatro pacientes não tiveram confirmação por biópsia.

Segundo Jeng et al. (49), em estudo realizado na China, a taxa global de infecção foi de 44% (62/141), e a incidência de rejeição (BPAR) foi de 4,2% nos pacientes que utilizaram tacrolimo.

No estudo retrospectivo realizado na Espanha, houve uma taxa de rejeição de 22% e infecção de 21% nos primeiros três meses pós-transplante (50), mostrando que existe variação na taxa de incidência das complicações conforme a região.

Os resultados deste estudo evidenciam relação entre o gene *POR* (rs1057868) e o desenvolvimento de infecção no pós-transplante de fígado. Esse achado foi observado tanto na análise individual quanto na análise combinada.

Em um estudo prospectivo realizado no Hospital das Clínicas(51), a incidência de infecção no pós-transplante de um ano foi de 37,5%, sendo que, desses pacientes, 43,5% precisaram de readmissão hospitalar.

A utilização dos dados genéticos dos portadores do genótipo TT (rs1057868, *POR*), que estão associados com o aumento da incidência de infecção, poderá diminuir a taxa de readmissão hospitalar dos pacientes no pós-transplante.

O alelo T do gene *POR* (rs1057868) está associado ao aumento da atividade do gene *CYP3A5* (25,52), justificando que os pacientes portadores do alelo T do gene *POR* apresentam atividade enzimática maior e concentrações sanguíneas menores de tacrolimo, bem como necessitam de altas doses do imunossupressor (52–54), favorecendo, então, o desenvolvimento de infecções.

Atualmente, existe um consenso na literatura sobre a relação entre a farmacocinética do tacrolimo e a alta variabilidade interindividual das enzimas do citocromo p450 (9,11,14,55) No entanto, pouco é discutido sobre a relação das enzimas (*CYP3A4* e *CYP3A5*) e o gene *POR*. As enzimas presentes no citocromo P450 dependem da enzima *POR* para o fornecimento de elétrons, para exercerem a atividade catalítica de metabolização de fármacos, xenobióticos e hormônios esteroides (19). A variante genética do polimorfismo rs1057868 (*POR*) está associada à atividade diferencial das enzimas *CYP3A4* e *CYP3A5* (19,25).

Este estudo mostrou que no D7 os doadores portadores do genótipo TT do polimorfismo rs776746 (gene *CYP3A5*) tiveram concentrações sanguíneas menores do que pacientes que receberam fígado de portadores do genótipo CC (rs776746, gene *CYP3A5*), porém não mostrou significância estatística em outros tempos avaliados.

Essa diferença de dose entre os genótipos (TT e CC) é bem aceita na literatura e existem recomendações de diretrizes clínicas para a seleção de dose guiada pelo genótipo do gene *CYP3A5* (rs776746) (56–58). A utilização do teste genético para nortear a dose inicial de tacrolimo é uma sugestão do órgão regulador norte-americano, o Food and Drug Administration (FDA) (59) (ficando a critério do prescritor), visto que concentrações sistêmicas menores podem aumentar o risco de rejeição.

Segundo Varghese et al. (60) para prevenção de rejeição do aloenxerto, pode-se ajustar a concentração sanguínea de tacrolimo entre 8 ng/mL e 11 ng/mL. Neste estudo, todos os pacientes com genótipo TT (rs776746) não alcançaram concentração sanguínea maior que 8 ng/mL. No entanto, segundo Neuberger et. al. (35) e conforme realizado em outros estudos da Divisão de Transplante Hepático da Universidade de São Paulo (51) os primeiros dias pós-transplante hepático podem manter a concentração sanguínea entre 6 ng/mL e 8 ng/mL para prevenção de rejeição e diminuição da incidência de efeitos adversos. Referente aos dados deste estudo, os pacientes portadores do genótipo TT (rs776746, *CYP3A5*) não alcançaram concentração sanguínea acima de 6 ng/mL no 7º dia tanto do doador quanto do receptor.

Apesar desse achado, não houve significância estatística entre os receptores ($p=0,608$) e doadores ($p=0,073$) portadores do genótipo TT (rs776746, *CYP3A5*) e o aumento da incidência de rejeição no pós-transplante. No entanto, este trabalho encontrou relação entre o desfecho de rejeição aguda e os pacientes expressores para os genes *POR* e *CYP3A5*. Os pacientes que possuem o alelo T para o gene *POR* (rs1057868) e o alelo T para o gene *CYP3A5* (rs776746) estão associados com o desenvolvimento de rejeição aguda ($p=0,028$) no período pós-transplante hepático.

Como já referenciado, os portadores do alelo T do gene *POR* (rs1057868) apresentam aumento da atividade enzimática e diminuição da concentração de tacrolimo, aumentando o risco de rejeição no pós-operatório (52).

A influência dos polimorfismos genéticos de *CYP3A5*, *CYP3A4*, *ABCB1* e *POR* na incidência de rejeição ainda não está estabelecida em literatura, embora vários estudos já tenham realizado essa investigação (39,55).

De acordo com Dong et al. e Maseko et al. (40,61) a análise dos polimorfismos *CYP3A4/5* do receptor, há potencial de prever a dose inicial de tacrolimo na fase inicial do transplante hepático. Esse mesmo acontecimento foi observado nos estudos de Buendia et al. e de Uesugi et al. (62,63). O ensaio clínico realizado por Anutrakulchai et al. (64) apontou que os pacientes que iniciaram o tratamento imunossupressor com a dose direcionada pelo genótipo tiveram maior frequência de dose dentro da faixa terapêutica ($p=0,021$ versus grupo-controle) e menos efeitos adversos ($p=0,013$ versus grupo-controle) no terceiro dia após o transplante.

Apesar da utilização de biomarcadores farmacogenéticos dos genes *CYP3A5* (rs776746) e *POR* (rs1057868) poder facilitar o alcance e a manutenção de concentrações adequadas de tacrolimo, ainda são necessários mais estudos para comprovar que esses biomarcadores podem auxiliar na predição da dose inicial do tacrolimo por meio dos dados do receptor e/ou doador além de diminuir complicações pós transplante.

5.1 Direções futuras

Este trabalho abre novas perspectivas e direções para pesquisas. Outros estudos são necessários para garantir a validação externa dos biomarcadores farmacogenéticos identificados neste estudo.

Para estudos futuros, é necessária uma análise com mais profundidade e com tamanho de amostra maior para avaliação da exatidão desses resultados. É necessário realizar ensaios clínicos randomizados que avaliem a relação entre a farmacocinética do tacrolimo mediada pelos genes *CYP3A5* e *POR* e os desfechos

de infecção e rejeição aguda em pacientes transplantados de fígado após três meses de cirurgia.

6. CONCLUSÃO

6. CONCLUSÃO

Com base nos resultados do presente estudo, pode-se concluir que:

- a) os genótipos TT dos polimorfismos rs776746 (*CYP3A5*) e rs1057868 (*POR*) estão relacionados com o aparecimento de rejeição do enxerto no pós-transplante hepático.
- b) as frequências dos polimorfismos dos genes *CYP3A4*, *CYP3A5*, *POR* e *ABCB1* de receptores de transplante hepático são similares à amostra da população brasileira analisada pelo conjunto de dados SAGE-WGS-1171(hg38).
- c) os pacientes expressores do gene *POR* para o polimorfismo rs1057868 estão associados ao aumento da frequência de infecção no pós-operatório (análise individual e análise conjunta).

7. REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

1. Centers for Disease Control and Prevention. <https://www.cdc.gov/nchs/fastats/liver-disease.htm>. 2020. Chronic Liver Disease Cirrhosis .
2. Martin P, Dimartini A, Feng S, Brown R, Fallon M. Evaluation for liver transplantation in adults: 2013 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Hepatology*. 2014;59(3).
3. Adam R, Karam V, Cailliez V, O Grady JG, Mirza D, Cherqui D, et al. 2018 Annual Report of the European Liver Transplant Registry (ELTR) – 50-year evolution of liver transplantation. *Transplant International*. 2018;31(12).
4. Rubín A, Sánchez-Montes C, Aguilera V, Juan FS, Ferrer I, Moya A, et al. Long-term outcome of “long-term liver transplant survivors.” *Transplant International*. 2013 Jul;26(7):740–50.
5. Guruprasad P, Kishore K, Mahajan S, Aggarwal S. Active surveillance for adverse events among patients who underwent renal transplantation: A prospective observational study. *Perspect Clin Res*. 2017 Jul 1;8(3):118–23.
6. EASL Clinical Practice Guidelines: Liver transplantation. *J Hepatol*. 2016 Feb;64(2):433–85.
7. McAlister VC, Haddad E, Renouf E, Malthaner RA, Kjaer MS, Glud LL. Cyclosporin versus tacrolimus as primary immunosuppressant after liver transplantation: A meta-analysis. *American Journal of Transplantation*. 2006;6(7).
8. Rayar M, Tron C, Jézéquel C, Beaurepaire JM, Petitcollin A, Houssel-Debry P, et al. High Inpatient Variability of Tacrolimus Exposure in the Early Period

