



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
QUÍMICAS**

**MONITOREO TERAPÉUTICO DE CICLOSPORINA EN NIÑOS CON TRASPLANTE
RENAL**

TESIS
PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRO EN CIENCIAS

PRESENTA

QFB LAURA PATRICIA HERNÁNDEZ ZARZA



TUTOR: DRA. HELGI JUNG COOK

AÑO: 2007



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ÍNDICE

	Página
1. INTRODUCCIÓN	1
2. GENERALIDADES	3
2.1 Monitoreo terapéutico de fármacos	3
2.1.1 Antecedentes	3
2.1.2 Bases del monitoreo terapéutico de fármacos	4
2.1.3 Razones para el monitoreo terapéutico de fármacos	5
2.1.4 Requerimientos para el monitoreo terapéutico de fármacos	5
2.1.5 Beneficios del monitoreo terapéutico de fármacos	6
2.2 Monografía de la ciclosporina	8
2.2.1 Propiedades fisicoquímicas	8
2.2.2 Nombres comerciales	9
2.2.3 Mecanismo de acción	9
2.2.4 Aspectos farmacocinéticos	10
2.2.4.1 Absorción	10
2.2.4.2 Distribución	11
2.2.4.3 Metabolismo	12
2.2.4.4 Eliminación	13
2.2.5 Interacción con otros fármacos	13
2.2.6 Toxicidad	14
2.2.7 Rango terapéutico	14
2.2.8 Formas farmacéuticas	16
2.2.9 Dosificación	16
2.2.10 Monitoreo terapéutico de ciclosporina	16
2.2.10.1 Consideraciones para el monitoreo de este fármaco en niños	18
3. PARTE EXPERIMENTAL	19
3.1 Método analítico para cuantificar ciclosporina en sangre total	19
3.1.1 Descripción del método analítico	19
3.1.2 Equipo	20

3.1.3 Reactivos	20
3.1.4 Calibradores	21
3.1.5 Muestras control	21
3.1.6 Curva de calibración	21
3.1.7 Método a seguir	22
3.2 Estudio de monitoreo terapéutico de ciclosporina en niños con trasplante renal	23
4. RESULTADOS	25
4.1 Método analítico para cuantificación de ciclosporina en sangre total	25
4.1.1 Especificidad	25
4.1.2 Sensibilidad	25
4.1.3 Exactitud en el recobro	26
4.1.4 Control de calidad	26
4.2 Estudio farmacocinético: Monitoreo terapéutico de ciclosporina en pacientes pediátricos con trasplante renal	26
4.2.1 Control de calidad en el monitoreo	42
5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	45
5.1 Método analítico para cuantificación de ciclosporina en sangre total	45
5.2 Monitoreo terapéutico de ciclosporina	45
5.3 Requisitos para el monitoreo de ciclosporina	48
6. CONCLUSIONES	54
7. RECOMENDACIONES	55
BIBLIOGRAFÍA	56
APÉNDICE	62

ÍNDICE DE FIGURAS

		Página
Figura 1	Dosis administradas durante el período de tiempo del estudio en los pacientes bajo tratamiento con ciclosporina.	28
Figura 2	Niveles de ciclosporina durante el período de tratamiento de los pacientes que participaron en el estudio.	29
Figura 3	Relación de las concentraciones de ciclosporina y la dosis ajustada por peso.	32
Figura 4	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 1	33
Figura 5	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 2	33
Figura 6	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 3	34
Figura 7	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 4	34
Figura 8	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de	

	estudio. Paciente 5	35
Figura 9	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 6	35
Figura 10	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 7	36
Figura 11	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 8	36
Figura 12	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 9	37
Figura 13	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 10	37
Figura 14	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 11	38
Figura 15	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 12	38
Figura 16	Relación de las concentraciones de ciclosporina	

	en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 13	39
Figura 17	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 14	39
Figura 18	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 15	40
Figura 19	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 16	40
Figura 20	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 17	41
Figura 21	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 18	41
Figura 22	Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis durante el período de estudio. Paciente 19	42
Figura 23	Cumplimiento en el horario de toma de muestra sanguínea de acuerdo a las recomendaciones del hospital (8:00am)	44

ÍNDICE DE TABLAS

		Página
Tabla 1	Niveles terapéuticos de ciclosporina de acuerdo al método analítico utilizado	15
Tabla 2	Datos demográficos de los niños que participaron en el estudio	27
Tabla 3	Dosis de ciclosporina administradas en diferentes etapas del tratamiento	29
Tabla 4	Concentraciones de ciclosporina en diferentes etapas del tratamiento	30
Tabla 5	Dosis administradas a niños que presentaron rechazo y sin rechazo en diferentes etapas postrasplante	30
Tabla 6	Concentraciones en niños que presentaron rechazo y sin rechazo en diferentes etapas postrasplante	31
Tabla 7	Número de mediciones de ciclosporina y cumplimiento en el registro de los datos	43
Tabla 8	Tiempo al que se midieron niveles de ciclosporina después de la administración de la dosis en el inicio del tratamiento después del trasplante	44

1. INTRODUCCIÓN

La cultura de donación de órganos ha sido aceptada en todo el mundo, entendida como un acto solidario, noble y humano que permite continuar con la vida o mejorar condiciones de salud de otra persona y en esta labor los avances tecnológicos y científicos han tenido una contribución importante.

Una vez recibido el trasplante, el paciente se ve sometido a tratamientos de inmunosupresión para evitar el rechazo del órgano. Los principales fármacos utilizados son: ciclosporina, tacrolimus, ácido micofenólico, sirolimus y everolimus. La ciclosporina se empezó a utilizar en pacientes pediátricos con trasplante renal en 1982, después de haber mostrado ser efectiva en adultos. Dos importantes razones llevaron a introducir su uso en niños: lograr un mayor tiempo de supervivencia del órgano trasplantado con tratamiento con azatioprina y prednisona como inmunosupresores y reducir la cantidad de este segundo fármaco, el cual fue el principal responsable del retraso en el crecimiento de niños observado después del trasplante. Dada su gran variabilidad intra e interindividual en los niveles de ciclosporina y debido a los factores que afectan su farmacocinética, es necesario monitorear sus concentraciones en sangre.

Aún cuando el monitoreo de este fármaco es ampliamente practicado, existe gran confusión en la interpretación de los resultados de las concentraciones sanguíneas del mismo, lo cual ha requerido que organizaciones internacionales

trabajen en la elaboración de guías y recomendaciones para el monitoreo de ciclosporina.

Dado que en nuestro país existe poca información relacionada con los niveles de este fármaco en población pediátrica, el objetivo de este estudio fue determinar la relación entre niveles sanguíneos de ciclosporina, tiempo de tratamiento y dosis en niños con trasplante renal y evaluar el cumplimiento de las guías y recomendaciones internacionales del monitoreo para este medicamento en el Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

2. GENERALIDADES

2.1 Monitoreo terapéutico de fármacos

2.1.1 Antecedentes

El monitoreo terapéutico de fármacos se define como un proceso de control terapéutico, basado en la medida de las concentraciones de fármacos en fluidos biológicos, que mediante la aplicación de los principios de la farmacocinética trata de resolver numerosos problemas terapéuticos, siendo su objetivo fundamental la individualización de la posología de fármacos con estrecho margen terapéutico.^{1,2}

Los primeros trabajos importantes del monitoreo terapéutico de fármacos, se reportan en los años 30's, cuando Marshal y colaboradores, (1938) describen la relación entre niveles sanguíneos y la dosis después de la administración de sulfanilamida o su análogo acetilo y es en 1950 cuando se propone, por vez primera, el uso de las concentraciones plasmáticas como un método para guiar el tratamiento de las arritmias cardíacas con quinidina.³

En los años 60's, las dosis utilizadas en la farmacoterapia, se basaban principalmente en los datos publicados, en la experiencia clínica previa, o bien, la simple tradición. La decisión se basaba en casos de ensayo y error⁴. Se iniciaba aplicando una dosis baja, la cual se iba incrementando progresivamente hasta que se manifestaran reacciones tóxicas. Es en esta época en la que se desarrollan técnicas analíticas más sensibles y específicas, las cuales, permitieron establecer correlaciones entre las concentraciones séricas y el efecto farmacológico y/o

tóxico de un gran número de fármacos,^{5,6} instaurándose así la base fundamental del monitoreo terapéutico de fármacos, que de ser una práctica utilizada con fines de investigación, pasa a una práctica hospitalaria habitual.

Asimismo a principios de los 70's se realizan los primeros estudios de farmacocinética en niños y en algunas instituciones se inicia el monitoreo en esta población, sin embargo la investigación en pacientes pediátricos sugiere que algunas de las recomendaciones para adultos no son apropiadas para niños.^{7, 8, 9.}

En los 80's el monitoreo terapéutico de fármacos es ampliamente utilizado y se dan las primeras recomendaciones para que el monitoreo sea funcional.^{10,11} Posteriormente en la década de los 90's, se resuelven las necesidades de dosificación de diversos fármacos,¹²⁻¹⁵ se optimizan criterios específicos para la aplicación del monitoreo terapéutico de fármacos, se evalúa la relación costo-beneficio, tanto para el medio hospitalario como para el paciente^{16, 17, 18} y se establecen lineamientos para la actualización del personal involucrado en ello.^{19,20}

2.1.2 Bases del monitoreo terapéutico de fármacos

El monitoreo terapéutico de fármacos es una práctica aplicada a un pequeño grupo de fármacos en los que existe una relación directa entre la concentración y la respuesta.

Esta práctica aplica en los siguientes casos^{1, 21, 22}

- Fármacos de estrecho margen terapéutico, (relación pequeña entre la concentración efectiva y la concentración tóxica).

- Gran variabilidad interindividual en los parámetros farmacocinéticos
- La relación dosis-respuesta no es predecible.
- El efecto terapéutico no se alcanza fácilmente o bien se trata de evitar ciertos efectos adversos por ejemplo en el caso de los antibióticos aminoglucósidos.

2.1.3 Razones para el monitoreo terapéutico de fármacos

- Sospecha de infradosificación
- Sospecha de toxicidad y/o intoxicación aguda
- Adición o remoción de otros fármacos
- Corroborar cumplimiento del régimen terapéutico
- Fracaso terapéutico y/o modificación de la respuesta
- Pacientes con daño renal, hepático o cardiaco
- Resistencia al tratamiento
- Incumplimiento de la prescripción

2.1.4 Requerimientos para el monitoreo terapéutico de fármacos

Para llevar a cabo el monitoreo se requiere:

- Contar con un método analítico seguro, preciso y específico, en el que se requiera de un pequeño volumen de muestra, se obtengan resultados rápidos y sea relativamente barato.
- Contar con información pertinente para evaluar eficientemente la concentración plasmática.²¹

- Historial de la administración del fármaco: dosis, forma farmacéutica, vías de administración, hora de la última administración, cumplimiento del paciente:
 - Hora de muestreo (relativo previo a la dosis), naturaleza del fluido, sitio de colección, intervalo de dosificación.
- Estado clínico del paciente: Peso, edad.
- Datos de laboratorio:
 - Función renal (creatinina sérica, depuración de creatinina).
 - Función hepática (tiempo de protrombina, albúmina sérica, bilirrubina sérica).
- Terapia actual (empleo de otros medicamentos): Interacción.
- Parámetros farmacocinéticos asociados con el tipo de paciente

2.1.5 Beneficios del monitoreo terapéutico de fármacos

El uso del monitoreo ha aportado diferentes beneficios, los cuales han sido clasificados como¹:

Directos:

- Mejor tratamiento para el paciente. Permite confirmar la ausencia de respuesta, incumplimiento, sospecha de intoxicación, presencia de efectos adversos. Permite la detección de errores de medicación; la adopción de criterios para modificar el tratamiento, el análisis y evaluación de interacciones tanto conocidas a priori como insospechadas e incluso controlar indirectamente determinadas variables fisiopatológicas.
- Reducción de la estancia hospitalaria

- Disminución de los efectos adversos y de los costos derivados de los mismos.
- Mejores resultados terapéuticos (incremento en la supervivencia, descenso de la morbilidad-mortalidad, mejores tasas de curación, menor duración de la terapia, simplificación del tratamiento, número de ingresos).
- Reducción de costos del tratamiento (menor tiempo de tratamiento, disminución de la cantidad y/o número de dosis, cambiar la vía de administración, supresión de fármacos ineficaces, reducción de muestras incorrectamente obtenidas).

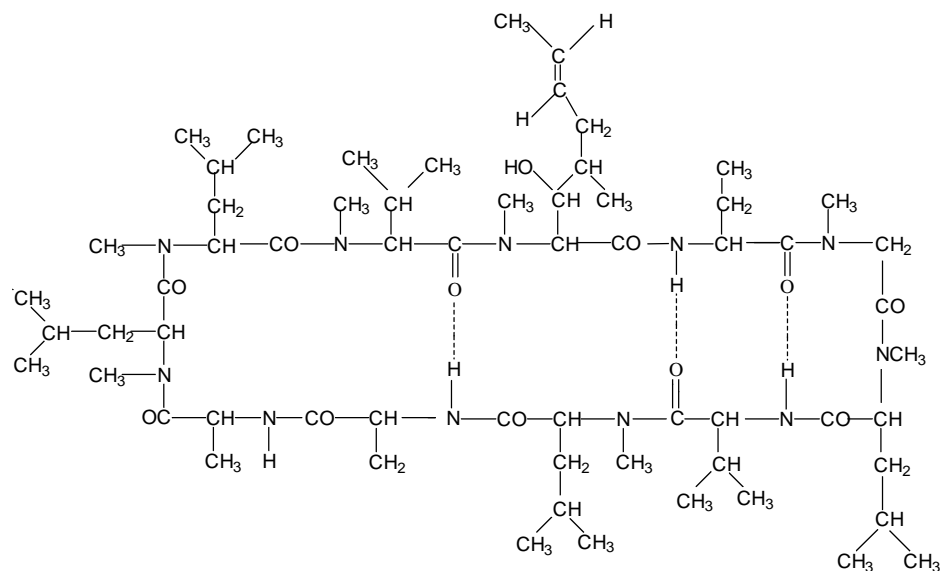
Indirectos:

- Contribuye a la educación del personal implicado en el proceso (paciente, farmacéutico, médico, personal de enfermería).
- Cumplimiento de los pacientes.
- Permite recopilar datos farmacocinéticos-farmacodinámicos para la realización de trabajos de investigación clínica.
- Contribuye a la mejora de la terapéutica en general.

