



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"SALVADOR ZUBIRÁN"

**"COMPARACIÓN DE LOS PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE
VALGANCICLOVIR INNOVADOR VERSUS VALGANCICLOVIR GENÉRICO"**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE
MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA
IDALIA PARRA AVILA

TUTOR PRINCIPAL
DR. LUIS EDUARDO MORALES BUENOSTRO
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
"SALVADOR ZUBIRÁN"

CD. UNIVERSITARIA, CD. MX, FEBRERO DEL 2019



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 GENERAL

1. Resumen	3
2. Abreviaturas	4
3. Introducción	5
3.1 Prevención de Enfermedad por CMV	5
3.2 Formulaciones Genéricas	7
4. Planteamiento del problema y pregunta de investigación	8
5. Justificación	9
6. Hipótesis	9
7. Objetivos	9
7.1 Principal	9
7.2 Secundarios	10
8. Materiales y métodos	10
9. Criterios de inclusión, exclusión y eliminación	10
9.1 Criterios de Inclusión	10
9.2 Criterios de Exclusión	11
9.3 Criterios de Eliminación	11
10. Aleatorización	11
11. Muestreo farmacocinético para el estudio	11
12. Medición de niveles de ganciclovir mediante HPLC	12
13. Definiciones Operacionales	14
14. Tamaño de la muestra	16
15. Análisis estadístico	17
16. Resultados	18
17. Discusión	29
18. Conclusiones	31
19. Referencias bibliográficas	32

Resumen

Comparación de los parámetros farmacocinéticos de valganciclovir innovador versus valganciclovir genérico

Introducción. En receptores de trasplante renal (RTR), el citomegalovirus (CMV) es una de las infecciones virales más comunes asociadas a una morbilidad y mortalidad significativas. En ausencia de profilaxis, la enfermedad por CMV en receptores de alto riesgo (D + / R-) tiene una frecuencia del 60%. El valganciclovir (valGCV) se usa comúnmente para la profilaxis del CMV. Nuestro objetivo fue comparar los parámetros farmacocinéticos de valGCV innovador versus genérico en RTR bajo profilaxis con valGCV en el período temprano posterior al trasplante.

Materiales y métodos. Estudio de farmacocinética, de un solo centro, de diseño cruzado, con asignación aleatoria a la secuencia de dos formulaciones en un mismo sujeto. Se incluyeron receptores de trasplante renal estables bajo profilaxis con VGCV (900 mg diarios), entre los días 31 y 90 después del trasplante. En estado estacionario, se extrajeron muestras de sangre y se construyeron las curvas de tiempo-concentración de ganciclovir, el mismo paciente recibió ambas formulaciones (innovadora y genérica) en dos momentos diferentes. Las concentraciones plasmáticas de ganciclovir (GCV) se determinaron utilizando cromatografía líquida de alta eficiencia.

Resultados. Se incluyeron ocho RTR, la edad promedio fue 35.6 ± 9.8 años, 87.5% eran hombres, el peso corporal fue 67.4 ± 13.7 kg, SC de 1.7 ± 0.1 m², todos recibieron su primer trasplante renal, 62.5% fueron receptores de donantes fallecido, la TFGe utilizando la fórmula CKD-EPI fue 82.2 ± 20.3 ml / min. 75% tuvo IgG (+) para CMV previo al trasplante, la inducción con timoglobulina fue la más frecuente, todos los receptores estaban en inmunosupresión de mantenimiento con tacrolimus, MMF y esteroides. Un total de 64 muestras por cada formulación fueron utilizadas para determinar las curvas de tiempo-concentración plasmática de ganciclovir (ocho muestras por paciente). Los parámetros farmacocinéticos fueron similares en ambas formulaciones: AUC_{0-24} 71.5 ± 25.9 vs 76.81 ± 34.6 $\mu\text{g} \cdot \text{h/mL}$ ($p = 0.61$) y C_{max} 12.15 ± 3.7 vs 11.83 ± 5.6 $\mu\text{g/mL}$ ($p = 0.76$) para valGCV innovador y genérico respectivamente.

Discusión y conclusiones. Los medicamentos genéricos se aprueban con estudios en sujetos sanos, sin embargo, se necesitan estudios farmacocinéticos en el período postrasplante que comparen la biodisponibilidad entre la formulación innovadora y la genérica, ya que habrá varios fármacos concomitantes y la función renal inestable pueden cambiar la concentración plasmática del fármaco. En el presente estudio, ambas formulaciones de valGCV tienen una concentración plasmática de ganciclovir similar, por lo tanto, el valGCV genérico es eficaz para la profilaxis del CMV y podría ser una estrategia para reducir costos.

[Abreviaturas]

FK, Tacrolimus; AUC, Área bajo la curva; C_{max} , Concentración máxima; T_{max} , tiempo máximo; ERC, Enfermedad renal crónica; TR, Trasplante renal; HD, Hemodiálisis; MMF, Micofenolato de Mofetil; TFG, Tasa de filtrado glomerular; A, Formulación Genérica; B, Formulación Innovadora; H, Hombre; M, Mujer; IS, Inmunosupresión; ADES, Anticuerpos antidonador específico; TMP/SMX, Trimetoprim sulfametoxazol; ERPAD, Enfermedad renal poliquística autosómico dominante; HPLC, Cromatografía líquida de alta eficiencia.

Introducción

En el escenario de trasplante de órganos, Citomegalovirus (CMV) persiste como uno de los virus oportunistas más comunes en los receptores de trasplante de órganos sólidos [1]. Miembro de la familia de los β -herpesviridae, tiene la habilidad de persistir como infección latente de por vida tras la exposición primaria [2]. Bajo ciertas circunstancias clínicas, el CMV puede reactivarse y dar como resultado diseminación viral asintomática o desarrollo de enfermedad. Este virus tiene la capacidad de evadir las funciones inmunológicas de defensa del huésped mediante varios mecanismos, sin embargo, en el individuo inmunocompetente, la infección es mantenida bajo control mediante mecanismos de vigilancia inherentes a la respuesta inmune [3].

Mucho se ha avanzado en materia de prevención, diagnóstico y tratamiento de CMV, lo que ha impactado de manera favorable el pronóstico de los receptores de trasplante renal. El principal factor asociado al desarrollo de infección y enfermedad por CMV es el estatus serológico del receptor (R) y del donante (D), ya que en ausencia de profilaxis, la frecuencia documentada de enfermedad por CMV en los receptores de alto riesgo (R-/D+) es del 60% y de alrededor del 20% para pacientes de riesgo intermedio (R+/D+ ó -); estas frecuencias pueden ser aún más elevadas con empleo de terapia de depleción linfocítica [4,5].

Prevención de enfermedad por CMV

Las 2 estrategias utilizadas en la prevención de infección/enfermedad por CMV son la profilaxis universal y la terapia anticipada. La aplicación de una u otra de estas modalidades de prevención ha dado como resultado una reducción significativa en el desarrollo de enfermedad y en la morbilidad relacionada con ésta. La profilaxis universal consiste en la administración sistemática de terapia antiviral (generalmente es la mitad de la dosis de tratamiento) durante un tiempo definido, a todos los pacientes en riesgo de infección primaria (R-/D+) y en riesgo de reactivación (R+), aunque algunos grupos solo dan profilaxis al subgrupo de pacientes R-/D+. La terapia anticipada es aquella que se administra ante la positivización del ensayo viral que se utilice para el seguimiento y antes de que haya progresión a enfermedad clínica. El ensayo viral que guía el inicio de la terapia anticipada debe realizarse de manera seriada, semanalmente durante el primer semestre pos trasplante, posteriormente cada 15 días hasta cubrir los primeros 12 meses. Cada una de estas estrategias tiene ventajas y desventajas. Los beneficios atribuidos a profilaxis universal, comparados con terapia anticipada, incluyen: menor incidencia de infecciones por oportunistas, mejor supervivencia del paciente e injerto, menor tasa de rechazos, logística más sencilla y menores costos derivados de monitorización viral mientras dura la profilaxis [4,5].

En virtud de que ambas estrategias son aceptadas para la prevención de enfermedad por CMV, la decisión de cuál alternativa utilizar deberá basarse en los recursos diagnósticos y

asistenciales, así como en la capacidad de vigilancia y seguimiento que tenga cada centro de trasplante; el objetivo crucial es el diagnóstico y tratamiento oportunos.

Los agentes antivirales utilizados con fines de prevención han incluido: aciclovir, valaciclovir, ganciclovir intravenoso (IV), ganciclovir oral, y valganciclovir (valGCV); sin embargo, y por mucho, los antivirales más utilizados en la actualidad para estos fines son valGCV y ganciclovir IV.

ValGCV, prodroga de ganciclovir, está disponible en el mercado desde 2001, cuyo anillo de éster de valina es el que le otorga el incremento de su biodisponibilidad hasta el 60%, lo cual representa 10 veces más que aquella obtenida con ganciclovir vía oral.

Una dosis oral de 900 mg valGCV, dosis diaria utilizada para profilaxis, equivale a 5 mg/Kg de ganciclovir IV. En un estudio clínico, prospectivo, aleatorizado, en 364 pacientes receptores de trasplante de órgano sólido considerados de alto riesgo (R-/D+) por su seroestatus, se comparó valGCV con ganciclovir oral para fines de profilaxis. En general, una toma de valGCV/día (900 mg) fue igual de efectiva que tres tomas al día de ganciclovir (1g cada una) para la prevención de CMV. La viremia durante los 3 meses de profilaxis fue significativamente menor en el grupo de valGCV frente a ganciclovir (2.9% vs 10.4%, $p=0.001$), sin embargo fue comparable a 12 meses (48.5% vs 48.8%). La enfermedad tardía por CMV en este estudio, definida como la que ocurre después de discontinuar la profilaxis, ocurrió en 17.2 y 18.4% de los pacientes en valGCV y ganciclovir, a 12 meses, respectivamente [6].