- After Liver Transplantation Is Associated With Poorer Outcomes. Transplantation. 2018 Mar;102(3):e108–14.
9. Brunet M, Pastor-Anglada M. Insights into the Pharmacogenetics of Tacrolimus Pharmacokinetics and Pharmacodynamics. Vol. 14, Pharmaceutics. MDPI; 2022.
 10. Silva P. Farmacologia. 8th ed. Guanabara Koogan, editor. Rio de Janeiro; 2012.
 11. Salvadori M, Tsalouchos A. Pharmacogenetics of immunosuppressant drugs: A new aspect for individualized therapy. World J Transplant. 2020;10(5).
 12. Coller JK, Ramachandran J, John L, Tuke J, Wigg A, Doogue M. The impact of liver transplant recipient and donor genetic variability on tacrolimus exposure and transplant outcome. Br J Clin Pharmacol. 2019;85(9):2170–5.
 13. Rodriguez-Antona C, Savieo JL, Lauschke VM, Sangkuhl K, Drögemöller BI, Wang D, et al. PharmVar GeneFocus: CYP3A5. Vol. 112, Clinical Pharmacology and Therapeutics. John Wiley and Sons Inc; 2022. p. 1159–71.
 14. Schutte-Nutgen K, Tholking G, Suwelack B, Reuter S. Tacrolimus – Pharmacokinetic Considerations For Clinicians. Curr Drug Metab. 2018 Jan 4;19.
 15. Barbarino JM, Statz CE, Venkataramanan R, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary. Pharmacogenet Genomics. 2013 Oct;23(10):563–85.
 16. Statz CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part i. Vol. 49, Clinical Pharmacokinetics. 2010.
 17. Pharmacogenetics and genomics. <https://www.pharmgkb.org/pathway/PA165986114>. 2013. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways.

18. Saeki T, Uedas K, Tanigawarat Y, Horit R, Komano T. Human P-glycoprotein Transports Cyclosporin A and FK506*. Vol. 268.
19. Langman L, Van Gelder T, Van Schaik RHN. Pharmacogenomics Aspect of Immunosuppressant Therapy. In: Personalized Immunosuppression in Transplantation: Role of Biomarker Monitoring and Therapeutic Drug Monitoring. Elsevier Inc.; 2016. p. 109–24.
20. Strachan T, Read AP. Population genomics and the scale of human genetic variation. In: Human Molecular Genetics. 2019. p. 371–86.
21. Mcinnes R. Thompson & Thompson Genética Médica. 8th ed. 2016.
22. Sherry ST. dbSNP: the NCBI database of genetic variation. Nucleic Acids Res. 2001 Jan 1;29(1):308–11.
23. Hu L, Zhuo W, He YJ, Zhou HH, Fan L. Pharmacogenetics of P450 oxidoreductase: Implications in drug metabolism and therapy. Vol. 22, Pharmacogenetics and Genomics. 2012. p. 812–9.
24. Flück CE, Mullis PE, Pandey A V. Reduction in hepatic drug metabolizing CYP3A4 activities caused by P450 oxidoreductase mutations identified in patients with disordered steroid metabolism. Biochem Biophys Res Commun. 2010 Oct 8;401(1):149–53.
25. Lee DH, Lee H, Yoon HY, Yee J, Gwak HS. Association of P450 Oxidoreductase Gene Polymorphism with Tacrolimus Pharmacokinetics in Renal Transplant Recipients: A Systematic Review and Meta-Analysis. Vol. 14, Pharmaceutics. MDPI; 2022.
26. Liu YY, Li C, Cui Z, Fu X, Zhang S, Fan LL, et al. The effect of ABCB1 C3435T polymorphism on pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplantation: A meta-analysis. Gene. 2013 Dec;531(2):476–88.

27. Naushad SM, Pavani A, Rupasree Y, Hussain T, Alrokayan SA, Kutala VK. Recipient ABCB1, donor and recipient CYP3A5 genotypes influence tacrolimus pharmacokinetics in liver transplant cases. *Pharmacological Reports*. 2019 Jun 1;71(3):385–92.
28. Thorisson GA, Stein LD. The SNP consortium website: Past, present and future. Vol. 31, *Nucleic Acids Research*. 2003. p. 124–7.
29. Hendijani F, Azarpira N, Kaviani M. Effect of CYP3A5*1 expression on tacrolimus required dose after liver transplantation: A systematic review and meta-analysis. Vol. 32, *Clinical Transplantation*. Blackwell Publishing Ltd; 2018.
30. Ng P, Zhao Q, Levy S, Strausberg R, Venter J. Individual Genomes Instead of Race for Personalized Medicine. *Clin Pharmacol Ther*. 2008 Sep;84(3):306–9.
31. Shah RR. Pharmacogenetics in drug regulation: Promise, potential and pitfalls. In: *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*. 2005. p. 1617–38.
32. Update of the International Banff Schema for Liver Allograft Rejection: Working Recommendations for the Histopathologic Staging and Reporting of Chronic Rejection [Internet]. 2000. Available from: <http://tpis.upmc.edu/tpis/Banff/1999/>
33. Kellum JA, Lameire N, Aspelin P, Barsoum RS, Burdmann EA, Goldstein SL, et al. Kidney disease: Improving global outcomes (KDIGO) acute kidney injury work group. KDIGO clinical practice guideline for acute kidney injury. Vol. 2, *Kidney International Supplements*. Nature Publishing Group; 2012. p. 1–138.
34. De Santis F, Gubbiotti S. Sample Size Requirements for Calibrated Approximate Credible Intervals for Proportions in Clinical Trials. *Int J Environ Res Public Health*. 2021 Jan 12;18(2):595.
35. Neuberger JM, Bechstein WO, Kuypers DRJ, Burra P, Citterio F, De Geest S, et al. Practical recommendations for long-term management of modifiable risks in kidney and liver transplant recipients: A guidance report and clinical checklist by

- the consensus on managing modifiable risk in transplantation (COMMIT) group. *Transplantation*. 2017;101(4):S1–56.
36. Nacif LS, David AI, Pinheiro RS, Diniz MA, Andraus W, Cruz Junior RJ, et al. An analysis of tacrolimus-related complications in the first 30 days after liver transplantation. *Clinics*. 2014 Nov 1;69(11):745–9.
 37. Adam R, Karam V, Cailliez V, O Grady JG, Mirza D, Cherqui D, et al. 2018 Annual Report of the European Liver Transplant Registry (ELTR) – 50-year evolution of liver transplantation. *Transplant International*. 2018 Dec 1;31(12):1293–317.
 38. MINISTÉRIO DA SAÚDE SECRETARIA DE ATENÇÃO A SAÚDE. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas – Imunossupressão no Transplante Hepático em Adultos. 2017.
 39. Gómez-Bravo MA, Salcedo M, Fondevila C, Suarez F, Castellote J, Rufian S, et al. Impact of donor and recipient CYP3A5 and ABCB1 genetic polymorphisms on tacrolimus dosage requirements and rejection in caucasian spanish liver transplant patients. *J Clin Pharmacol*. 2013 Nov;53(11):1146–54.
 40. Dong Y, Xu Q, Li R, Tao Y, Zhang Q, Li J, et al. CYP3A7, CYP3A4, and CYP3A5 genetic polymorphisms in recipients rather than donors influence tacrolimus concentrations in the early stages after liver transplantation. *Gene*. 2022 Jan 30;809.
 41. Tustumi F, Neto AA de M, Silveira Júnior S, Fernandes FA, de Brito e Silva MB, Ernani L, et al. Safety and effectiveness of mycophenolate mofetil associated with tacrolimus for liver transplantation immunosuppression: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Vol. 76, *Clinics*. UNIV SAOPAULO; 2021.
 42. Hosking L, Lumsden S, Lewis K, Yeo A, McCarthy L, Bansal A, et al. Detection of genotyping errors by Hardy-Weinberg equilibrium testing. *European Journal of Human Genetics*. 2004 May;12(5):395–9.

43. Pasternak AL, Zhang L, Hertz DL. CYP3A pharmacogenetic association with tacrolimus pharmacokinetics differs based on route of drug administration. Vol. 19, *Pharmacogenomics*. Future Medicine Ltd.; 2018. p. 563–76.
44. Bentata Y. Tacrolimus: 20 years of use in adult kidney transplantation. What we should know about its nephrotoxicity. Vol. 44, *Artificial Organs*. John Wiley and Sons Inc; 2020. p. 140–52.
45. Weber ML, Ibrahim HN, Lake JR. Renal dysfunction in liver transplant recipients: Evaluation of the critical issues. Vol. 18, *Liver Transplantation*. 2012. p. 1290–301.
46. Noble J, Terrec F, Malvezzi P, Rostaing L. Adverse effects of immunosuppression after liver transplantation. Vols. 54–55, *Best Practice and Research: Clinical Gastroenterology*. Bailliere Tindall Ltd; 2021.
47. Katari SR, Magnone M, Shapiro R, Jordan M, Scantlebury V, Vivas C, et al. Clinical features of acute reversible tacrolimus (FK 506) nephrotoxicity in kidney transplant recipients. Vol. 11, *Clin Transplant*. 1997.
48. Debette-Gratien M, Woillard JB, Picard N, Sebah M, Loustaud-Ratti V, Sautereau D, et al. Influence of Donor and Recipient CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 Genotypes on Clinical Outcomes and Nephrotoxicity in Liver Transplant Recipients. *Transplantation*. 2016 Oct 1;100(10):2129–37.
49. Jeng L Bin, Lee SG, Soin AS, Lee WC, Suh KS, Joo DJ, et al. Efficacy and safety of everolimus with reduced tacrolimus in living-donor liver transplant recipients: 12-month results of a randomized multicenter study. *American Journal of Transplantation*. 2018 Jun 1;18(6):1435–46.
50. Dopazo C, Bilbao I, García S, Gómez-Gavara C, Caralt M, Campos-Varela I, et al. High inpatient variability of tacrolimus exposure associated with poorer outcomes in liver transplantation. *Clin Transl Sci*. 2022 Jun 1;15(6):1544–55.

