

11281

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO  
FACULTAD DE MEDICINA

# BIODISPONIBILIDAD DE CICLOSPORINA EN DIFERENTES POBLACIONES DE PACIENTES PEDIÁTRICOS

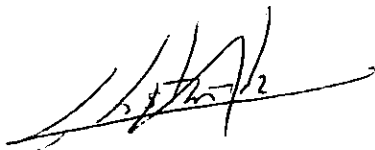
20

## TESIS

Que para optar por el grado de  
DOCTOR EN CIENCIAS BIOMÉDICAS (FARMACOLOGÍA) presenta:  
Mara Medeiros Domingo  
México D.F., 2000

### Director de Tesis:

Dr. Gilberto Castañeda Hernández



### Comité Tutorial:

Dr. Gilberto Castañeda Hernández (*Tutor principal*)  
Dr. Francisco Javier Flores Murrieta  
Dr. Ismael Lares Asseff

281287

2000



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**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.

## AGRADECIMIENTOS:

El presente trabajo sólo pudo realizarse gracias al apoyo y sustento de mucha gente a mi alrededor.

*Un lugar especial para mi esposo, Antonio Sacristán, que durante muchos años me ha acompañado en todos mis desvelos dándome su apoyo incondicional y consuelo, su presencia ha sido fundamental mi vida.*

*Agradezco a mis padres pues siempre fomentaron en mi el espíritu inquisitivo y me dieron su ejemplo a seguir.*

*Agradezco profundamente a mis maestros, el Dr. Ricardo Muñoz Arizpe y el Dr. Gilberto Castañeda Hernández por guiarme paso a paso en el arduo camino de la investigación con dedicación y sabiduría*

*A los Doctores Francisco Javier Flores Murrieta e Ismael Lares Asseff, miembros del Comité Tutoral por su paciencia y atinados comentarios que enriquecieron este trabajo.*

*Al personal de la Sección de Terapéutica Experimental del CINVESTAV, IPN, en particular a José Pérez Urizar y Guadalupe Vidal que siempre tuvieron la mejor disposición para ayudarme y me enseñaron a realizar tareas que me eran completamente desconocidas*

*Al personal del Departamento de Farmacología de la UNAM, en particular al Dr. Miguel Luján y Dr. Efraín Campos Sepúlveda quienes despertaron mi interés por la farmacología y la investigación desde el inicio de mi carrera*

*Al personal del Departamento de Nefrología del Hospital Infantil de México en particular al Dr. Benjamín Romero y Ana María Hernández*

*A los pacientes que participaron en los diferentes estudios de ésta tesis por haber confiado en mí y con su entusiasmo me han impulsado a seguir adelante*

*Agradezco también a CONACYT por el apoyo económico para realizar mis estudios de doctorado.*

*Esta tesis está dedicada a los pacientes enfermos renales  
que son atendidos en el Departamento de Nefrología del Hospital Infantil  
de México Federico Gómez y al personal que en este sitio labora.*

# INDICE

## RESUMEN

- Resumen .....3

## INTRODUCCIÓN GENERAL

- Introducción .....5
- Tabla 1. Enfermedades en las que se utiliza ciclosporina .....5
- Mecanismo de acción. ....5
- Figura 1. Estructura química de la ciclosporina .....6
- Figura 2. Mecanismo de acción .....6
- Presentaciones farmacéuticas .....7
- Farmacocinética .....8
  - Tabla 2. Distribución de la ciclosporina .....9
  - Figura 3. Metabolitos de ciclosporina .....10
- Interacciones medicamentosas .....11
- Tabla 3. Fármacos que interactúan con ciclosporina .....12
- Efectos adversos y toxicidad .....12
- Monitoreo terapéutico .....13
- Métodos de determinación de ciclosporina .....14
- Justificación. ....16
- Objetivos .....16
- Hipótesis generales .....16
- Bibliografía .....17

## ESTUDIO I. BIODISPONIBILIDAD COMPARATIVA DE LA CICLOSPORINA TRADICIONAL

VERSUS CICLOSPORINA EN MICROEMULSIÓN EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INSUFICIENCIA

RENAL CRÓNICA TERMINAL

- Antecedentes .....23
  - Tabla I.1. Principales diferencias farmacocinéticas de la CsA en microemulsión comparada con la formulación tradicional .....24
- Objetivo .....24
- Hipótesis .....24
- Material y métodos .....24
- Resultados .....26
  - Tabla I.2. Datos demográficos y secuencia en que las formulaciones de ciclosporina fueron administradas .....26
  - Tabla I.3. Parámetros farmacocinéticos en estado estacionario de CsA observados en diez niños con IRCT después de la administración de dos formulaciones orales: Sandimmun (SAN) y Neoral (NEO) .....27

- Figura I.A. Curva de concentración plasmáticas vs tiempo en diez pacientes con IRCT después de recibir cinco dosis de CsA 2.5mg/kg/día como SAN o NEO .....28
- Tabla I.4. Niveles en valle en estado estacionario observados antes de la administración de CsA 2.5mg/kg y 12 horas después en diez pacientes con IRCT .....28
- Discusión .....29
- Bibliografía .....30

## ESTUDIO II. FARMACOCINÉTICA DE CICLOSPORINA EN SÍNDROME NEFRÓTICO

- Antecedentes .....33
  - Cuadro II.1 Enfermedades glomerulares primarias asociadas a síndrome nefrótico .....33
  - Cuadro II.2. Causas de síndrome nefrótico secundario .....33
  - Epidemiología .....35
  - Clasificación histopatológica .....36
  - Cuadro II.3. Indicaciones de biopsia renal en el síndrome nefrótico .....36
  - Presentación clínica .....38
  - Cuadro II.4.Hallazgos clínicos y de laboratorio para el diagnóstico de SNI .....38
  - Cuadro II.5. Definiciones clínicas en el SNI .....40
  - Fisiopatología .....40
  - Complicaciones. ....41
  - Tratamiento .....42
  - Tratamiento con ciclosporina .....43
  - Cuadro II.6. Medicamentos inmunosupresores empleados en el síndrome nefrótico. Indicaciones y efectos adversos .....44
  - Modelos animales de síndrome nefrótico .....46
- Objetivos .....47
- Justificación. ....47
- Hipótesis .....47
- Material y Métodos .....47
- A. Síndrome nefrótico experimental. ....47
- B. Pacientes nefróticos .....48
- Esquema II.1 Cronograma de administración de CsA, Prednisona y realización de estudios farmacocinéticos .....49
- Resultados .....50
  - A. Modelo experimental .....50
    - Tabla II.1. Valores promedio  $\pm$  DS de peso, colesterol, triglicéridos y albúmina en ratas nefróticas y controles .....50

- Tabla II.2. Valores promedio y DS de los parámetros farmacocinéticos estudiados en ratas nefróticas y controles .....50
- Figura I.A. Curva de concentración plasmática vs tiempo de CsA en ratas nefróticas y controles .....51
- B. Pacientes nefróticos .....52
  - Tabla II.3. Características generales de los pacientes. .... 51
  - Tabla II.4. Tipo de respuesta y tiempo en el que se alcanzó la remisión en 10 pacientes con SNCR tratados con CsA .....52
  - Tabla II.5. Variables bioquímicas en diez pacientes con síndrome nefrótico antes de iniciar CsA, una y 24 semanas después de iniciado el tratamiento .....52
  - Tabla II.6.- Parámetros farmacocinéticos en las semanas 1 y 24 en los pacientes que respondieron y en los que no hubo respuesta al tratamiento (valor promedio  $\pm$  DS) .....53
  - Tabla II.7. Estado clínico de cada paciente en la semana 1 y 24 así como los valores de ABC y niveles en valle .....53
  - Figura II.B. Area bajo la curva de concentración plasmática vs tiempo en 10 pacientes con síndrome nefrótico, semana 1 y semana 24 .....54
  - Figura II.C. Area bajo la curva de CsA en las semanas 1 y 24 en los pacientes que respondieron y en los pacientes sin respuesta .....55
  - Figura II.D. Valores de colesterol inicial según el tipo de respuesta .....55
- Discusión .....56
- Bibliografía .....58

### ESTUDIO III. ESTABLECIMIENTO DE TIEMPOS ÓPTIMOS DE MUESTREO

- Introducción .....63
  - Figura III.A. Cálculo del ABC mediante la correlación de ABC con un punto de muestreo .....64
  - Figura III.B. Cálculo del ABC mediante la correlación del ABC con varios puntos de muestreo .....64
- FASE I. Evaluación del desempeño predictivo de varias ecuaciones para la determinación del ABC de CsA en pacientes pediátricos que recibieron las dos formulaciones de CsA .....65
  - Material y Métodos .....65
    - Figura III.C. Estimación del sesgo de un modelo de muestreo limitado mediante el cálculo del error promedio (MPE) .....67
    - Figura III.D. Estimación de la precisión de un modelo de muestreo limitado mediante el cálculo del error cuadrado promedio (MSE) .....67
    - Figura III.E. Desempeño predictivo relativo para comparar dos modelos de muestreo limitado .....68

• Resultados .....	.68
• Tabla III.1. Coeficientes de correlación, sesgo y precisión de tres ecuaciones de muestreo limitado para estimar el ABC en estado estacionario de pacientes pediátricos que recibieron CsA en sus dos formulaciones .....	.69
• Tabla III.2. Comparación del desempeño predictivo en términos de sesgo y precisión relativos expresados como $\Delta$ PE y $\Delta$ MSE de las ecuaciones de muestreo limitado para calcular el ABC en estado estacionario de pacientes pediátricos que recibieron dos formulaciones de ciclosporina .....	.69
• Tabla III.3. Comparación de los valores observados de ABC de CsA en sus dos formulaciones con 10 puntos de muestreo y los valores de ABC predichos con el modelo de muestreo limitado con la ecuación ( $ABC = 2.24 * C_{2h} * 24.6 * C_{12h} - 53.9$ ) en diez niños tratados con CsA 2.5mg/kg cada 12 horas como Sandimmun o Neoral en un diseño cruzado .....	.70
• Figura III.F. Relación entre el ABC predicha con la ecuación ( $ABC = 7.3 * C_{5h} + 659$ ) vs ABC observada en 10 niños con IRCT que recibieron dos formulaciones de ciclosporina .....	.71
• Figura III.G. Relación entre el ABC predicha con la ecuación ( $ABC = 2.24 * C_{2h} * 24.6 * C_{12h} - 53.9$ ) vs ABC observada en 10 niños con IRCT que recibieron dos formulaciones de ciclosporina .....	.71
• Figura III.H. Relación entre la $C_{max}$ observada vs predicha con la ecuación $C_{max} = C_{2h} + 22.8$ .....	.71
• Discusión .....	.72
• FASE II. Validación de modelo de muestreo limitado para obtener el área bajo la curva de concentración vs tiempo en pacientes pediátricos con trasplante renal .....	.73
• Objetivo. ....	.74
• Material y Métodos .....	.74
• Resultados. ....	.75
• Tabla III.4. Concentración de CsA a las 0 y 12 horas en nueve pacientes pediátricos con trasplante renal .....	.75
• Tabla III.5. Dosis de CsA, tiempo de trasplante renal y creatinina sérica en nueve pacientes pediátricos. ....	.76
• Figura III.I. Curva de concentración plasmática vs tiempo de CsA de los nueve pacientes incluidos en el estudio .....	.76
• Tabla III.6. Parámetros farmacocinéticos ( $C_{max}$ , $t_{max}$ , y vida media) de CsA en nueve niños con trasplante renal .....	.77
• Tabla III.7. Valores de ABC observados y predichos con el modelo de muestreo limitado en nueve niños con trasplante renal .....	.77



• Figura III.J. Relación entre el ABC de CsA predicha con el MML propuesto y el ABC observada en nueve niños con trasplante renal .....	78
• Figura III.K. Relación entre la $C_{max}$ observada vs predicha con la ecuación $C_{max} = C_{2h} + 22.8$ en nueve niños con trasplante renal bajo tratamiento con CsA .....	78
• Discusión .....	79
• Tabla III.8. Parámetros farmacocinéticos de la ciclosporina en microemulsión en las diferentes poblaciones estudiadas .....	80
• Bibliografía .....	80

## APÉNDICE

- Medeiros DM, Gómez AC, Urizar JP, Campos Sepúlveda AE, Saldaña IM, Ramírez LE, Romero NB, Velásquez JLF, Castañeda-Hernández G, Muñoz AR. Bioavailability of two oral formulations of cyclosporin A in uremic children before renal transplantation. *Pediatr Transplantation* 1998; 2: 1-5.
- Castañeda-Hernández G, Pérez-Urizar J, Medeiros M. Current bioequivalence criteria are adequate for oral cyclosporin A formulations. *Ther Drug Monit* 1998, 20 (6): 722-723.
- Medeiros DM, Pérez-Urizar J, Muñoz AR, Castañeda-Hernández G. Limited sampling model for area-under-the-curve monitoring in pediatric patients receiving either sandimmun or neoral cyclosporine. *Pediatr Transplantation*, 1999; 3:225-230.