Con el propósito de definir si la extensión de profilaxis con valGCV resultaba en disminución de la aparición de enfermedad tardía, se probó la eficacia y seguridad de administrar 200 días frente a 100 días de profilaxis con valGCV, en 326 receptores de trasplante renal de alto riesgo (R-/D+). A 12 meses postrasplante un número significativamente menor de pacientes del grupo de 200 días había desarrollado enfermedad por CMV (16.1 vs 36.8%, $p < 0.0001$) comparado con 100 días; adicionalmente, hubo menos casos de viremia a 12 meses (34.7 vs 50.9%, $p=0.015$) así como infecciones por oportunistas (12.9 vs 27%, $p=0.001$) a favor nuevamente de 200 días. Los resultados a 2 años de este estudio (IMPACT) han mostrado que la protección conferida por 200 días vs 100 días de profilaxis con valGCV persiste en cuanto al desarrollo de enfermedad (21.3 vs 38.7%, $p < 0.001$) [7].

Existen pocos reportes en la literatura que describan la farmacocinética del ganciclovir. En un estudio realizado en adultos receptores de órgano sólido bajo profilaxis con valGCV, encontraron que después de una dosis de 900 mg, alcanzaron una biodisponibilidad del $66 \pm 10\%$, concentración máxima plasmática (C_{max}) de 6.6 ± 1.9 mg/l en un tiempo máximo (t_{max}) de 3.0 ± 1.0 h, con un área bajo la curva (AUC) de 51.9 ± 18.3 mg·h/l, aclaramiento aparente de 12.4 ± 3.8 l/h, y una vida media de eliminación de 5.3 ± 1.5 h. El aclaramiento se debe corregir de acuerdo a la tasa de filtración glomerular, secundario a ello se debe

ajustar la dosis por función renal. El consumo de alimentos previo a la administración del valGCV incrementó la exposición a ganciclovir aproximadamente en un 30% [8].

Un estudio en receptores de trasplante de órgano sólido analizó la relación entre la exposición sistémica de valGCV 900 mg y la prevención de viremia y enfermedad por CMV, encontrando que aquellos sujetos que alcanzaban AUC por encima de 50 ug*h/ml en promedio tenían pocas posibilidades de desarrollar viremia, comparado con aquellos con AUC de 25 ug*h/ml que se asoció hasta 8 veces más riesgo de viremia, es así que se establece que la ventana terapéutica esperada en sujetos bajo profilaxis con valGCV 900 mg se logrará con concentraciones de AUC por encima de 50 ug*h/ml [9].

Formulaciones Genéricas

Muchos países han adoptado el uso de fármacos genéricos para diferentes padecimientos luego de que estas formulaciones fueran recomendadas por la OMS para poder ofrecer un fármaco con la misma actividad farmacológica pero a un costo más accesible.

Teóricamente un fármaco genérico para que pueda comercializarse debe mostrar una calidad equivalente a la del fármaco innovador. Para aprobar su salida al mercado necesita demostrar que presenta el mismo comportamiento farmacocinético (AUC y C_{max}), que no existen diferencias significativas en la velocidad y cantidad de absorción cuando son administrados en dosis única o dosis múltiple bajo las mismas condiciones experimentales, asumiendo que si se logra esta bioequivalencia los efectos terapéuticos serán similares. Cuando se realizan estos estudios en la etapa precomercialización del fármaco, desafortunadamente se considera que las condiciones controladas del estudio así como la población estudiada son representativas del grupo de aplicación, sin embargo, los estudios se hacen en población sana mientras que los fármacos son utilizados en poblaciones de características diferentes como lo pueden ser en edad, género, raza, comorbilidades y medicación concomitante. Además, los excipientes utilizados en el fármaco genérico son diferentes a los del fármaco innovador, por lo que pueden modificarse las propiedades de la formulación (ej. tamaño de la partícula o vida media útil), por lo tanto, se ve afectada la eficacia y seguridad del fármaco. Los perfiles de disolución constituyen una serie de pruebas in vitro como indicadores indirectos de la biodisponibilidad in vivo. En el contexto del trasplante renal en México, existen reportes en la literatura donde se ha demostrado una gran variación en el comportamiento farmacocinético de los inmunosupresores genéricos, por ejemplo, en un estudio realizado por Petan, et al [11] se encontraron distintos perfiles de disolución entre 5 formulaciones de tacrolimus genérico y una gran variabilidad en el contenido de tacrolimus comparado con el fármaco innovador, concluyendo que estas diferencias farmacocinéticas pueden resultar en una absorción subóptima del fármaco y alcanzar niveles infraterapéuticos en sangre. Esquivel, et al [12] comparó los perfiles de disolución a distintos grados de pH (1.2 y 6.8) entre el micofenolato de sodio genérico e innovador, encontrando que la formulación genérica, a un mayor pH presenta una liberación

del 62.3% vs innovador 104.9% ($p=0.04$), resultando en una menor absorción y por lo tanto, eficacia inmunosupresora inadecuada.

Un estudio realizado en receptores pediátricos de trasplante renal, evaluó la biodisponibilidad de dos formulaciones de tacrolimus: Prograf® (innovador) y Limustin® (genérico), encontrando que aquellos que recibieron el fármaco innovador alcanzaron AUC_{0-12} (125 ± 43.3 ng·h/ml vs 65.8 ± 39.05 ng·h/ml, $p=0.0009$) y C_{max} (19.8 ± 7.3 ng/ml vs 7.0 ± 3.8 ng/ml, $p<0.0001$) más alta que el genérico; también fueron diferentes en los perfiles de disolución entre ambas formulaciones, concluyendo que las características farmacéuticas de la formulación genérica exponía a los niños a dosis disminuidas de tacrolimus comparada con la formulación innovadora poniendo en riesgo la sobrevida del paciente y del injerto renal. [13]

Para el caso específico de valGCV genérico se inició su comercialización a finales del año 2015. En este momento ya existen solicitudes a COFEPRIS de al menos 8 formulaciones genéricas diferentes cuya intención es entrar al mercado mexicano. Todos ellos han presentado estudios realizados en sujetos sanos posterior a una sola toma del fármaco genérico, de ahí la necesidad de realizar estudios farmacocinéticos en población de sujetos receptores de trasplante renal.

La monitorización de concentraciones plasmática en rangos terapéuticas de los inmunosupresores es una práctica cotidiana en el paciente con trasplante renal, resulta una herramienta útil para verificar el grado de exposición al fármaco e individualizar la dosificación del mismo. En el caso de valGCV, parece ser un fármaco candidato a evaluar su comportamiento farmacocinético y buscar en el caso de las formulaciones genéricas, si alcanzan concentraciones plasmáticas consideradas en ventana terapéutica.

Planteamiento del problema y pregunta de Investigación

En México, de acuerdo a las solicitudes registradas a COFEPRIS, en este momento existen por lo menos 8 diferentes formulaciones genéricas de valGCV con intención de entrar al mercado mexicano, cuya evidencia científica requerida para su registro está basada en estudios farmacocinéticos de bioequivalencia en sujetos sanos posterior a la administración de una dosis única, de ahí la necesidad de realizar una monitorización de concentraciones plasmáticas de valGCV en el contexto de sujetos receptores de trasplante renal expuestos a múltiples fármacos, asumiendo que no existe evidencia entre los resultados obtenidos a la exposición a fármacos genéricos y su bioequivalencia entre ellos.

Todo ello nos hace plantear la siguiente pregunta de investigación:

¿Son similares los parámetros farmacocinéticos entre la formulación genérica de valganciclovir al compararse con valganciclovir innovador en sujetos con trasplante renal en la etapa temprana postrasplante?

Justificación

En el escenario de trasplante de órganos, CMV persiste como uno de los virus oportunistas más comunes en receptores de trasplante de órgano sólido. El objetivo de prevenir la primoinfección/reactivación de CMV en la etapa postrasplante es reducir el riesgo de enfermedad clínica sintomática y limitar los efectos indirectos responsables del incremento en mortalidad, morbilidad y reducción de la supervivencia del injerto, así como su capacidad de condicionar susceptibilidad para infecciones por otros oportunistas, su asociación con riesgo para rechazo agudo y daño crónico del injerto. El fármaco más utilizado hoy en día con fines profilácticos es el valGCV, del cual desde finales del 2015 ya existen versiones genéricas cuyos estudios de bioequivalencia se limitan a estudios de farmacocinética después de una sola dosis en sujetos sanos.

En nuestro medio, el antecedente de la introducción de fármacos inmunosupresores genéricos bajo condiciones no controladas y sus resultados en la práctica clínica son controversiales, debido a que las instituciones con el fin de disminuir gastos por compra de fármacos, se enfrentan a la generación de otra clase de gastos secundario al aumento en el número de consultas, monitorización de niveles plasmáticos más estrecha, se requiere mayor educación y comunicación entre el paciente, el médico y la farmacia, sin olvidar las repercusiones obvias en la salud e integridad del sujeto con trasplante renal, lo que confiere un mayor esfuerzo para lograr mantener resultados similares al utilizar un fármaco innovador. Por el momento, no existen estudios realizados en sujetos trasplantados donde se evalúe la farmacocinética de valGCV genérico, por lo que la relevancia de este estudio recae en que conocer los resultados, en caso de no resultar similares las concentraciones plasmáticas, servirán para mostrar a las autoridades la importancia de realizar estudios de farmacocinética en población blanco en lugar de sujetos sanos, y endurecer los requisitos para registros de este tipo de genéricos. En caso de resultar lo contrario, dará certeza al grupo médico para su uso generalizado y a las instituciones como una estrategia costo efectiva.