51. Haddad L, Andrade K, Mendes L, Ducatti L, D'Albuquerque LA, Andraus W. Association Between Readmission After Liver Transplant and Adverse Immunosuppressant Reactions: A Prospective Cohort With a 1-Year Follow-up. *Transplant Proc.* 2017 Mar 1;49(2):330–7.
52. Elens L, Hesselink DA, Bouamar R, Budde K, De Fijter JW, De Meyer M, et al. Impact of POR*28 on the Pharmacokinetics of Tacrolimus and Cyclosporine A in Renal Transplant Patients [Internet]. 2014. Available from: www.drug-monitoring.com
53. Sridharan K, Shah S, Jassim A, Hammad M, Al Gadhban JE, Al Segai O. Evaluation of Pharmacogenetics of Drug-Metabolizing Enzymes and Drug Efflux Transporter in Renal Transplants Receiving Immunosuppressants. *J Pers Med.* 2022 May 1;12(5).
54. Nakamura T, Fukuda M, Matsukane R, Suetsugu K, Harada N, Yoshizumi T, et al. Influence of POR*28 polymorphisms on 5*3-associated variations in tacrolimus blood levels at an early stage after liver transplantation. *Int J Mol Sci.* 2020 Apr 1;21(7).
55. Kelava T, Turcic P, Markotic A, Ostojic A, Sisl D, Mrzljak A. Importance of genetic polymorphisms in liver transplantation outcomes. *World J Gastroenterol.* 2020 Mar 28;26(12):1273–85.
56. Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, Peterson JF, Stein CM, Sadee W, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing. *Clin Pharmacol Ther.* 2015 Jul 1;98(1):19–24.
57. Woillard JB, Chouchana L, Picard N, Lorient MA. Pharmacogenetics of immunosuppressants: State of the art and clinical implementation – recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). *Therapie.* 2017 Apr 1;72(2):285–99.

58. Brunet M, Van Gelder T, Åsberg A, Haufroid V, Hesselink DA, Langman L, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit.* 2019;41(3).
59. U.S Food & Drug Administration. <https://www.fda.gov/medical-devices/precision-medicine/table-pharmacogenetic-associations>. 2022. Table of Pharmacogenetic Associations.
60. Varghese J, Reddy MS, Venugopal K, Perumalla R, Narasimhan G, Arikichenin O, et al. Tacrolimus-related adverse effects in liver transplant recipients: Its association with trough concentrations. *Indian Journal of Gastroenterology.* 2014;33(3):219–25.
61. Maseko N, Yang S, Li C, Zhang S, Wang R, Zhang Y, et al. Impact of genetic polymorphisms on tacrolimus trough blood concentration in Chinese liver transplant recipients. *Pharmacogenomics.* 2023 Mar 1;24(4):207–17.
62. Buendia JA, Bramuglia G, Staatz CE. Effects of Combinational CYP3A5 6986A.G Polymorphism in Graft Liver and Native Intestine on the Pharmacokinetics of Tacrolimus in Liver Transplant Patients: A Meta-Analysis [Internet]. 2013. Available from: <http://journals.lww.com/drug-monitoring>
63. Uesugi M, Kikuchi M, Shinke H, Omura T, Yonezawa A, Matsubara K, et al. Impact of cytochrome P450 3A5 polymorphism in graft livers on the frequency of acute cellular rejection in living-donor liver transplantation. *Pharmacogenet Genomics.* 2014;24(7):356–66.
64. Anutrakulchai S, Pongskul C, Kritmetapak K, Limwattananon C, Vannaprasaht S. Therapeutic concentration achievement and allograft survival comparing usage of conventional tacrolimus doses and CYP3A5 genotype-guided doses in renal transplantation patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2019;85(9):1964–73.

8. ANEXOS

8. ANEXOS

8.1 Anexo A. Polimorfismo de nucleotídeo único – grupo de pacientes da análise individual

Gene	SNP	Mudança	Classificação	Genótipos
<i>CYP3A5</i>	rs776746	T>C	Homozigoto selvagem	TT
			Heterozigoto	TC
			Homozigoto variante	CC
<i>CYP3A5</i>	rs10264272	C>T	Homozigoto selvagem	CC
			Heterozigoto	CT
			Homozigoto variante	TT
<i>CYP3A4</i>	rs2740574	T>C	Homozigoto selvagem	TT
			Heterozigoto	TC
			Homozigoto variante	CC
<i>CYP3A4</i>	rs2242480	C>T	Homozigoto selvagem	CC
			Heterozigoto	CT
			Homozigoto variante	TT
<i>CYP3A4</i>	rs35599367	G>A	Homozigoto selvagem	GG
			Heterozigoto	GA
			Homozigoto variante	AA
<i>POR</i>	rs1057868	C>T	Homozigoto selvagem	CC
			Heterozigoto	CT
			Homozigoto variante	TT
<i>ABCB1</i>	rs1128503	A>G	Homozigoto selvagem	AA
			Heterozigoto	AG
			Homozigoto variante	GG
<i>ABCB1</i>	rs2229109	C>T	Homozigoto selvagem	CC
			Heterozigoto	CT
			Homozigoto variante	TT
<i>ABCB1</i>	rs9282564	T>C	Homozigoto selvagem	TT
			Heterozigoto	CT
			Homozigoto variante	CC

8.2 Anexo B - Polimorfismo de nucleotídeo único - Grupo de pacientes na análise conjunta

Gene	Polimorfismo	Grupo	Genótipos
CYP3A5	rs776746	Doador e receptor expressor (SS)	Doador CT, TT/Receptor CT, TT
		Doador e receptor não expressor (NN)	Doador CC/Receptor CC
		Doador expressor e receptor não expressor (SN)	Doador CT, TT/Receptor CC
		Doador não expressor e receptor expressor (NS)	Doador CC/Receptor CT, TT
CYP3A4	rs2740574	Doador e receptor expressor (SS)	Doador CC, TC/Receptor CC, TC
		Doador e receptor não expressor (NN)	Doador TT/Receptor TT
		Doador expressor e receptor não expressor (SN)	Doador CC, TC/Receptor TT
		Doador não expressor e receptor expressor (NS)	Doador TT/Receptor CC, TC
CYP3A4	rs2242480	Doador e receptor expressor (SS)	Doador CT,TT/Receptor CT,TT
		Doador e receptor não expressor (NN)	Doador CC/Receptor CC
		Doador expressor e receptor não expressor (SN)	Doador CT,TT/Receptor CC
		Doador não expressor e receptor expressor (NS)	Doador CC/Receptor CT,TT
POR	rs1057868	Doador e receptor expressor (SS)	Doador TT,CT/Receptor TT,CT
		Doador e receptor não expressor (NN)	Doador CC/Receptor CC
		Doador expressor e receptor não expressor (SN)	Doador TT,CT/Receptor CC
		Doador não expressor e receptor expressor (NS)	Doador CC/Receptor TT,CT

8.3 Anexo C - Polimorfismo de nucleotídeo único – Genes *CYP3A5*, *CYP3A4* e *ABCB1* de receptores que apresentaram infecção (n=58) ou não (n=39)

Gene polimorfismo	Genótipo	Infecção		Sem Infecção		Total	Valor-p
		Freq.	(%)	Freq.	(%)		
<i>CYP3A5</i> rs10264272	CC	56	(96,6%)	37	(94,9%)	93	>0,999
	CT	2	(3,4%)	2	(5,1%)	4	
<i>CYP3A5</i> rs776746	CC	39	(67,2%)	26	(66,7%)	65	0,450
	CT	14	(24,1%)	12	(30,8%)	26	
	TT	5	(8,6%)	1	(2,6%)	6	
<i>CYP3A4</i> rs2740574	CC	2	(3,4%)	1	(2,6%)	3	0,595
	CT	11	(19,0%)	11	(28,2%)	22	
	TT	45	(77,6%)	27	(69,2%)	72	
<i>CYP3A4</i> rs2242480	CC	34	(58,6%)	21	(53,8%)	55	0,687
	CT	19	(32,8%)	16	(41,0%)	35	
	TT	5	(8,6%)	2	(5,1%)	7	
<i>CYP3A4</i> rs35599367	GA	0	(0,0%)	2	(5,1%)	2	0,591
	GG	58	(100%)	37	(94,9%)	95	
<i>ABCB1</i> rs9282564	CC	-	-	-	-	-	0,080
	TC	8	(13,8%)	1	(2,6%)	9	
	TT	50	(86,2%)	38	(97,4%)	88	
<i>ABCB1</i> rs2229109	CC	50	(86,2%)	37	(94,9%)	87	0,307
	CT	8	(13,8%)	2	(5,1%)	10	