## RESUMEN

La ciclosporina (CsA) es un medicamento inmunosupresor que en la práctica nefrológica se emplea para prevenir rechazo agudo en receptores de trasplante renal y en el tratamiento de pacientes con síndrome nefrótico. El monitoreo terapéutico es difícil ya que muestra una gran variabilidad farmacocinética intra e interpacientes, más aún tratándose de pacientes pediátricos. Existe poca información de la farmacocinética en niños y los niveles terapéuticos que se utilizan en esta población son extrapolados de población adulta. Existe en el mercado una nueva formulación de CsA que mejora la absorción intestinal en adultos se requieren estudios en pacientes pediátricos para optimizar su uso.

Los objetivos del proyecto fueron los siguientes:

- 1.- Determinar las diferencias en los parámetros farmacocinéticos entre la CsA tradicional y la nueva formulación de microemulsión en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) en programa de diálisis peritoneal continua ambulatoria, en espera de trasplante renal.
- 2.- Estudiar la biodisponibilidad de CsA en el síndrome nefrótico durante las fases de recaída y remisión.
- 3.- Establecer los tiempos óptimos de muestreo de CsA en pacientes pediátricos.

Nuestros resultados indican que en niños con IRCT los valores de ABC y  $C_{max}$  que se alcanzan con la formulación en microemulsión son 90 y 130% mayores respectivamente que los que se observan con la formulación tradicional. En los pacientes estudiados las dos formulaciones de CsA no se comportaron como formulaciones bioequivalentes. Es necesario ampliar la información sobre la eficacia y seguridad de la microemulsión en la población pediátrica así como la estrategia de monitoreo terapéutico más adecuada antes de que pueda ser establecido un patrón claro de sustitución.

En los estudios realizados en el modelo animal de síndrome nefrótico y en pacientes pediátricos con síndrome nefrótico corticorresistente que recibieron CsA durante 24 semanas se observó que existe una mayor biodisponibilidad de la CsA durante el estado nefrótico, con un incremento en el ABC de alrededor de 40% tanto en los animales de experimentación como en los pacientes que responden al tratamiento. Los pacientes con remisión parcial y los que no respondieron al tratamiento no tuvieron cambios en la biodisponibilidad de la CsA. Se desarrolló un modelo de muestreo limitado (MML) en niños urémicos que considera las concentraciones de CsA a las 2 y 12 horas para predecir el ABC de las dos formulaciones del medicamento disponibles en el mercado. Posteriormente se corroboró la utilidad del muestreo a las 2 y 12 horas para predecir en forma confiable el ABC de CsA en los niños con trasplante renal que recibieron la formulación Neoral y puede ser de utilidad para el seguimiento de estos pacientes a largo plazo con la ventaja de que permite conocer la concentración mínima, la  $C_{max}$  y el ABC de forma simultánea.

## ABSTRACT

Cyclosporin A (CsA) is widely used as a prophylactic immunosuppressive therapy in organ transplantation and in the treatment of several immunological diseases. Notwithstanding, since there is an important intra- and interindividual variability after oral administration the design of adequate dosing regimen may be a difficult task, particularly in children, in whom the CsA absorption is more variable. The objectives of the study were:

- 1.- Examine the bioequivalence of traditional formulation of CsA and the microemulsion by comparing the bioavailabilities of these two formulations in children with end stage renal disease, undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis.
- 2.-Describe the bioavailability of CsA during relapse and remission of nephrotic syndrome.
- 3.-Establish the optimal sampling time for CsA formulations in children and evaluate the predictive performance of several limited sampling equations for the determination of the area-under the curve.

Our results indicate that in children with end stage renal disease the microemulsion formulation of CsA yielded area-under-the-curve and peak concentration values that were 90 and 130% higher respectively, than those observed with the traditional formulation. Information on the efficacy and safety of the microemulsion in pediatric patients, as well on an adequate therapeutic drug monitoring strategy, is needed before a clear substitution pattern can be established.

The studies performed in patients and nephrotic animals showed a 40% increased CsA bioavailability during relapse of nephrotic syndrome.

We developed a limited sampling model including concentration data at 2 and 12 hours that allows the estimation of area-under-the curve, peak concentration and trough levels yielding a complete pharmacokinetic profile in children exposed to both CsA formulations. The utility of this model was corroborated in pediatric transplant recipients.

## I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La ciclosporina (CsA) es un metabolito del hongo *Tolypocladium inflatum gams* que se descubrió en 1969-1970, inicialmente le se investigó por su actividad antibiótica y antifúngica que resultó ser limitada, sin embargo en 1972 se le encontraron propiedades inmunosupresoras. En 1978 se administró por primera vez a un grupo de pacientes con trasplante renal [1] y a partir de entonces ha jugado un papel fundamental en la terapia inmunosupresora de una gran variedad de trasplantes [2]. Posteriormente se le utilizó en otros padecimientos de origen inmunológico y hoy en día la lista de enfermedades en las que se utiliza como inmunosupresor de primera o segunda línea es extensa [3-12] (Tabla 1).

**Tabla 1. Enfermedades en las que se utiliza ciclosporina**

- Trasplantes
  - Renal*
  - Hepático*
  - Corazón*
  - Corazón-Pulmón*
  - Pulmón*
  - Médula Osea*
  - Córnea*
  - Intestino*
- Anemia aplástica
- Artritis reumatoide
- Psoriasis
- Dermatitis atópica
- Colitis ulcerativa crónica
- Miastenia gravis
- Uveítis
- Lupus eritematoso sistémico
- Síndrome nefrótico
- Granulomatosis de Wegener

Desde el punto de vista químico es un péptido cíclico de once aminoácidos con peso molecular de 1202.64, neutro e insoluble en agua pero altamente soluble en disolventes orgánicos y lípidos, con un coeficiente de partición de 4000 [3](Figura 1).

### MECANISMO DE ACCIÓN

La información sobre el efecto inmunosupresor de la CsA se ha incrementado a lo largo del tiempo a medida que avanzan los conocimientos en el terreno de la inmunología [1, 13-15] (Figura 2). Se conoce que la CsA ocasiona una supresión selectiva de la inmunidad celular al inhibir la activación y proliferación de los linfocitos T (LT). La CsA es liposoluble y atraviesa con facilidad la bicapa lipídica de la membrana celular por

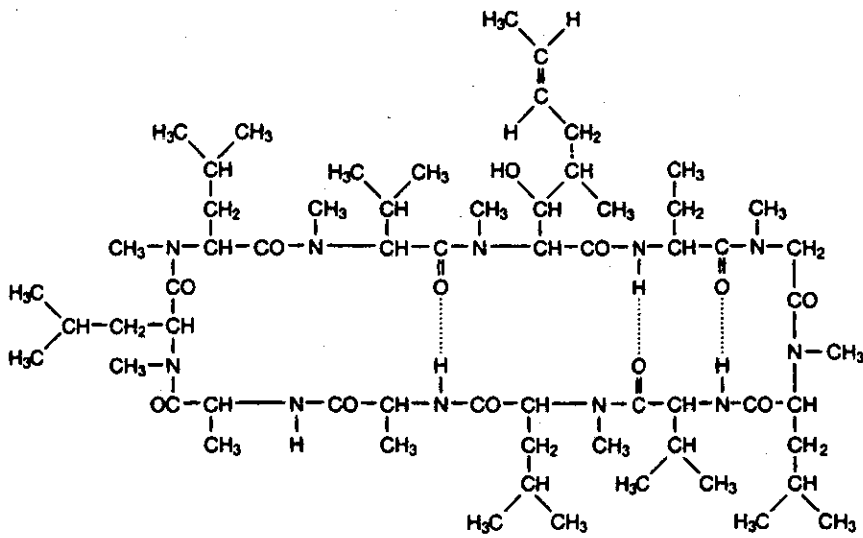


Figura 1.- Estructura química de la ciclosporina

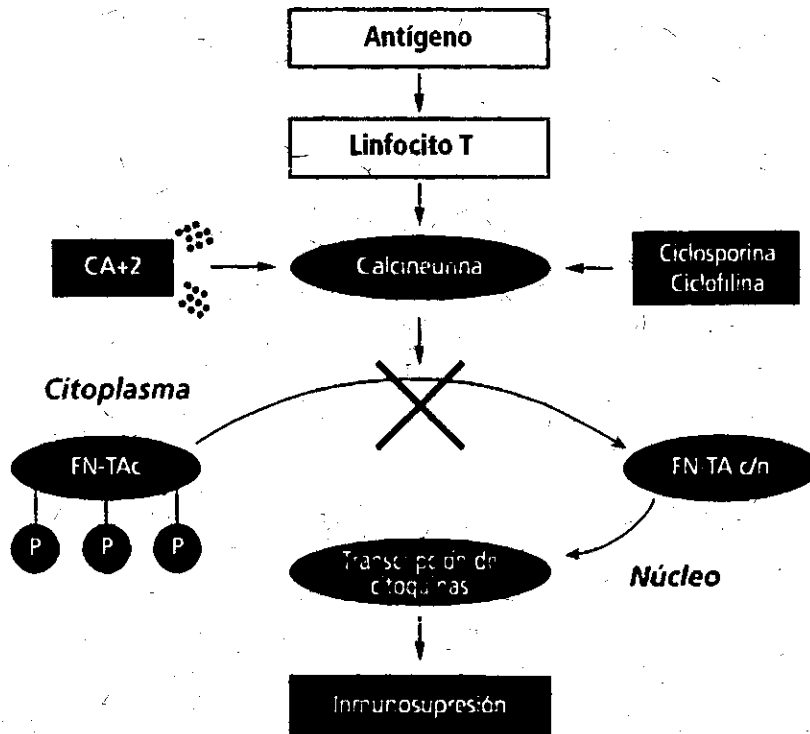


Figura 2.- Mecanismo de acción de la ciclosporina (ver texto)

medio de un mecanismo de transporte facilitado por un receptor de membrana no identificado. La CsA puede considerarse un profármaco, ya que requiere unirse a su ligando citoplasmático, la proteína ciclofilina para ejercer su efecto inmunosupresor. Se han identificado cuatro tipos de ciclofilinas A, B, C y D, la más estudiada es la ciclofilina A. El complejo ciclosporina-ciclofilina se une a la subunidad catalítica de la calcineurina, una fosfatasa dependiente de calcio y ejerce un efecto inhibitorio sobre esta proteína [13, 16, 17]. La calcineurina forma parte de la vía de transducción de señal del receptor de células T (TCR) y participa en la desfosforilación del factor nuclear de las células T activadas (NFATc) y su translocación al núcleo, en donde regula la transcripción de citoquinas como la interleucina 2 (IL-2). De esta manera la inhibición de la calcineurina mediada por CsA previene la expresión de IL-2, IL-3, IL-4, interferón gamma y factor de necrosis tumoral alfa, entre otras citoquinas. La producción de estas sustancias por los LT es fundamental en el proceso de rechazo del injerto para la proliferación y generación de LT citotóxicos. Otra hipótesis para explicar la acción inmunosupresora involucra un aumento en la expresión del RNA mensajero del factor transformador de crecimiento, citoquina que ejerce diferentes funciones y en estudios *in vitro* disminuye el crecimiento y la activación de los LT. También aumenta la producción de matriz extracelular y la expresión de la endotelina-1 en las células endoteliales. Estas acciones pueden explicar la acción inmunosupresora de la CsA y también algunos de los efectos adversos como el desarrollo de fibrosis renal, la hipertensión arterial y la propensión a desarrollar neoplasias malignas [17-19].

## **PRESENTACIONES FARMACÉUTICAS**

Existen tres tipos de presentaciones farmacéuticas en el mercado:

- 1.-Para uso intravenoso.- (Sandimmun®). Ampolleta de 1 mL que contiene 50 mg/mL de CsA en Cremophor-EL (base de aceite de castor polioxetilado) y alcohol, y se diluye 1:20 o 1:100 ya sea con solución salina al 0.9% o con glucosa al 5%. Por esta vía de administración existe mayor riesgo de efectos secundarios y reacciones anafilácticas.
- 2.-La ciclosporina tradicional. (Sandimmun®, Consupren®) Solución oleosa con base de aceite de maíz, aceite de maíz polioxetilado y etanol como excipientes. Contiene 100 g/L de CsA, con partición en el alcohol y en el aceite. También existe la presentación en cápsulas de gelatina blanda disponible en tres dosis diferentes: 25, 50 y 100 mg.
- 3.-Ciclosporina en microemulsión.- (Sandimmun Neoral®). El excipiente contiene un tensoactivo, un componente hidrofílico, un componente lipofílico y un disolvente, con el fin de obtener una mejor biodisponibilidad oral. Se presenta en solución de 100mg/L y en cápsulas de 25, 50 y 100 mg.