2.2 Monografía de la ciclosporina

La ciclosporina A es un polipéptido cíclico compuesto de 11 aminoácidos el cual fue aislado del hongo *Tolypocladium inflatum gams* que algunos autores mencionan como las alternativas especies *Hypocladium inflatum* y *Beauveria nivea*.²³

La fórmula estructural es la siguiente:



Fórmula condensada: $C_{62}H_{111}N_{11}O_{12}$

Peso molecular: 1202.64 g/mol

2.2.1 Propiedades físicoquímicas

Cristales prismáticos blancos, compuesto neutro, rico en ácidos aminohidrofóbicos insoluble en agua y n-hexano, muy soluble en metanol, etanol, acetona, éter, cloroformo y otros solventes orgánicos. Punto de fusión 149-150°C.^{24, 25}

2.2.2 Nombres comerciales

Nombres comerciales: Sandimmun, Neoral, Neolem, Supremunn, Supremunn-s.²⁶

2.2.3 Mecanismo de acción

La ciclosporina suprime parte de la inmunidad de tipo humoral, pero es más eficaz contra los mecanismos inmunitarios que dependen de linfocitos T, como los que intervienen para desencadenar el rechazo de un órgano en trasplante y algunas formas de autoinmunidad. Inhibe de manera preferente la transducción de señales activada por antígeno, en los linfocitos T, con lo cual se reduce la expresión de innumerables linfocinas incluida la interleucina 2, y también la expresión de proteínas antiapoptóticas. La ciclosporina forma un complejo con la ciclofilina, proteína del receptor citoplásmico que aparece en las células a las que se dirige la acción del fármaco “blanco”. Dicho complejo se liga a la calcineurina, e inhibe la desfosforilación del componente citosólico de NFAT. Una vez desfosforilado el componente citoplásmico de NFAT, se trasloca al núcleo, donde forma complejos con componentes nucleares necesarios para la activación completa del linfocito T, incluida la transactivación de los genes de IL-2 y otras linfocinas. La actividad enzimática de la calcineurina se inhibe después de la interacción física con el complejo de ciclosporina:ciclofilina; bloqueando la desfosforilación y traslocación de NFAT al núcleo, induciendo de esta manera la inactivación de vías de señalización que le permiten al linfocito T responder a un antígeno específico. Un efecto adicional de la ciclosporina es la inducción del factor transformador de crecimiento β (TGF- β), el cual exhibe propiedades antiinflamatorias al inhibir la

proliferación de linfocitos T estimulada por interleucina 2 y la generación de linfocitos T citotóxicos.²³

2.2.4 Aspectos farmacocinéticos

2.2.4.1 Absorción

La absorción de ciclosporina después de su administración oral, es lenta, incompleta y variable²⁷ lo cual se atribuye a factores tales como su alto peso molecular, su baja solubilidad en fluidos acuosos, condiciones de pH del tracto gastrointestinal, de la forma farmacéutica²⁸ así como de la administración de alimentos con alto contenido de grasa.²⁹ Una baja biodisponibilidad se atribuye a la actividad del CYP3A4 hepático e intestinal y la variación en la expresión de glicoproteína-P en los enterocitos del intestino delgado.^{29,30}

La ciclosporina presenta generalmente dos concentraciones máximas, la primera aproximadamente a las 3 horas y la segunda a las 8 horas, debido a la solubilización del fármaco sin absorber. En niños la concentración máxima se alcanza de 2 a 4 horas post dosis. Cuando la ciclosporina se administra como Sandimmun, forma una emulsión en los fluidos gastrointestinales, y está distribuida en gotas lipídicas, las cuales son dispersadas por la bilis y pancreatina para formar micelas para su subsecuente absorción. Ello da lugar a que la biodisponibilidad sea altamente variable (de 20 a 50%).

Con el objetivo de optimizar la absorción de la ciclosporina se desarrolló una nueva formulación oral (Sandimmun Neoral) la cual incorpora el fármaco en una

microemulsión preconcentrada, que forma inmediatamente una microemulsión en el contenido acuoso del tracto gastrointestinal haciendo una dispersión homogénea, altamente lipofílica y más disponible para su absorción.

En comparación con la formulación tradicional, este producto presenta una variabilidad inter e intraindividual más reducida, asimismo produce un perfil concentración- tiempo más consistente y predecible. En esta formulación el efecto de los alimentos y posible influencia del ritmo circadiano es insignificante.³¹

En niños, la edad, el tipo de trasplante y la formulación alteran la absorción y biodisponibilidad del fármaco. En esta población se reporta que después de la administración de la formulación tradicional la biodisponibilidad es de 31 a 41%, alcanzándose la concentración máxima entre las 2 a 4 horas post-dosis. Mientras que la administración de la microemulsión, ha mostrado tener un significativo incremento en la concentración máxima (34.5%) y en el área bajo la curva (43.8%)

Dado que las dos formulaciones no son bioequivalentes, no es posible utilizarlas de manera indistinta.³¹

2.2.4.2 Distribución

La distribución de ciclosporina es multicompartmental. Por su alta lipofilicidad se distribuye ampliamente en los tejidos corporales concentrándose en órganos, tales como hígado, páncreas, pulmón y riñón. En sangre 58% de ciclosporina se une a glóbulos rojos, 4% a granulocitos, 5% a linfocitos y 33% en plasma, en el cual 98%

está unido a proteínas 85-90% a lipoproteínas y del 5 a 15% a otras proteínas. De las lipoproteínas de 43 a 57% se une a las de alta densidad, 25% a las de baja densidad y 2% a las de muy baja densidad. Asimismo la distribución en sangre es altamente dependiente de la temperatura.²⁷

En varios estudios de receptores de trasplante renal el volumen de distribución fue de 2.9 a 4.7 L/Kg. En niños con trasplante renal se reporta una correlación inversa entre el volumen de distribución en el estado estacionario y valores de lipoproteínas de alta densidad y la edad.^{32, 33}

La ciclosporina atraviesa la placenta y se han detectado concentraciones en líquido amniótico y sangre fetal, así como en leche materna.²³

2.2.4.3 Metabolismo

El fármaco se metaboliza extensamente vía citocromo P450, específicamente por CYP3A en hígado y en grado menor en intestino y riñones. En bilis, heces, sangre y orina de seres humanos se han identificado un mínimo de 25 metabolitos. Todos los metabolitos presentan escasa actividad biológica y menos efectos tóxicos que el fármaco original.²⁷ El polimorfismo de las enzimas del citocromo es un factor importante en la variabilidad interindividual en el metabolismo de la ciclosporina.^{34,35}

El jugo de toronja contiene altas concentraciones de flavonoides los cuales han demostrado inhibir la actividad del CYP3A. Después de la administración oral de

ciclosporina con jugo de toronja el área bajo la curva y la concentración máxima se incrementan significativamente un tanto después de la administración de la formulación convencional como de la microemulsión.^{36, 37}

Para fármacos inmunosupresores como ciclosporina el impacto de la variabilidad genética está actualmente enfocado al estudio de su asociación con la glicoproteína-P y al sistema enzimático del citocromo P450.³⁸

2.2.4.4 Eliminación

En humanos la principal vía de eliminación es la vía biliar,²⁷ por lo que presenta recirculación enterohepática. La excreción urinaria es baja (6%). También se excreta en leche materna.

La ciclosporina es un fármaco cuya depuración va de baja a intermedia y varía con la edad, tipo de aloinjerto y daño. En adultos con trasplante renal el valor de depuración va de 0.6 a 23.9 mL/min/kg, el cual corresponde a un tiempo de vida media entre 4.3 a 53.4 horas. En niños la depuración es más alta que en adultos, siendo el valor de 0.6 a 0.96L/h/kg.^{32, 33}

2.2.5 Interacciones con otros fármacos^{39,40}

Los fármacos que interactúan con la ciclosporina se dividen en dos categorías. - Agentes con efecto nefrotóxico intrínseco, por lo que administrados junto con la ciclosporina incrementarán la incidencia de daño renal, como son, antibióticos aminoglucósidos,(vancomicina, trimetoprim-sulfametoxazol, anfotericina B),

fármacos antiinflamatorios (diclofenaco, naproxeno) y otros como melfalan, ketoconazol, cimetidina, ranitidina y tacrolimus.

- Aquellos que inhiben o inducen el metabolismo de ciclosporina. Los fármacos que inhiben el citocromo P450 pueden disminuir el metabolismo de la ciclosporina e incrementar sus concentraciones en sangre, como: Verapamilo, nicardipina, fluconazol, eritromicina, metilprednisolona, alopurinol y metoclopramida, diltiazem, itraconazol, danazol, bromocriptina, así como jugo de toronja.

Los fármacos inductores de la actividad de CYP3A aumentan el metabolismo de la ciclosporina y con ello disminuyen sus concentraciones en sangre. Entre ellos se encuentran: nafcilina, rifampicina, fenobarbital y difenilhidantoína, carbamazepina.

2.2.6 Toxicidad

Entre los efectos adversos típicos de la ciclosporina se encuentran la hipertensión, nefrotoxicidad, hiperlipidemia, temblor, hirsutismo e hiperplasia gingival, siendo la hipertensión la más común. La nefrotoxicidad puede ser a) aguda, la cual es concentración o dosis dependiente y reversible con disminución de la dosis y b) crónica la cual presenta daño renal, incluyendo fibrosis túbulo-intersticial, vacuolización tubular no específica y cambios estructurales en las arterias .³⁹

2.2.7 Rango terapéutico

El rango terapéutico de la ciclosporina, depende de la complejidad del estado clínico, de las diferencias individuales en sensibilidad a los efectos inmunosupresores y nefrotóxicos del fármaco, a la coadministración de otros inmunosupresores, al tipo y tiempo de trasplante, así como al tipo de método

analítico utilizado.^{39, 41, 42, 43, 44, 45} En la tabla 1 se presentan las variaciones de las concentraciones terapéuticas de ciclosporina monitoreadas por los diferentes métodos analíticos y en los diferentes fluidos biológicos.

Tabla 1. Niveles terapéuticos de ciclosporina de acuerdo al método analítico utilizado

Método analítico	Fluido biológico	Concentración terapéutica (ng/mL)
HPLC Inmunoensayo de polarización de fluorescencia (monoclonal) Radioinmunoensayo monoclonal	Sangre	100-400
HPLC Inmunoensayo de polarización de fluorescencia (monoclonal) Radioinmunoensayo monoclonal	Plasma	80-150
Inmunoensayo de polarización de fluorescencia (policlonal) Radioinmunoensayo policlonal	Sangre	200-800
Inmunoensayo de polarización de fluorescencia (policlonal) Radioinmunoensayo policlonal	Plasma	100-400

2.2.8 Formas farmacéuticas

Las formas farmacéuticas disponibles en el mercado mexicano son:

Cápsula de gelatina blanda con ciclosporina en microemulsión conteniendo 10, 25, 50 y 100 mg .

Emulsión oral: Ciclosporina en microemulsión conteniendo 100 mg/mL.

2.2.9 Dosificación

La dosis oral recomendada en pacientes con trasplante está en un rango de 10 a 15 mg/kg dividida en dos tomas. El tratamiento inicia de 12 a 24 horas antes de la intervención. Esta dosis se mantiene por una o dos semanas después de la cirugía reduciéndola progresivamente hasta llegar a una dosis de mantenimiento de 2 a 6 mg/kg/día en dos dosis divididas.

Para reducir la dosis inicial de 3 ó 6 mg/kg/día, debe tomarse en cuenta la administración de otros agentes inmunosupresores empleados.²⁶

2.2.10 Monitoreo terapéutico de ciclosporina

La ciclosporina, es el inmunosupresor más utilizado para prevenir el rechazo del trasplante de órganos sólidos y médula. Dado que su farmacocinética, presenta una gran variabilidad intra e interindividual, debido a factores como: alimentación, formulación, daño hepático, medicación concomitante, niveles de glicoproteína-P, tiempo después del trasplante, edad, hematocrito, estado gastrointestinal, factores genéticos y a su estrecho margen terapéutico, se establece la necesidad de que el monitoreo terapéutico de este fármaco se lleve a cabo de forma

rutinaria, ya que las concentraciones inadecuadas llevan al rechazo del órgano o a una sobreinmunosupresión.

Por lo anteriormente mencionado, el objetivo del monitoreo terapéutico de ciclosporina, es optimizar la terapia en pacientes con trasplante hepático y renal , y de esta manera la seguridad y eficacia.

A continuación se presentan las guías y recomendaciones propuestas para el manejo e interpretación correcta de los niveles de ciclosporina^{46, 47,48}:

- 1.- La matriz biológica usada para cuantificar concentraciones debe ser sangre total.
- 2.- Como anticoagulante, en las muestras colectadas, se debe usar EDTA.
- 3.- El método analítico debe ser específico para el fármaco a analizar.
- 4.- Validar y mantener la calidad del método de análisis de ciclosporina y participar en programas de aseguramiento de calidad internos y externos.
- 5.- El horario de muestreo debe estar estandarizado.
- 6.- Informar en la solicitud de análisis la dosis y hora de administración de la última dosis.
- 7.- En el periodo inmediato al trasplante la frecuencia de monitoreo deberá ser cada 24 a 48 horas en el periodo posterior al trasplante.
- 8.- Reportar los resultados el mismo día, durante el período inmediato al trasplante.
- 9.- La concentración de ciclosporina deberá ser interpretada en conjunto con otros datos de laboratorio, consideraciones clínicas y terapia inmunosupresora concomitante.