8.4 Anexo D - Polimorfismo de nucleotídeo único – Genes *CYP3A5*, *CYP3A4*, *POR* e *ABCB1* de doadores, cujos receptores apresentaram infecção (n=58) ou não (n=39)

Gene polimorfismo	Genótipo	Infecção		Sem Infecção		Total	Valor-p
		Freq.	(%)	Freq.	(%)		
<i>CYP3A5</i> rs10264272	CC	52	(89,7%)	35	(89,7%)	87	>0,999
	CT	6	(10,3%)	4	(10,3%)	101	
<i>CYP3A5</i> rs776746	CC	32	(55,2%)	25	(64,1%)	57	0,561
	CT	20	(34,5%)	12	(30,8%)	32	
	TT	6	(10,3%)	2	(5,1%)	8	
<i>CYP3A4</i> rs2740574	CC	5	(8,6%)	1	(2,6%)	6	0,515
	CT	17	(29,3%)	11	(28,2%)	28	
	TT	36	(62,1%)	27	(69,2%)	63	
<i>CYP3A4</i> rs2242480	CC	31	(53,4%)	25	(64,1%)	56	0,594
	CT	18	(31,0%)	9	(23,1%)	27	
	TT	9	(15,5%)	5	(12,8%)	14	
<i>CYP3A4</i> rs35599367	GA	3	(5,2%)	0	(0,0%)	3	0,270
	GG	55	(94,8%)	39	(100,0%)	94	
<i>ABCB1</i> rs1128503	AA	7	(12,1%)	5	(12,8%)	12	0,548
	AG	30	(51,7%)	24	(61,5%)	54	
	GG	21	(36,2%)	10	(25,6%)	31	
<i>ABCB1</i> rs9282564	CC	1	(1,7%)	0	(0,0%)	1	>0,999
	TC	5	(8,6%)	4	(10,3%)	9	
	TT	52	(89,7%)	35	(89,7%)	87	
<i>ABCB1</i> rs2229109	CC	56	(96,6%)	37	(94,9%)	93	>0,999
	CT	2	(3,4%)	2	(5,1%)	4	
<i>POR</i> rs1057868	CC	32	(55,2%)	26	(66,7%)	58	0,409
	CT	22	(37,9%)	12	(30,8%)	34	
	TT	4	(6,9%)	1	(2,6%)	5	

8.5 Anexo E - Associação dos genótipos dos doadores e receptores com o desfecho de infecção n (%)

Gene	SNP	Doador/Receptor	Infecção		Sem infecção		Total	Valor p
			Freq. (n)	%	Freq. (n)	%		
CYP3A5	rs776746	NN	20	54%	17	46%	37	0,735
		NS	12	60%	8	40%	20	
		SN	19	68%	9	32%	28	
		SS	7	58%	5	42%	12	
CYP3A4	rs2740574	NN	28	60%	19	40%	47	0,704
		NS	8	50%	8	50%	16	
		SN	17	68%	8	32%	25	
		SS	5	56%	4	44%	9	
CYP3A4	rs2242480	NN	15	56%	12	44%	27	0,745
		NS	16	55%	13	45%	29	
		SN	19	68%	9	32%	28	
		SS	8	62%	5	38%	13	
ABCB1	rs1128503	NN	45	60%	30	40%	75	0,836
		NS	5	56%	4	44%	9	
		SN	6	55%	5	45%	11	
		SS	1	100%	0	0%	1	
ABCB1	rs2229109	NN	0	0%	0	0%	0	0,370
		NS	2	50%	2	50%	4	
		SN	8	80%	2	20%	10	
		SS	48	58%	35	42%	83	
ABCB1	rs9282564	NN	57	59%	39	41%	96	1,000
		NS	0	0%	0	0%	0	
		SN	1	100%	0	0%	1	
		SS	0	0%	0	0%	0	

8.6 Anexo F - Polimorfismo de nucleotídeo único – Genes *CYP3A5*, *CYP3A4* e *ABCB1* de receptores que apresentaram rejeição (n=17) ou não (n=80)

Gene polimorfismo	Genótipo	Rejeição		Sem Rejeição		Total	Valor-p
		Freq.	(%)	Freq.	(%)		
<i>CYP3A5</i> rs10264272	CC	17	(100,0%)	76	(95,0%)	93	>0,999
	CT	0	(0,0%)	4	(5,0%)	4	
<i>CYP3A5</i> rs776746	CC	13	(76,5%)	52	(65,0%)	65	0,608
	CT	4	(23,5%)	22	(27,5%)	26	
	TT	0	(0,0%)	6	(7,5%)	6	
<i>CYP3A4</i> rs2740574	CC	0	(0,0%)	3	(3,7%)	3	>0,999
	CT	4	(23,5%)	18	(22,5%)	22	
	TT	13	(76,5%)	59	(73,8%)	72	
<i>CYP3A4</i> rs2242480	CC	12	(70,6%)	43	(53,7%)	55	0,449
	CT	4	(23,5%)	31	(38,8%)	35	
	TT	1	(5,9%)	6	(7,5%)	7	
<i>CYP3A4</i> rs35599367	GA	0	(0,0%)	2	(2,5%)	2	>0,999
	GG	17	(100%)	78	(97,5%)	95	
<i>ABCB1</i> rs1128503	AA	1	(5,9%)	9	(11,4%)	10	0,629
	AG	6	(35,3%)	35	(44,3%)	41	
	GG	10	(58,8%)	35	(44,3%)	45	
<i>ABCB1</i> rs9282564	CC	-	-	-	-	-	>0,999
	TC	1	(5,9%)	8	(10,0%)	9	
	TT	16	(94,1%)	72	(90,0%)	88	
<i>ABCB1</i> rs2229109	CC	15	(88,2%)	72	(90,0%)	87	>0,999
	CT	2	(11,8%)	8	(10,0%)	10	
<i>POR</i> rs1057868	CC	13	(76,5%)	41	(51,2%)	54	0,175
	CT	4	(23,5%)	35	(43,8%)	39	
	TT	0	(0,0%)	4	(5,0%)	4	

8.7 Anexo G - Polimorfismo de nucleotídeo único – Genes *CYP3A5*, *CYP3A4* e *ABCB1* de doadores, cujos receptores apresentaram rejeição (n=17) ou não (n=80)

Gene polimorfismo	Genótipo	Rejeição		Sem Rejeição		Total	Valor-p
		Freq.	(%)	Freq.	(%)		
<i>CYP3A5</i> rs10264272	CC	15	(88,2%)	72	(90,0%)	87	>0,999
	CT	2	(11,8%)	8	(10,0%)	10	
<i>CYP3A5</i> rs776746	CC	6	(35,3%)	51	(63,7%)	57	0,073
	CT	9	(52,9%)	23	(28,7%)	32	
	TT	2	(11,8%)	6	(7,5%)	8	
<i>CYP3A4</i> rs2740574	CC	2	(11,8%)	4	(5,0%)	6	0,151
	CT	7	(41,2%)	21	(26,3%)	28	
	TT	8	(47,1%)	55	(68,8%)	63	
<i>CYP3A4</i> rs2242480	CC	7	(41,2%)	49	(61,3%)	56	0,245
	CT	6	(35,3%)	21	(26,3%)	27	
	TT	4	(23,5%)	10	(12,5%)	14	
<i>CYP3A4</i> rs35599367	GA	0	(0,0%)	3	(3,7%)	3	>0,999
	GG	17	(100,0%)	77	(96,3%)	94	
<i>ABCB1</i> rs1128503	AA	1	(5,9%)	11	(13,8%)	12	0,861
	AG	10	(58,8%)	44	(55,0%)	54	
	GG	6	(35,3%)	25	(31,2%)	31	
<i>ABCB1</i> rs9282564	CC	0	(0,0%)	1	(1,3%)	1	>0,999
	TC	1	(5,9%)	8	(10,0%)	9	
	TT	16	(94,1%)	71	(88,7%)	87	
<i>ABCB1</i> rs2229109	CC	16	(94,1%)	77	(96,3%)	93	0,544
	CT	1	(5,9%)	3	(3,7%)	4	
<i>POR</i> rs1057868	CC	9	(52,9%)	49	(61,3%)	58	0,472
	CT	8	(47,1%)	26	(32,5%)	34	
	TT	0	(0,0%)	5	(6,2%)	5	

8.8 Anexo H - Associação dos genótipos dos doadores e receptores com o desfecho de rejeição n (%)

Gene	SNP	Doador/Receptor	Rejeição		Sem rejeição		Total	Valor p
			Freq. (n)	%	Freq. (n)	%		
CYP3A5	rs776746	NN	4	11%	33	89%	37	0,108
		NS	2	10%	18	90%	20	
		SN	9	32%	19	68%	28	
		SS	2	17%	10	83%	12	
CYP3A4	rs2740574	NN	6	13%	41	87%	47	0,384
		NS	2	13%	14	88%	16	
		SN	7	28%	18	72%	25	
		SS	2	22%	7	78%	9	
CYP3A4	rs2242480	NN	5	19%	22	81%	27	0,303
		NS	2	7%	27	93%	29	
		SN	7	25%	21	75%	28	
		SS	3	23%	10	77%	13	
ABCB1	rs1128503	NN	15	20%	60	80%	75	0,726
		NS	1	11%	8	89%	9	
		SN	1	9%	10	91%	11	
		SS	0	0%	1	100%	1	
ABCB1	rs2229109	NN	0	0%	0	0%	0	0,895
		NS	1	25%	3	75%	4	
		SN	2	20%	8	80%	10	
		SS	14	17%	69	83%	83	
ABCB1	rs9282564	NN	17	18%	79	82%	96	1,000
		NS	0	0%	0	0%	0	
		SN	0	0%	1	100%	1	
		SS	0	0%	0	0%	0	
s	rs1057868	NN	6	19%	26	81%	32	0,146
		NS	3	12%	23	88%	26	
		SN	7	32%	15	68%	22	
		SS	1	6%	16	94%	17	