## FARMACOCINÉTICA

En comparación con la información disponible sobre la farmacocinética de la CsA en las diferentes poblaciones de pacientes adultos, existe poca información en los pacientes pediátricos con trasplante renal, y es aún más escasa cuando se considera su uso en otras patologías. Los cambios farmacocinéticos en los diferentes grupos etarios pediátricos se relacionan con: a) cambios en la composición corporal, ya que la proporción del agua corporal total con relación al peso es mayor en los niños pequeños; la distribución de la grasa, los cambios en el hematócrito y en la cantidad y el tipo de lipoproteínas, entre otros y b) el desarrollo de los diferentes aparatos y sistemas, tales como el desarrollo del tracto digestivo con el incremento progresivo de la longitud intestinal y de la superficie de absorción, así como de las vías metabólicas para eliminar sustancias, etc [20-22].

### Absorción

Administrada por vía oral la CsA se absorbe principalmente en el duodeno y en el yeyuno [3]. La presencia de bilis es fundamental para la absorción de la CsA en presentación tradicional, no así para la CsA en microemulsión. Una pequeña proporción se puede absorber en el íleo y el intestino grueso. La formulación en microemulsión se absorbe 50-90% más que la formulación tradicional [23]. La literatura señala que este aspecto cinético de la CsA es incompleto (aproximadamente un tercio de la dosis alcanza la circulación sistémica) y extremadamente variable de un paciente a otro e incluso en un mismo paciente ya que la absorción se afecta por el tipo de alimentos consumidos y el contenido de grasa en los mismos. Las concentraciones pico ocurren entre 2 y 4 horas después de la administración oral, sin embargo en algunos pacientes se presenta un segundo pico de 5 a 6 horas después del primero el que puede ocurrir debido a la circulación enterohepática, la reconversión de metabolitos nuevamente en CsA ó a un retraso en la absorción del fármaco secundario a la liberación de bilis. La longitud del intestino delgado es importante para la absorción por lo que los pacientes con intestino corto tienen una biodisponibilidad reducida [24]. También se debe considerar la administración de medicamentos concomitantes, tales como la metoclopramida, que incrementa el vaciado gástrico y aumenta la biodisponibilidad de la CsA, así como los pacientes que reciben enzimas pancreáticas que incrementan la absorción del 11 al 17% probablemente porque las enzimas ayudan a formar micelas [24-28]. Una fuente de variación en la biodisponibilidad oral de la CsA es la glicoproteína P, un transportador que se encuentra en el borde en cepillo de los enterocitos, y transporta xenobióticos, como la CsA, del citoplasma al exterior de la célula, limitando la absorción [29, 30].

### Distribución

La CsA se distribuye ampliamente en todos los tejidos del organismo. El volumen de distribución varía de 3.5 a 13L/Kg de peso corporal. El hígado, páncreas y tejido adiposo contienen las más altas concentraciones de CsA, lo cual refleja su lipofilicidad. De 50 a 70% de la CsA encontrada en sangre total está unida a la fracción celular, de la cual los eritrocitos son la porción atrapadora más importante (80%), en forma saturable y dependiente de la temperatura, mientras que a los linfocitos se une en 4-9%. El 30-50% restante se encuentra en la fracción

plasmática y 85-90% de esta fracción está a su vez unida a proteínas plasmáticas, principalmente lipoproteínas (Tabla 2). Las lipoproteínas de alta densidad (HDL) se unen al 43-57% de la CsA en plasma, las lipoproteínas de baja densidad (LDL) se unen al 25% y las de muy baja densidad (VLDL) se unen sólo al 2%. Tal parece que la LDL no sólo es transportadora de la CsA sino que puede facilitar su entrada a las células vía receptores de LDL [31, 32]. El volumen de distribución varía con la edad y probablemente se relaciona con la diferencia en la concentración de lipoproteínas [33]. La proporción de CsA unida a la fracción celular se incrementa a medida que la temperatura disminuye y el hematócrito aumenta. Por esta razón, los niveles en sangre total son el método preferido para el monitoreo terapéutico [3, 14, 34].

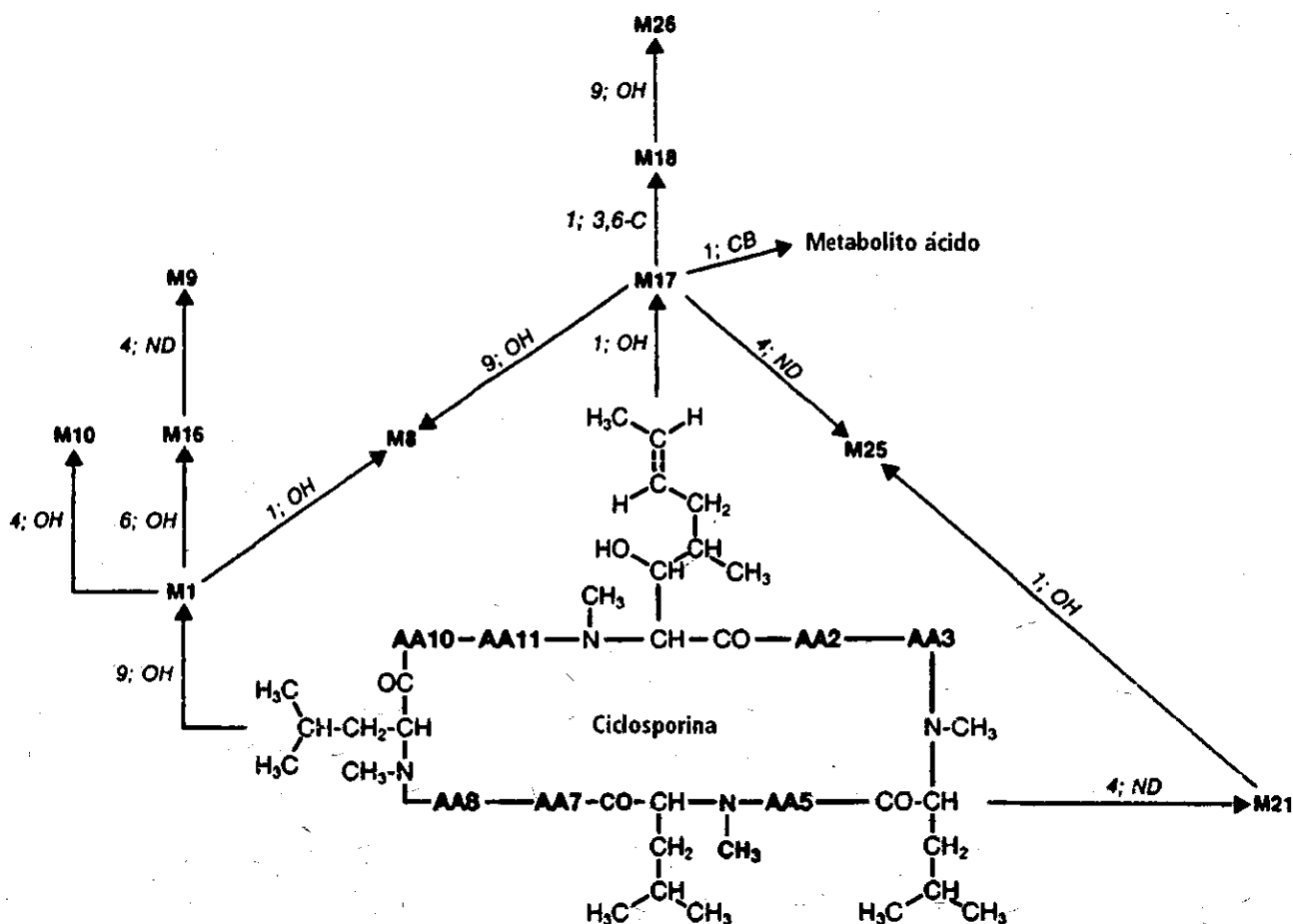
**Tabla 2.- Distribución de la CsA**

Fracción celular	50-70%
<i>Eritrocitos</i>	80%
<i>Linfocitos</i>	4-9%
Fracción plasmática	30-50%
<i>HDL</i>	43-57%
<i>LDL</i>	25%
<i>VLDL</i>	2%

### **Metabolismo**

El metabolismo de la CsA comienza en el tubo digestivo y debido a que es un péptido se supone que debe ser metabolizado por las enzimas y la flora del tracto gastrointestinal. Sin embargo, siete de los aminoácidos de la CsA son N-metilados, lo que puede retrasar, mas no evitar su degradación en el tracto gastrointestinal. El principal sitio del metabolismo de la CsA es el sistema enzimático del citocromo P450 dependiente de la monooxigenasa en el hígado y las membranas intestinales, principalmente el CYP3A [24]. Todos los fármacos que se metabolizan por este sistema interfieren con el metabolismo de la CsA [35, 36] y se han propuesto algunos agentes tales como los bloqueadores de los canales de calcio, los macrólidos y los antifúngicos azólicos como "ahorradores de ciclosporina", sin embargo algunos pueden incrementar la nefrotoxicidad del medicamento [37, 38]. Al menos 30 metabolitos se han aislado, la mayoría de ellos son hidroxilados, N-desmetilados o ambos y retienen la estructura cíclica. Basándose en consideraciones químicas, Wenger predijo más de 60 metabolitos [39] y se propuso una nueva nomenclatura que clasifica a los metabolitos según su tipo de derivación [40] (Figura 3). El principal metabolito es el monohidroxilado AM9 (M1 en la vieja nomenclatura). Las concentraciones mínimas de este metabolito pueden exceder al compuesto original. La actividad inmunosupresora de los metabolitos es objeto de estudio, en el caso del AM9 va de 10-20% con respecto a la actividad del compuesto original y también se les han atribuido efectos tóxicos [41-44].





**Figura 3.-** Ciclosporina y sus metabolitos más importantes en humanos. Los aminoácidos numerados en la estructura química son aquellos que no son sujetos a un metabolismo oxidativo mayor. Los pasos en el metabolismo se muestran con combinaciones de número y letra, los números se refieren al aminoácido metabolizado y las letras describen la reacción metabólica. AA = aminoácido; OH = hidroxilación; ND = N-desmetilación; CB = carboxilación; 3',6'-C = 3',6' ciclización.

En la nomenclatura vieja (nueva): M1 (AM 9), M8 (AM 19), M9 (AM4N69), M10 (AM49), M16 (AM 69), M17 (AM1), M18 (AM1c), M21 (AM4N), M25 (AM14N), M26 (AM1c9), metabolito ácido (AMIA).

Tomado de:

Fahr, A. (1993). Cyclosporine clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 24(6): 472-495.

El jugo de toronja inhibe al CYP3A4 presente en la mucosa intestinal y de esta manera aumenta la absorción de CsA [45]. Se han descrito diferencias en el contenido total de CYP 450 en diferentes etapas de la vida, en el primer año de edad la actividad es 30-60% menor que en la etapa adulta, posteriormente se incrementa durante la edad preescolar y escolar alcanzando valores incluso superiores que en los adultos [46]. También hay evidencia de que existen variaciones interétnicas en la actividad del CYP3A4 y en voluntarios adultos mexicanos se ha demostrado una mayor biodisponibilidad de la ciclosporina oral que en los sujetos de raza blanca [47, 48]. Los avances en la biología molecular del citocromo P 450 han logrado identificar variantes en la actividad catalítica del gen CYP2C9 en humanos [49] las implicaciones del polimorfismo genético en las subfamilias del CYP2C no son bien conocidas sin embargo Ninomiya y col. reportaron un caso de intoxicación por fenitoina en un paciente japonés con una variante de CYP2C19 [50], también se ha visto que la respuesta al tratamiento en pacientes con leucemia está asociada al genotipo del CYP3A4 [51]. No existen reportes con respecto al genotipo del CYP3A4 en pacientes que reciben CsA.

### **Excreción**

La excreción biliar es la ruta primaria de eliminación de CsA, lo cual en algunos pacientes puede dar un segundo pico de absorción. Sólo de 1 a 6% se elimina por la vía renal. La insuficiencia renal no parece afectar la farmacocinética. La vida media de eliminación después de la administración oral de CsA varía de 10 a 27 horas [25, 27, 33]. La depuración de CsA está disminuida durante la terapia crónica debido a que la CsA inhibe su propio metabolismo. Los pacientes pediátricos tienen mayor velocidad de depuración que los adultos y requieren mayores dosis de ciclosporina para mantener los niveles terapéuticos, estas diferencias son mas acentuados en niños menores de 10 años [33, 52, 53].