10.- En la mayoría de situaciones clínicas, no se requiere cuantificar los metabolitos de ciclosporina.

2.2.10.1 Consideraciones para el monitoreo de este fármaco en niños

Las guías de monitoreo en pacientes pediátricos con trasplante se basan en la experiencia obtenida en adultos y para la interpretación de la farmacocinética inmunosupresora en niños se recomienda tomar en consideración lo siguiente.⁴⁹

- El amplio rango de edades de pacientes pediátricos trasplantados.
- Las diferencias en el esquema de muestreo y rangos objetivos propuestos.
- El criterio de estandarización para administración de dosis (mg/kg ó mg/m²).
- El volumen limitado de muestra.
- Diferencias farmacocinéticas intrínsecas entre fármacos inmunosupresores

Parte clínica:

- La heterogeneidad de los pacientes.
- Las variaciones en dosis, forma farmacéutica y forma de administración.
- Las diferentes guías de monitoreo.
- Los diferentes criterios para valorar rechazo y toxicidad.
- El uso concomitante de otros fármacos inmunosupresores.
- El tiempo de post-trasplante y mejoría en la función del órgano trasplantado
- La potencial interacción de fármacos y no cumplimiento.
- Los cambios en el crecimiento y peso corporal después del trasplante.

3. PARTE EXPERIMENTAL

3.1 Método analítico para cuantificar ciclosporina en sangre total

3.1.1 Descripción del método analítico

El método analítico utilizado para la cuantificación de ciclosporina en sangre total fue un método de **Inmunoensayo de Polarización de Fluorescencia (FPIA)**, que es un inmunoensayo basado en los principios de reacción antígeno-anticuerpo y de unión tipo competitivo. Los anticuerpos están marcados con fluoresceína, molécula que emite fluorescencia al ser expuesta a la luz.

El trazador, que es el fármaco marcado con fluoresceína y el fármaco presente en la muestra o analito, se incuban con el anticuerpo específico y, posteriormente son excitados con la luz polarizada. Cuando la muestra contiene el fármaco a analizar, este compite con el trazador en su unión con el anticuerpo, por lo tanto, existe una relación inversa entre la concentración del fármaco en la muestra del paciente y la cantidad de trazador unido al anticuerpo.

En el inmunoensayo de polarización de fluorescencia, la detección de trazador libre/ligado al anticuerpo está basada en las características cinéticas de las moléculas en solución, de tal forma que las moléculas de gran tamaño giran más lentamente que las pequeñas. El sistema emisor emite una luz azul a 485 nm, verticalmente polarizada, que estimula al fluoróforo, que a su vez, emite una luz fluorescente a diferente longitud de onda que la original (525 - 550 nm). El sistema óptico de polarización de fluorescencia sólo es capaz de medir la luz que retorna con una polarización vertical a esta longitud de onda. Las moléculas de trazador unidas al anticuerpo rotan lentamente emitiendo una fluorescencia polarizada verticalmente. Por el contrario, el trazador libre, al girar rápidamente emite la

fluorescencia con una orientación diferente que no puede ser leída por el sistema óptico.

Al ser un inmunoensayo competitivo, existe una relación inversa entre la cantidad de analito en la muestra y la intensidad de luz recibida por el receptor óptico del instrumento, es decir, las altas lecturas de fluorescencia, corresponden a bajas concentraciones de analito en la muestra. Por el contrario, bajas lecturas de fluorescencia corresponden a altas concentraciones de fármaco en la muestra a analizar. Esta relación inversa permite al inmunoensayo de polarización de fluorescencia obtener resultados muy precisos a bajas concentraciones de fármacos, hecho fundamental en la cuantificación de fármacos en muestras biológicas.

3.1.2 Equipo

Analizador AxSYM (ABBOTT Laboratories) con la tecnología de inmunoensayo de polarización de fluorescencia.

3.1.3 Reactivos

La cuantificación de ciclosporina en sangre total se llevó a cabo utilizando Kits de reactivos marca Abbott que incluían lo siguiente:

1) Envase de reactivos:

S Solución de anticuerpo (de ratón monoclonal)

T Solución trazador de ciclosporina monoclonal

P Solución de pretratamiento

Conservador: Azida sódica

2) Envase de accesorios

Reactivo de precipitación para sangre total / solución de lavado de la sonda

Reactivo de solubilización (5 mL)

Conservador: azida sódica

3.1.4 Calibradores

Los calibradores del sistema AxSYM consistieron de:

1 frasco conteniendo calibrador monoclonal de ciclosporina A, conteniendo sangre humana no reactiva para HBsAg, anti-HCV y anti HIVi/HIV2.

5 frascos conteniendo cantidades exactamente medidas de ciclosporina preparadas en sangre total para dar las siguientes concentraciones: 0, 40, 100, 200, 400 y 800 ng/mL.

3.1.5 Muestras control

Con el fin de evaluar objetivamente la exactitud y la precisión del método analítico, se utilizaron sueros control a concentraciones de 70, 300 y 600 ng/mL (nivel 1, nivel 2 y nivel 3 respectivamente)

3.1.6 Curva de Calibración

Se preparó una curva de calibración utilizando los reactivos AxSYM en el rango de 0 a 800 ng/mL. El software del equipo determinó la mejor ecuación de la curva de ajuste para generar la curva de calibración.

Esta curva de calibración se almacenó en la memoria y las concentraciones de fármaco en las muestras problema se calcularon a partir de esta curva, utilizando los valores de polarización obtenidos.

3.1.7 Método a seguir

El ensayo se realizó de acuerdo a las instrucciones del equipo AxSYM.

El procedimiento fue el siguiente:

- a) En tubos de centrifuga debidamente etiquetados, se colocaron 50 microlitros de sangre.
- b) Con un dispensador de precisión se adicionaron 50 microlitros del reactivo de solubilización, situando la punta del dispensador en la pared del tubo.
- c) Se añadieron 300 microlitros del reactivo de precipitación y se taparon inmediatamente.
- d) Una vez adicionados los reactivos, los tubos se agitaron en un agitador vortex durante 10 segundos y se examinaron para asegurar que se habían mezclado homogéneamente.
- e) Se centrifugaron a 9500 g durante 6 minutos para obtener un sobrenadante claro y un sedimento duro y compacto de proteína.
- f) El sobrenadante se decantó en una copa de AxSYM
- g) Las copas conteniendo las muestras, se colocaron inmediatamente en el equipo y se solicitó inicializar el análisis.

3.2 Estudio de monitoreo terapéutico de ciclosporina en niños con trasplante renal

En el estudio participaron 19 niños con trasplante renal, de los cuales 9 eran niñas y 10 niños, con edades de 3 a 16 años y peso de 11 a 46 kg, asignados al área de Nefrología del Hospital Infantil de México Federico Gómez recién trasplantados. Todos ellos recibían ciclosporina como parte de la terapia inmunosupresora después del trasplante.

La dosis administrada osciló en el rango de 4.4 a 16.36 mg/kg/día diferente a lo reportado en la bibliografía. En 18 de los pacientes, el fármaco se administró 2 veces al día, a las 8:00 am y 8:00 pm y en otro 3 veces al día a las 8:00, 4:00pm y 24:00 h.

Por los objetivos del presente estudio se decidió incluir a todos los pacientes.

Se tomaron muestras sanguíneas a partir del período de trasplante de acuerdo a lo indicado por el médico tratante. Para ello, se tomó una muestra de sangre venosa por la mañana y se cuantificó la ciclosporina utilizando el método analítico por FPIA previamente descrito.

El seguimiento de los niveles se llevó a cabo durante el período en el que fue administrado el medicamento.

Con el fin de verificar el cumplimiento de las recomendaciones para el monitoreo de la ciclosporina, se revisó la siguiente información tanto del laboratorio como de cada paciente:.

- El tiempo al que se tomó la primera muestra sanguínea después del trasplante.
- El horario de la toma de muestras.
- La dosis.
- El horario de la última dosis.

4. RESULTADOS

4.1 Método analítico para cuantificación de ciclosporina en sangre total

Dado que el método de inmunoensayo de polarización de fluorescencia es un método de rutina, éste ya fue validado por el proveedor (ABBOTT Laboratories) y presenta las siguientes características:

4.1.1 Especificidad: El método no presenta reactividad cruzada con los metabolitos de ciclosporina como son: AM1, AM1c, AM4N, AM9 y AM19, compuestos que pudieran producir interferencia en el ensayo.

Así mismo se ha demostrado que otros fármacos como N-acetil-procainamida, amikacina, anfotericina B, ampicilina, apresolina, azatioprina, carbamazepina, cefalosporina, cloranfenicol, cimetidina, digoxina, digitoxina, diisopiramida, eritromicina, etosuccimida, espectinomicina, fenobarbital, fenitoína, furosemida, sulfato de gentamicina, kanamicina A, ketoconazol, lidocaína, metilprednisolona, metotrexato, ácido micofenólico, penicilina V, prazosina, prednisona, prednisolona, primidona, procainamida, propranolol, rifampicina, sirrolimus, sulfato de neomicina sulfato de quinidina, tacrolimus, tobramicina, tocinida, triamtereno, verapamilo, no interfieren en el análisis de ciclosporina.

4.1.2 Sensibilidad: La sensibilidad analítica, reportada como la menor concentración cuantificable que puede distinguirse de cero con un nivel de confianza del 95% es 9.8 ng/mL.

4.1.3 Exactitud en el recobro

La recuperación, en el rango de concentración de 70 y 600 ng/mL osciló entre 90 y 100%

4.1.4 Control de calidad

Durante la cuantificación de las muestras de los pacientes pediátricos se evaluaron una serie de controles: alto (H), medio (M) y bajo (L).

4.2 Estudio farmacocinético: Monitoreo terapéutico de ciclosporina en pacientes pediátricos con trasplante renal

En la tabla 2 se presentan los datos demográficos de los 19 pacientes que participaron en el estudio, en la que se puede observar que la edad osciló entre 3 y 16 años, con promedio de 11 años. El peso promedio fue de 29.49 kilos (11 - 46.0). En relación al género, 9 (47.37%) eran niñas y 10 (52.63%) niños.

Tabla 2. Datos demográficos de los niños que participaron en el estudio.

PACIENTE	GÉNERO	EDAD (años)	PESO (Kg)
1	Masculino	14	46
2	Masculino	16	37.6
3	Femenino	16	41.5
4	Masculino	11	26.4
5	Femenino	3	11
6	Femenino	9	23.5
7	Femenino	10	22
8	Masculino	7	30.1
9	Femenino	9	25.5
10	Femenino	15	29.5
11	Masculino	12	31
12	Masculino	9	15.2
13	Femenino	13	43.4
14	Masculino	12	32.2
15	Masculino	13	37.5
16	Femenino	11	33.7
17	Femenino	11	26.5
18	Masculino	9	22.5
19	Masculino	10	25.2
PROMEDIO		11.5	29.49
D.S.		3.19	9.15

La figura 1 muestra las dosis administradas a los pacientes pediátricos durante el tiempo del estudio y en la tabla 3 se presentan las dosis mínimas, máximas y promedio en diferentes etapas postrasplante. En la figura 2 se muestran las concentraciones de ciclosporina en sangre total durante el tiempo del estudio, mientras que en la tabla 4 se presentan las concentraciones mínima, máxima y promedio en diferentes períodos postrasplante. En figura 3 se presenta la relación entre los niveles de ciclosporina y la dosis administrada a los niños con trasplante renal.

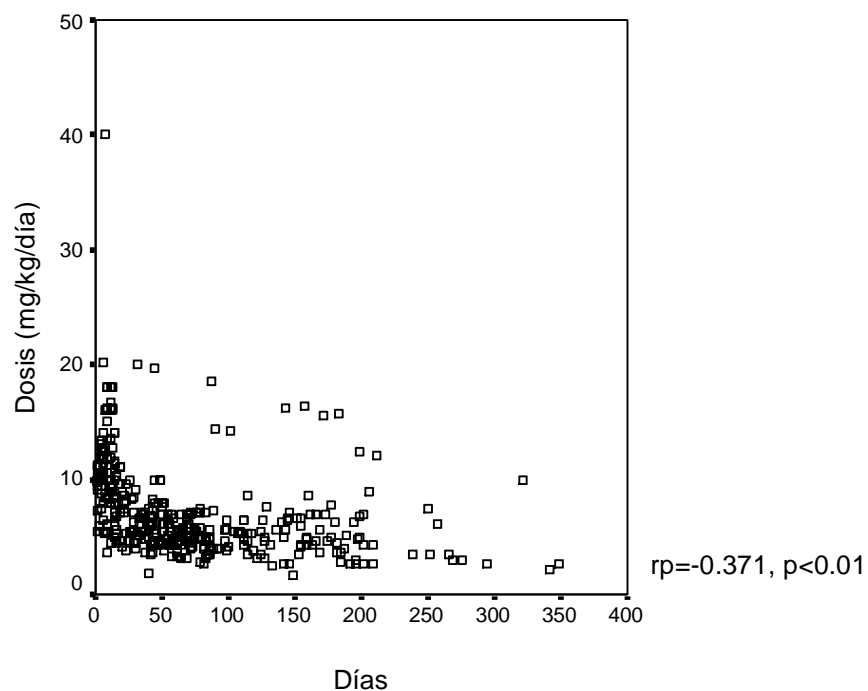


Figura 1. Dosis administradas durante el período de tiempo del estudio en los pacientes bajo tratamiento con ciclosporina.