8.9 Anexo I - Polimorfismo de nucleotídeo único – Genes *CYP3A5*, *CYP3A4*, *POR* e *ABCB1* de receptores que apresentaram insuficiência renal (n=60) ou não (n=37)

Gene polimorfismo	Genótipo	IR		Sem IR		Total	Valor-p
		Freq.	(%)	Freq.	(%)		
<i>CYP3A5</i> rs10264272	CC	57	(95,0%)	36	(5,0%)	93	>0,999
	CT	3	(97,3%)	1	(2,7%)	4	
<i>CYP3A5</i> rs776746	CC	37	(61,7%)	28	(75,5%)	65	0,318
	CT	18	(30,0%)	8	(21,6%)	26	
	TT	5	(8,3%)	1	(2,7%)	6	
<i>CYP3A4</i> rs2740574	CC	2	(3,3%)	1	(2,7%)	3	0,913
	CT	13	(21,7%)	9	(24,3%)	22	
	TT	45	(75,0%)	27	(73,0%)	72	
<i>CYP3A4</i> rs2242480	CC	31	(51,7%)	24	(64,9%)	55	0,491
	CT	24	(40,0%)	11	(29,7%)	35	
	TT	5	(8,3%)	2	(5,4%)	7	
<i>CYP3A4</i> rs35599367	GA	0	(0,0%)	2	(5,4%)	2	0,143
	GG	60	(100%)	35	(94,6%)	95	
<i>ABCB1</i> rs1128503	AA	5	(8,5%)	5	(13,5%)	10	0,449
	AG	28	(47,5%)	13	(35,1%)	41	
	GG	26	(44,1%)	19	(51,4%)	45	
<i>ABCB1</i> rs9282564	CC	-	-	-	-	-	0,728
	TC	5	(8,3%)	4	(10,8%)	9	
	TT	55	(91,7%)	33	(89,2%)	88	
<i>ABCB1</i> rs2229109	CC	54	(90,0%)	33	(89,2%)	87	>0,999
	CT	6	(10,0%)	4	(10,8%)	10	
<i>POR</i> rs1057868	CC	32	(53,3%)	22	(59,5%)	54	0,822
	CT	25	(41,7%)	14	(37,8%)	39	
	TT	3	(5,0%)	1	(2,7%)	4	

8.10 Anexo J - Polimorfismo de nucleotídeo único – Genes CYP3A5, CYP3A4, POR e ABCB1 de doadores, cujos receptores apresentaram insuficiência renal (n=60) ou não (n=37)

Gene polimorfismo	Genótipo	IR		Sem IR		Total	Valor-p
		Freq.	(%)	Freq.	(%)		
CYP3A5 rs10264272	CC	54	(90,0%)	33	(89,2%)	87	>0,999
	CT	6	(10,0%)	4	(10,8%)	10	
CYP3A5 rs776746	CC	35	(58,3%)	22	(59,5%)	57	>0,999
	CT	20	(33,3%)	12	(32,4%)	32	
	TT	5	(8,3%)	3	(8,1%)	8	
CYP3A4 rs2740574	CC	5	(8,3%)	1	(2,7%)	6	0,612
	CT	17	(28,3%)	11	(29,7%)	28	
	TT	38	(63,3%)	25	(67,6%)	63	
CYP3A4 rs2242480	CC	36	(60,0%)	20	(54,1%)	56	0,874
	CT	16	(26,7%)	11	(29,7%)	27	
	TT	8	(13,3%)	6	(16,2%)	14	
CYP3A4 rs35599367	GA	2	(3,3%)	1	(2,7%)	3	>0,999
	GG	58	(96,7%)	36	(97,3%)	94	
ABCB1 rs1128503	AA	5	(8,3%)	7	(18,9%)	12	0,347
	AG	35	(58,3%)	19	(51,4%)	54	
	GG	20	(33,3%)	11	(29,7%)	31	
ABCB1 rs9282564	CC	1	(1,7%)	0	(0,0%)	1	0,462
	TC	4	(6,7%)	5	(13,5%)	9	
	TT	55	(91,7%)	32	(86,5%)	87	
ABCB1 rs2229109	CC	57	(95,0%)	36	(97,3%)	93	>0,999
	CT	3	(5,0%)	1	(2,7%)	4	
POR rs1057868	CC	40	(66,7%)	18	(48,6%)	58	0,187
	CT	18	(30,0%)	16	(43,2%)	34	
	TT	2	(3,3%)	3	(8,1%)	5	

Legenda: IR: insuficiência renal, Freq.: frequência.

8.11 Anexo K - Associação dos genótipos dos doadores e receptores com lesão renal n (%)

Gene	SNP	Doador/Receptor	Lesão renal		Sem lesão renal		Total	Valor p
			Freq. (n)	%	Freq. (n)	%		
CYP3A5	rs776746	NN	22	59%	15	41%	37	0,343
		NS	13	65%	7	35%	20	
		SN	15	54%	13	46%	28	
		SS	10	83%	2	17%	12	
CYP3A4	rs2740574	NN	30	64%	17	36%	47	0,565
		NS	8	50%	8	50%	16	
		SN	15	60%	10	40%	25	
		SS	7	78%	2	22%	9	
CYP3A4	rs2242480	NN	16	59%	11	41%	27	0,612
		NS	20	69%	9	31%	29	
		SN	15	54%	13	46%	28	
		SS	9	69%	4	31%	13	
ABCB1	rs1128503	NN	49	65%	26	35%	75	0,335
		NS	5	56%	4	44%	9	
		SN	5	45%	6	55%	11	
		SS	0	0%	1	100%	1	
ABCB1	rs2229109	NN	0	0%	0	0%	0	0,855
		NS	3	75%	1	25%	4	
		SN	6	60%	4	40%	10	
		SS	51	61%	32	39%	83	
ABCB1	rs9282564	NN	59	61%	37	39%	96	1,000
		NS	0	0%	0	0%	0	
		SN	1	100%	0	0%	1	
		SS	0	0%	0	0%	0	
POR	rs1057868	NN	20	63%	12	38%	32	0,205
		NS	20	77%	6	23%	26	
		SN	12	55%	10	45%	22	
		SS	8	47%	9	53%	17	

8.12 Anexo L - Influência do polimorfismo rs2740574 (CYP3A4) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C₀) (valores médios ± desvio-padrão)

	Genótipo doador			Genótipo do receptor		
	TT (n=63)	CT (n=28)	CC (n=6)	TT (n=72)	CT (n=22)	CC (n=3)
<i>Dia 0</i>						
D ^a	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,707 ± 0,03	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,02
C ₀ ^b	4,11 ± 5,25	3,21 ± 1,90	3,35 ± 2,82	4,13 ± 4,85	2,83 ± 2,64	3,33 ± 1,70
<i>Dia 7</i>						
D	0,15 ± 0,08	0,18 ± 0,07	0,14 ± 0,05	0,16 ± 0,08	0,17 ± 0,08	0,09 ± 0,05
C ₀	7,03 ± 3,45	7,51 ± 3,11	5,85 ± 2,11	7,28 ± 3,29	6,78 ± 3,40	4,93 ± 1,60
<i>Dia 14</i>						
D	0,16 ± 0,09	0,18 ± 0,10	0,19 ± 0,11	0,16 ± 0,09	0,18 ± 0,11	0,16 ± 0,07
C ₀	8,80 ± 7,94	8,62 ± 3,67	7,18 ± 3,81	8,94 ± 7,39	7,55 ± 3,26	9,40 ± 8,94
<i>Dia 30</i>						
D	0,15 ± 0,09	0,17 ± 0,09	0,19 ± 0,09	0,16 ± 0,09	0,17 ± 0,09	0,13 ± 0,08
C ₀	8,66 ± 3,79	7,44 ± 3,27	7,15 ± 3,26	8,27 ± 3,47	8,34 ± 4,09	5,37 ± 3,94
<i>Dia 90</i>						
D	0,12 ± 0,06	0,14 ± 0,08	0,14 ± 0,02	0,12 ± 0,07	0,13 ± 0,07	0,11 ± 0,09
C ₀	8,35 ± 2,66	8,72 ± 6,39	10,52 ± 7,07	8,57 ± 4,48	8,55 ± 4,26	9,05 ± 0,78

Valores p>0,05

^a mg/kg/day; ^b ng/mL.