### **INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS**

Las interacciones medicamentosas se pueden dividir en tres categorías: 1) Fármacos que afectan las concentraciones de CsA en la sangre, 2) Fármacos que pueden potenciar la nefrotoxicidad de la CsA y 3) Fármacos cuya cinética se ve afectada por la CsA [38].

La mayoría de los fármacos que interactúan con CsA incrementan o disminuyen los niveles sanguíneos, de manera que existe el riesgo de desarrollar nefrotoxicidad o bien rechazo agudo del órgano de trasplante. Los fármacos que son nefrotóxicos pueden adicionar su daño renal al ocasionado por la CsA (Tabla 3). Los antagonistas de los canales de calcio reducen el volumen de distribución de la CsA.

A su vez, la CsA también influye en la farmacocinética y farmacodinamia de otros medicamentos, como por ejemplo la digoxina, hay reportes de intoxicación por digital en aquellos pacientes que iniciaron la CsA después de un trasplante cardíaco [54]. La importancia clínica de estas interacciones estará determinada por el índice terapéutico de las drogas concomitantes, la dosis, las características del paciente y la patología a tratar. Una interacción clínica significativa puede anticiparse evitando las consecuencias adversas.

**Tabla 3.-Fármacos que interactúan con la ciclosporina**

Aumentan niveles de CsA	Disminuyen niveles de CsA	Incrementan nefrotoxicidad
Metoclopramida	Fenitoína	Ketoconazol
Cisaprida	Fenobarbital	Itraconazol
Cimetidina	Carbamazepina	Miconazol
Famotidina	Primidona	Fluconazol
Omeprazol	Rifampicina	Ciprofloxacina
Eritromicina	Sulfadimidina	Aminoglucósidos
Claritromicina	Nafcilina	Anfotericina B
Verapamil		Antiinflamatorios no esteroideos
Diltiazem		Trimetoprim/sulfametoxazol
Ketoconazol		Aciclovir
Itraconazol		Colchicina
Miconazol		Alopurinol
Fluconazol		
Metilprednisolona		
Alopurinol		
Amiodarona		
Danazol		
Metiltestosterona		

### **EFFECTOS ADVERSOS Y TOXICIDAD**

Se han reportado diversas reacciones adversas y de toxicidad asociadas con el uso de la CsA, entre las que destacan la nefrotoxicidad y la hipertensión arterial. En los pacientes con trasplante renal, o algún padecimiento que involucre el riñón (el lupus eritematoso sistémico, la diabetes mellitus, el síndrome nefrótico, etc) y estos efectos adversos deben ser vigilados estrechamente ya que la CsA puede aumentar el daño renal previo.

Los efectos renales de la CsA se pueden dividir en cambios funcionales o estructurales ya sea a nivel tubular o vascular [55]. La tubulopatía por CsA responde bien al disminuir la dosis, sin embargo, la afección vascular puede producir una fibrosis intersticial irreversible que no se distingue del daño ocasionado por el rechazo crónico al injerto u otras condiciones que produzcan una arteriopatía renal. La manifestación más frecuente es el incremento asintomático de las cifras de creatinina sérica. También se puede presentar hiperkalemia, acidosis metabólica hiperclorémica, hipomagnesemia, hiperuricemia e hipocalcemia, entre otros. La nefropatía crónica por CsA puede llevar a una insuficiencia renal crónica terminal, incluso en pacientes que han recibido dosis bajas del medicamento para problemas dermatológicos, como la psoriasis y también se ha documentado hasta en 7% de los pacientes con trasplante de corazón que reciben CsA por largo plazo [56-58]. Se ha propuesto que la nefrotoxicidad de la CsA se

debe a las siguientes causas: inhibición de la calcineurina, inhibición de la glicoproteína P en las células tubulares proximales, generación de radicales libres de oxígeno que inducen peroxidación de lípidos y daño celular, aumento en la producción de TGF- $\beta$  y a la liberación de endotelina-1 [19, 59-62].

La administración de la CsA puede inhibir la actividad de la lipasa hepática y puede contribuir a incrementar la concentración de lípidos en pacientes con trasplante renal y cardíaco, la CsA tiene un efecto pro-oxidante en las lipoproteínas de baja densidad y aumenta su afinidad por los macrófagos, de manera que contribuye a la formación de aterosclerosis acelerada. Aún no se aclara lo que sucede con los pacientes con síndrome nefrótico, que cursan con un aumento de las concentraciones de lípidos en sangre por su propia enfermedad, aún antes del uso de la CsA [63, 64].

Los efectos adversos no renales más frecuentes son la hipertricosis, la hiperplasia gingival, el temblor fino de manos y la hipertensión arterial. El hirsutismo representa un problema grave principalmente en niñas adolescentes. La incidencia de hiperplasia gingival es mayor en los pacientes que reciben bloqueadores de canales de calcio o fenitoína y puede retrasar el brote de los dientes permanentes en los niños [65, 66]. También pueden presentarse fatiga, cefalea y hepatotoxicidad que se caracteriza por la elevación de las cifras de bilirrubina y transaminasas y generalmente se resuelve al disminuir la dosis de CsA. Puede también producir neurotoxicidad, y las manifestaciones incluyen cefalea, temblor fino de manos, ceguera, afasia y crisis convulsivas que ceden al disminuir la dosis [67, 68]. En menos de un 2% de los pacientes tratados con CsA se han repostado reacciones alérgicas, anemia, leucopenia, trombocitopenia, conjuntivitis, hiperglicemia, acné, diarrea, náuseas y síndrome hemolítico urémico [28, 69, 70].

## MONITOREO TERAPÉUTICO

El monitoreo terapéutico proporciona información útil sobre el esquema de dosificación y la posibilidad de toxicidad. Se recomienda realizar monitoreo de los medicamentos con ventana terapéutica estrecha, esto es cuando los niveles tóxicos son cercanos a la concentración que ejerce el efecto terapéutico, medicamentos con gran variabilidad intra e interindividual, presencia de otros factores que puedan interactuar con la farmacocinética o farmacodinámica del medicamento, falla terapéutica a las dosis habituales y cuando se desea vigilar la adherencia terapéutica [71]. La CsA cumple con todos los requisitos para ser un fármaco que requiere monitoreo terapéutico. El método de monitoreo que más se utiliza en la práctica clínica es la determinación de la concentración mínima ( $C_{\min}$ ) también conocida como niveles en valle, valor pre-dosis y en inglés "trough levels", para lo cual la muestra debe ser tomada durante la hora previa a la siguiente dosis [72, 73] pero también se han propuesto el monitoreo con la concentración pico ( $C_{\max}$ ) y el área bajo la curva de la concentración plasmática contra tiempo, esta última es difícil de realizar de forma rutinaria [71, 74, 75]. Para interpretar en forma adecuada una determinación sanguínea de CsA se deben conocer las condiciones de la toma de la muestra, el método

analítico por el cual se procesó, el régimen de dosificación que recibe el paciente (si recibe el medicamento cada 8 ó cada 12 horas), la terapia concomitante, y el estado clínico actual [34, 76, 77].

Existen muchos estudios en la literatura que intentan relacionar concentraciones en valle bajas con la presencia de rechazo agudo y concentraciones altas con nefrotoxicidad sin embargo algunos autores no han encontrado esta relación y en algunos pacientes se describen concentraciones bajas y nefrotoxicidad [78-85], esto se ha atribuido a la gran variabilidad en la biodisponibilidad de la CsA y se espera superar con la nueva formulación [86], específicamente en el caso de trasplantes renales pediátricos hay que considerar que los niños presentan mayor frecuencia de rechazo irreversible del injerto, particularmente los receptores menores de cinco años [87-89] y debido a una mayor depuración de la CsA los pacientes pediátricos requieren de una mayor cantidad de CsA en mg/kg para obtener valores en valle similares a los adultos [25, 53, 76, 90, 91].

Se ha encontrado que las dosis bajas de CsA a 36 meses post-trasplante se asocian con rechazos tardíos y pérdidas del injerto [92] por lo que en los niños se suele ajustar la dosis de CsA para mantener niveles en valle en rango terapéutico siempre [93, 94].

Se debe tener en cuenta que la eficacia inmunosupresora de la CsA puede variar de un individuo a otro e incluso dentro de un mismo individuo, y esto no se detecta con las concentraciones sanguíneas. Lo ideal sería tener un sistema que permita vigilar tanto los niveles sanguíneos como el grado de inmunosupresión de un individuo con el fin de prevenir el rechazo del injerto, sin exponerlo a infecciones y de esta manera hacer una correlación farmacocinética-farmacodinamia [95].

### **Métodos de determinación de ciclosporina**

Existen diversos métodos para determinar ciclosporina, algunos miden el compuesto original, otros tienen interferencias con los metabolitos.

El consenso internacional recomienda que la determinación de CsA se realice en sangre total ya que tiene una gran afinidad por los eritrocitos y cambios en el hematócrito pueden alterar la determinación en suero, debe utilizarse EDTA como anticoagulante ya que otros anticoagulantes pueden interferir con la lectura [96], el método analítico debe ser específico para el compuesto original, la muestra debe ser tomada por punción de una vena periférica y no de catéter venoso central o punción capilar y se prefieren los métodos que determinan el compuesto original. Para el monitoreo de las concentraciones en valle la muestra de sangre se debe tomar dentro de la hora previa a la siguiente dosis y anotarse la hora de la última administración. Para validar y mantener la calidad del método de determinación de CsA se sugiere realizar un control externo con regularidad [34]. Se ha reportado un ritmo circadiano en la farmacocinética de la CsA y las concentraciones en valle vespertinas son menores que las matutinas [97]. A continuación se mencionan los diferentes métodos para determinación de ciclosporina:

### **1.- Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)**

Es el primer método que se desarrolló para la determinación de CsA y es el estándar de referencia contra el cual los demás métodos son evaluados. Si bien algunos centros lo utilizan para monitoreo clínico de rutina, la mayoría de los laboratorios han adoptado otros métodos más baratos. Puede determinar el fármaco original y sus metabolitos, tiene una sensibilidad de 20 a 40 µg/L, requiere un volumen de muestra de 1mL [77, 98].

### **2.- Radioinmunoanálisis no específico**

El radioinmunoanálisis no específico (NS-Pab-3H RIA) con anticuerpos policlonales tritiados no específicos, desarrollado por Sandoz, fue el método analítico más utilizado en la práctica clínica en los 80's hasta que se hizo evidente que tenía alta reactividad cruzada con los metabolitos de CsA, por lo que se sustituyó por un RIA con dos anticuerpos monoclonales para CsA, uno de los cuales es altamente específico para el compuesto original ('Sandimmun ® -kit'). Los valores obtenidos por RIA son de 3.5 a 5 veces mayores que los de HPLC en sangre total. Se prefiere el marcador con <sup>125</sup>I ya que tiene menos reactividad cruzada. Requiere volúmenes de muestra pequeños de 10 µL [77, 99].

### **3.- Radioinmunoanálisis específico**

En forma paralela a los RIAs no específicos se desarrolló un RIA específico que utiliza el mismo anticuerpo monoclonal marcado con <sup>125</sup>I, técnicamente más simple y permite correr un mayor número de muestras en menos tiempo (CYCLO-trac®, Incstar Corp.). Se correlaciona bien con los valores obtenidos por HPLC, siendo 10-30% mayores [79, 100].

### **4.- Inmunoanálisis de fluorescencia polarizada no específico**

Utiliza un anticuerpo policlonal no específico del conejo, marcado con fluoresceína. Requiere un analizador automático (TDx, Abbott) con la ventaja de que no se necesitan técnicos expertos y permite correr 60 muestras en 2 horas. Cuando se compara con HPLC se correlaciona poco debido a la reactividad cruzada con los metabolitos, tiende a sobreestimar las concentraciones de CsA. Utiliza muestras de suero y requiere un volumen de muestra de 500 µL [77].

### **5.- Inmunoanálisis de fluorescencia polarizada específico.**

Se conoce como TDx-FPIA y utiliza un anticuerpo monoclonal para uso en el analizador TDx Abbott. Tiene buena sensibilidad, con límite de detección de 25ug/L en sangre total. Tiene menor reactividad cruzada con los metabolitos de la CsA (2-8%) y los valores obtenidos son hasta 30% mayores que con HPLC. De todos los métodos para la determinación de CsA es el que ha demostrado tener mayor reproducibilidad dentro un mismo laboratorio y entre varios laboratorios Requiere un volumen de muestra de 150 µL [77, 101].