Hipótesis

Los parámetros farmacocinéticos (AUC_{0-24} y C_{max}) serán diferentes entre la formulación innovadora y la formulación genérica de valganciclovir, sobrepasando el límite aceptado que va de 80% a 125%.

Objetivo principal

Describir y comparar los parámetros farmacocinéticos entre la formulación innovadora versus formulación genérica de valGCV en receptores de trasplante renal.

Objetivos secundarios

Desarrollar un método analítico validado para la cuantificación de ganciclovir en plasma.

Describir el comportamiento de la curva tiempo-concentración del valGCV genérico e innovador analizando las siguientes variables: AUC₀₋₂₄, C_{max} y T_{max}.

Evaluar si se alcanzan concentraciones plasmáticas en ventana terapéutica comparando ambas formulaciones.

Material y Métodos

Diseño del estudio: Estudio de farmacocinética, de un solo centro, de diseño cruzado, con asignación aleatoria a la secuencia de ambas formulaciones en un mismo sujeto.

Población del estudio: Receptores de trasplante renal, mayores de 18 años, con seguimiento en INCMNSZ, que se encontraban estables durante su seguimiento, cursando entre el día 31 y 90 postrasplante y que estaban recibiendo profilaxis con valGCV (900 mg VO cada 24 h) por indicación de su médico tratante. El protocolo contó con la aprobación de los Comités de Ética e Investigación del instituto y se obtuvo un consentimiento informado de cada uno de los sujetos en conformidad a la Declaración de Helsinki; se registró en el portal de ClinicalTrials.gov (NCT03631316).

Criterios de inclusión, exclusión y eliminación

Inclusión

- Sujetos que hayan recibido un injerto renal, por enfermedad renal crónica terminal de cualquier causa.
- Sujetos que se encontraban dentro del día 31 a 90 de la etapa postrasplante.
- Sujetos que estaban tomando valGCV a dosis profilácticas (900 mg VO cada 24 hrs) por indicación de su médico tratante.
- Sujetos que se preveía que se mantuvieran bajo los mismos medicamentos concomitantes en ambas secuencias.
- Sujetos que presentaban disponibilidad de la vía oral.
- Sujetos que tenían una función renal estable (TFGe >60 mL/min/1.73m² por la fórmula *Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration*).

- Sujetos que se mantenían con dosis de 900 mg por día en los 3 días previos al día del muestreo para cada uno de los medicamentos de estudio.
- Sujetos que aceptaban firmar el consentimiento informado.

Exclusión

- Sujetos que no podían permanecer 12 h en el hospital para la toma de las muestras.
- Sujetos con vías difíciles para la toma de muestras.
- Sujetos que cursaban con un evento de rechazo agudo.
- Sujetos que se encontraban con enfermedad activa por CMV.
- Sujetos que presentaban eventos adversos como leucopenia, trombocitopenia o disfunción del injerto renal, lo cual podría modificar la dosis o condicionar la suspensión de valGCV

Eliminación

- Sujetos que solo completaron las mediciones con una sola formulación sin comparador.
- Sujetos que retiraron su consentimiento informado.

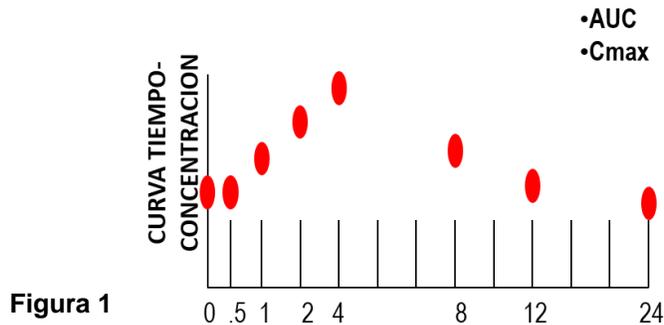
Aleatorización

Se formaron dos secuencias de la ingesta de ambas formulaciones de valGCV y su respectivo muestreo: 1) formulación innovadora seguida de formulación genérica y 2) formulación genérica seguida de formulación innovadora. Los 8 pacientes fueron aleatorizados a una de las dos secuencias mediante un software en línea (www.randomization.com) que asignó a los participantes a uno de dos grupos paralelos con la secuencia #14294.

Muestreo farmacocinético para el estudio

Se realizó la comparación de los parámetros farmacocinéticos entre la formulación genérica e innovadora de valGCV (900 mg) en un mismo sujeto. Se midieron las curvas de tiempo-concentración en sujetos que alcanzaron “steady state”, el cual corresponde al equilibrio entre la cantidad de fármaco eliminado y la cantidad de fármaco administrado, manteniéndose una concentración plasmática constante, generalmente se alcanza posterior al transcurso de 4 vidas medias de eliminación, que para fines de este estudio correspondió a 3 días, es decir, los pacientes tomaban la formulación asignada por el grupo de aleatorización durante 3 días, al día siguiente se citaban y mientras seguían con esa formulación, se tomaban las muestras. Después cambiaban de formulación, que tomaban por 3 días, al día siguiente se tomaban las muestras de la segunda formulación. Se registraron con exactitud los tiempos de administración del valGCV y los tiempos de

recolección de muestras de sangre en cada intervalo (0, 0.5, 1, 2, 4, 8, 12 y 24 h), tal como se muestra en la figura 1.



El muestreo inició a las 8 a.m., se establecieron horas para el: desayuno 10 am, comida 13 hrs, cena 19 hrs, sin restricción hídrica. Se tomaron en total 8 muestras de sangre de 5mL en tubos con anticoagulante K-EDTA. Se transportaron los tubos en red fría a 4° C y se centrifugaron a 3000 rpm por 10 minutos en un plazo máximo de 1 hora desde la colección. El plasma resultante se colocó inmediatamente en almacenamiento -70 °C hasta su análisis por Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) en el laboratorio del Departamento de farmacología en el Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional.

Medición de niveles de ganciclovir mediante HPLC

Existen diversas técnicas que permiten analizar la cuantificación adecuada de las concentraciones de un fármaco en un fluido biológico (plasma, suero, sangre total, orina, etc), una de ellas es la HPLC, cromatografía de gases, radioinmunoanálisis, métodos microbiológicos, entre otros.

La técnica mediante HPLC consiste en el de análisis en un líquido (fase móvil) que circula en íntimo contacto con un sólido u otro líquido (fase estacionaria); al introducir la mezcla de sustancias en la corriente de fase móvil, cada analito avanza a lo largo del sistema con una velocidad diferente y al terminar el recorrido por la columna cada sustancia es introducida a un sistema de detección en tiempo diferente. Este método tiene alta exactitud y precisión, es muy selectivo, esta personalizado para la molécula de estudio además es de bajo costo comparado con otros métodos. Por otro lado, la cromatografía de gases consiste en la inyección de una muestra que se separa en una corriente de gas inerte a elevada temperatura y posteriormente atraviesa una columna cromatográfica que separará los componentes que emergerán de la columna a intervalos distintos y pasarán a un sistema de detección. Se prefiere este método para el análisis de compuestos volátiles, sin embargo tiene como desventaja la pobre adaptación del método a las necesidades de los analitos. La técnica de radioinmunoanálisis consiste en marcar radioactivamente un anticuerpo y un analito con la finalidad de medir la concentración de un fármaco de interés en una muestra biológica. Este método tiene alta sensibilidad, sin embargo como desventaja es una técnica de mayor costo y que requiere un equipo especializado. [18]

En la mayoría de los estudios para el análisis de biodisponibilidad y bioequivalencia se prefiere la utilización de HPLC o de gases, caracterizados por ser selectivos y capaces de discernir el analito de interés u otras sustancias endógenas, con las características previamente mencionadas decidimos emplear HPLC como método de elección para la cuantificación de ganciclovir ya que es un método de análisis simple y robusto. Es así que la metodología que se empleó para la aplicación de esta técnica en el análisis de las muestras, se describe a continuación: El primer paso para trabajar con el material biológico (plasma) consistió en un proceso de semipurificación, en este caso se realizó por medio de un proceso de precipitación de proteínas, con la finalidad de eliminar sustancias que pudieran dañar las columnas empleadas para la separación de los compuestos y dejar una matriz lo más pura posible, lo cual nos permitió cuantificar de manera precisa y exacta las concentraciones de ganciclovir. Posteriormente se inició el método de validación el cual se dividió en dos partes: la validación durante el montaje del método analítico que comprendió de varios parámetros: selectividad, intervalo de calibración y linealidad, precisión y exactitud intra e interdías, estabilidad del compuesto a analizar, recuperación, límite de cuantificación y límite de detección; la segunda parte de la validación fue la evaluación de la calidad del método durante la determinación de las muestras provenientes de los participantes en el estudio, adicionalmente, durante esta parte se evaluó nuevamente el comportamiento del método en el análisis de: selectividad, exactitud y precisión, intervalo de calibración y linealidad y la adecuación del sistema.