8.13 Anexo M - Influência do polimorfismo rs2242480 (CYP3A4) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C₀) (valores médios ± desvio-padrão)

	Genótipo doador			Genótipo do receptor		
	CC (n=56)	CT (n=27)	TT (n=14)	CC (n=55)	CT (n=35)	TT (n=7)
<i>Dia 0</i>						
D ^a	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,07 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,02
C ₀ ^b	3,91 ± 5,21	3,88 ± 3,14	3,24 ± 2,36	3,85 ± 4,35	3,89 ± 4,85	2,97 ± 1,48
<i>Dia 7</i>						
D	0,16 ± 0,09	0,16 ± 0,07	0,17 ± 0,06	0,15 ± 0,07	0,17 ± 0,09	0,15 ± 0,08
C ₀	7,06 ± 3,61	7,53 ± 3,07	6,39 ± 2,16	7,62 ± 3,04	6,33 ± 3,20	6,79 ± 5,02
<i>Dia 14</i>						
D	0,16 ± 0,09	0,15 ± 0,09	0,20 ± 0,10	0,15 ± 0,08	0,18 ± 0,11	0,19 ± 0,11
C ₀	8,08 ± 4,53	10,14 ± 10,5	7,89 ± 3,43	9,14 ± 8,21	7,75 ± 3,53	9,17 ± 5,93
<i>Dia 30</i>						
D	0,15 ± 0,08	0,15 ± 0,08	0,20 ± 0,11	0,15 ± 0,08	0,17 ± 0,09	0,17 ± 0,12
C ₀	8,72 ± 3,77	7,40 ± 3,73	7,80 ± 2,62	8,21 ± 3,69	8,42 ± 3,62	7,00 ± 3,41
<i>Dia 90</i>						
D	0,12 ± 0,07	0,12 ± 0,07	0,16 ± 0,06	0,12 ± 0,06	0,14 ± 0,07	0,15 ± 0,07
C ₀	8,74 ± 2,59	7,91 ± 6,28	9,27 ± 5,38	7,99 ± 3,06	9,58 ± 6,02	8,38 ± 2,77

Os valores em negrito na mesma linha diferem significativamente (p<0,05).

^a

mg/kg/day; ^b ng/mL.

8.14 Anexo N - Influência do polimorfismo rs1128503 (ABCB1) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C₀) (valores médios ± desvio-padrão)

	Genótipo doador			Genótipo do receptor		
	AA (n=12)	AG (n=54)	GG (n=31)	AA (n=10)	AG (n=41)	GG (n=45)
<i>Dia 0</i>						
D ^a	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,02	0,05 ± 0,02	0,06 ± 0,02
C ₀ ^b	2,92 ± 2,56	3,73 ± 4,03	4,24 ± 5,41	2,77 ± 1,01	3,72 ± 4,42	3,88 ± 4,64
<i>Dia 7</i>						
D	0,16 ± 0,09	0,16 ± 0,08	0,16 ± 0,07	0,14 ± 0,05	0,17 ± 0,08	0,16 ± 0,08
C ₀	7,23 ± 3,86	7,18 ± 3,3	6,9 ± 3,11	6,33 ± 1,37	7,93 ± 4,07	6,5 ± 2,63
<i>Dia 14</i>						
D	0,15 ± 0,07	0,16 ± 0,1	0,18 ± 0,1	0,16 ± 0,07	0,17 ± 0,1	0,16 ± 0,09
C ₀	9,05 ± 5,13	7,96 ± 4,07	9,66 ± 10,14	7,12 ± 3,39	8,52 ± 4,78	9,07 ± 8,58
<i>Dia 30</i>						
D	0,14 ± 0,07	0,15 ± 0,09	0,17 ± 0,09	0,14 ± 0,07	0,16 ± 0,09	0,17 ± 0,08
C ₀	8,33 ± 4,51	8,26 ± 3,75	8,01 ± 3,11	6,24 ± 2,11	8,9 ± 4,37	7,91 ± 2,94
<i>Dia 90</i>						
D	0,11 ± 0,06	0,13 ± 0,06	0,14 ± 0,08	0,09 ± 0,05	0,12 ± 0,07	0,14 ± 0,07
C ₀	8,17 ± 2,49	8,86 ± 5,19	8,26 ± 3,27	7,18 ± 2,58	8,36 ± 5,45	9,03 ± 3,5

Os valores em negrito e itálico diferem significativamente ($p < 0,05$).

^a mg/kg/day; ^b ng/mL.

8.15 Anexo O - Impacto dos dados do receptor e do doador no polimorfismo rs776746 (CYP3A5) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C₀)

	NN (n=37)		NS (n=20)		SN (n=28)		SS (n=12)	
	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)
<i>Dia 0</i>								
D ^a	0,06 ± 0,02	0,06 (0,02 - 0,10)	0,05 ± 0,02	0,05 (0,03 - 0,12)	0,06 ± 0,02	0,06 (0,02 - 0,13)	0,06 ± 0,013	0,06 (0,05 - 0,09)
C ₀ ^b	4,32 ± 5,08	2,65 (1,5 - 28,5)	4,17 ± 6,16	1,7 (1,5 - 27,5)	3,48 ± 2,2	3 (1,5 - 8,9)	2,33 ± 1,06	1,8 (1,5 - 4,5)
<i>Dia 7</i>								
D	0,13 ± 0,07	0,11 (0,03 - 0,31)	0,18 ± 0,10	0,18 (0,02 - 0,36)	0,16 ± 0,06	0,16 (0,05 - 0,30)	0,20 ± 0,06	0,17 (0,12 - 0,30)
C ₀	6,90 ± 3,30	6,1 (2,2 - 16,9)	6,96 ± 3,65	6,15 (1,9 - 17,5)	8,10 ± 3,41	7,75 (2,9 - 15,5)	5,55 ± 1,15	5,15 (4,3 - 7,5)
<i>Dia 14</i>								
D	0,15 ± 0,08	0,14 (0 - 0,35)	0,17 ± 0,12	0,17 (0,02 - 0,45)	0,15 ± 0,09	0,13 (0,02 - 0,37)	0,23 ± 0,08	0,22 (0,09 - 0,39)
C ₀	9,6 ± 9,80	7,8 (1,5 - 60)	8,27 ± 4,47	7,5 (1,5 - 19,1)	8,21 ± 3,71	7,75 (3,7 - 19,8)	7,43 ± 3,25	7,45 (1,5 - 12,8)
<i>Dia 30</i>								
D	0,16 ± 0,07	0,12 (0 - 0,35)	0,16 ± 0,09	0,16 (0,05 - 0,32)	0,16 ± 0,09	0,17 (0 - 0,37)	0,21 ± 0,09	0,20 (0,06 - 0,35)
C ₀	8,9 ± 4,45	8,2 (1,5 - 20,2)	8,26 ± 3,04	7,9 (1,8 - 14)	8,07 ± 3,07	7,5 (3,6 - 16,2)	6,32 ± 2,49	6,65 (1,5 - 9,3)
<i>Dia 90</i>								
D	0,10 ± 0,06	0,09 (0,024 - 0,28)	0,14 ± 0,07	0,14 (0,02 - 0,30)	0,13 ± 0,06	0,13 (0 - 0,25)	0,16 ± 0,08	0,15 (0,01 - 0,32)
C ₀	6,90 ± 3,30	8,5 (4 - 13,6)	6,96 ± 3,65	9,6 (4,3 - 17,7)	8,10 ± 3,41	7,4 (1,7 - 21,7)	5,55 ± 1,15	7,9 (3,3 - 34,7)

^a mg/kg/day; ^b ng/mL Legenda: NN: doador e receptor não expressor (genótipo CC); NS: doador não expressor (genótipo CC) e receptor expressor (genótipo TT ou CT); SN: doador expressor (genótipo: TT ou CT) e receptor não expressor (genótipo CC); SS: doador e receptor expressor (TT ou CT); mín.: mínimo; máx.: máximo. Os valores em negrito apresentam p<0,05.