## **6.- Técnica de inmunoensayo enzimático multiplicado.**

También conocida como EMIT, esta técnica es específica para ciclosporina y utiliza anticuerpos monoclonales de ratón, se corre en un analizador CobasMira (Roche), es un método sencillo que permite correr 40 muestras en una hora. Se correlaciona bien con HPLC y no tiene reactividad cruzada con los metabolitos AM1 AM19 y AM4N. Esta técnica es el inmunoensayo más específico hasta el momento, fácil de realizar y con la ventaja de que no se requieren radioisótopos. Una limitación es que el mayor estándar de calibración es de 500 µg/L y si se requiere medir niveles mayores se requiere diluir la muestra [79, 101-103].

## **JUSTIFICACIÓN**

La ciclosporina es un medicamento inmunosupresor que en la práctica nefrológica se emplea en el tratamiento de pacientes con trasplante renal y en pacientes con síndrome nefrótico. Sin embargo, su monitoreo es difícil ya que muestra una gran variabilidad farmacocinética intra e interpacientes, más aún tratándose de pacientes pediátricos. Existe poca información de la farmacocinética en los niños y los niveles terapéuticos que se utilizan en la práctica clínica son extrapolados de la población adulta.

Ha salido al mercado una nueva formulación que mejora la absorción intestinal en los adultos, se requieren estudios en pacientes pediátricos para optimizar su uso. También sería de gran utilidad conocer el comportamiento farmacocinético de la ciclosporina en pacientes con síndrome nefrótico durante las fases de recaída y de remisión para optimizar el esquema de dosificación.

## **OBJETIVOS**

- 1.-Determinar las diferencias en los parámetros farmacocinéticos entre la ciclosporina tradicional y la neoral en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica terminal en programa de diálisis peritoneal continua ambulatoria, en espera de trasplante renal.
- 2.-Conocer las diferencias farmacocinéticas que se dan en pacientes con síndrome nefrótico tratados con ciclosporina en periodos de recaída y remisión.
- 3.- Establecer los tiempos óptimos de muestreo de ciclosporina en pacientes pediátricos.

## **HIPÓTESIS GENERALES**

- 1.-La ciclosporina neoral tiene una mayor biodisponibilidad relativa que la ciclosporina tradicional en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica terminal.
- 2.- La biodisponibilidad de la CsA se modifica durante el estado nefrótico
- 3.-El modelo de muestreo limitado que considera dos puntos de muestreo de CsA a las 2 y 12 horas permite estimar en forma confiable el ABC de CsA en pacientes pediátricos.

Para el desarrollo de este proyecto se consideraron tres estudios:

- **Estudio 1.**

Biodisponibilidad comparativa de la ciclosporina tradicional versus ciclosporina en microemulsión en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica terminal.

- **Estudio 2.**

Farmacocinética de ciclosporina en el síndrome nefrótico

- **Estudio 3.**

Establecimiento de los tiempos óptimos de muestreo para la CsA

En cada estudio se incluyen los antecedentes, el material y los métodos, los resultados y la discusión particular.

## BIBLIOGRAFIA

1. Borel J, Feurer C, Gubler H, Stahelin H: Biological effects of cyclosporin A: new antilymphocytic agent. *Agents and Actions* 6:468-475, 1976
2. Hong J, Kahan B: Immunosuppressive agents in organ transplantation: past, present and future. *Seminars in Nephrology* 20:108-126, 2000
3. Fahr A: Cyclosporine clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 24:472-495, 1993
4. Frickhofen N, Rosenfeld S: Immunosuppressive treatment of aplastic anemia with antithymocyte globulin and cyclosporine. *Semin Hematol* 37:56-68, 2000
5. Cattran D, Appel G, Hebert L, Hunsicker L, Pohl M, Hoy W, Maxwell D, Kunis C: A randomized trial of cyclosporine in patients with steroid resistant focal glomerulosclerosis. North America Nephrotic Syndrome Study Group. *Kidney Int* 56:2220-2226, 1999
6. Hill J: Immunosuppression in corneal transplantation. *Eye* 9:247-253, 1995
7. Inoue K, Kondo M, Inoue M, Ishino H, Kamitsuji Y, Sano H: Successful treatment with combination therapy of cyclophosphamide and cyclosporin for late recurrence of Wegener granulomatosis. *Arch Intern Med* 14:392-394, 2000
8. Ludwig D, Stange E: Treatment of ulcerative colitis. *Hepatogastroenterology*:83-89, 2000
9. Niaudet P, Habib R: Cyclosporine in the treatment of idiopathic nephrosis. *J Am Soc Nephrol* 5:1049-1056, 1994
10. Oh C, Apel A, Saville B, Cheng Y, Rootman D: Local efficacy of cyclosporine in corneal transplant therapy. *Curr Eye Res* 13:337-343, 1994
11. Richardson C, Emery P: Clinical use of cyclosporin in rheumatoid arthritis. *Drugs* 50:26-36, 1995
12. Tam L, Li E, Leung C, Wong K, Lai F, Wang A, Szeto C, Lui S: Long term treatment of lupus nephritis with cyclosporin A. *QJM* 91:573-580, 1998
13. Erlanger B: Do we know the site of action of cyclosporin? *Immunol Today* 13:487-490, 1992



14. De Mattos A, Olayei A, Bennet W: Pharmacology of immunosuppressive medications used in renal diseases and transplantation. *Am J Kid Dis* 28:631-667, 1996
15. Schreiber S, Crabtree G: The mechanism of action of cyclosporin A and FK06. *Immunol Today* 13:136-142, 1992
16. Borel J: Mechanism of action of cyclosporin A and rationale for use in nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 35:s23-s30, 1991
17. Khanna A, Li, B, , Sehajpal, Sharma V, Suthanthiran M: Mechanism of action of cyclosporine: a new hypothesis implicating transforming growth factor B. *Transplant Rev* 9:41-48, 1995
18. Brabeltz T, Pfeuffer I, Schorr E, Siebelt F, Wirth T, Serfling E: Transforming growth factor B and cyclosporin A inhibit the inducible activity of the interleukin-2 gene in T cells through a noncanonical octamer-binding site. *Mol Cell Biol* 13:1155-1162, 1993
19. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, Shimbo T, Suthanthiran M: Cyclosporine induces cancer progression by a cell autonomous mechanism. *Nature* 397:530-534, 1999
20. Loebestein R, Koren G: Clinical pharmacology and therapeutic drug monitoring in neonates and children. *Pediatrics in Review* 19:423-428, 1998
21. Reed M: Optimal sampling theory: an overview of its application to pharmacokinetic studies in infants and children. *Pediatrics* 104:627-632, 1999
22. Kearns G, Reed M: Clinical pharmacokinetics in infants and children. A reappraisal. *Clin Pharmacokinet* 17:29-67, 1989
23. Belitsky P, Levy G, Johnston A: Neoral absorption profiling: an evolution in effectiveness. *Transplant Proc* 32:45S-52S, 2000
24. Faulds D, Goa K, Benfield P: Cyclosporin: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 45:953-1040, 1993
25. Cooney G, Habucky K, Hoppu K: Cyclosporin pharmacokinetics in pediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 32:481-495, 1997
26. Drewe J, Beglinger C, Kissel T: The absorption site of cyclosporin in the human gastrointestinal tract. *Br J Clin Pharmacol* 33:39-43, 1992
27. Medeiros M, Gómez A, Urizar J, Campos Sepúlveda A, Saldaña I, Ramírez L, Romero N, Velásquez J, Castañeda-Hernández G, Muñoz R: Bioavailability of two oral formulations of cyclosporin in uremic children before renal transplantation. *Pediatr Transplantation* 2:145-149, 1998
28. Noble S, Markham A: Cyclosporin. A review of the pharmacokinetics properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion based formulation (Neoral®). *Drugs* 50:924-941, 1995
29. Lown K, Mayo R, Leichtam A, Hsiao H, Turgeon K, Schmiedlin, Ren P, Brown M, Guo W, Rossi S, Benet L, WP: Role of intestinal P glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharm Ther* 62:248-260, 1997
30. Yu D: The contribution of P-glycoprotein to pharmacokinetic drug-drug interactions. *J Clin Pharmacol* 39:1203-1211, 1999
31. Sgoutas D, MacMahon W, Love A, et al.: Interaction of cyclosporin A with human lipoproteins. *J Pharm Pharmacol*:583-588, 1986

32. De Groen P: Cyclosporin, low density lipoprotein and cholesterol. *Mayo Clin Proc* 63:1012-1021, 1988
33. Yee G, Lennon T, Ginver D, Kennedy H, Deeg H: Age-dependant cyclosporine pharmacokinetics in bone marrow transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther* 40:438-443, 1986
34. Oellerich M, Armstrong V, Kahan B, Shaw L, Holt D, Yatscoff R, Lindholm A, Halloran P, Gallicano K, Wonigeit K, Schütz E, Schran H, Annesley T: Lake Louise Consensus Conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 17:642-654, 1995
35. Dresser G, Spence D, Bailey D: Pharmacokinetic pharmacodynamic consequences and clinical relevance of cytochrome P450 3A4 inhibition. *Clin Pharmacokinet* 38:41-57, 2000
36. Campana C, Regazzi M, Buggia I, Molinaro M: Clinically significant drug interactions with cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 30:141-179, 1996
37. Jones T: The Use of other drugs to allow a lower dosage of cyclosporin to be used. *Ther Drug Monit* 32:357-367, 1997
38. Martin J, Daoud A, Schroeder T, First R: The clinical and economic potential of cyclosporin drug interactions. *Pharmacoeconomics* 15:317-337, 1999
39. Wenger R: Structures of cyclosporine and its metabolites. *Transplant Proc* 22:1104-1108, 1990
40. Kahan B, Shaw L, Holt D, Grevel J, Johnston A: Consensus Document: Hawk's Cay meeting on therapeutic drug monitoring of cyclosporine. *Clin Chem*:1510-1516, 1990
41. Ryffel B, Foxwell B, Mihatsch M, Donatsch P, Maurer G: Biologic significance of cyclosporin metabolites. *Transplantation* 20:575-584, 1988
42. Christians U, Sewing K: Cyclosporin metabolism in transplant patients. *Pharmacol Ther* 57:291-345, 1993
43. Copeland K, Thliveris J, Yatscoff R: Toxicity of cyclosporin metabolites. *Ther Drug Monit* 12:525-532, 1990
44. Morris R: Cyclosporin assays, metabolite cross-reactivity, and pharmacokinetic monitoring. *Ther Drug Monit* 22:160-162, 2000
45. Bailey D, Arnold D, Spence J: Grapefruit juice and drugs: how significant its interaction? *Clin Pharmacokinet* 26:91-98, 1994
46. de Wildt S, Kearns G, Leeder S, van den Anker JN: Cytochrome P4503A, ontogeny and drug disposition. *Clin Pharmacokinet* 37:485-505, 1999
47. Palma-Aguirre J, González-Llavén J, Flores-Murrieta F, Castañeda-Hernández G: Bioavailability of oral cyclosporine in healthy mexican volunteers: evidence for interethnic variability. *J Clin Pharmacol* 37:630-634, 1997
48. Kalow W: Interethnic variation of drug metabolism. *Trends Pharmacol Sci* 12:102-107, 1991
49. Ieri I, Tainaka H, Morita T, Hadama A, Mamiya K, Hayashibara M, Ninomiya H, Ohmori S, Kitada M, Tashiro N, Higuchi S, Otsubo K: Catalytic activity of three variants (Ile, Leu, and Thr) at amino acid residue 359 in human CYP2C9 gene and simultaneous detection using single strand conformation polymorphism analysis. *Ther Drug Monit* 22:237-244, 2000
50. Ninomiya H, Mamiya K, Matsuo S, Ieri I, Higuchi S, Tashiro N: Genetic polymorphism of the CYP2C subfamily and excessive serum phenytoin concentration with central nervous system intoxication. *Ther Drug Monit* 22:230-232, 2000