Para la validación previa al estudio a continuación definiremos los parámetros que utilizamos en el procedimiento:

a) Selectividad. Este parámetro tuvo la finalidad de establecer si el método fue capaz de discernir al compuesto de interés (ganciclovir) de otras sustancias (endógenas o exógenas), que pudieran interferir con la cuantificación del mismo. Mediante el análisis de plasma de seis sujetos distintos que posterior a un proceso de semipurificación se cuantificó la cantidad de ganciclovir y se buscaron posibles interferencias con otros metabolitos, productos de degradación y fármacos coadministrados.

b) Intervalo de calibración. Consistió en el rango de concentraciones que se emplearon para calibrar el método analítico. Se determinó de acuerdo a las concentraciones esperadas en el estudio farmacocinético, en función de las dosis que se empleó del fármaco (valganciclovir 900 mg), a partir de este intervalo se realizaron todas las calibraciones del método.

c) Precisión. Útil para definir la variabilidad del método un mismo día de análisis como en distintos días. Se calculó con base al coeficiente de variación que resulto de dividir la desviación estándar del método entre el valor de la media obtenida, todo ello multiplicado

por 100 para expresarlo como porcentaje. Este parámetro se evaluó el mismo día (por quintuplicado en tres diferentes concentraciones) y en distintos días (por duplicado para cada una de las concentraciones en al menos tres días distintos), con el objetivo de que todas las mediciones se encontraran dentro de la curva de calibración del método. El coeficiente de variación intradías e interdías debía ser igual o inferior al 15%, y se toleró un 20% para el coeficiente de variación en el límite de cuantificación.

d) Recuperación. Durante el proceso de semipurificación es factible que se pierda fármaco, por lo que se evaluó la recuperación del compuesto durante el proceso analítico, se aceptó que pudiera ser menor del 100%, pero fue reproducible en todas las concentraciones dentro del rango de calibración.

e) Estabilidad del compuesto a analizar. Esta fase consistió en conocer las condiciones de almacenamiento de las muestras y trabajo de las mismas. Se investigaron los factores que pudieran afectar las concentraciones del fármaco en la matriz a emplear, por ejemplo: almacenamiento, ciclos de congelación y descongelación, reconversión de los metabolitos importantes, estabilización de compuestos lábiles, materiales de contacto, preparación de la muestra, anticoagulantes empleados, almacenaje en autoinyectores, etc. Con el fin de garantizar que las concentraciones que se están determinando sean adecuadas. La estabilidad de ganciclovir fue evaluada en tres concentraciones distintas por duplicado.

f) Límite de cuantificación. Correspondió al estándar de calibración más pequeño que puede ser medido y que cumplía con los criterios de exactitud y precisión.

g) Límite de detección. Correspondió a la concentración mínima cuya señal podía distinguirse de la basal. Lo utilizamos para conocer que tan sensible era nuestro método y hasta que concentraciones era factible establecer la calibración del método.

Definiciones Operacionales

Biodisponibilidad: Proporción del fármaco que se absorbe a la circulación general después de la administración de un medicamento y el tiempo que requiere para hacerlo.

Bioequivalencia: Estudio de biodisponibilidad comparativa en la cual se evalúa la eficiencia de absorción de productos equivalentes farmacéuticos: misma dosis, misma forma farmacéutica y misma sal.

Medicamento Innovador: Medicamento que cuenta con la patente original a nivel mundial, que cuenta con registro de la Secretaria de Salud, disponible comercialmente y que ha demostrado su eficacia y seguridad, con una correlación in vitro- in vivo establecida.

Medicamento genérico intercambiable: fármaco o sustancia activa y forma farmacéutica, con igual concentración o potencia, que utiliza la misma vía de administración y con especificaciones farmacopeicas iguales o comparables, que después de cumplir con las pruebas reglamentarias requeridas, ha comprobado que sus perfiles de disolución o su biodisponibilidad u otros parámetros, según sea el caso, son equivalentes a las del medicamento innovador o producto de referencia, y que se encuentra registrado en el Catálogo de Medicamentos Genéricos Intercambiables, y se identifica con su denominación genérica.

Productos bioequivalentes: aquellos que son equivalentes farmacéuticos en los cuales no se observa diferencia significativa en la velocidad y cantidad absorbida del fármaco, cuando son administrados ya sea en dosis única o dosis múltiple bajo condiciones experimentales similares.

Corrida analítica: al conjunto de muestras analizadas en forma continua, bajo las mismas condiciones experimentales.

Cromatograma o espectrograma: a la figura gráfica de la respuesta analítica derivada de la aplicación de la técnica y el método analítico correspondiente.

Curva de calibración: al conjunto de concentraciones que describen el intervalo en el cual se cuantifica el compuesto por analizar.

Estabilidad: a la capacidad de un fármaco, biofármaco o un medicamento de permanecer dentro de las especificaciones de calidad establecidas, en el envase que lo contiene durante su periodo de vida útil.

Exactitud: a la concordancia entre el valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia.

Matriz biológica: al material de origen biológico en el cual se encuentra el analito o fármaco de interés.

Muestra blanco: a la matriz biológica sin la adición del analito o sustancia de interés y sin el estándar interno.

Muestra cero: a la matriz biológica con la adición del estándar interno.

Muestras control: a las muestras de matriz adicionada con el analito en concentración específica usada para validar y monitorear el desempeño de un método analítico.

Precisión: al grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes porciones de una muestra homogénea; se evalúa como repetibilidad y reproducibilidad.

Repetibilidad: a la precisión bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo.

Reproducibilidad intralaboratorio: a la precisión bajo las variaciones que comúnmente pueden ocurrir dentro del laboratorio: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos.

Selectividad: a la capacidad de un método analítico para diferenciar y cuantificar el compuesto a analizar, en presencia de otros compuestos en la muestra.

Tamaño de la muestra

El tamaño de la muestra estuvo estimado acorde a los valores obtenidos en un estudio previamente publicado de diseño cruzado donde se evaluó la farmacocinética de GCV oral y valganciclovir [14] en receptores de trasplante hepático, diseñado como un estudio de no inferioridad donde valGCV 900 mg era relativo a ganciclovir IV, aceptando un coeficiente de variación del 14%.

La ecuación utilizada para el cálculo del tamaño de la muestra para un estudio de bioequivalencia fue la siguiente, según el reporte de Souich et al [17]:

$$\text{Log } n = 2.0006 \log CV - 1.4071$$

La cuál se puede transformar y simplificar en:

$$n = 0.04 (CV)^2$$

Donde n corresponde al número de sujetos que deben estudiarse

CV es el coeficiente de variación de la variable a cuantificar en la población

$$n = 0.04 (14)^2$$

$$n = 0.04 (196)$$

$$n = 7.84$$

Se tomó en cuenta una variabilidad del AUC_{0-24} aceptable que va del 80% al 125%, como típicamente se ha reportado en otros estudios de bioequivalencia, aceptando un nivel de confianza del 95% y una potencia del 80%, se estimaron 8 pacientes para realización de este estudio.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva según el nivel de medición de las variables. Las variables categóricas se mostraron como frecuencia y proporciones. Las numéricas continuas se evaluaron con la prueba de Z de Kolmogorov-Smirnov; aquellas con distribución normal se presentaron como media y desviación estándar, mientras que aquellas con distribución anormal con mediana y rango intercuartilar. Para comparar 2 grupos se utilizó chi cuadrada para variables categóricas y T de Student o U de Mann-Whitney según aplique para las variables numéricas continuas. En caso de 3 o más grupos se utilizó ANOVA de 1 vía o Kruskal-Wallis según aplicó. Se consideró significativa una $p < 0.05$.

Resultados

En un periodo comprendido de febrero a septiembre del 2018, se reclutaron 8 pacientes receptores de trasplante renal en el INCMNSZ. La mayoría de ellos eran hombres (87.5%), con edad promedio de 35.6 ± 9.8 años, en general, se desconocía la causa de ERC, 75% tuvo IgG (+) para CMV previo al trasplante, la inducción con timoglobulina fue la más frecuente, todos se encontraban bajo el mismo esquema de inmunosupresión de mantenimiento con triple droga (tacrolimus, micofenolato de mofetil y prednisona), el resto de sus características sociodemográficas, clínicas y del trasplante se describen en la tabla 1.

Tabla 1. Características sociodemográficas, clínicas y del trasplante

Características basales	(n=8)
Edad, (media, D.S.)	35.62 ± 9.88
Género masculino, (n,%)	7 (87.5)
Peso en kg, (media, D.S.)	67.47 ± 13.77
IMC kg/m ² , (media, D.S.)	25.88 ± 5.58
Superficie Corporal m ² , (media, D.S.)	1.71 ± 0.16
Causa ERC, (n,%)	
-Desconocida	6 (75)
-Glomerulonefritis primaria	1 (12.5)
-Enfermedad poliquística del adulto	1(12.5)
Meses en diálisis, (media, D.S.)	59.25 ± 37.28
Modalidad de diálisis, (n,%)	
-Diálisis peritoneal	1 (12.5)
-Diálisis peritoneal y hemodiálisis	3 (37.5)
-Hemodiálisis	3 (37.5)
-Trasplante anticipado	1 (12.5)
Antecedente de transfusiones, (n,%)	6 (75)
Primer trasplante, (n,%)	8 (100)
Receptor de donante fallecido, (n,%)	5 (62.5)
Receptor con IgG (+) CMV, (n,%)	6 (75)
%PRA Clase I, (mediana, RIC)	4 (2.5-5.5)
%PRA Clase II, (mediana, RIC)	0 (0-4)
Sin ADEs pretrasplante, (n,%)	7 (87.5)
Inducción con timoglobulina, (n,%)	6 (75)
Inmunosupresión de mantenimiento (media, D.S.)	
-Dosis Tacrolimus (mg/día)	6.81 ± 3.11
-Dosis de Micofenolato mofetil (g/día)	1.37 ± 0.23
-Dosis de Prednisona (mg/día)	9.37 ± 4.17
Medicamentos concomitantes, (n,%)	
-Trimetoprim con sulfametoxazol	7 (87.5)
-Isoniacida	2 (25)
-Omeprazol	3 (37.5)
-Ketoconazol	4 (50)

A continuación mostramos las características sociodemográficas, clínicas y del trasplante por paciente, tabla 2A y 2B.