8.16 Anexo P - Impacto dos dados do receptor e do doador no polimorfismo rs2740574 (CYP3A4) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C₀)

	NN (n=47)		NS (n=16)		SN (n=25)		SS (n=9)	
	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)
<i>Dia 0</i>								
D ^a	0,06 ± 0,02	0,06 (0,02 - 0,11)	0,06 ± 0,02	0,05 (0,03 - 0,12)	0,06 ± 0,02	0,06 (0,03 - 0,13)	0,06 ± 0,02	0,06 (0,03 - 0,08)
C ₀ ^b	4,4 ± 5,83	2,4 (1,5 - 28,5)	3,31 ± 3,07	2 (1,5 - 13,7)	3,64 ± 2,22	3,5 (1,5 - 8,9)	2,13 ± 0,7	1,8 (1,5 - 3,2)
<i>Dia 7</i>								
D	0,15 ± 0,08	0,14 (0,03 - 0,34)	0,17 ± 0,1	0,14 (0,03 - 0,36)	0,17 ± 0,08	0,17 (0,05 - 0,3)	0,16 ± 0,05	0,15 (0,1 - 0,26)
C ₀	6,92 ± 3,33	6,1 (2,2 - 17,5)	7,33 ± 3,85	6,45 (1,9 - 16,9)	7,95 ± 3,16	7,3 (2,9 - 15,5)	5,19 ± 0,97	4,9 (4,2 - 6,7)
<i>Dia 14</i>								
D	0,15 ± 0,09	0,14 (0 - 0,35)	0,17 ± 0,12	0,15 (0,03 - 0,45)	0,18 ± 0,1	0,16 (0,04 - 0,38)	0,2 ± 0,1	0,2 (0,09 - 0,39)
C ₀	9,08 ± 8,8	7,1 (1,5 - 60)	7,93 ± 4,6	7,4 (1,5 - 19,1)	8,67 ± 3,84	7,8 (3,7 - 19,8)	7,53 ± 3,24	7,4 (1,5 - 12,8)
<i>Dia 30</i>								
D	0,15 ± 0,08	0,13 (0 - 0,35)	0,15 ± 0,09	0,18 (0,05 - 0,3)	0,17 ± 0,09	0,17 (0 - 0,38)	0,18 ± 0,09	0,2 (0,06 - 0,35)
C ₀	8,36 ± 3,71	7,8 (1,5 - 20,2)	9,52 ± 3,99	8,5 (4,4 - 20,2)	8,1 ± 3,06	7,9 (3,6 - 16,2)	5,39 ± 2,94	5,7 (1,5 - 9,2)
<i>Dia 90</i>								
D	0,12 ± 0,06	0,11 (0,04 - 0,3)	0,13 ± 0,07	0,14 (0,02 - 0,23)	0,14 ± 0,07	0,14 (0 - 0,32)	0,13 ± 0,07	0,12 (0,02 - 0,24)
C ₀	6,92 ± 3,33	8,3 (1,7 - 17,7)	7,33 ± 3,85	8,95 (4,4 - 13,6)	7,95 ± 3,16	7,7 (2,3 - 34,7)	5,19 ± 0,97	6,55 (3,7 - 21,7)

^a mg/kg/day; ^b ng/mL. Legenda: NN: doador e receptor não expressor (genótipo CC); NS: doador não expressor (genótipo CC) e receptor expressor (genótipo TT ou CT); SN: doador expressor (genótipo: TT ou CT) e receptor não expressor (genótipo CC); SS: doador e receptor expressor (TT ou CT), mín.: mínimo; máx.: máximo. Valores p>0,05.

8.16 Anexo Q - Impacto dos dados do receptor e do doador no polimorfismo rs1128503 (ABCB1) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C₀)

	NN (n=75)		NS (n=9)		SN (n=11)		SS (n=1)	
	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)
<i>Dia 0</i>								
D ^a	0,06 ± 0,02	0,06 (0,02 - 0,13)	0,06 ± 0,02	0,06 (0,05 - 0,09)	0,06 ± 0,02	0,05 (0,03 - 0,1)	0,05 ± 0	0,05 (0,05 - 0,05)
C ₀ ^b	3,91 ± 4,71	2,4 (1,5 - 28,5)	2,89 ± 0,99	3 (1,6 - 4,5)	3,04 ± 2,66	2,1 (1,5 - 10)	1,7 ± 0	1,7 (1,7 - 1,7)
<i>Dia 7</i>								
D	0,16 ± 0,08	0,15 (0,03 - 0,36)	0,14 ± 0,05	0,15 (0,05 - 0,2)	0,16 ± 0,09	0,12 (0,07 - 0,34)	0,2 ± 0	0,2 (0,2 - 0,2)
C ₀	7,17 ± 3,38	6,3 (1,9 - 17,5)	6,24 ± 1,42	5,8 (4,5 - 8,8)	7,24 ± 4,05	6,1 (3,1 - 15,5)	7,1 ± 0	7,1 (7,1 - 7,1)
<i>Dia 14</i>								
D	0,17 ± 0,1	0,16 (0 - 0,45)	0,15 ± 0,07	0,2 (0,05 - 0,22)	0,14 ± 0,07	0,14 (0,03 - 0,31)	0,2 ± 0	0,2 (0,2 - 0,2)
C ₀	8,85 ± 7,3	7,5 (1,5 - 60)	6,31 ± 2,36	6,3 (1,5 - 9,8)	8,56 ± 5,08	8,2 (1,5 - 16,2)	14,4 ± 0	14,4 (14,4 - 14,4)
<i>Dia 30</i>								
D	0,16 ± 0,09	0,16 (0 - 0,38)	0,14 ± 0,08	0,2 (0,05 - 0,22)	0,14 ± 0,07	0,14 (0,05 - 0,26)	0,13 ± 0	0,13 (0,13 - 0,13)
C ₀	8,36 ± 3,52	7,95 (1,5 - 20,2)	6,07 ± 2,17	6,1 (2 - 9,4)	8,38 ± 4,73	7,6 (3,8 - 20,2)	7,8 ± 0	7,8 (7,8 - 7,8)
<i>Dia 90</i>								
D	0,13 ± 0,07	0,13 (0 - 0,32)	0,09 ± 0,05	0,09 (0,02 - 0,19)	0,11 ± 0,06	0,09 (0,05 - 0,23)	0,05 ± 0	0,05 (0,05 - 0,05)
C ₀	7,17 ± 3,38	8,5 (1,7 - 34,7)	6,24 ± 1,42	7,35 (3,1 - 11,1)	7,24 ± 4,05	7,2 (4 - 11,7)	7,1 ± 0	9,4 (9,4 - 9,4)

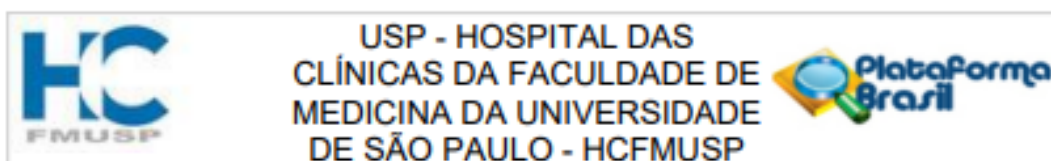
^a mg/kg/day; ^b ng/mL Legenda: NN: doador e receptor não expressor (genótipo CC); NS: doador não expressor (genótipo CC) e receptor expressor (genótipo TT ou CT); SN: doador expressor (genótipo: TT ou CT) e receptor não expressor (genótipo CC); SS: doador e receptor expressor (TT ou CT); mín.: mínimo; máx.: máximo. Valores p>0,05

8.17 Anexo R - Impacto dos dados do receptor e do doador no polimorfismo rs1057868 (POR) na dosagem de tacrolimo (D) e na concentração sanguínea (C₀)

	NN (n=32)		NS (n=26)		SN (n=22)		SS (n=17)	
	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)	Média ± DP	Mediana (mín.-máx.)
<i>Dia 0</i>								
D ^a	0,06 ± 0,02	0,06 (0,03 - 0,1)	0,07 ± 0,02	0,07 (0,03 - 0,13)	0,06 ± 0,02	0,06 (0,02 - 0,12)	0,06 ± 0,02	0,05 (0,03 - 0,11)
C ₀ ^b	4 ± 5,39	1,8 (1,5 - 28,5)	4,08 ± 2,94	3,4 (1,5 - 13,7)	3,6 ± 5,59	1,7 (1,5 - 27,5)	3,25 ± 2,28	2,4 (1,5 - 10)
<i>Dia 7</i>								
D	0,16 ± 0,08	0,15 (0,03 - 0,31)	0,14 ± 0,06	0,14 (0,03 - 0,27)	0,19 ± 0,09	0,18 (0,03 - 0,36)	0,14 ± 0,08	0,1 (0,06 - 0,3)
C ₀	6,69 ± 2,81	6,1 (2,2 - 15,5)	7,86 ± 3,82	7,15 (3,2 - 17,5)	7,56 ± 3,41	6,35 (2,9 - 15,5)	6,09 ± 2,93	5,8 (1,9 - 14)
<i>Dia 14</i>								
D	0,17 ± 0,07	0,16 (0,06 - 0,38)	0,13 ± 0,09	0,11 (0 - 0,39)	0,2 ± 0,12	0,2 (0,03 - 0,45)	0,16 ± 0,09	0,14 (0,04 - 0,32)
C ₀	9,85 ± 10,17	7,5 (1,5 - 60)	8,11 ± 4,31	7,55 (1,5 - 20,2)	8,67 ± 3,85	7,9 (3,1 - 16,2)	6,99 ± 2,96	6,55 (3,7 - 15,5)
<i>Dia 30</i>								
D	0,16 ± 0,07	0,17 (0,05 - 0,29)	0,13 ± 0,09	0,12 (0 - 0,35)	0,18 ± 0,1	0,18 (0,05 - 0,38)	0,17 ± 0,08	0,14 (0,06 - 0,32)
C ₀	7,39 ± 3,53	6,05 (1,5 - 16,2)	9,08 ± 4,02	8,4 (1,8 - 20,2)	8,14 ± 2,91	8,1 (1,5 - 13,5)	8,57 ± 4,03	7,6 (3,6 - 20,2)
<i>Dia 90</i>								
D	0,14 ± 0,06	0,13 (0,05 - 0,32)	0,11 ± 0,06	0,11 (0 - 0,28)	0,14 ± 0,08	0,14 (0,02 - 0,3)	0,12 ± 0,06	0,12 (0,04 - 0,24)
C ₀	6,69 ± 2,81	7,8 (3,1 - 16)	7,86 ± 3,82	7,7 (3,1 - 13,6)	7,56 ± 3,41	9,6 (3,7 - 34,7)	6,09 ± 2,93	7,55 (1,7 - 21,7)

^a mg/kg/day; ^b ng/mL. Legenda: NN: doador e receptor não expressor (genótipo CC); NS: doador não expressor (genótipo CC) e receptor expressor (genótipo TT ou CT); SN: doador expressor (genótipo: TT ou CT) e receptor não expressor (genótipo CC); SS: doador e receptor expressor (TT ou CT); mín.: mínimo; máx.: máximo. Valores p>0,05

8.18 Anexo S – Aprovação CAPPESP



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Painel de farmacogenômica para pacientes transplantados de fígado: Um estudo piloto.