51. Felix C, Walker A, Lange B, Williams T, Winick N, Cheung N, Lovett B, Nowell P, Blair I, Rebbeck T: Association of CYP3A4 genotype with treatment related leukemia. *Proc Natl Acad Sci USA* 95:13176-13181, 1998
52. Burkart G, Venkataramanan R, Starzl T, Ptacheinski R, Gartner R, Rosenthal T: Cyclosporine clearance in children following organ transplantation. *J Clin Pharmacol* 24:412-416, 1984
53. Humbert H, Guest G, Said M, Cabioc M, Gagnadoux M, Niaudet P, Broyer M: Steady-state pharmacokinetics of cyclosporine in renal transplant patients: Does an influence of age or body weight exist? *Transplant Proc* 26:2791-2797, 1994
54. Robieux I, Dorian P, Klein J: The effects of cardiac transplantation and cyclosporine therapy in digoxine pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol* 32:338-343, 1992
55. Masson J: Renal side effects of cyclosporine. *Transplant Proc* 22:1250-1283, 1990
56. Goldstein DJ, Sehgal V, Weinberg AD, Drusin R, Cohen D: Cyclosporine-associated end stage nephropathy after cardiac transplantation. *Transplantation* 63:664-668, 1997
57. Goral S, Ynares C, Shyr Y, Yeoh T, Johnson H: Long term renal function in heart transplant recipients receiving cyclosporine therapy. *J Heart Lung Transplant* 16:1106-1112, 1997
58. Young E, Ellis C, Messana J: A prospective study of renal structure and function in psoriasis patients treated with cyclosporine. *Kidney Int* 46:1216-1222, 1994
59. Abramowicz D, Wissing K, Broeders N: Nephrotoxicity of calcineurin inhibitors: a new therapeutic approach. *Transplant Proc* 32:3S-5S, 2000
60. Benigni A, Morigi M, Perico N, Zoja C, Amuchastegui C, Piccinelli A, Donadelli R, Remuzzi G: The acute effect of FK506 and cyclosporine on endothelial cell function and renal vascular resistance. *Transplantation* 54:775-780, 1992
61. Bennet W: The nephrotoxicity of immunosuppressive drugs. *Clin Nephrol* 43:S3-S7, 1995
62. Nabel G: A transformed view of cyclosporine. *Nature* 397:471-472, 1999
63. Superko H, Haskell W, Di-Ricco C: Lipoprotein and hepatic lipase activity and high density lipoprotein subclasses after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 66:1131-1134, 1990
64. Kuster G, Drexel H, Bleisch J, Rentsch K, Pei P, Binswanger U, Amann F: Relation of cyclosporine blood levels to adverse effects on lipoproteins. *Transplantation* 57:1479-1483, 1994
65. Bökenkamp A, Bohnhorst B, Beier C, Albers N, Offner G, Brodehl J: Nifedipine aggravates cyclosporin A-induced gingival hyperplasia. *Pediatr Nephrol* 8:181-185, 1994
66. Meraw S, Sheridan P: Medically induced gingival hyperplasia. *Mayo Clin Proc* 73:1196-1199, 1998
67. Scheinman S, Reinitz E, Petro G, Schwartz R, Szmalc F: Cyclosporine central neurotoxicity following renal transplantation. *Transplantation* 49:215-216, 1990
68. Baliga R, Etheredge E: Cyclosporine associated convulsions in a child after renal transplantation. *Transplantation* 51:1126-1128, 1991
69. El Shahawy M, Gadallah M, Massry S: Acne: a potential side effect of cyclosporine A therapy. *Nephron* 72:679-682, 1996

70. Wolfe J, McCann R, San Filippo F: Cyclosporin associated microangiopathy in renal transplantation: a severe but potentially reversible form of early graft injury. *Transplantation* 41:541, 1986
71. Lindholm A, Säwe J: Pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of immunosuppressants. *Ther Drug Monit* 17:570-573, 1995
72. Ferguson R, Canafax D, Sawchuk T, Simmons R: Cyclosporine blood level monitoring: the early posttransplant period. *Transplantation* 18:113-122, 1986
73. Grevel J, Napoli K, Welsh M, Atkinson N, Kahan B: Prediction of acute graft rejection in renal transplantation: the utility of cyclosporine blood concentrations. *Pharm Res* 8:278-281, 1991
74. Grevel J, Welsh M, Kahan B: Cyclosporin monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monit* 11:246-248, 1989
75. Filler G, Mai I, Filler S, Ehrich J: Abbreviated cyclosporine AUCs on Neoral- the search continues! *Ped Nephrol* 13:98-102, 1999
76. Morris R: Target concentration strategy for cyclosporin monitoring. *Clin Pharmacokinet* 32:175-179, 1997
77. Tsunoda S, Aweeka F: The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 30:107-140, 1996
78. Bowers L, Canafax D, Singh J, et al.: Studies of cyclosporine blood levels: analysis, clinical utility, pharmacokinetics, metabolites and chronopharmacology. *Transplant Proc* 28:137-143, 1986
79. Holt D, Johnston A, Roberts N, Tredger J, Trull A: Methodological and clinical aspects of cyclosporin monitoring: report of the association of clinical biochemists task force. *Ann Clin Biochem* 31:420-426, 1994
80. Holt D, Marsden J, Johnston A, et al.: Cyclosporine monitoring with polyclonal and specific monoclonal antibodies during episodes of renal allograft dysfunction. *Transplant Proc* 21:1482-1484, 1989
81. Moyer T, Post G, Sterioff S, et al.: Cyclosporine nephrotoxicity is minimized by adjusting dosage on the basis of drug concentration in blood. *Mayo Clin Proc* 63:241-247, 1988
82. Lindholm A: A prospective study of cyclosporine monitoring in renal transplantation. *Transplantation* 22:1260-1263, 1990
83. Lindholm A, Kahan B: Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 54:205-218, 1993
84. Nankivell B, Hibbins M, Chapman J: Diagnostic utility of whole blood cyclosporine measurements in renal transplantation using triple therapy. *Transplantation* 58:989-996, 1994
85. Stiller C, Keown P: Failure of <sup>125</sup>I-tracer selective monoclonal antibody levels on whole blood matrix to predict rejection or nephrotoxic episodes in renal transplant patient under anti-lymphocyte globulin and prednisone therapy. *Transplant Proc* 22:1253-1254, 1990
86. Belitsky P: Neoral use in the renal transplantation recipient. *Transplant Proc* 32:10S-19-S, 2000
87. Ettenger R: Children are different: The challenges of pediatric renal transplantation. *Am J Kid Dis* 20:668-672, 1992
88. Najarian J, Frey D, Matas A, et al.: Renal transplantation in infants. *Ann Surg* 212:353-365, 1990

89. Warady B, Hebert D, Sullivan E, Alexander S, Tejani A: Renal transplantation, chronic dialysis, chronic renal insufficiency in children and adolescents, The 1995 Annual Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Pediatr Nephrol* 11:49-64, 1997
90. Brodehl J: Consensus statements on the optimal use of cyclosporine in pediatric patients. *Transplant Proc* 26:2759-2762, 1994
91. Hoppu K, Koskimies, Holmberg C, Hirvisalo E: Pharmacokinetically determined cyclosporine dosage in young children. *Pediatr Nephrol* 5:1-4, 1991
92. Harmon W, Sullivan E: Cyclosporin dosing and its relationship to outcome in pediatric renal transplantation. *Kidney Int* 43:S50-S55, 1993
93. Davis I, Bunchman T, Grimm P, Benfield M, Briscoe D, Harmon W, Alexander S, Avner ED: Pediatric renal transplantation: indications and special considerations: A position paper from the Pediatric Committee of the American Society of Transplant Physicians. *Pediatr Transplantation* 2:117-129, 1998
94. Benfield MR, Stablein D, Tejani A: Trends in immunosuppressive therapy: A report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS). *Pediatr Transplantation* 3:27-32, 1999
95. Awni W: Pharmacodynamic monitoring of cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 23:428-488, 1992
96. Potter J, Self H: Cyclosporin A: Variation in whole blood levels related to in vitro anticoagulant usage. *Ther Drug Monit* 8:122-125, 1986
97. Ohlman S, Lindholm A, Hagglund H, Säwe J, Kahan B: On the intraindividual variability and chronobiology of cyclosporine pharmacokinetics in renal transplantation. *Eur J Clin Pharmacol* 44:265-269, 1993
98. Bowers L: Cyclosporine analysis by high performance liquid chromatography: precision, accuracy, and minimum detectable quantity. *Transplant Proc* 22:1150-1154, 1990
99. Rosano T, Pell M, Freed B, et al: Cyclosporine and its metabolites in blood from renal allograft recipients with nephrotoxicity, rejection or good renal function: comparative high performance liquid chromatography and monoclonal radioimmunoassay studies. *Transplant Proc* 20:330-338, 1988
100. Kivisto K: A review of assay methods for cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 23:173-190, 1992
101. Shaw L, Annesley T, Kaplan B, Brayman K: Analytic requirements for immunosuppressive drugs in clinical trials. *Ther Drug Monit* 17:577-583, 1995
102. Dasgupta A, Saldana S, Desai M: Analytical performance of EMIT cyclosporine assay evaluates. *Clin Chem* 37:2130-2133, 1991
103. Holt D, Johnston A: Cyclosporin A: Analytical methodology and factors affecting therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 17:625-630, 1995

## **ESTUDIO I.**

### **BIODISPONIBILIDAD COMPARATIVA DE LA CICLOSPORINA TRADICIONAL VERSUS CICLOSPORINA EN MICROEMULSIÓN EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA TERMINAL**

#### **ANTECEDENTES**

La formulación estándar de la CsA ya sea en solución oleosa ó en cápsulas de gelatina blanda (Sandimmun, Sandoz; SAN) se caracteriza por una absorción pobre e impredecible [1-3]. Esto se debe a que después de la administración oral se forma una mezcla de gotas de aceite con agua al entrar en contacto con los fluidos gastrointestinales. Se requiere la emulsificación por sales biliares para la absorción lo que hace que dependa del tipo de alimentos, flujo de bilis y motilidad gastrointestinal. La biodisponibilidad oral varía entre 20 y 60% y se incrementa con la administración a largo plazo en pacientes con trasplante renal [4] lo cual dificulta la vigilancia de la terapia inmunosupresora después del trasplante y explica la mala correlación entre los niveles en valle y la evolución que se describe en varios estudios.

La formulación de CsA en microemulsión (Neoral, Sandoz; NEO) fue desarrollada para superar los problemas de la formulación estándar y tiene propiedades autoemulsificantes. Para su fabricación se emplea la misma molécula activa de CsA que en la formulación estándar pero se dispersa en una mezcla de propilenglicol (solvente hidrofílico), aceite de maíz, mono, di y triclicéridos (solvente lipofílico), aceite de castor hidrogenado polioxil-40 (tensoactivo) y DL-Tocoferol como antioxidante. Al mezclarse en un fluido acuoso se forman micelas de menos de 100 nm que se absorben en el intestino delgado sin requerir la presencia de bilis [5]. Estudios en adultos con trasplante renal han mostrado que la biodisponibilidad de NEO es de 5-64% mayor que SAN [6, 7]. En la Tabla I.1. se mencionan las principales diferencias farmacocinéticas de la formulación en microemulsión comparada con la tradicional, entre las que destacan una mayor  $C_{max}$ , mayor ABC, mejor correlación entre los niveles en valle y ABC ([8, 9] y menor influencia de los alimentos y sales biliares en la absorción intestinal [10]. Por estas razones, el Grupo Pediátrico de Estudio de Neoral recomendó que los pacientes pediátricos recibieran la nueva formulación aunque subrayan que es escasa la información de Neoral en esta población en particular [11].

**Tabla I.1.- Principales características farmacocinéticas de la ciclosporina en microemulsión (NEORAL) comparada con la formulación tradicional (SANDIMMUN)**

- *Incremento en la concentración máxima ( $C_{max}$ ) y en el área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo (ABC)*
- *Disminución en la  $t_{max}$*
- *Disminución en la variabilidad intra e inter-individual de los parámetros farmacocinéticos*
- *Mejor correlación entre la dosis y el ABC*
- *Mejor correlación entre la  $C_{min}$  y el ABC*
- *Menor influencia de los alimentos y secreción biliar en la absorción intestinal*

Los pacientes pediátricos requieren mayor dosis de CsA en mg/kg que los adultos para alcanzar niveles sanguíneos similares, además de que la absorción muestra una mayor variabilidad en niños que en los adultos [3, 12-14]. En la práctica clínica con los pacientes pediátricos se substituye NEO por SAN en una relación 1:1 a pesar de que la eficacia y seguridad de la nueva formulación en esta población particular no se ha documentado en forma adecuada [3, 15, 16].

## **OBJETIVO**

Determinar las diferencias de los parámetros farmacocinéticos entre la ciclosporina tradicional y la ciclosporina neoral en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica terminal (IRCT) en programa de diálisis peritoneal continua ambulatoria en espera de trasplante renal.

## **HIPÓTESIS**

La ciclosporina neoral tiene una mayor biodisponibilidad relativa que la ciclosporina tradicional en pacientes pediátricos con IRCT.

## **MATERIAL Y METODOS**

### **Criterios de inclusión**

- Pacientes pediátricos de 5 a 15 años de edad con IRCT en programa de diálisis peritoneal, en espera de trasplante renal.
- Aceptación por escrito para participar en el estudio

### **Criterios de exclusión**

- Pacientes con hepatopatías (hepatitis, cistinosis, cirrosis hepática)
- Pacientes con lupus eritematoso sistémico
- Pacientes que recibían medicamentos que pudieran alterar los niveles de ciclosporina [17]

### **Criterios de eliminación**

- Deseo voluntario de abandonar el estudio
- Trasplante renal
- Presencia de algún efecto adverso (ver efectos adversos)

Los pacientes estaban siendo estudiados para un trasplante renal de donador vivo relacionado ó en lista de espera para un trasplante de donador cadavérico, por lo que eventualmente recibirían CsA después del trasplante. El estudio no se realizó en pacientes con trasplante renal por las implicaciones éticas ya que la CsA tenía que suspenderse durante un mes en el periodo de lavado y se expondría a los pacientes a presentar rechazo agudo del injerto renal.