Tabla 2A. Características sociodemográficas, clínicas y del trasplante por paciente

Variable	Paciente 1	Paciente 2	Paciente 3	Paciente 4
Género	H	H	H	H
Edad (años)	34	34	22	30
Etiología ERC	Desconocida	Desconocida	Desconocida	Desconocida
Meses en diálisis	74	123	72	21
Modalidad diálisis	DP	DP+HD	DP+HD	HD
Transfusiones pre- TR	Sí	Sí	Sí	Sí
IgG (+) para CMV	+	+	-	+
Retrasplante	No	No	No	No
Donante Fallecido	Si	Si	Si	No
%PRA Clase I/II	0/0	4/4	4/0	16/4
ADES pre-TR	No	No	No	Cw7 527/Cw10 616
Inducción	Timoglobulina	Timoglobulina	Timoglobulina	Timoglobulina
IS mantenimiento	FK+MMF+Pdn	FK+MMF+Pdn	FK+MMF+Pdn	FK+MMF+Pdn
Dosis FK/día	3 mg	3.5 mg	10 mg	9 mg
Dosis MMF/día	1.5 gr	1.5 gr	1.5 gr	1.5 gr
Dosis Prednisona/día	5 mg	10 mg	15 mg	10 mg
Medicación concomitante	TMP/SMX	TMP/SMX, ketoconazol	Omeprazol, TMP/SMX, ketoconazol	Pantoprazol, Dapsona, Isoniacida
Creatinina basal (mg/dl)	1	1.3	1.5	0.9
Días post TR	87	33	30	40
TFG-A (ml/min)	111	93.2	63.1	114.2
TFG-B (ml/min)	91.1	76.1	65.1	109.8
Niveles de FK-A (ng/mL)	9.5	13.6	10.2	9
Niveles de FK-B (ng/mL)	8.8	11.3	11.5	10.3

Tabla 2B. Características sociodemográficas, clínicas y del trasplante por paciente (continuación)

Variable	Paciente 5	Paciente 6	Paciente 7	Paciente 8
Género	H	H	M	H
Edad (años)	28	26	53	42
Etiología ERC	Desconocida	Desconocida	Glomerulonefritis	ERPAD
Meses en diálisis	64	0	48	72
Modalidad diálisis	DP+HD	TR Anticipado	HD	HD
Transfusiones pre- TR	Sí	No	Sí	No
IgG (+) para CMV	+	-	+	+
Retrasplante	No	No	Si	No
Donante Fallecido	Si	Si	Si	Si
%PRA Clase I/II	2/0	4/0	3/0	7/4
ADES pre-TR	No	No	No	No
Inducción	Timoglobulina	Sin inducción	Timoglobulina	Basiliximab
IS mantenimiento	FK+MMF+Pdn	FK+MMF+Pdn	FK+MMF+Pdn	FK+MMF+Pdn
Dosis FK/día	11 mg	4 mg	8 mg	6 mg
Dosis MMF/día	1.5 gr	1 gr	1.5 gr	1 gr
Dosis Prednisona/día	10 mg	15 mg	5 mg	5 mg
Medicación concomitante	TMP/SMX, ketoconazol	TMP/SMX, ketoconazol isoniacida	TMP/SMX, omeprazol, atorvastatina	Levetiracetam metoprolol, TMP/SMX
Creatinina basal (mg/dl)	1	1.4	1.0	1.1
Días post TR	37	30	61	90
TFG-A (ml/min)	92.9	68.9	68.4	82.4
TFG-B (ml/min)	93	65.1	70.2	86.1
Niveles de FK-A (ng/mL)	13	15	7.8	7.1
Niveles de FK-B (ng/mL)	13	10.7	9.5	7.0

FK = Tacrolimus, ERC= Enfermedad Renal Crónica, TR= Trasplante, HD= Hemodiálisis, MMF = Micofenolato de Mofetil, TFG= Tasa de filtrado glomerular, A = Formulación Genérica, B= Formulación Innovadora., H= Hombre, M = Mujer, IS= Inmunosupresión, ADES= anticuerpos antidonador específico, TMP/SMX= Trimetoprim con sulfametoxazol, ERPAD= Enfermedad renal poliquística autosómico dominante

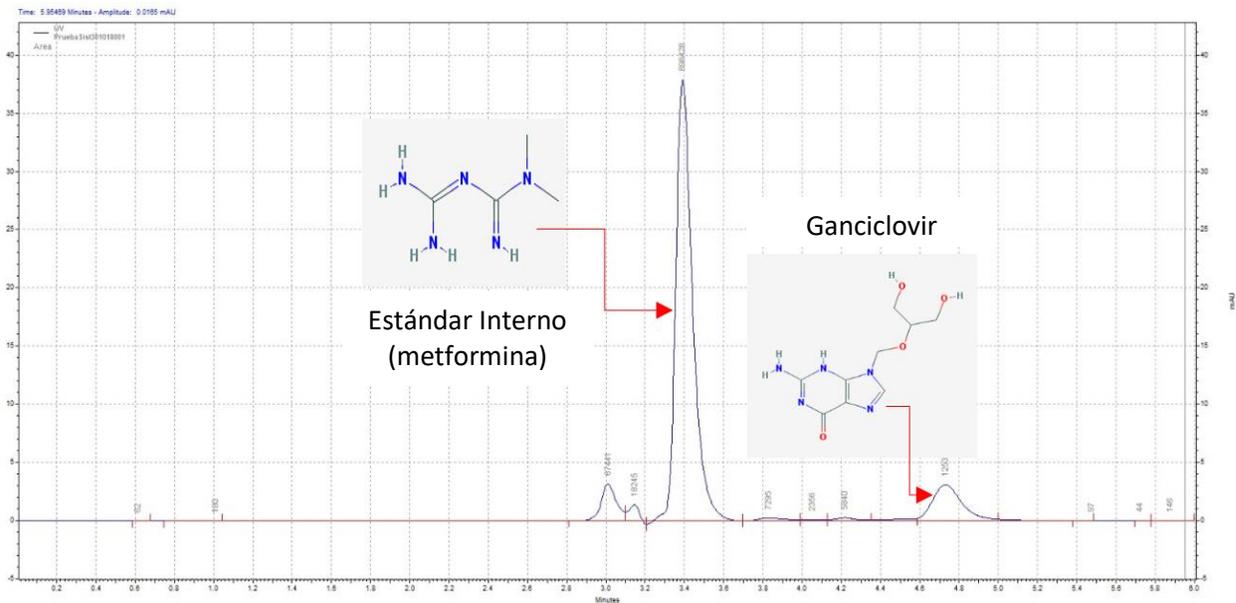
Estandarización del método de medición

Se realizó de acuerdo a lo establecido por la NOM-177-SSA1-2013, en donde se debe probar la no interferencia de compuestos endógenos de la matriz biológica mediante la evaluación de 6 unidades diferentes de plasma (muestra blanco). Además se analizaron individualmente 6 unidades diferentes de matriz biológica con el Estándar Interno (muestra cero).

Tiempos de retención

Se determinaron los tiempos de retención de cada analito, en este caso, el tiempo de retención para ganciclovir fue de 4.7 minutos y para el estándar interno (metformina) fue de 3.4 minutos. Se evaluó la correcta separación de los picos (resolución), tal como se muestra en la figura 2.

Figura 2. Cromatograma en Sistema, visualización del comportamiento del Límite Inferior de Cuantificación (0.3ug/mL) de Ganciclovir (Analito), con Metformina (Estándar interno), a las condiciones establecidas de acuerdo con el método desarrollado.



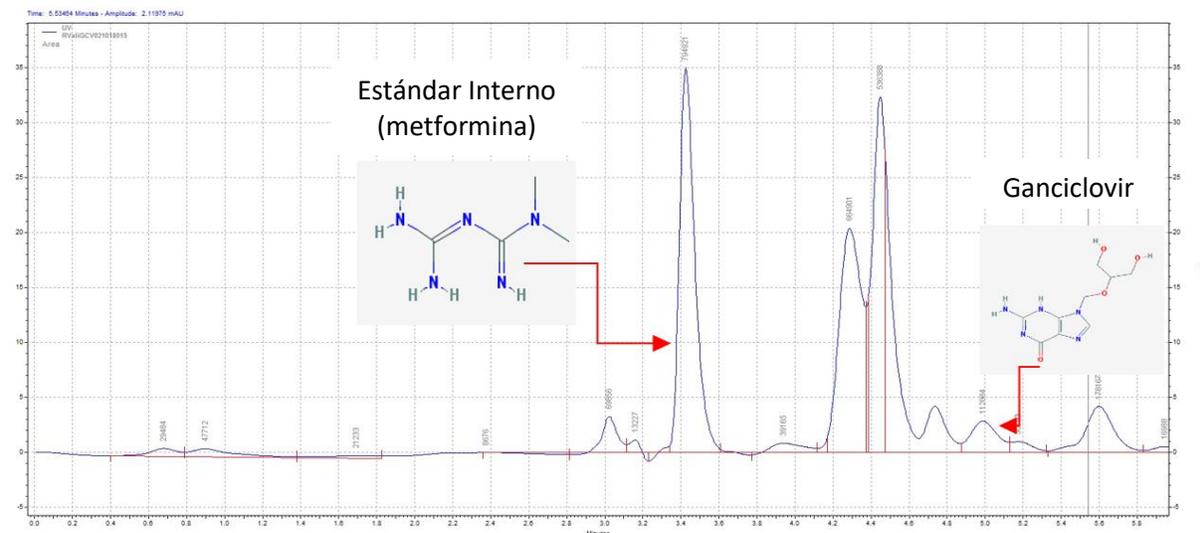
Selectividad

Posteriormente se demostró la no interferencia de otros fármacos que pueden ser frecuentemente coadministrados con el analito de interés entre ellos: tacrolimus, micofenolato de mofetil, omeprazol, trimetoprim con sulfametoxazol, prednisona, ketoconazol. La resolución en todos los casos fue mayor del 1.5 lo que permitió establecer que no hay solapamiento entre los picos y que estos tienen una separación adecuada.