Pesquisador: Suzane Kioko Ono

Área Temática: Genética Humana:

(Trata-se de pesquisa envolvendo Genética Humana que não necessita de análise ética por parte da CONEP.);

Versão: 1

CAAE: 20229919.6.0000.0068

Instituição Proponente: Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP

Patrocinador Principal: Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 3.586.164

Apresentação do Projeto:

As hepatites crônicas se não tratadas e erradicadas ou controlados os seus agentes etiológicos podem evoluir para a cirrose com conseqüente perda de função e aparecimento de complicações. No estágio final da doença o único tratamento curativo é o transplante hepático, sendo assim, investigar farmacogenômica associada transplantados de fígado por meio das genotipagem para melhorar o sucesso dos transplantes pode ser claramente uma abordagem eficiente.

Objetivo da Pesquisa:

Verificar a frequência de polimorfismos dos genes responsáveis pela absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME) dos medicamentos: tacrolimus, micofenolato de sódio/mofetilã, corticóides (prednisona, prednisolona e metilprednisolona), azatioprina e everolimo em pacientes transplantados hepáticos no Departamento de Gastroenterologia do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da USP (HCFMUSP). Correlacionar a frequência de polimorfismo dos genes responsáveis pela absorção, distribuição, metabolização e excreção (ADME) dos imunossupressores (tacrolimus, micofenolato de sódio/mofetilã, corticóides, azatioprina e everolimo) e as complicações ocorridas no pós transplante.

Serão consideradas complicações: Aumento das enzimas hepáticas e aparecimento de infecções.

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappelq.adm@hc.fm.usp.br



USP - HOSPITAL DAS
CLÍNICAS DA FACULDADE DE
MEDICINA DA UNIVERSIDADE
DE SÃO PAULO - HCFMUSP



Continuação do Parecer: 3.586.164

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos mínimos da coleta de sangue e não há benefícios diretos

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Trata-se de um trabalho com a finalidade de mestrado da aluna Graziella Naldi

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Os documentos enviados estão adequados.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Sem pendências.

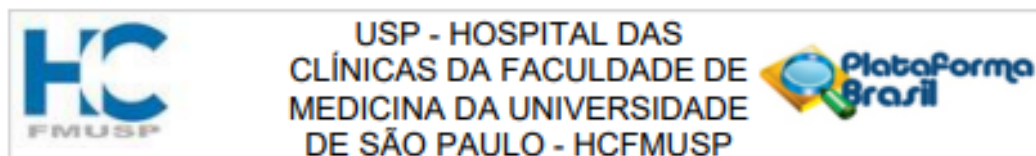
Considerações Finais a critério do CEP:

Em conformidade com a Resolução CNS nº 466/12 – cabe ao pesquisador: a) desenvolver o projeto conforme delineado; b) elaborar e apresentar relatórios parciais e final; c) apresentar dados solicitados pelo CEP, a qualquer momento; d) manter em arquivo sob sua guarda, por 5 anos da pesquisa, contendo fichas individuais e todos os demais documentos recomendados pelo CEP; e) encaminhar os resultados para publicação, com os devidos créditos aos pesquisadores associados e ao pessoal técnico participante do projeto; f) justificar perante ao CEP interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BASICAS_DO_PROJETO_1307141.pdf	04/09/2019 10:17:27		Aceito
Cronograma	Cronograma.pdf	04/09/2019 10:17:03	Suzane Kioko Ono	Aceito
Declaração de Pesquisadores	REGULAMENTO_BIORREPOSITORIO.doc	02/09/2019 11:50:16	Suzane Kioko Ono	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_Compromisso.pdf	02/09/2019 11:48:54	Suzane Kioko Ono	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Carta_Compromisso.doc	02/09/2019 11:48:43	Suzane Kioko Ono	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_assinado.pdf	02/09/2019 11:46:37	Suzane Kioko Ono	Aceito
Declaração de Pesquisadores	REGULAMENTO_BIORREPOSITORIO.pdf	28/08/2019 09:47:32	Suzane Kioko Ono	Aceito
Folha de Rosto	FR_28082019.pdf	28/08/2019 09:45:21	Suzane Kioko Ono	Aceito

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
 Bairro: Cerqueira Cesar CEP: 05.403-010
 UF: SP Município: SAO PAULO
 Telefone: (11)2661-7585 Fax: (11)2661-7585 E-mail: cappesq.adm@hc.fm.usp.br



Continuação do Parecer: 3.586.164

TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Grazi.doc	06/08/2019 09:35:23	Suzane Kioko Ono	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_detalhado.pdf	30/04/2019 11:59:50	Suzane Kioko Ono	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

SAO PAULO, 19 de Setembro de 2019

Assinado por:
ALFREDO JOSE MANSUR
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Ovídio Pires de Campos, 225 5º andar
Bairro: Cerqueira Cesar **CEP:** 05.403-010
UF: SP **Município:** SAO PAULO
Telefone: (11)2661-7585 **Fax:** (11)2661-7585 **E-mail:** cappesq.adm@hc.fm.usp.br

8.19 Anexo T – Artigos submetidos para publicação

- Titulo: CYP3A5 and POR gene polymorphism as predictors of infection and graft rejection in post liver transplant patients treated with tacrolimus – a cohort study.

Revista: The pharmacogenomics Journal.

manuscripttrackingsystem		The Pharmacogenomics Journal
tracking system home	author instructions	reviewer instructions
help	tips	logout
journal home		
Detailed Status Information		
Manuscript #	TPJ202300136	
Current Revision #	0	
Submission Date	29th Sep 23	
Current Stage	Initial QC Started	
Title	CYP3A5 and POR gene polymorphisms as predictors of infection and graft rejection in post-liver transplant patients treated with tacrolimus - a cohort study	
Manuscript Type	Article	
Corresponding Author	Professor Suzane Ono (University of São Paulo School of Medicine)	
Contributing Authors	Ms Graziella Naldi , Ms Ariane Minari , Dr Thales Pereira , Dr Victor Fossaluzza , Dr Nicholas Eugenio , Dr Marcelo Ferreira , Mr Guilherme Gregório , Dr Lucas Nacif , Professor Luiz D Albuquerque , Dr Ricardo di Lazzaro Filho , Professor Eduardo Caçado , Professor Suzane Ono	
Abstract	Liver transplantation is the only curative option for patients with advanced stages of liver disease, with tacrolimus used as the immunosuppressive drug of choice. However, due to its narrow therapeutic index and high inter- and intra-individual variability, serum monitoring should be frequent. An individual's genetic variability can interfere with drug response, potentially leading an individual to overexposure or underexposure of a drug. This study aims to investigate the association of polymorphisms with infection, acute rejection, and renal failure. This is an observational, prospective, cohort, single-center study in liver transplant patients. Were collected 97 recipients and 97 donors. The logistic regression model found an influence of patients expressing CYP3A5*3 (rs776746) and expressing POR*28 (rs1057868) on the development of acute rejection after liver transplantation (p=0.028). It also found an association between carriers of the variant allele of the POR*28 gene and infection (p=0.006 isolated analysis and p=0.003 combined analysis).	
Section Editor	Not Assigned	
Techniques	Life sciences techniques, Genomic analysis [High-throughput screening assays]; Life sciences techniques, High throughput screening [DNA sequencing]; Life sciences techniques, Genomic analysis [Genome-wide association studies]; Life sciences techniques, Genomic analysis [DNA isolation and purification]; Life sciences techniques, Genomic analysis [DNA sequencing]; Life sciences techniques, Genomic analysis [Microarray analysis];	
Subject Terms	Health sciences/Risk factors Health sciences/Medical research/Genetics research	
Research Square author dashboard	I understand that my manuscript and associated personal data will be shared with Research Square for the delivery of the author dashboard.	
In Review	Yes, my co-authors and I would like to opt in to <i>In Review</i>	
Conflict of Interest Statement	There is NO conflict of interest to disclose.	
Clinical Trial	No	
Applicable Funding Source	Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (São Paulo Research Foundation) - 2019/00945-1 [Ono] Ministry of Science, Technology and Innovation Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (National Council for Scientific and Technological Development) - 308609/2018-2 [Ono] Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (São Paulo Research Foundation) - 2022/05586-2 [Gregório] Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (São Paulo Research Foundation) - 2019/00945-1 [Ono] Ministry of Science, Technology and Innovation Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (National Council for Scientific and Technological Development) - 308609/2018-2 [Ono]	
Stage	Start Date	
Under Consideration	29th Sep 23	
Submission	29th Sep 23	