Tabla 3. Dosis de ciclosporina administradas en diferentes etapas del tratamiento.

Tiempo (meses)	Dosis (mg/kg/día)		Dosis (mg/kg/día)
	mínima	máxima	Promedio \pm DS
1	3.63	40.00	9.88 \pm 4.59
1-3	1.75	40.00	7.77 \pm 4.17
3-6	1.60	16.34	5.85 \pm 2.94
> 6	2.18	15.67	5.22 \pm 3.28

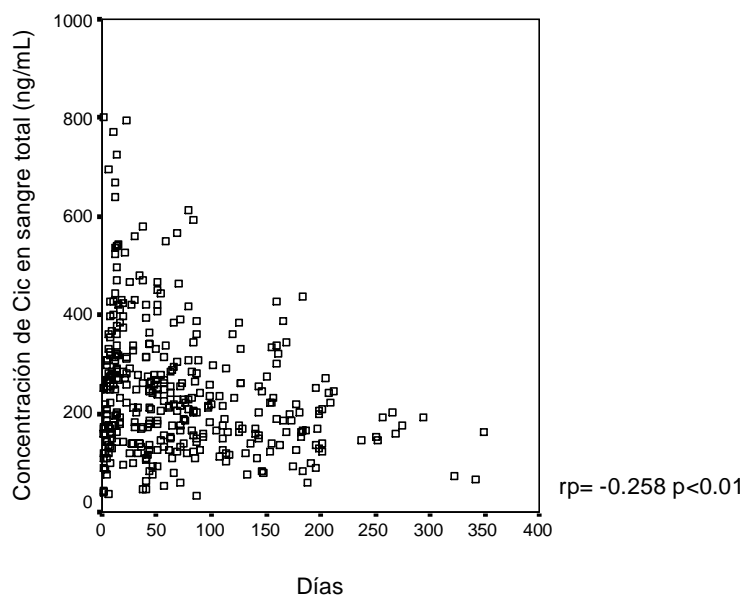


Figura 2. Niveles de ciclosporina durante el periodo de tratamiento de los pacientes que participaron en el estudio

Tabla 4. Concentraciones de ciclosporina en diferentes etapas del tratamiento

Tiempo (meses)	Concentración mínima	Concentración máxima	Concentración Promedio \pm DS
1	33.40	800	268.06 \pm 163.89
1-3	33.40	800	245.50 \pm 146.11
3-6	0.0	427.50	186.10 \pm 85.66
> 6	61.0	438.30	163.60 \pm 72.30

Tabla 5. Dosis administradas a niños que presentaron rechazo y sin rechazo en diferentes etapas postrasplantes.

	1 MES		3 MESES		3-6 MESES		> 6 MESES	
	SIN (mg/kg/día)	CON	SIN	CON	SIN	CON	SIN	CON
	RECH	RECH	RECH	RECH	RECH	RECH	RECH	RECH
PROMEDIO	10.74	8.89	8.57	6.91	6.55	5.51	5.54	4.74
DS	5.72	5.51	5.02	2.78	3.60	2.14	3.65	
MAX	40.0	16.80	40.0	16.80	16.34	10.47	15.67	
MIN	3.63	4.10	3.63	1.75	2.55	1.60	2.18	

Tabla 6. Concentraciones en niños que presentaron rechazo y sin rechazo en diferentes etapas postrasplante

CONC. (ng/mL)	1 MES		3 MESES		3-6 MESES		> 6 MESES	
	SIN RECH	CON RECH	SIN RECH	CON RECH	SIN RECH	CON RECH	SIN RECH	CON RECH
PROM.	295.11	279.77	271.26	256.72	205.59	134.17	225.44	197.0
DS	179.46	145.23	157.75	132.70	85.44	27.27	73.46	
MAX	796.2	800	796.2	800	427.5	177	438.3	
MIN	36.98	33.4	36.98	33.4	76.1	92.0	61	

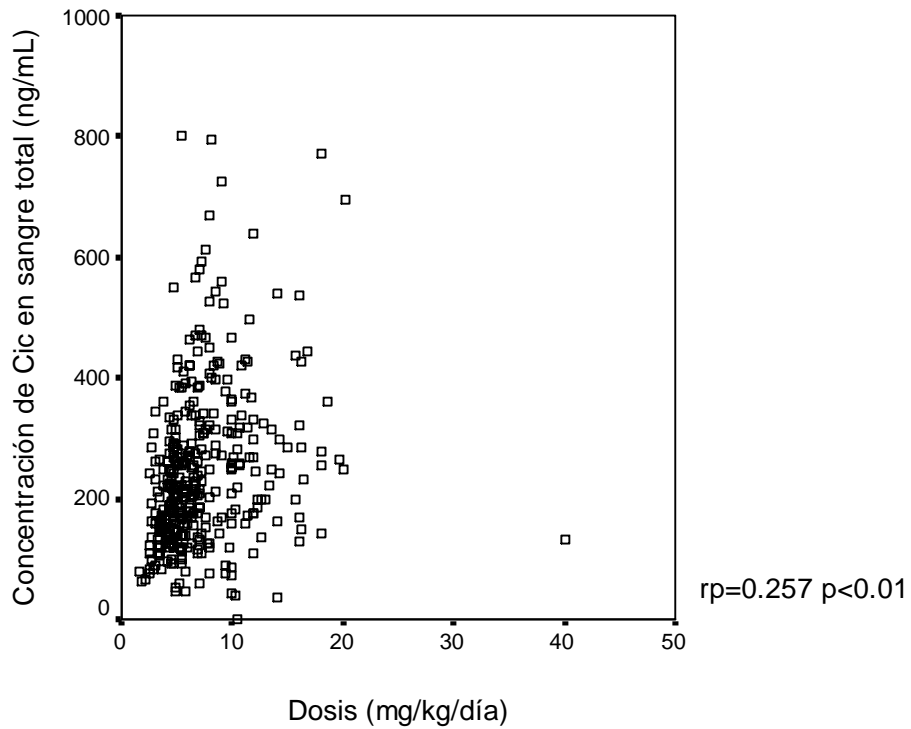


Figura 3. Relación de las concentraciones de ciclosporina y la dosis ajustada por peso.

Las figuras 4 a 22 muestran los valores individuales de dosis de ciclosporina administrada así como la concentración mínima en el estado estacionario (C_{ee}), de los pacientes bajo tratamiento con el inmunosupresor, durante el período de estudio.

PACIENTE 1

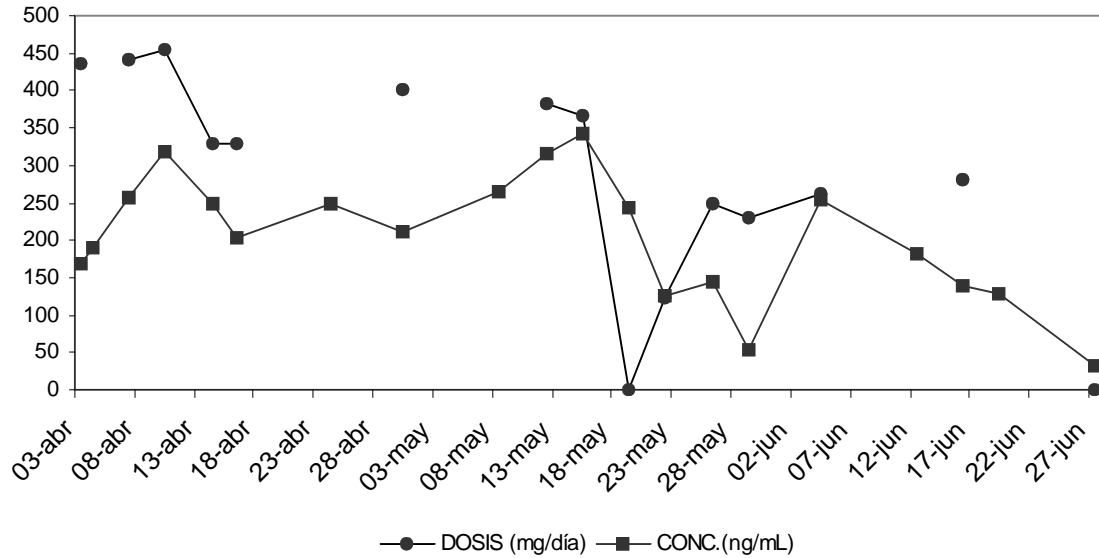


Figura 4. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 1.

PACIENTE 2

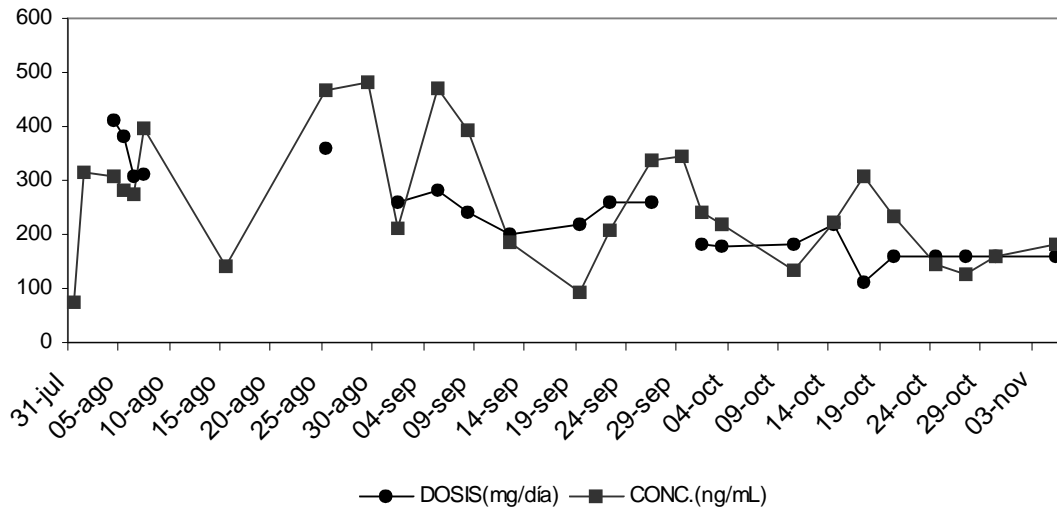


Figura 5. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 2.

PACIENTE 3

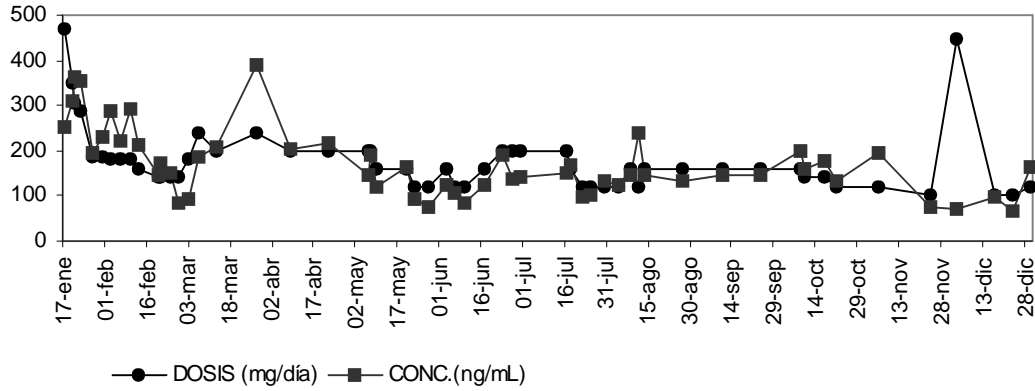


Figura 6. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 3.

PACIENTE 4

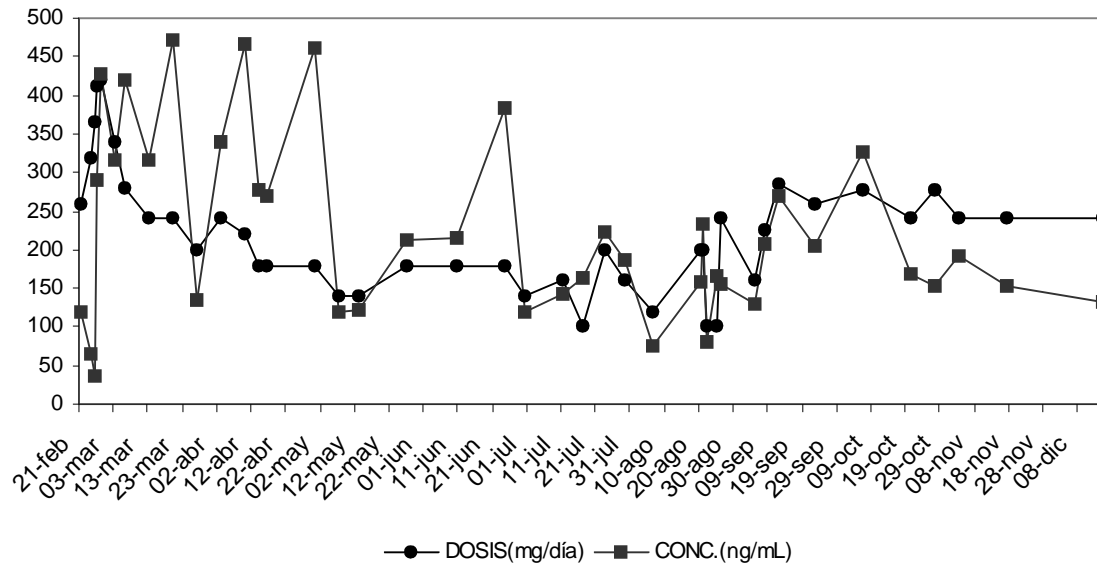


Figura 7. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 4.