Límite inferior de cuantificación

Se determinó con base en el 5% del C_{max} reportado para el analito de interés, que en este análisis fue 0.3 ug/mL, tal como se muestra en la figura 3.

Figura 3. Cromatograma en Método, visualización del comportamiento del Límite Inferior de Cuantificación (0.3ug/mL) de Ganciclovir (Analito), y Metformina (Estándar interno), en muestra plasmática.



Curva de calibración

Se caracterizó con al menos seis concentraciones distintas y se definió mediante un modelo matemático que describió la relación entre la concentración y la respuesta. Los datos de concentración recuperada no deben variar en más del 15% de la concentración nominal excepto para el límite inferior que puede ser hasta el 20%. Se caracterizaron los siguientes puntos en la curva: 0.3 ug/mL, 0.5 ug/mL, 1 ug/mL, 5 ug/mL, 10 ug/mL, 30 ug/mL. El modelo que se utiliza para describir la relación entre la concentración y respuesta es la ecuación de la recta:

$$y = mx + b$$

Tal como se muestra en la figura 4 se muestra la curva de calibración promedio.

Figura 4. Curva de Calibración Promedio

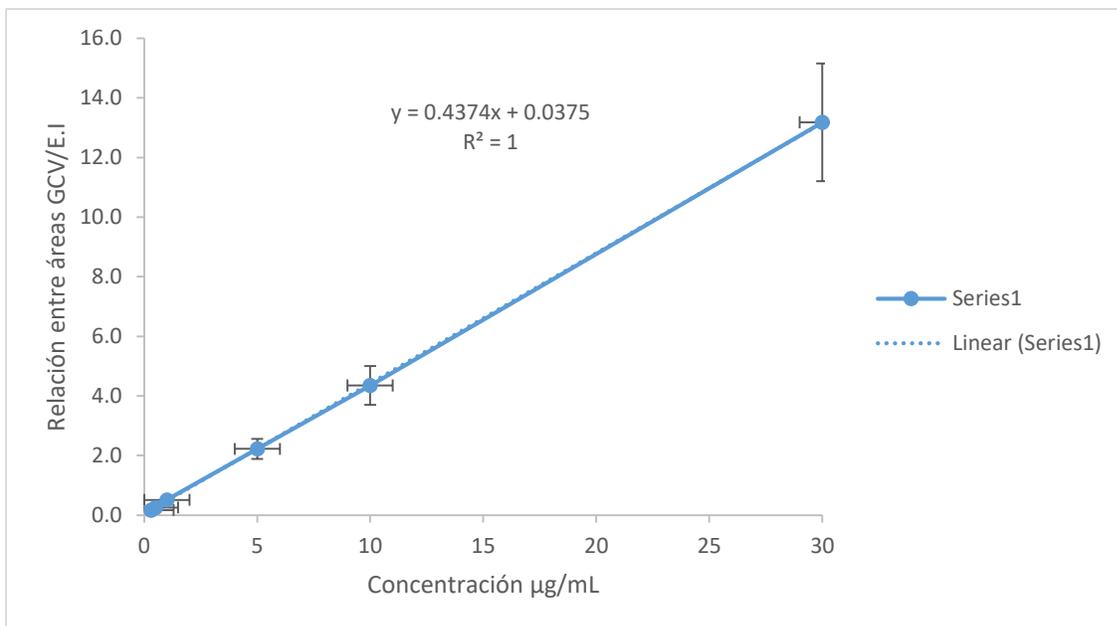


Tabla 3. Curva de concentraciones que describen el intervalo en el cual se cuantifica el compuesto GCV.

	Conc. teórica	Curva1 conc.	Curva2 conc.	Curva3 conc.	Promedio	DS	CV
CC1	0.3	0.2674	0.3167	0.3260	0.3034	0.0257	8.4792
CC2	0.5	0.5396	0.5396	0.4669	0.5154	0.0343	6.6587
CC3	1	1.0306	1.1653	1.0566	1.0841	0.0583	5.3811
CC4	5	5.0028	4.9905	4.9991	4.9975	0.0052	0.1036
CC5	10	9.9421	9.7261	9.9292	9.8658	0.0989	1.0029
CC6	30	30.0175	30.0870	30.0221	30.0422	0.0317	0.1056

Precisión y exactitud

La precisión se evaluó en términos de repetibilidad y reproducibilidad. La exactitud se calculó evaluando el coeficiente de variación de los datos anteriores, los cuales deben ser inferiores al 15% para todos los puntos de control y 20% para el LIC.

Reproducibilidad

La reproducibilidad del método empleado se evaluó analizando al menos por quintuplicado en tres corridas analíticas diferentes y en al menos 2 días, las muestras control LIC, MCB, MCM y MCA. Demostrando la precisión bajo las mismas condiciones de operación en un intervalo corto de tiempo, tabla 2.

Tabla 4. Reproducibilidad Intradía

INTRADÍA	Concentración teórica	Concentración experimental	DS	CV	%V
L.I.C	0.30	0.3552	0.0189	5.3223	18.4027
M.C. B	0.40	0.4540	0.0163	3.5792	13.5084
M.C.M	3.00	2.9979	0.0585	1.9504	-0.0712
M.C. A	20.00	19.9183	0.5846	2.9351	-0.4083

Bajo la misma dinámica para demostrar la precisión bajo las variaciones que comúnmente pueden ocurrir dentro del laboratorio: diferentes días, diferentes analistas, diferentes equipos. Se demuestra la precisión bajo las mismas condiciones en diferentes días, tabla 5.

Tabla 5. Reproducibilidad Interdía

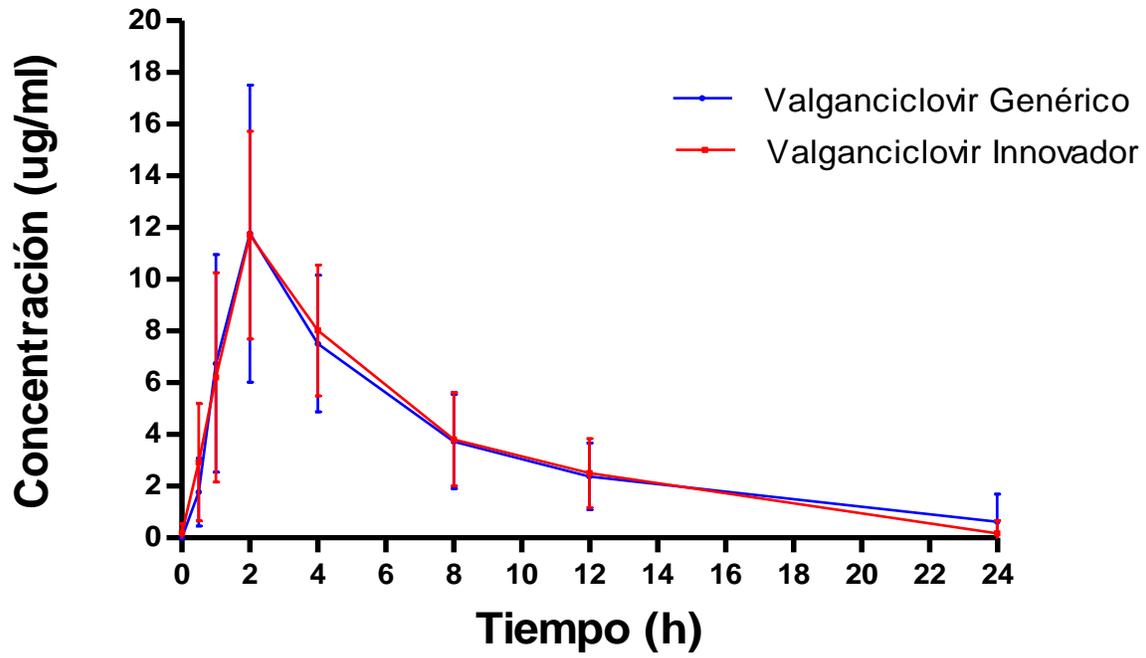
INTERDÍA	Concentración teórica	Concentración experimental	DS	CV	%V
L.I.C	0.3	0.3476	0.0144	4.1406	15.8640
M.C.B	0.4	0.4583	0.0145	3.1621	14.5852
M.C.M	3	3.0415	0.0196	0.6441	1.3829
M.C.A	20	20.1308	0.1549	0.7696	0.6539