Tomando en cuenta la información sobre la variabilidad en la biodisponibilidad de la CsA SAN [7] y considerando que en niños la biodisponibilidad de la CsA NEO parece incrementarse por lo menos 50% [3, 16] se calculó un tamaño de muestra de por lo menos 8 pacientes con un poder de 80% y  $\alpha$  de 0.05.

Se realizó un estudio experimental, aleatorizado, cruzado y doble ciego. Los pacientes ingresaron a la Sala de Nefrología del Hospital Infantil de México "Federico Gómez" y recibieron cinco dosis de CsA (2.5 mg/kg/dosis) ya sea de SAN o NEO cada 12 horas. Lo anterior debido a que se ha reportado una vida media de CsA en niños de 7 a 10 horas [3, 6] y se deseaba realizar el estudio farmacocinético en el estado estacionario.

Después de la administración de la quinta dosis se canalizó una vena periférica y se tomaron muestras de sangre en los siguientes tiempos: 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8, 12 y 24 horas. Después de un mes de lavado los pacientes recibieron cinco dosis ya sea de SAN o NEO para completar el estudio cruzado. Después de la quinta dosis del segundo curso de CsA se tomaron muestras de sangre como se explicó anteriormente. SAN y NEO se disolvieron en jugo de naranja antes de su administración y los pacientes recibieron una charola de comida 30 minutos después. Los niños fueron internados durante la administración de CsA y la realización del estudio farmacocinético y se egresaron durante el periodo de lavado.

La determinación de la concentración de CsA en suero se realizó utilizando anticuerpos monoclonales específicos con un analizador TDx Abbott. Se construyeron curvas de concentración plasmática contra tiempo para cada paciente con cada formulación. Las concentraciones máximas ( $C_{max}$ ) y el tiempo en alcanzar las concentraciones máximas ( $t_{max}$ ) se tomaron directamente de estos gráficos. El área bajo la curva de concentración plasmática vs tiempo (ABC) se calculó con el método de los trapezoides. La vida media se obtuvo con una regresión log-lineal de la fase terminal de la caída de la concentración

### **Análisis estadístico.**

Con el fin de verificar que el estudio se realizó en el estado estacionario para las dos formulaciones los niveles a las 0 y 12 horas se compararon con la prueba t de Student pareada.



Se realizó un análisis de bioequivalencia comparando los valores de  $C_{max}$  y ABC para SAN y NEO con ayuda del programa Biopak (SCI Software, Lexington, KY). De acuerdo con el criterio internacionalmente aceptado se consideró que las dos formulaciones eran bioequivalentes cuando la relación  $ABC^{SAN}/ABC^{NEO}$  y  $C_{max}^{SAN}/C_{max}^{NEO}$  estuvieran entre 0.8 y 1.25 [18, 19].

Los valores de vida media obtenidos con SAN y NEO se compararon con la prueba t de Student pareada. La variabilidad interindividual en la farmacocinética de CsA para cada formulación se obtuvo calculando los coeficientes de variación para  $C_{max}$ ,  $t_{max}$ , ABC y vida media. Los niveles en valle obtenidos con las dos formulaciones también se compararon con la prueba t de Student pareada.

## RESULTADOS

Se incluyeron 12 pacientes en el estudio, todos recibían eritropoyetina, calcitriol, carbonato de calcio y multivitaminas de acuerdo a sus requerimientos individuales. El estudio se llevó a cabo siguiendo las recomendaciones de la Declaración de Helsinki y fue aprobado por el Comité de Investigación del Hospital Infantil de México Federico Gómez. Dos pacientes fueron excluidos, uno porque recibió un trasplante renal y otro por una desviación del protocolo. El estudio se llevó a cabo en 10 pacientes. Los datos demográficos y clínicos así como la secuencia en que las formulaciones de CsA fueron administradas se muestra en la tabla I.2. Ningún paciente presentó efectos adversos a la CsA en sus dos formulaciones durante el periodo de estudio.

**Tabla I.2. Datos demográficos y clínicos de diez pacientes con IRCT que recibieron CsA como (SAN) o (NEO) de acuerdo a un diseño cruzado aleatorizado.**

Sujeto	Sexo	Edad (años)	Peso (kg)	Hematocrito (g/dL)	Tiempo en diálisis (meses)	Secuencia
1	F	14	33.0	27.8	13	NEO/SAN
2	M	8	21.2	24.3	3	NEO/SAN
3	F	10	24.0	30.4	2	SAN/NEO
4	M	5	15.7	35.8	5	SAN/NEO
5	M	11	29.5	25.6	2	NEO/SAN
6	F	5	12.8	28.1	7	NEO/SAN
7	F	15	50.0	34.0	1	SAN/NEO
8	F	15	43.5	27.6	1	SAN/NEO
9	M	15	44.5	26.8	16	SAN/NEO
10	M	14	61.0	32.9	7	SAN/NEO

El promedio ( $\pm$  ES) de las concentraciones séricas de CsA que se observaron después de la administración de las formulaciones SAN y NEO en estado estacionario se muestran en la figura I.A. Los parámetros farmacocinéticos se ven en la tabla I.3. El ABC fue 90% mayor con la formulación NEO que con la formulación SAN mientras que la  $C_{max}$  se incrementó 130%. Los valores de  $t_{max}$  y vida media fueron similares con ambas formulaciones.

En la figura I.A se muestra la curva de concentración plasmática vs tiempo de diez pacientes con IRCT después de recibir cinco dosis de CsA 2.5 mg/kg cada 12h, administrada como SAN (●) o NEO (○). Los datos se muestran como promedio  $\pm$  error estándar.

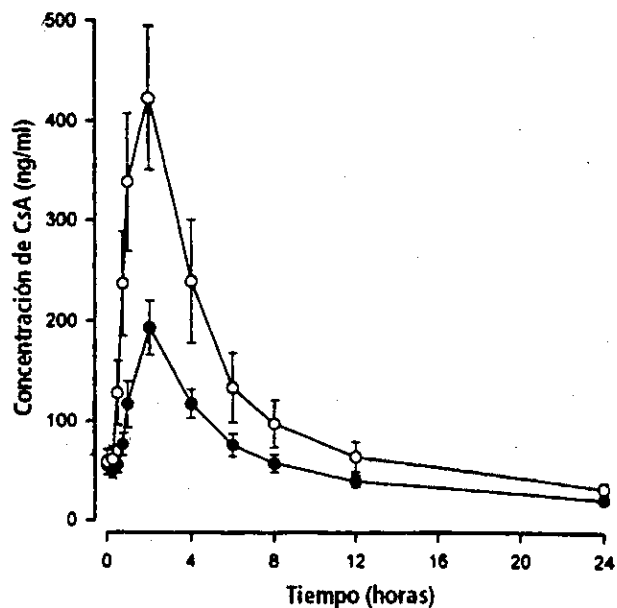
**Tabla I.3.- Parámetros farmacocinéticos en estado estacionario de CsA observados en diez niños con IRCT después de la administración de dos formulaciones orales: Sandimmun (SAN) y Neoral (NEO).**

Sujeto	$C_{max}$		$t_{max}$		ABC		Vida media	
	SAN	NEO	SAN	NEO	SAN	NEO	SAN	NEO
1	235	587	2	2	2071.8	4306.9	11.6	9.9
2	121	659	4	2	1803.9	2475.9	9.1	8.6
3	211	630	2	1	2084.1	6311.9	12.3	10.1
4	160	276	2	4	2025.8	2039.1	8.7	14.5
5	263	102	2	1	1487.5	3485.5	6.1	9.4
6	64	145	2	2	590.6	749.4	9.2	19.8
7	134	473	2	2	509.8	1155.6	14.3	8.4
8	307	467	2	1	800.6	1743.6	8.8	12.8
9	218	712	2	2	1806.5	2745.8	10.1	8.4
10	275	469	2	2	902.5	2261.5	11.4	12.1
Promedio	198.8	452.0*	2.2	1.9 <sup>NS</sup>	1408.3	2727.5*	10.2	11.4 <sup>NS</sup>
ESM	24.4	67.4	0.2	0.3	202.8	516.6	0.7	1.1
CV	38.7	47.2	28.7	46.1	45.5	59.9	22.6	31.6

\*Indica una diferencia estadísticamente significativa con respecto a SAN ( $p < 0.01$ ), prueba *t* de Student pareada. Variación mayor de 20% determinada con el análisis de bioequivalencia utilizando el paquete de cómputo Biopak.

<sup>NS</sup> No hay diferencia estadísticamente significativa con respecto a SAN ( $p > 0.05$ )

No se encontraron diferencias significativas en los valores de CsA a las 0 y 12 horas (Tabla I.4), indicando que se había alcanzado estado estacionario después de cinco dosis tanto de SAN como NEO administradas cada 12 horas.



**Figura 1.A.-** Curva de concentración plasmática vs tiempo en diez pacientes con IRCT después de recibir cinco dosis de CsA 2.5 mg/kg cada 12 h, administrada como SAN (●) o NEO (○).

**Tabla 1.4.-** Niveles en valle en estado estacionario observados antes de la administración de CsA 2.5 mg/kg y 12 horas después en 10 pacientes con IRCT.

Sujeto	SAN		NEO	
	0h	12h	0h	12h
1	124	59	116	102
2	39	25	28	35
3	34	28	50	49
4	17	18	45	42
5	32	21	14	11
6	65	14	15	15
7	63	51	78	103
8	42	53	44	43
9	71	63	128	167
10	56	57	63	64
<b>Promedio</b>	<b>54.3</b>	<b>38.9*</b>	<b>58.10</b>	<b>63.10*</b>
<b>ES</b>	<b>9.44</b>	<b>6.10</b>	<b>12.38</b>	<b>15.19</b>
<b>CV</b>	<b>55.0</b>	<b>49.6</b>	<b>67.4</b>	<b>76.1</b>

\* No hay diferencia estadísticamente significativa con SAN ( $p=0.15$ )

Se comparó la biodisponibilidad con SAN y NEO mediante un análisis de bioequivalencia utilizando el programa de cómputo Biopak. Los resultados muestran que la probabilidad de que la relación  $ABC^{SAN}/ABC^{NEO}$  y  $C_{max}^{SAN}/C_{max}^{NEO}$  se encuentre por debajo del límite de bioequivalencia de 0.8 es altamente significativa ( $p < 0.01$ ). No hubo diferencia significativa entre los periodos de muestreo ni en su secuencia es decir SAN-NEO ó NEO-SAN.

La variabilidad interindividual de los parámetros farmacocinéticos ( $ABC$ ,  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y vida media) fue calculada de la siguiente manera:

$$\text{Coeficiente de variación (CV)} = \text{desviación estándar} \times 100 / \text{promedio}$$

Como se puede ver en la Tabla I.3, los coeficientes de variación son mayores con la formulación NEO para  $C_{max}$ ,  $t_{max}$ ,  $ABC$  y vida media. Esto también se observó para las concentraciones de CsA en suero a las 0 y 12 horas (Tabla I.4).

## DISCUSIÓN

Nuestros resultados indican que en niños con IRCT los valores del  $ABC$  y la  $C_{max}$  que se alcanzan con la formulación NEO son 90 y 130% mayores respectivamente que los que se observan con SAN. En los pacientes estudiados SAN y NEO no se comportaron como formulaciones bioequivalentes. Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Kabasakul y col. en niños pequeños con trasplante renal [16], aunque el estudio de estos autores no se realizó con un diseño cruzado. La diferencia en la biodisponibilidad de las formulaciones SAN y NEO parece ser mayor en niños que en adultos. Se ha propuesto que esta mejoría en la biodisponibilidad con NEO puede llevar a una reducción en la dosis sin embargo no se han resuelto muchas preguntas con respecto a su uso a largo plazo [7, 20].

No se observó una reducción en la variabilidad interindividual con la nueva formulación como se ha mencionado en la literatura [3], sin embargo hay que considerar que el estudio no se llevó a cabo en pacientes con trasplante renal y el medio urémico pudo ser responsable de que no se encontrara una menor variabilidad interindividual. Los coeficientes de variación para  $C_{max}$ ,  $ABC$ ,  $t_{max}$  y vida media fueron menores con SAN (Tabla I.3).