PACIENTE 5

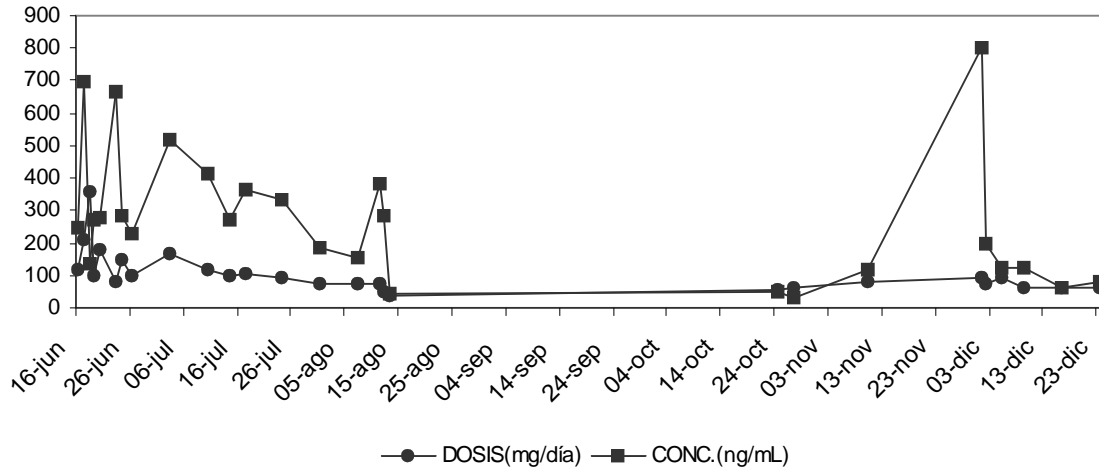


Figura 8. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 5.

PACIENTE 6

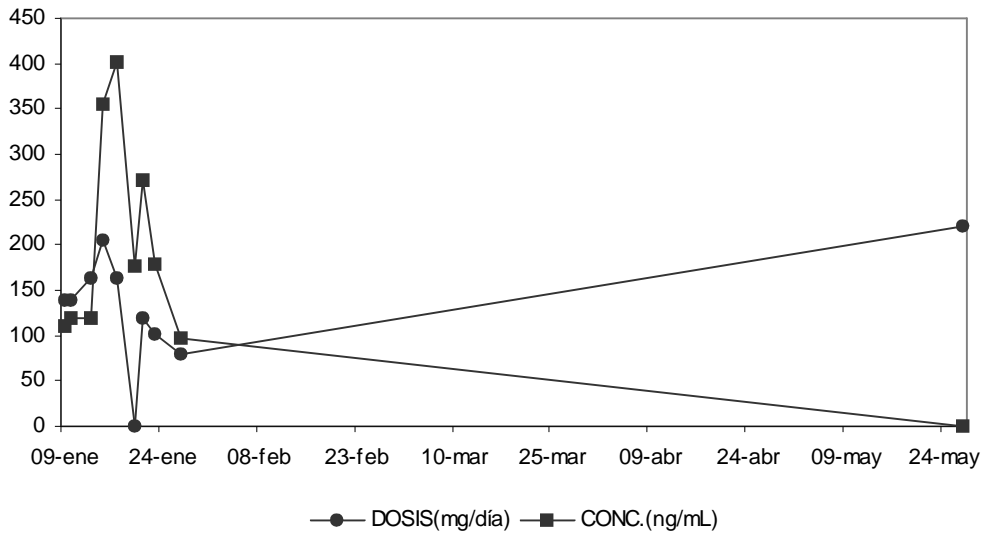


Figura 9. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 6.

PACIENTE 7

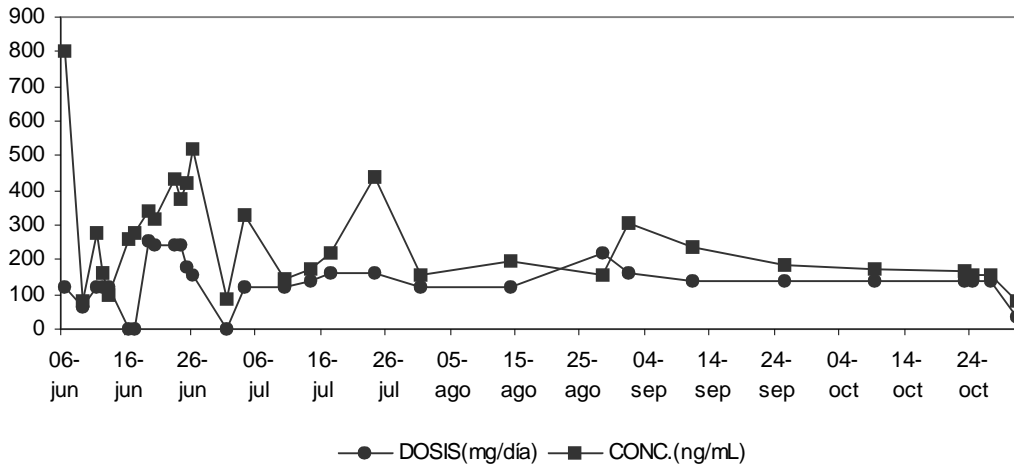


Figura 10. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 7.

PACIENTE 8

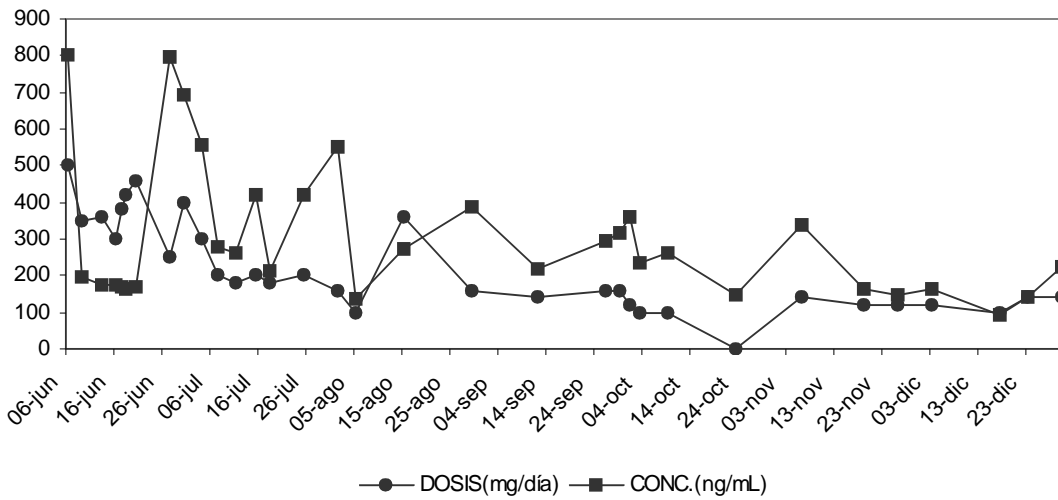


Figura 11. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 8.

PACIENTE 9

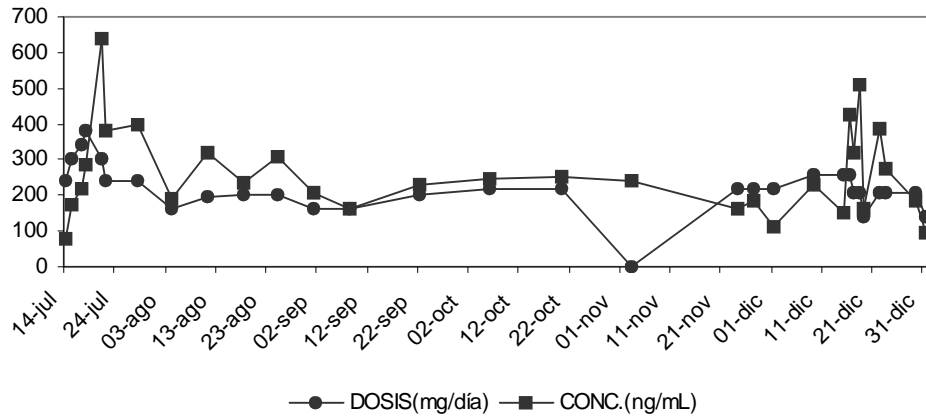


Figura 12. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 9.

PACIENTE 10

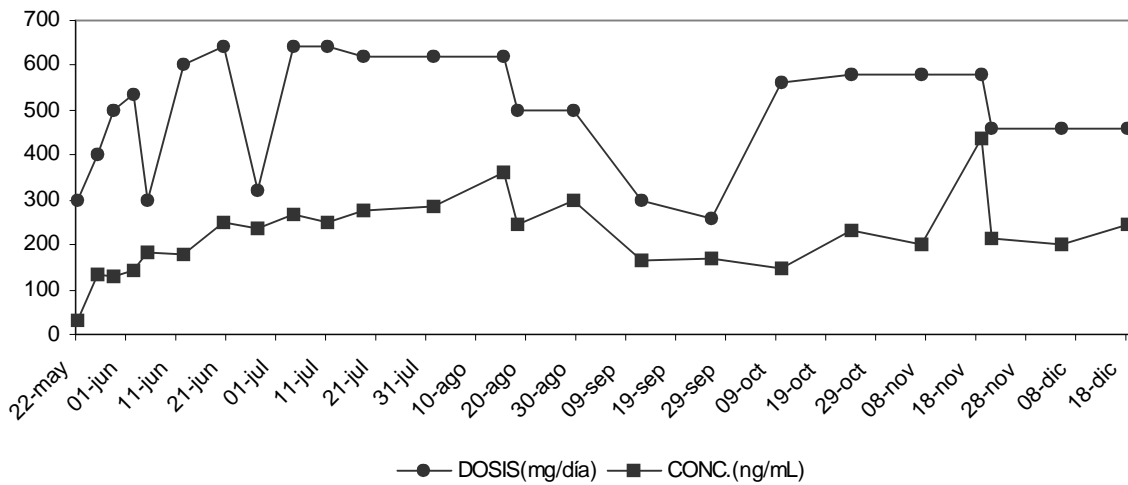


Figura 13. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 10.

PACIENTE 11

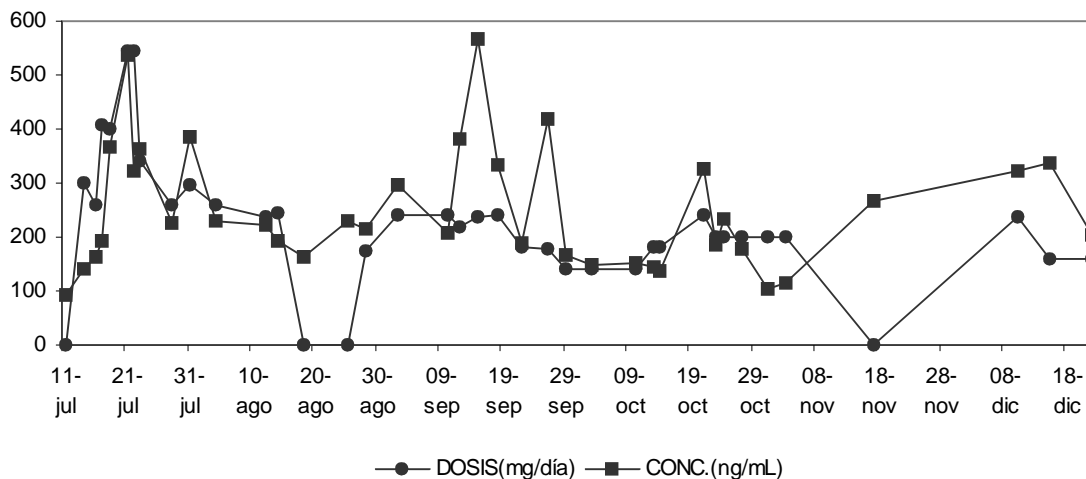


Figura 14. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 11.

PACIENTE 12

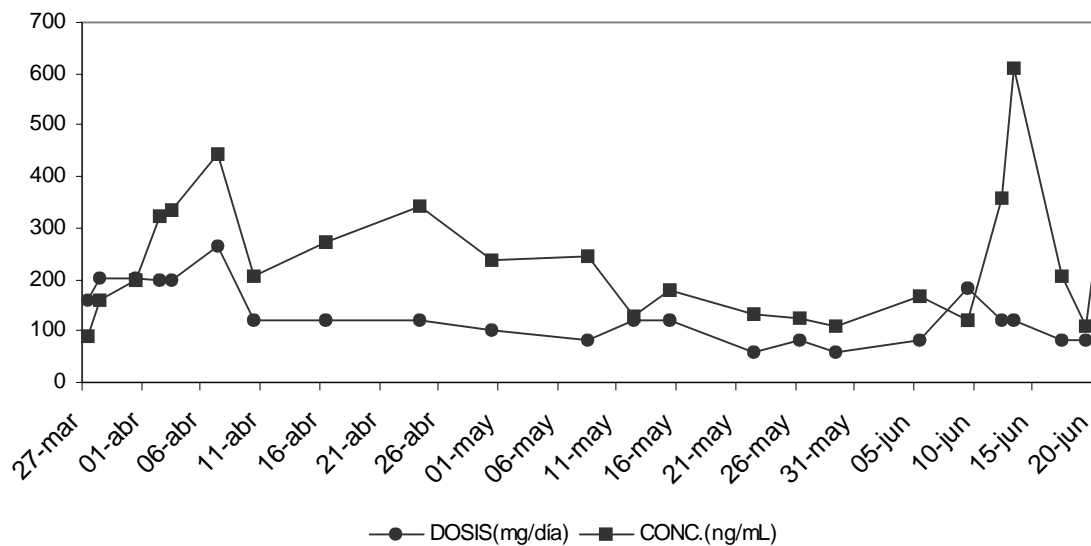


Figura 15. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 12.