Comparación de parámetros farmacocinéticos

Todos los pacientes reclutados fueron evaluados con ambas formulaciones, se mantuvieron estables y ninguno presentó infección por CMV durante el periodo de estudio. Los medicamentos concomitantes se mantuvieron estables durante ambas mediciones en todos los pacientes

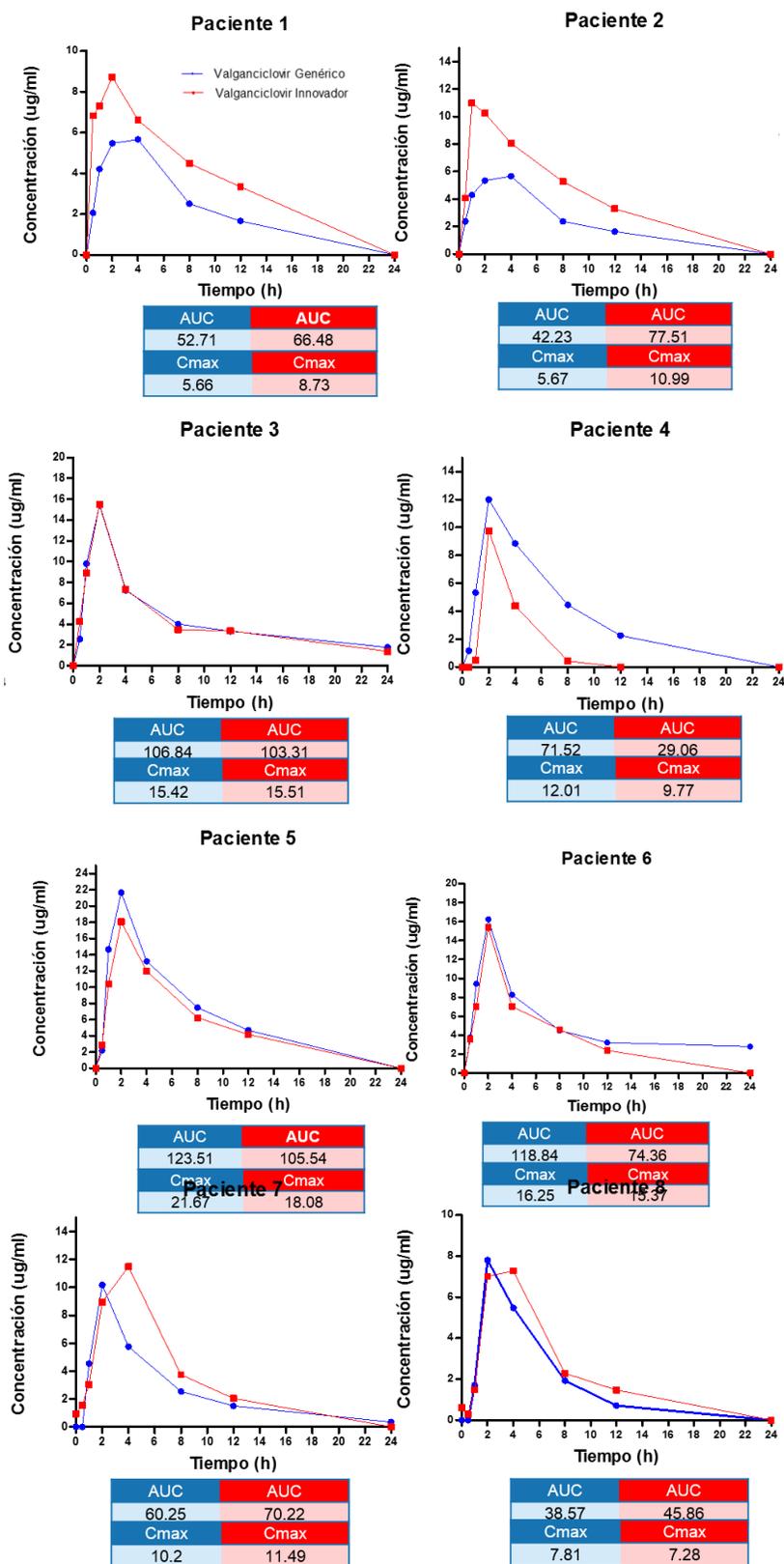
Al comparar los parámetros farmacocinéticos no encontramos diferencias entre ambas formulaciones, AUC_{0-24} (innovador 71.54 ± 25.91 vs genérico 76.81 ± 34.62 ng*h/mL, $p= 0.610$), C_{max} (innovador 12.15 ± 3.77 y genérico 11.83 ± 5.65 ng/mL, $p= 0.764$) y T_{max} (innovador 3.0 ± 1.06 h vs genérico 1.87 ± 0.35 h, $p=0.317$), tal como se muestra en la figura 5.

Figura 5. Curva tiempo-concentración con la comparación de concentración plasmática entre valganciclovir genérico con valganciclovir innovador.



Los valores individuales por cada sujeto de estudio se muestran en la figura 6.

Figura 6. Curva tiempo-concentración entre ambas formulaciones por individuo



No encontramos diferencias para los promedios de los parámetros bioquímicos medidos con ambas formulaciones, tal como se observa en la tabla 6.

Tabla 6. Parámetros bioquímicos durante el estudio entre ambas formulaciones.

Variable	Genérico	Innovador	p
Hb (g/dl (media, D.S.))	13.07 ± 1.92	13.57 ± 2.2	0.16
Pla (K/uL) (media, D.S.)	231 ± 91.35	241 ± 69.64	0.56
Leu (*10 ³) (media, D.S.)	6.10 ± 2.16	6.31 ± 2.04	0.63
Glu (mg/dL) (media, D.S.)	80.37 ± 19.19	80.5 ± 18.80	0.96
Crea (mg/dl) (media, D.S.)	1.21 ± 0.33	1.17 ± 0.30	0.22
BUN (mg/dL) (media, D.S.)	18.52 ± 4.83	18.55 ± 4.08	0.98
Tacrolimus (ng/ml) (media, D.S.)	9.47 ± 3.27	9.42 ± 1.93	0.95

Para el análisis de bioequivalencia, aplicamos el procedimiento propuesto por Schuirmann[16] adoptado desde los años 80 por la FDA y otras agencias regulatorias en el mundo, el cual consiste en realizar una prueba de “t” de una cola para examinar la hipótesis $0.8 < ABC^A / ABC^B$. Posteriormente, se realiza una segunda prueba de “t” de una cola para la hipótesis $ABC^A / ABC^B < 1.2$. Se declara bioequivalencia si no existen diferencias significativas en ambas pruebas “t”. Por lo general se utiliza un nivel de significancia del 95% ($p < 0.05$) para cada prueba “t” de una cola, de manera que la probabilidad acumulada máxima en ambas pruebas no sea mayor a $p = 0.1$. En nuestros resultados observamos variabilidad interindividual tanto en la relación de AUC_{0-24} como en la C_{max} , como se muestra en la tabla 7 y 8.

Tabla 7. Resultados de AUC_{0-24} entre ambas formulaciones.

Sujeto	ABC₀₋₂₄ Innovador	ABC₀₋₂₄ Genérico	ABC^I₀₋₂₄ / ABC^G₀₋₂₄
1	66.48	52.71	1.26
2	77.51	42.23	1.83
3	103.31	106.84	0.96
4	29.06	71.52	0.40
5	105.54	123.51	0.85
6	74.36	118.84	0.62
7	70.22	60.25	1.16
8	45.86	38.57	1.18

Tabla 8. Resultados de AUC₀₋₂₄ entre ambas formulaciones.

Sujeto	C _{max} Innovador	C _{max} Genérico	C _{max} / C _{max} ^G
1	8.73	5.66	1.54
2	10.99	5.67	1.98
3	15.51	15.42	1.00
4	9.77	12.01	0.81
5	18.08	21.67	0.83
6	15.37	16.25	0.94
7	11.49	10.2	1.12
8	7.28	7.81	0.93

La prueba “t” para evaluar la hipótesis $0.8 < ABC^A/ABC^B$ resultó ($p=0.91$), y la segunda prueba “t” $ABC^A/ABC^B < 1.2$ también resultó no significativa ($p=0.16$); y para probar la hipótesis $0.8 < C_{max}^A/C_{max}^B$ se obtuvo ($p=0.91$) y $C_{max}^A/C_{max}^B < 1.2$ fue ($p=0.34$). Con lo que se puede aceptar que existe bioequivalencia entre ambas formulaciones.

Discusión

Desde el 2001 la FDA aprobó valGCV como profilaxis para CMV basados en los resultados de un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego en 364 pacientes que recibieron valGCV 900 mg al día o ganciclovir VO 1000 mg cada 6 horas por 100 días, obteniendo en promedio un AUC₀₋₂₄ 48.2 ug/h/mL [15] en el brazo de valGCV, similar a lo encontrado en otro reporte realizado en receptores de trasplante hepático (AUC₀₋₂₄ 41.7 ug/h/mL) [14].