PACIENTE 13

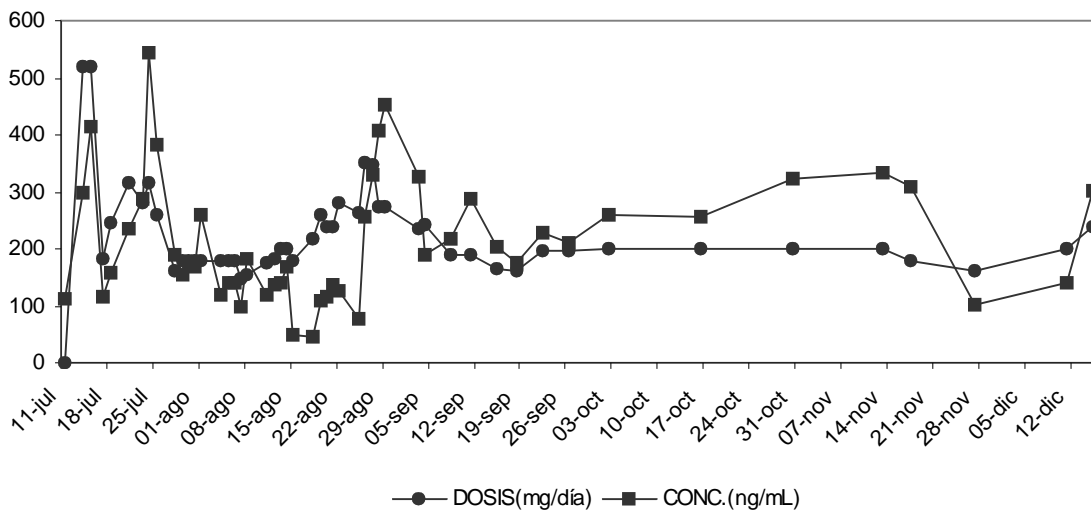


Figura 16. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 13.

PACIENTE 14

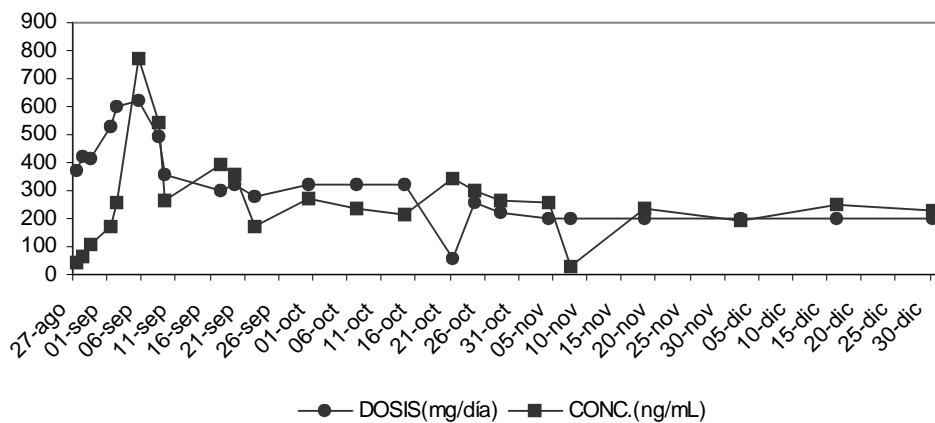


Figura 17. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 14.

PACIENTE 15

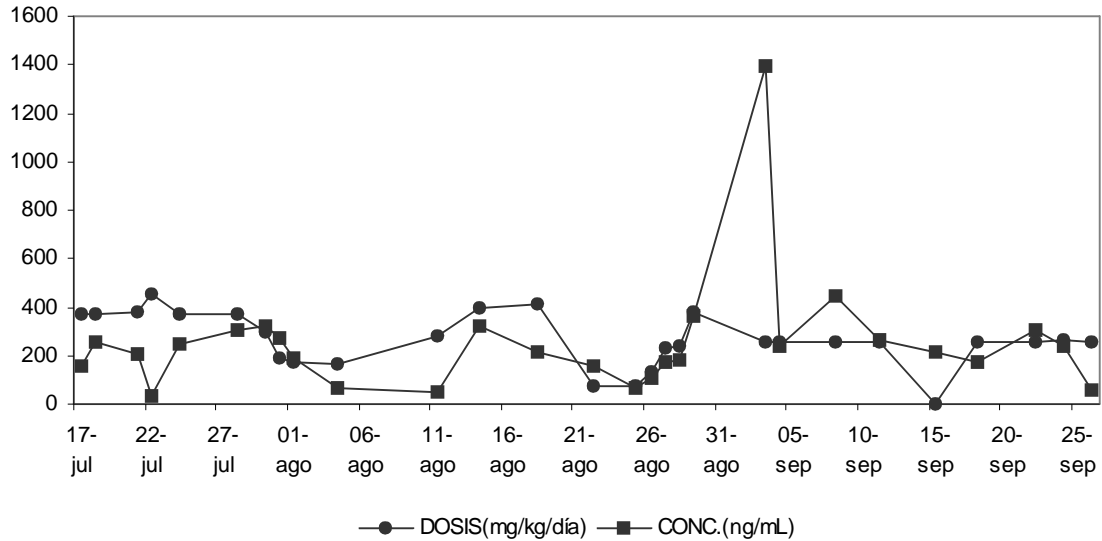


Figura 18. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 15.

PACIENTE 16

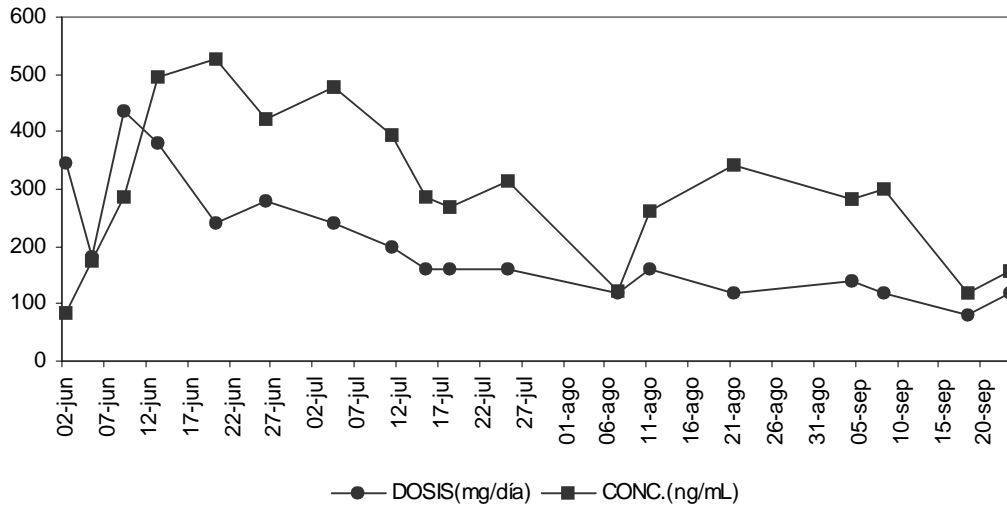


Figura 19. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 16.

PACIENTE 17

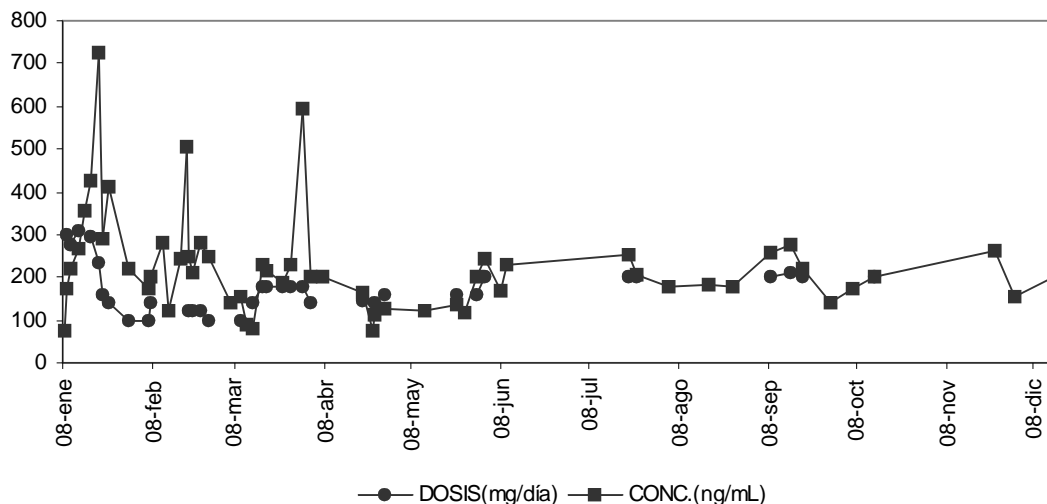


Figura 20. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 17.

PACIENTE 18

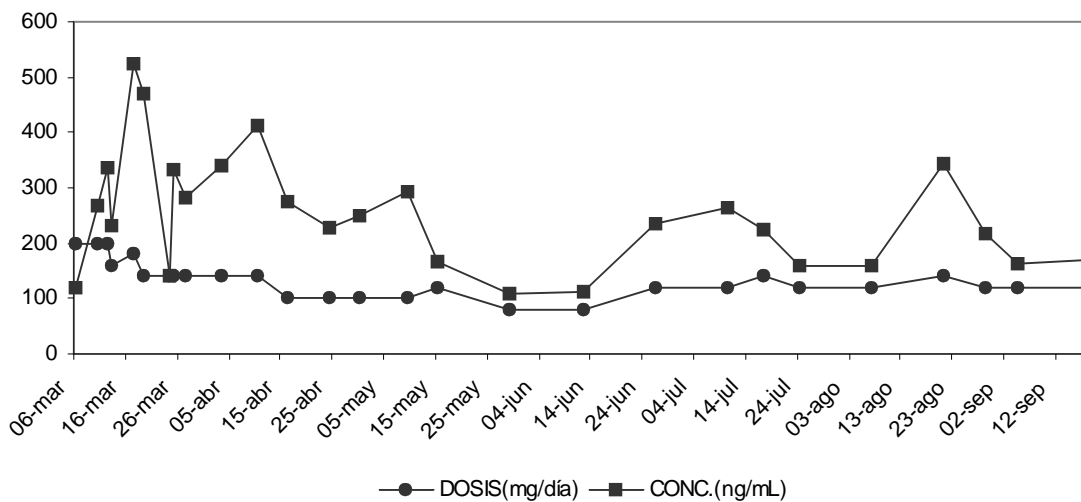


Figura 21. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 18.

PACIENTE 19

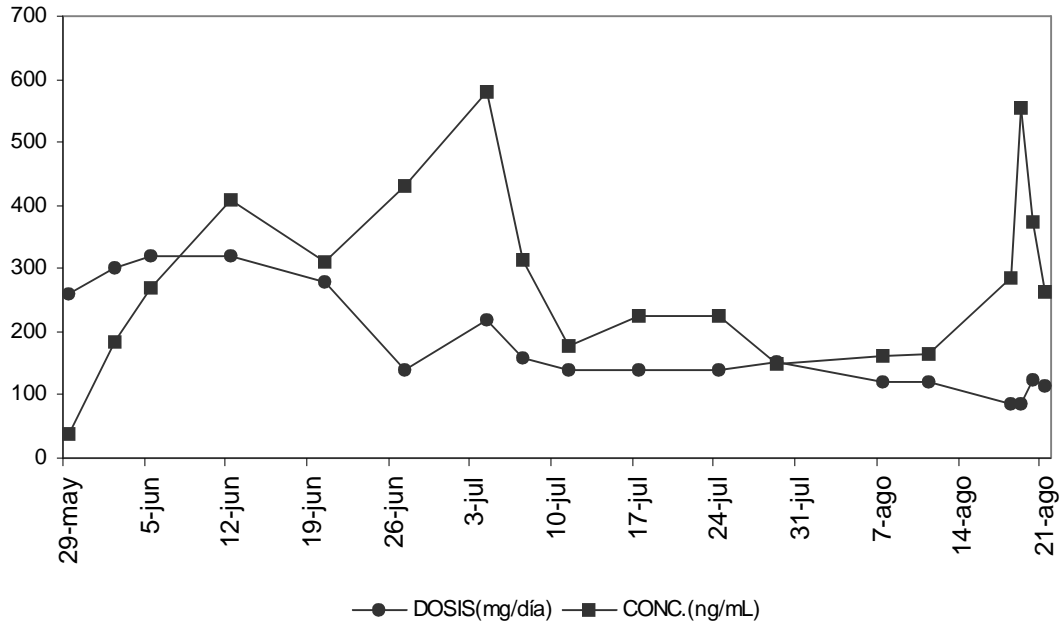


Figura 22. Relación de las concentraciones de ciclosporina en sangre y la dosis, durante el período de estudio. Paciente 19.

4.2.1 Control de calidad en el monitoreo

El laboratorio de farmacología clínica del Hospital Infantil, cuenta con un formato para el análisis de muestras de ciclosporina, en la cual el médico debe anotar los siguientes datos: peso corporal, dosis, hora de la administración de la última dosis, hora de toma de muestra.

En la tabla 7 se presenta el cumplimiento en el registro de los datos, así como el número de mediciones realizadas a cada uno de los pacientes pediátricos durante el tiempo que recibieron la terapia inmunosupresora con ciclosporina.

Tabla 7. Número de mediciones de ciclosporina y cumplimiento en el registro de los datos

PACIENTE	PESO %	DOSIS %	HTM* %	HTMU** %	NÚMERO DE DETERMINACIONES	TIEMPO CON CICLOSPORINA (Días)
1	95	95	100	100	20	86
2	100	100	100	100	27	98
3	100	100	100	100	55	349
4	100	100	95	100	41	299
5	100	100	100	100	27	195
6	90	90	90	90	10	20
7	93	93	97	93	30	148
8	100	97	97	100	33	209
9	97	100	87	97	30	175
10	100	100	100	100	24	212
11	89	92	95	92	38	166
12	100	100	100	100	23	86
13	98	98	100	100	50	159
14	100	100	100	100	23	127
15	96	100	100	96	28	72
16	100	100	100	100	18	116
17	98	100	93	95	56	242
18	100	100	100	100	27	197
19	100	100	100	100	18	85
PROMEDIO	98	98	98	98	30	160
DS	4	3	4	3	13	82

* Hora de toma de muestra

** Hora de toma de medicamento

Total de mediciones de ciclosporina: 578

De acuerdo a las políticas del Hospital, para el monitoreo terapéutico de ciclosporina, las muestras sanguíneas deben tomarse antes de la administración

de la siguiente dosis (cmin ee). Los resultados de cumplimiento en la hora de toma de muestra se presentan en la figura 23.

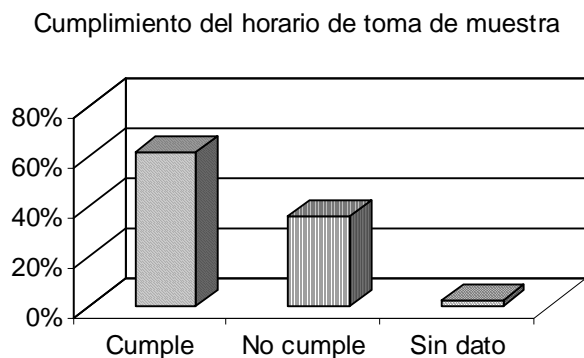


Figura 23. Cumplimiento en el horario de toma de muestra sanguínea de acuerdo a las recomendaciones del hospital. (8:00 am).

En la tabla 8 se indica el tiempo transcurrido para la primera cuantificación de la ciclosporina una vez iniciado el tratamiento.

Tabla 8. Tiempo al que se midieron niveles de ciclosporina después de la administración de la dosis en el inicio del tratamiento después del trasplante.

HORAS	% DE PACIENTES
12	5.26
20	10.53
24	31.58
48	36.84
>48	10.53
Se desconoce el dato	5.26

5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

La ciclosporina A (CyA) continúa siendo uno de los principales fármacos inmunosupresores utilizados en la terapia de trasplante de algún órgano. Por su amplia variabilidad en los procesos farmacocinéticos y su estrecho margen terapéutico, se requiere de monitoreo y el ajuste individualizado de dosis. A la fecha, existe poca información acerca de la práctica del monitoreo de este fármaco en nuestro país, así como de los niveles sanguíneos encontrados en la población infantil.

A continuación se presenta el análisis de los resultados obtenidos en el presente estudio:

5.1 Método analítico para cuantificación de ciclosporina en sangre total

En el Hospital Infantil de México “Federico Gómez” la ciclosporina se cuantifica utilizando el método de inmunoensayo de polarización de fluorescencia (FPIA) el cual, es uno de los más utilizados para el monitoreo de la ciclosporina, ya que ha demostrado ser reproducible y confiable. Dado que este método es rápido, permite que los resultados se reporten de inmediato, lo cual representa una ventaja para el área clínica.

5.2 Monitoreo terapéutico de ciclosporina

Las recomendaciones de uso de este medicamento establecen que, después de iniciado el tratamiento, la dosis debe mantenerse por una o dos semanas después de la cirugía y deberá reducirse progresivamente hasta llegar a una dosis de

mantenimiento. Ello se debe a que conforme transcurre el tiempo de uso, la biodisponibilidad aumenta. Kahan y colaboradores²⁷ reportaron que la biodisponibilidad aumentó de 24.2% a 51.4% de 2 a 4 semanas después del trasplante y permaneció en este nivel durante el primer año. En otro estudio se reporta un incremento en 39% tres meses después del trasplante. Los resultados del presente estudio muestran también que la dosis tiende a disminuir conforme transcurre el tiempo de trasplante (fig 1). Al analizar las diferentes etapas de tratamiento (1, 3, 6 y mayor de 6 meses) se encontró que la dosis promedio administrada fue: 1 mes, 9.88 mg/kg/día, 3 meses, 7.77 mg/kg/día, entre 3 y 6 meses, 5.85 mg/kg/día, mayor a 6 meses 5.22 mg/kg/día, (tabla 3.) Así mismo se encontró que en aquellos pacientes que presentaron rechazo las dosis fueron menores ($p < 0.05$) en los tres primeros 3 meses, en comparación con aquellas administradas a los pacientes que no manifestaron rechazo, lo cual significa que los niveles sanguíneos obtenidos con estas dosis fueron insuficientes para tener un efecto terapéutico.

Al relacionar la concentración de ciclosporina con los días de tratamiento se encontró que las concentraciones promedio en los períodos 1, 3, 6 y mayor de 6 meses, son menores: 1 mes, 287.96 ng/mL, 3 meses, 264.26 ng/mL, de 3 a 6 meses, 201.46 ng/mL, y después de 6 meses, 170.43 ng/mL

De los datos de la figura 3 se puede observar que no existe correlación entre la concentración sanguínea y la dosis administrada. Este comportamiento es

característico de aquellos fármacos que requieren de monitoreo terapéutico y en especial de la ciclosporina.

En el caso del Hospital Infantil, el rango terapéutico establecido para ciclosporina es de 150 a 275 ng/mL. Al analizar los niveles de ciclosporina obtenidos, se encontró que el 41% de los niveles están dentro y 59% están fuera de este rango. Al examinar los niveles obtenidos a los 3 meses, se encontró que, en los niños a los cuales se les tomó la muestra en el horario establecido, los niveles (9 pacientes) se encontraban dentro del rango terapéutico, (1 paciente) en el rango subterapéutico y (2 pacientes) en el rango supraterapéutico. Al revisar los datos de la literatura, se encontró que para niños con trasplante renal, el intervalo terapéutico de ciclosporina es de 150 a 250 ng/mL en los primeros meses y 100 a 150 ng/mL en la etapa de mantenimiento.⁴⁸ Al relacionar los niveles con los intervalos reportados en la literatura internacional, se encontró que la mayoría (91.67%) de los niños tendrían una concentración supraterapéutica, lo cual los expondría a presentar nefrotoxicidad. Dado que en el 47% (9 niños) de los pacientes se sustituyó la ciclosporina por tacrolimus, por manifestaciones de rechazo o toxicidad, es probable que ello esté asociado a los altos niveles encontrados, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en los niveles sanguíneos de aquellos pacientes que presentaron rechazo y aquellos sin rechazo.

5.3 Requisitos para el monitoreo de ciclosporina

Se han establecido guías internacionales para realizar un monitoreo adecuado de la ciclosporina y de esta manera poder interpretar los niveles sanguíneos del fármaco: La matriz biológica usada para cuantificar concentraciones debe ser sangre total; en la cual se debe usar EDTA como anticoagulante; el método analítico debe ser específico, estar validado y mantener la calidad del mismo, así como participar en programas de aseguramiento de calidad internos y externos. Para las muestras sanguíneas el horario de muestreo debe estar estandarizado, informar en la solicitud de análisis la dosis y hora de administración de la última dosis y en el periodo inmediato al trasplante la frecuencia de monitoreo deberá ser cada 24 a 48 horas en el periodo posterior al trasplante, reportar los resultados el mismo día, durante el período inmediato al trasplante y la concentración de ciclosporina deberá ser interpretada en conjunto con otros datos de laboratorio, consideraciones clínicas y terapia inmunosupresora concomitante.^{46,47,48}

Los resultados del presente trabajo muestran que:

Dado que a la mayoría de los pacientes se les tomó la primera muestra sanguínea a las 24 ó 48 horas después de iniciado el tratamiento, se cumple con lo establecido en la normatividad internacional.

En este hospital el horario indicado para la última toma del medicamento es a las 20:00 hrs cuando el medicamento se administra en dos tomas, y a las 24:00 h cuando se da en tres tomas, sin embargo en ambos casos la toma de muestra debería ser antes de administrar la dosis de la mañana (concentración mínima),

por lo que el horario de muestreo debería ser a las 8:00 am. En nuestro estudio se encontró que en el 98% de los casos en los cuales se registró el horario solamente el 59% cumple (tabla 7) y el registro del horario de la última toma de medicamento, se cumple en 98%, cumpliendo 91% lo especificado. La falta de exigencia en el cumplimiento estricto de los parámetros solicitados (hora de toma del medicamento, hora de toma de muestra sanguínea, peso, dosis) para una interpretación correcta de los niveles sanguíneos podría deberse a la escasa comunicación entre el médico, la enfermera y los familiares del paciente y sobre todo la falta de un laboratorio de farmacología clínica o bien el personal especializado en el tema.

Con base en los resultados obtenidos en el presente trabajo y dado que para el ajuste de dosis de este fármaco, además de los niveles sanguíneos se requiere conocer otros parámetros como: función renal y signos clínicos de rechazo del paciente, en el apéndice 1 se presenta una propuesta de formato para el monitoreo de ciclosporina.

Como se había mencionado anteriormente, el objetivo del monitoreo terapéutico es poder individualizar la dosis mediante la aplicación de principios farmacocinéticos basado en la medición de los niveles sanguíneos. En la actualidad el ajuste de dosis de ciclosporina en el Hospital, se hace de forma empírica (acierto-error), sin embargo el ajuste de dosis se puede hacer también utilizando el método farmacocinético. A continuación se describen algunos métodos para llevar a cabo el ajuste de dosis:

I. Método no lineal:

Debido a la gran variabilidad farmacocinética durante los primeros días de postrasplante, se han utilizado modelos no lineales para la individualización posológica de ciclosporina.

Tiempo postrasplante	Modelo	Parámetro	
		Poblacional	Individual
Dosis inicial	$DD = \frac{D_{max} \times C^*}{(1/46) \times K_m \times \text{Peso} + C^*}$	$D_{max} = 623$ mg/día $K_m = 4.03$ ng/mL/kg	
3 días	$DD = \frac{D_{max} \times C^*}{(3/46) \times K_m \times \text{Peso} + C^*}$	$D_{max} = 623$ mg/día	$K_m = \frac{46}{3 \times \text{Peso}} \left(\frac{D_{max} \times C - C}{DD} \right)$
7 días	$DD = \frac{D_{max} \times C^*}{(3/46) \times K_m \times \text{Peso} + C^*}$		$D_{max} = \frac{DD}{C} \left(\frac{7}{46} K_m \times \text{Peso} + C \right)$

C= concentración sanguínea mínima en estado estacionario (medida en sangre completa por una inmunofluorescencia polarizada indirecta); C*=concentración sanguínea mínima en estado estacionario deseada; DD=dosis diaria, D_{max} =dosis máxima diaria, K_m = constante de Michaelis-Menten transcurridos T días y expresada en ng/mL/kg.

Tras 46 días, la DD se puede individualizar de forma lineal, (es decir, proporcional a la diferencia entre C^* y C), siempre y cuando no se sobrepase la D_{max} .⁵⁰

II. Método lineal:

Considerando que las concentraciones en el estado estacionario son proporcionales a la dosis, se puede utilizar la siguiente ecuación:

$$\frac{D \text{ nueva}}{C_{ee} \text{ deseada}} = \frac{D \text{ administrada}}{C_{ee} \text{ encontrada}}$$

Por lo que:

$$D \text{ nueva} = \frac{D \text{ administrada} * C_{ee} \text{ deseada}}{C_{ee} \text{ encontrada}}$$

en donde D es la dosis, C_{ee} es la concentración en el estado estacionario, D administrada se refiere a la dosis que el paciente recibe actualmente y nueva denota la dosis necesaria para producir la concentración deseada en el estado estacionario.

Las ventajas que presenta este método es que es rápido y simple. La desventaja es que se requieren concentraciones en el estado estacionario. ³⁹

III. Método de parámetros farmacocinéticos:

Para este método se requiere el conocimiento de los parámetros farmacocinéticos del paciente y se requiere que los niveles hayan alcanzado el estado estacionario.

La depuración de la ciclosporina puede determinarse con la concentración de ciclosporina en el estado estacionario empleando: $Cl = [F(D/\tau)]/C_{ee}$, en donde Cl es la depuración de la ciclosporina en litros por hora, F es la biodisponibilidad, τ es el intervalo de dosis en horas y C_{ee} es la concentración en el estado estacionario en ng/mL o mcg/L.

Una vez obtenida la depuración, se calcula la dosis a administrar para obtener los niveles deseados en el estado estacionario.³⁹

IV. Método bayesiano:

El objetivo del método bayesiano es el de individualizar los parámetros que definen el perfil farmacocinético y la posología de un fármaco, utilizando conjuntamente datos de concentración-plasmática tiempo con parámetros de población. El comportamiento poblacional del fármaco en poblaciones de pacientes de características similares a la del paciente monitorizado, constituye la probabilidad previa de la hipótesis, que se combina con la información adicional aportada por los niveles séricos del fármaco en el paciente monitorizado.³⁹

En la práctica el método bayesiano permite estimar de forma individualizada los parámetros farmacocinéticos mediante regresión no lineal minimizando una función objetivo o función de suma de cuadrados de residuos (SS) en base a la siguiente ecuación:

$$SS = \sum_{l=1}^n \frac{(C_t - f(t, P))^2}{\sigma^2} + \sum_{j=1}^m \frac{(P_j - P)^2}{\sigma^2_p}$$

Siendo C_t la concentración sérica del fármaco a tiempo t , $f(t,P)$ la función matemática que define el comportamiento farmacocinético del principio activo, σ^2 la varianza de la concentración sérica del fármaco, P_j el parámetro farmacocinético poblacional, P el parámetro farmacocinético en el paciente individual y σ^2_p la varianza del parámetro farmacocinético poblacional. Para utilizar

este método se requiere del uso de paquetes de cómputo como son: PKS, DataKinetics o NWPharm, entre otros.