La monitorización de concentraciones plasmáticas de los fármacos empleados en receptores de trasplante renal, es una práctica que provee la seguridad de conocer el comportamiento de una formulación, en el caso de los genéricos, para su aprobación son evaluados en sujetos sanos, sin embargo los receptores de trasplante renal presentan diferentes características como: edad, peso, superficie corporal, comorbilidades, fármacos concomitantes o alteraciones en la TFG, donde dichas condiciones podrían alterar su perfil farmacocinético. La biodisponibilidad de valGCV en sujetos sanos es distinta a la observada en sujetos con alteración de la función renal, Czock et al [19], demostraron que sujetos sanos después de una dosis de vaGCV 900 mg, tuvieron una C_{max} 5.8±1.7 ug/mL, AUC_{0-∞} 28.1 ± 5.8 h·ug/mL, T_{max} 2±1 h, comparado con sujetos con alteración en la función renal (TFGe 21-50 ml/min) que resultaron con concentraciones más altas y a un tiempo más prolongado (C_{max} 7.1±1.6 ug/mL, AUC_{0-∞} 100 ± 54 h·ug/mL, T_{max} 3.0±1.1 h); es así que surge la necesidad de evaluar si son similares los parámetros farmacocinéticos

entre la formulación innovadora y genérica en sujetos con trasplante renal bajo profilaxis con valGCV. Con este estudio demostramos que en receptores de trasplante renal bajo profilaxis para CMV con valGCV 900 mg/día genérico se obtuvieron parámetros farmacocinéticos similares (AUC_{0-24} y C_{max}) a los observados con valGCV innovador.

En nuestro estudio encontramos valores más altos para AUC_{0-24} en ambas formulaciones (innovador 71.54 ± 25.91 ng*h/mL, genérico 76.81 ± 34.62 ng*h/mL), es posible que esta diferencia se deba a que los sujetos incluidos en son únicamente receptores de trasplante renal, en cambio en otros reportes se han incluido receptores de diferentes tipos de órganos sólidos donde existen diversos factores que pueden modificar la farmacocinética desde alteraciones en la absorción, TFG y medicamentos concomitantes; otra posible explicación estaría relacionada a una mayor absorción del fármaco secundario a la temporalidad entre la dosis de valGCV y el tiempo de consumo de alimentos en este estudio, acorde a lo que ya se ha demostrado en otros reportes [8].

La importancia de determinar los niveles plasmáticos en sangre de un fármaco radica en establecer la concentración mínima efectiva donde concentraciones inferiores a ese límite se traducen en un efecto insuficiente o falla terapéutica, mientras que concentraciones por encima de la concentración máxima tolerada pueden incrementar eventos adversos y toxicidad, y la concentración que se encuentra entre estos dos límites es conocida como ventana terapéutica; acorde a lo encontrado por Wiltshire et al [9], en sujetos bajo profilaxis con valGCV 900 mg/día que alcanzaron AUC_{0-24} 50 ug/h/mL tenían pocas posibilidades de desarrollar viremia (1.3%), en cambio aquellos que tuvieron AUC_{0-24} 25 ug/h/mL tuvieron hasta 8 veces más de riesgo de desarrollar viremia, es así que podemos considerar que en nuestro estudio ambas formulaciones alcanzaron concentraciones plasmáticas dentro de lo que se considera ventana terapéutica, sin embargo no realizamos determinación de viremia para CMV ya que todos los sujetos se encontraban bajo profilaxis, por lo que no se puede determinar con certeza la incidencia de viremia.

La función renal influye en el aclaramiento de valGCV, el empleo de medicamentos concomitantes como inhibidores de calcineurina y su efecto hemodinámico intraglomerular o TMP-SMX pueden alterar el aclaramiento de valGCV [20,21], en nuestro estudio, todos los sujetos se encontraban con TFGe mayor de 60 ml/min/1.73m² y estaban recibiendo varios fármacos, sin embargo no encontramos alteraciones en el perfil farmacocinético con ambas formulaciones, por lo que es factible que estos efectos previamente reportados no sean reproducibles cuando se tiene una TFG aceptable.

La variabilidad interpaciente de las concentraciones de valGCV dependen de factores como absorción, volumen de distribución, entre otros. Para el caso de nuestro estudio, a pesar de encontrar una variabilidad entre los parámetros farmacocinéticos en los sujetos analizados, esto no impactó en los resultados finales donde el análisis grupal la diferencia de las medias entre las formulaciones a comparar no fue significativa.

Este es el primer estudio realizado en receptores de trasplante renal, donde se comparan los parámetros farmacocinéticos de valGCV innovador vs genérico, una de nuestras limitaciones es que únicamente evaluamos el comportamiento farmacocinético de una sola formulación de valGCV genérico, por lo que no se podrían generalizar estos resultados con otros genéricos. Por otro lado, este estudio no fue diseñado con el objetivo de evaluar eficacia y/o seguridad, con lo que se tendría que realizar un estudio prospectivo con el fin de evaluar ambas formulaciones con este propósito. Únicamente evaluamos sujetos con trasplante renal con TFG por encima de 60 ml/min/1.73m², por lo que será necesario conocer el perfil farmacocinético de ambas formulaciones en caso de una TFG alterada en estudios subsecuentes.

Conclusiones

En conclusión, en este análisis reportamos la importancia de realizar estudios de farmacocinética en población blanco (receptores de trasplante renal) para conocer el comportamiento de los medicamentos genéricos que son estudiados en sujetos sanos.

Se logró desarrollar un método de análisis estandarizado y validado acorde a lo establecido por la norma oficial mexicana.

Con los resultados de este estudio demostramos que en receptores de trasplante renal bajo profilaxis para CMV con valGCV 900 mg/día genérico se obtuvieron parámetros farmacocinéticos similares (AUC₀₋₂₄ y C_{max}) a los observados con valGCV innovador. Ambos alcanzaron concentraciones plasmáticas en ventana terapéutica por igual, así pues, el uso de la formulación genérica podría ser una estrategia para reducir costos, sin embargo se necesitan otros estudios para evaluar el comportamiento farmacocinético con otro tipo de formulación genérica de valGCV.

Bibliografía

1. Fisher RA. Cytomegalovirus infection and disease in the new era of immunosuppression following solid organ transplantation. *Transpl Infect Dis* 2009; 11:195-202
2. Mocarski ES. Cytomegalovirus and their replication. In: Fields BN, Knipe DM, Howley PM, eds. *Virology*. Philadelphia: Lippincott_Raven; 1996, p. 2247-492.
3. Vancikova Z, Dvorak P. Cytomegalovirus infection in immunocompetent and immunocompromised individuals- A review. *Curr Drugs Targets Immune Endocr Metabol Disord*. 2001; 1:179-87.
4. Kotton CN, Kumar D, Caliendo AM, et al. International consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplantation* 2010; 89:779-95.
5. Kotton CN. CMV: prevention, diagnosis and therapy. *Am J Transplant* 2013; 13:24-40.
6. Paya C, Humar A, Domínguez E, et al. Efficacy and safety of valganciclovir vs oral ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2004; 4:611-20.
7. Humar A, Lebranchu Y, Vincenti F, et al. The efficacy and safety of 200 days valganciclovir prophylaxis in high-risk kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2010; 10:1228-37.
8. Brown F, Banken L, Saywell K, et al. Pharmacokinetics of valganciclovir and ganciclovir following multiple oral dosages of valganciclovir in HIV- and CMV-seropositive volunteers. *Clin Pharmacokinet* 1999; 37: 167.
9. Wiltshire H, Hirankarn S, Farrell C et al. Pharmacokinetic profile of ganciclovir after its oral administration and from its prodrug, valganciclovir, in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2005; 44: 495
10. Johnston A, Holt DW. Substandard drugs: a potential crisis for public health. *Br J Clin Pharmacol* 2014; 78(2):218-43.
11. Petan JA, Undre N, First MR, Saito K, Ohara T, Iwabe O, Mimura H, Suzuki M, Kitamura S. Physicochemical properties of generic formulations of tacrolimus in Mexico. *TransplantProc* 2008; 40: 1439–42.
12. Esquivel A, González-Ramírez R, Alberú J, Gracida C, Medeiros M, Castañeda-Hernández G. Comparison of dissolution properties of 2 enteric-coated formulations containing mycophenolate sodium: Myfortic vs Femulan. *Transplant Proc* 2010; 42: 353–6.

13. Jacobo-Cabral CO, Garc_ia-Roca P, Reyes H, Lozada-Rojas L, Cruz-Antonio L, Medeiros M, Castañeda-Hernandez G. (2014) Limustin a non-innovator tacrolimus formulation, yields reduced drug exposure in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant*, 18: 706–713.
14. Pescovitz MD, Rabkin J, Merion RM, et al. Valganciclovir results in improved oral absorption of ganciclovir in liver transplant recipients. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44:2811–2815.
15. Paya C, Humar A, Dominguez E, et al. Efficacy and safety of valganciclovir vs. oral ganciclovir for prevention of cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant* 2004;4:611–620.
16. Schuirmann D. A Comparison of the Two One-Sided Tests Procedure and the Power Approach for Assessing the Equivalence of Average Bioavailability. *J. Pharmacokinet. Biopharm.* 15: 657-680, 1987.
17. Souich P, Besner JG, Caillé G. Pharmacodynamics as a tool to assess the bioequivalence of non-systemically available drugs: size of the sample required. *Biopharmaceutics & Drug Disposition*, Vol. 13, 233-242 (1992).
18. Price, C. P. (1984). Analytical techniques for therapeutic drug monitoring. *Clinical Biochemistry*, 17(1), 52-56.
19. Czock D, Scholle C, Rasche FM, Schaarschmidt D, Keller F. Pharmacokinetics of valganciclovir and ganciclovir in renal impairment. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Aug;72(2):142-50.
20. Jung D, AbdelHameed MH, Hunter J, et al. The pharmacokinetics and safety profile of oral ganciclovir in combination with trimethoprim in HIV- and CMV-seropositive patients. *Br J Clin Pharmacol* 1999; 47: 255.
21. Klein IHHT, Abrahams A, Van Ede T, et al. Different effects of tacrolimus and cyclosporine on renal hemodynamics and blood pressure in healthy subjects. *Transplantation* 2002; 73:732