6. CONCLUSIONES

- El método analítico utilizado para la cuantificación de ciclosporina en sangre total, es específico, sensible, exacto y permite el reporte de resultados rápidamente.
- Existe una gran variabilidad inter e intraindividual en las concentraciones de ciclosporina durante el período de tratamiento, principalmente en los tres primeros meses, característica de un medicamento de estricto monitoreo terapéutico.
- No existe ninguna relación entre las concentraciones de ciclosporina con el tiempo de tratamiento ni con las dosis administradas.
- Existe diferencia estadísticamente significativa entre las dosis administradas a los pacientes que presentaron rechazo y aquellos que no lo presentaron.
- No existe un control estricto y cuidadoso en el horario de toma de muestra sanguínea, lo cual dificulta la interpretación de resultados.
- Los resultados de la medición de concentraciones sanguíneas proporcionadas por el laboratorio son informativos ya que no se hace un ajuste de dosis por algún método farmacocinético.

7. RECOMENDACIONES

- Es de suma importancia establecer un intervalo terapéutico de la ciclosporina para esta población de nuestro país y con ello poder aumentar la eficiencia del tratamiento
- Se propone desarrollar un modelo farmacocinético predictivo para la individualización de dosis de ciclosporina en la población infantil.

BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Herrera C. J.; Manual de Farmacia Clínica y Atención Farmacéutica, España, Elsevier, 2003.
- 2.- Joint Committee IFCC/IATDMCT, Editorial. Ther Drug Monit. 19:125;1997.
- 3.- Doménech, B. J.; Martínez L. J.; Pla. D. J. Biofarmacia y Farmacéutica. España, Síntesis.1:355-389; 1997.
- 4.- Shumager, G. E. Therapeutic Drug Monitoring. Norwalk Connecticut Appleton and Lange. 1-17; 1995.
- 5.- Fritz B.; Ole S. ; Poul J. S. Clinical and Electroencephalographic correlations with serum levels of diphenylhydantoin. Clinical and EEG correlations. A.M.A. Arch Neurol. 2:624-630; 1960.
- 6.- Wagner J. G.; Earl S.G.; Kaiser D.G. The effect of the dosage form on serum levels of indoxole. Clin Pharmacol Ther. 7(5);H 610-619; 1966.
- 7.- A monthly review for health care professionals of the Children's medical center. Therapeutic drug monitoring in pediatric patients. Pediatr pharma. 1:7:1-7; 1995.
- 8.- Reed, M. D.; Blumer, J. L. Therapeutic drug monitoring in the pediatric intensive care unit. Pediatr Critical Care. 41:6:1227-1243: 1994.
- 9.- Tange, S. M.; Grey, V. L.; Senécal, P. E. Therapeutic drug monitoring in pediatrics: a need for improvement. J Clin Pharmacol. 34:200-214; 1994.
- 10.- Chadwick D. W. Overuse of monitoring of blood concentrations of antiepileptic drugs. Br Med J. 294:723-724; 1987.

- 11.- Spector, R.; Park G. D.; Johnson G. F.; Vesell E. S. Therapeutic Drug Monitoring. Clin Pharmacol Ther. 43:4: 345-353; 1988.
- 12.- Matzuk, M. M.; Schlomchik M.; Shaw L. M. Making Digoxin therapeutic drug monitoring more effective. Ther Drug Monit. 13: 215-219; 1991.
- 13.- Yew, W. W. Therapeutic drug monitoring in antituberculosis chemotherapy. Ther Drug Monit. 20:469-472; 1998.
- 14.- White, L. O. Assays for therapeutic monitoring and pharmacokinetic investigations of aminoglycosides: Quality aspects. Ther Drug Monit. 20:464-468; 1998.
- 15.- Yatscoff, R. W.; Aspeslet L. J. The monitoring of immunosuppressive drugs: A pharmacodynamic approach. Ther Drug Monit; 20:459-463; 1998.
- 16.- Destache Ch. J. Use of therapeutic drug monitoring in pharmacoeconomics. Ther Drug Monit. 15:608-610; 1993.
- 17.- Schumacher, G. E.; Barr, J. T. Economic and outcome issues for therapeutic drug monitoring in medicine. Ther Drug Monit. 20:539-542; 1998.
- 18.- Thomson, A. H.; Watson, I. D.; Wilson, J. F.; Sweeney, G.; Dawkins, C.E.; Smith, B. L.; Williams, J.; Capps, N. E.; Toseland, P. A. An audit of therapeutic drug monitoring service provision by laboratories participating in an external quality assessment scheme. Ther Drug Monit. 20:248-252; 1998.
- 19.- D'Angio, R. G.; Steveson, J. G.; Lively, B. T.; Morgan, J. E. Therapeutic drug monitoring; improved performance through educational intervention. Ther Drug Monit. 12:173-181; 1990.

- 20.- Bates, D. W. Improving the use of therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit.* 20: 550-555; 1998.
- 21.- Benet, L. Z.; Massoud, N.; Gambertoglio, J. G. Pharmacokinetic basis for drug treatment. New York, Raven Press. 21:367-393, 1984.
- 22.- Rowland, M.; Tozer, T. N. Clinical pharmacokinetics. Lea and Febiger book. Baltimore; 1995.
- 23.- Krensky Alan M., Strom Terry B., Bluestone Jeffrey A. Inmunorreguladores: Inmunosupresores, tolerógenos e inmunoestimulantes en Goodman y Gilman. Las bases farmacológicas de la terapéutica. Vol. 2, páginas 1479-1485. Mc Graw Hill. 10ª edición, 2004.
- 24.- The Merck Index, página 480, 13ª edición, 2001.
- 25.- Hassan Mahmoud MA; Al-Yahya Mohammed A. Cyclosporine en Florey Klaus. Analytical profiles of drug substances. Academic Press. 16:145-207, 1987.
- 26.- Diccionario de especialidades farmacéuticas. Páginas 1156-2053. Thomson, PLM. 48 edición, 2005.
- 27.- Lindholm, A. Factors influencing the pharmacokinetics of cyclosporine in man. *Ther Drug Monit.* 13: 465-477; 1991.
- 28.- Kovarik, J. M.; Mueller, E. A.; Niese, D. Clinical development of a cyclosporine microemulsión in transplanted. *Ther Drug Monit.* 18:4: 429-434; 1996.
- 29.- Gupta, S. K., Manfro, R. C.; Tomlanovich, S. J.; Gambertoglio, J. G.; Marvin, R. G.; Benet, L. Z. Effect of food on the pharmacokinetics of cyclosporine in

healthy subjects following oral and intravenous administration. *J Clin Pharmacol* 30:643-653; 1990.

30.- Lown, K. S.; Mayo, R. R.; Leichtman, A. B.; Hsiao, H.; Turgeon, K.; Schmielidlin-Ren, P.; Brown, B. M.; Guo, W.; Rossi, S. J.; Benet, L. Z.; Watkins, P. B. Role of intestinal p-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther.* 62:3:248-260; 1997.

31.- Kovarik, J. M.; Mueller, E. A.; Van, B. J.; Tetzloff, W.; Kutz, K. Reduced inter and intraindividual variability in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation. *J Pharm Sc.* 83:3: 444-446; 1994.

32.- Cooney, G. F.; Habucky, K; Hoppu, K. Cyclosporin pharmacokinetics in paediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 32:6: 481-495; 1997.

33.- Akhlaghi, F.; Trull, A. K. Distribution of cyclosporine in organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 41:9: 615-637; 2002.

34.- Pollak, R.; Wong, R. L. Chang, Ch. T. Cyclosporine. Bioavailability of Neoral and Sandimmune in white and black de novo renal transplant recipients. *Ther Drug Monit.* 21:661-663; 1999.

35.- Min, D. I.; Ellingrod, V. L.; Marsh, S.; Mclead, H. CYP3A5 polymorphism and the ethnic differences in cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther Drug Monit.* 26:5:524-528; 2004.

36.- Min, D. I.; Ku, Y. M.; Perry, P. J.; Ukah, F. O.; Ashton, K; Martin, M. F.; Hunsicker, L. G. Effect of grapefruit juice on cyclosporine pharmacokinetics in renal transplant patients. *Transplantation.* 62:1:123-125; 1996.

- 37.- Hermann, M.; Asberg, A.; Reubsaet, J. L.; Saether, S.; Berg, K. J.; Christensen, H. Intake of grapefruit juice alters the metabolic pattern of Cyclosporine A in renal transplant recipients. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 40:10: 451-456; 2002.
- 38.- Gelder., T.; Hesselink, D. A.; VanHest, R. M.; Mathot, R. A. A.; Schaik, R. V. Pharmacogenetics in immunosuppressive therapy. *Ther Drug Monit.* 26:4: 343-345; 2004.
- 39.- Bauer, L. A. *Applied Clinical Pharmacokinetics.* New York. McGraw-Hill. Páginas 599-625; 2001.
- 40.- Crocker, J. F.; Renton, K. W.; LeVatte, T. L.; McLellan, H. D. The interaction of the calcium channel blockers verapamil and infedipine with cyclosporine A in pediatric renal transplant patients. *Pediatr Nephrol.* 8:408-411, 1994.
- 41.- Winkler, M.; Schumann, G; Petersen, D.; Oellerich, M.; Wonigeit, K. Monoclonal fluorescence polarization immunoassay evaluated form monitoring cyclosporine in whole blood after kidney, heart, and liver transplantation. *Clin Chem.* 38:1:123-126; 1992.
- 42.- Holt, D. W.; Marwaha, G.; Jones, K.; Johnston, A. Quality assurance programs for immunosuppressive drugs: cyclosporine and beyond. *Ther Drug Monit.* 15:472-477; 1993.
- 43.- Holt, W.; Johnston, A.; Kahan, D. D.; Morris, R. G.; Oellerich, M.; Shaw, L.M. New approaches to cyclosporine monitoring raise further concerns about analytical techniques. *Clin Chem.* 46:6:872-874; 2000.
- 44.- Morris. R. G. Cyclosporin assays, metabolite cross-reactivity, and pharmacokinetic monitoring. *Ther Drug Monit.* 22:160-162; 2000.

45.- Class II special controls guidance. Document: Cyclosporine and Tacrolimus assays; guidance for Industry and FDA. September 16; 2002.

46.- Oellerich, M.; Armstrong, V. W.; Kahan, B.; Shaw, L.; Holt, D. W.; Yatscoff, R.; Lindholm, A.; Halloran, P.; Gallicano, K.; Wonigeit, K.; Schütz, E.; Schran, H.; Annesley, T. Lake consensus conference on cyclosporine monitoring in organ transplantation. Report of the consensus panel. *Ther Drug Monit.* 17:642-654; 1995.

47.- Holt, D. W. ; Armstrong, V. W.; Greismacher, A.; Morris, R. G.; Napoli, K. L.; Shaw, L. M. international Federation of Clinical Chemistry/ International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Working Group on Immunosuppressive Drug Monitoring. *Ther Drug Monit.* 24: 59-67; 2002.

48.- Morris, R. G.; Holt, D. W., Armstrong, V. W.; Greismacher, A.; Napoli, K. L.; Shaw, L. M. Analytic aspects of cyclosporine monitoring, on behalf of the IFCC / IATDMCT joint working group. *Ther Drug Monit.* 26:2: 227-230; 2004.

49.- Fernández de Gatta, M.; Santos-Buelga, D.; Dominguez- Gil, A.; García, M. J. Immunosuppressive Therapy for paediatric transplant patients. *Clin Pharmacokinet.* 41:2: 115-135; 2002.

50.- Porta Oltra B., Pérez Ruixo J. J., Jiménez Torres N. V., Pallardó Mateu L. M. Sancho Calabuig A. Individualización posológica de ciclosporina en pacientes con trasplante renal: propuesta de un modelo farmacocinético de predicción. *Farm Hosp.* 22:4: 181-187; 1998.

APÉNDICE

PROPUESTA DE FORMATO PARA MONITOREO TERAPÉUTICO DE CICLOSPORINA

Nombre del paciente: _____

No. de expediente: _____ Fecha: _____

Paciente externo		Paciente interno		No. de cama	
------------------	--	------------------	--	-------------	--

Características del paciente:

Edad	Sexo	Fecha de nacimiento	Peso (kg)	Talla (m)
Temperatura:	TA:			

Datos de trasplante

Órgano de trasplante	Fecha de trasplante	Tipo de trasplante

Información del fluido biológico

Hora de toma de muestra	Naturaleza del fluido	Número de muestra	Hora de recepción en el laboratorio

Información del medicamento

Nombre comercial	Hora de última dosis	Frecuencia de dosis	Dosis	Forma farmacéutica	Conc. de ciclosporina (ng/mL)

Estudios de laboratorio

Cr sérica(mg)	ClCr (mL/min)	Urea (g/dL)	K (meq/L)	Albúmina (g/dL)

Medicamentos concomitantes

--	--	--

Motivo del análisis y urgencia de solicitud

Confirmación terapéutica	Sospecha de toxicidad	Sospecha de interacción con fármacos	Evaluación farmacocinética y consulta
Ausencia de respuesta terapéutica	Falla del fármaco	Incumplimiento	Depuración alterada

Médico: _____

Enfermera: _____

Responsable del laboratorio: _____