A pesar de las grandes diferencias encontradas en el  $ABC$  y  $C_{max}$  entre las formulaciones SAN y NEO los niveles en valle fueron similares con ambas formulaciones. Esto ha sido observado por otros autores tanto en niños como en adultos [16]. No se sabe si el aumento en la  $C_{max}$  que se observa con NEO ocasiona una mejor inmunosupresión o si por el contrario incrementa el riesgo de toxicidad [21-23]. En la práctica clínica se suele realizar la vigilancia terapéutica de la CsA con los niveles en valle [5, 12, 13, 24], algunos autores han criticado este método de monitoreo debido a que los niveles en valle no reflejan la exposición total al medicamento [15, 25-32]. Si únicamente se considera la información proporcionada por los niveles en valle, SAN puede ser

sustituida por NEO en una relación 1:1, sin embargo si se considera el ABC una sustitución 1:1 no es recomendable.

Los resultados del presente estudio muestran que en niños con IRCT la formulación NEO no parece ser mejor que la formulación SAN desde el punto de vista farmacocinético ya que variabilidad interindividual no se redujo y aún no se ha esclarecido si los grandes picos en la concentración de la CsA mejoran la respuesta terapéutica o incrementan la toxicidad. Considerando la información disponible en el momento actual no se recomienda una sustitución de SAN por NEO 1:1.

Es necesario ampliar la información sobre la eficacia y seguridad de NEO en la población pediátrica así como sobre la estrategia de monitoreo terapéutico más adecuada antes de que un patrón claro de sustitución pueda ser establecido.

## BIBLIOGRAFIA

1. Fahr A: Cyclosporine clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 24:472-495, 1993
2. Faulds D, Goa K, Benfield P: Cyclosporin: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 45:953-1040, 1993
3. Cooney G, Habucky K, Hoppu K: Cyclosporin pharmacokinetics in pediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 32:481-495, 1997
4. Lindholm A, Kahan B: Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 54:205-218, 1993
5. Noble S, Markham A: Cyclosporin. A review of the pharmacokinetics properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion based formulation (Neoral®). *Drugs* 50:924-941, 1995
6. Feutren G, Wong R, Jin J, Nese D, Mellein B: Safety and tolerability of neoral in transplant recipients. *Transplant Proc* 28:2177-2182, 1996
7. Friman S, Bäckman L: A new microemulsion formulation of cyclosporin. *Clin Pharmacokinetic* 30:181-193, 1996
8. Kahan B, Dunn J, Fitts C, et al: The Neoral formulation: improved correlation between cyclosporine trough levels and exposure in stable renal transplant recipients. *Transplant Proc* 26:2940-2943, 1994
9. Kovarik J, Mueller E, Richard F, Niese D, Halloran P, Jeffery J, Paul L, Keown P: Evidence for earlier stabilization of cyclosporine pharmacokinetics in de novo renal transplant patients receiving a microemulsion formulation. *Transplantation* 623:759-753, 1996
10. Coukell A, Plosker G: Cyclosporine Microemulsion (Neoral). A pharmacoeconomic review of its use compared with standard cyclosporin in renal and hepatic transplantation. *Pharmacoeconomics* 14:691-708, 1998
11. Hoyer P, Neoral Pediatric Study Group: Cyclosporin A (Neoral) in pediatric organ transplantation. *Pediatr Transplantation* 2:35-39, 1998
12. Brodehl J: Consensus statements on the optimal use of cyclosporine in pediatric patients. *Transplant Proc* 26:2759-2762, 1994

13. Gusmano R, Verrina E, Piaggio G, Corbetta G, Basile G, Perfumo F: Pharmacokinetics of oral cyclosporine in children awaiting renal transplantation. *Transplant Proc* 26:2781-2783, 1994
14. Hoppu K, Koskimies, Holmberg C, Hirvisalo E: Pharmacokinetically determined cyclosporine dosage in young children. *Pediatr Nephrol* 5:1-4, 1991
15. Bökenkamp A, Offner G, Hoyer P, Vester U, Wonigeit K, Brodhel J: Improved absorption of cyclosporin A from a new microemulsion formulation: implications for dosage and monitoring. *Pediatr Nephrol* 9:196-198, 1995
16. Kabasakul S, Clarke M, Kane H, Karsten J, Clark G: Comparison of neoral and sandimmun cyclosporin A pharmacokinetic profiles in young renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol*:318-321, 1997
17. Campana C, Regazzi M, Buggia I, Molinaro M: Clinically significant drug interactions with cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 30:141-179, 1996
18. Schriman D: A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokinet Biopharmacol* 15:657-680, 1987
19. Christians U, First R, Benet L: Recommendations for bioequivalence testing of cyclosporine generics revisited. *Ther Drug Monit* 22:330-345, 2000
20. Tejani A: Neoral: the microemulsion formulation. *Pediatr Transplantation* 2:85-86, 1998
21. Skorecki K, Rutledge W, Scriwer R: Acute cyclosporine nephrotoxicity. Prototype for a renal membrane signalling disorder. *Kidney Int* 42:1-10, 1992
22. Ader JL, Rostaing L: Cyclosporin nephrotoxicity: pathophysiology and comparison with FK-506. *Curr Opin Nephrol Hypert* 7:539-545, 1998
23. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, Shimbo T, Suthanthiran M: Cyclosporine induces cancer progression by a cell autonomous mechanism. *Nature* 397:530-534, 1999
24. Oellerich M, Armstrong V, Kahan B, Shaw L, Holt D, Yatscoff R, Lindholm A, Halloran P, Gallicano K, Wonigeit K, Schütz E, Schran H, Annesley T: Lake Louise Consensus Conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 17:642-654, 1995
25. Johnston A, Keown P, Holt D: Simple bioequivalence criteria: are they relevant to critical drugs. Experience gained from cyclosporine. *Ther Drug Monit* 19:375-381, 1997
26. Grevel J: Area under the curve versus trough level monitoring of cyclosporine concentration: critical assessment of dosage adjustment practices and measurement of clinical outcome. *Ther Drug Monit*:488-491, 1993
27. Grevel J, Welsh M, Kahan B: Cyclosporin monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monit* 11:246-248, 1989
28. Tsunoda S, Aweeka F: The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 30:107-140, 1996
29. Morris R: Target concentration strategy for cyclosporin monitoring. *Clin Pharmacokinet* 32:175-179, 1997
30. Charlebois J, Lum B, Cooney G, Mochon M, Kaiser B: Comparison and validation of limited sampling equations for cyclosporine area-under-the-curve monitoring calculations in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 19:277-280, 1997

31. Kahan B, Welsh M, Rutzky L: Challenges in cyclosporine Therapy: The role of therapeutic monitoring by area under the curve monitoring. *Ther Drug Monit* 17:621-624, 1995
32. Schroeder T, Hariharan S, First R: Relationship between cyclosporine bioavailability and clinical outcome in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 26:2782-2790, 1994

## ESTUDIO II.

### FARMACOCINÉTICA DE LA CICLOSPORINA EN EL SÍNDROME NEFRÓTICO

#### ANTECEDENTES

##### Síndrome Nefrótico en Niños

El síndrome nefrótico (SN) se caracteriza por la presencia de edema, proteinuria, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia. Se desconoce la etiología del SN, el cual puede ser primario o idiopático (SNI) o secundario a enfermedades sistémicas con afección renal [1]. La literatura se refiere al SN con diferentes denominaciones que causan confusión debido a que se utilizan como sinónimos y que dependen del enfoque clínico de cada autor. Cuando se observan las lesiones histopatológicas se hace referencia a la nefrosis lipoidea, síndrome nefrótico de cambios mínimos o esclerosis segmentaria y focal, entre otras lesiones. De acuerdo con la respuesta a los corticosteroides se clasifica como síndrome nefrótico corticorresistente, corticosensible o corticodependiente. Cuando se considera la edad al momento de la presentación se denomina SN de la niñez, SN del primer año de la vida o SN congénito. La mayoría de los niños con SN presentan lesiones glomerulares mínimas (LGM) en la biopsia renal, aunque también se presentan lesiones diferentes, tales como proliferación mesangial difusa (PMD), hialinosis segmentaria y focal (HSF), glomerulonefritis membranoproliferativa (MPGN), glomerulonefritis membranosa o extramembranosa (EM), etc. (Cuadro II.1) [2]. El SN también puede ser secundario a enfermedades sistémicas con involucración renal como el lupus eritematoso sistémico, la púrpura de Henoch-Schönlein, la sífilis congénita, la hepatitis B, la enfermedad asociada al HIV/SIDA, también se puede observar asociado al tratamiento con antiinflamatorios no esteroideos, o bien en pacientes con linfoma o reacciones alérgicas, etc. (Cuadro II.2) [3].

##### Cuadro II. 1.- Enfermedades glomerulares primarias asociadas con síndrome nefrótico

- *Lesiones glomerulares mínimas*
- *Glomeruloesclerosis focal y segmentaria*
- *Proliferación mesangial*
- *Glomerulonefritis membranoproliferativa Tipo I, II y III*
- *Glomerulonefritis membranosa*
- *Glomerulonefritis endo y extracapilar focal o difusa*

##### Cuadro II. 2.- Causas de síndrome nefrótico secundario.

- *Infeciosas*

##### a) Bacterias.

Glomerulonefritis post-estreptocócica, nefritis por derivación ventrículo-peritoneal o ventrículo-atrial, lepra, sífilis, infección por *Mycoplasma*, tuberculosis.



**b) Virus.**

Hepatitis B, Hepatitis C, Citomegalovirus, Epstein-Barr virus, Herpes zoster, virus de inmunodeficiencia humana.

**c) Protozoarios.**

Malaria, toxoplasmosis

**d) Helmintos.**

Esquistosomiasis, tripanosomiasis, filariasis

• ***Drogas***

Mercurio orgánico, inorgánico y elemental

Sales de oro

Penicilamina

Probenécid

Rifampicina

Captopril

Analgésicos antiinflamatorios no esteroideos

Heroína

Litio

Interferón alfa

Medios de contraste

• ***Alergenos, venenos, inmunizaciones***

Picadura de abeja

Veneno de serpiente

Hiedra venenosa

Antitoxinas

Toxoides tetánico

Vacuna difteria, tosferina y tétanos (DPT)

• ***Enfermedades multisistémicas***

Lupus eritematoso sistémico

Enfermedad mixta de tejido conectivo

Dermatomiositis

Artritis reumatoide

Síndrome de Goodpasture

Púrpura de Henoch-Schönlein

Vasculitis sistémica (incluyendo granulomatosis de Wegener)

Arteritis de Takayasu

Sarcoidosis

Amioidosis

• ***Enfermedades metabólicas y hereditarias***

Diabetes mellitus

Hipotiroidismo

Drepanocitosis

Síndrome uña-rótula

Enfermedad de Fabry

Síndrome de Alport

Síndrome de Hurler  
Síndrome nefrótico congénito (Tipo finlandés)  
Síndrome de Drash  
Síndrome nefrótico familiar  
Síndrome de Jeune  
Síndrome Galloway-Mowat

- **Neoplasias**

- a) Tumores sólidos (carcinoma y sarcoma).**

- Pulmón, colon, estómago, mama, riñón, tiroides, ovario, melanoma, feocromocitoma, mesotelioma.

- b) Leucemias y linfomas.**

- Enfermedad de Hodgkin, linfoma, leucemia linfática crónica, macroglobulinemia Waldenström.

La mayoría de los pacientes pediátricos presentan el SN primario o idiopático (SNI), con LGM y son corticosensibles con pronóstico favorable a mediano y largo plazo, ya que llegan a la curación sin dejar secuelas renales. Ocasionalmente los pacientes con SN de lesiones glomerulares mínimas progresan a uremia terminal o fallecen por complicaciones tempranas, principalmente por infecciones intercurrentes o por insuficiencia renal aguda [4].

## **EPIDEMIOLOGÍA.**

Se desconoce la incidencia del SNI en nuestro país. En la literatura se estima la presentación de 2 a 7 x 105 nuevos casos anuales en niños menores de 16 años, mientras que la prevalencia es de 15 x 105 casos en menores de 16 años [5, 6].

En el Hospital Infantil de México Federico Gómez registran de 35 a 40 nuevos casos anualmente, con un número acumulado de 427 pacientes en los últimos 11 años. Aproximadamente la mitad de los pacientes son de edad preescolar, con prevalencia del sexo masculino en proporción de 1:1.5. Alrededor de 85% de los niños que reciben tratamiento con prednisona o prednisolona son corticosensibles ya que al recibir el tratamiento desaparecen todos los datos clínicos y de laboratorio que caracterizan al SN. El resto son corticorresistentes y no responden al tratamiento con corticosteroides. La mayoría de pacientes corticorresistentes no presentan LGM en el estudio histopatológico renal, sino que las lesiones del parénquima son HSF, PMD o MPGN, y con menor frecuencia (2%) de los pacientes tienen otro tipo de lesiones, como EM y GNEED. El Estudio Colaborativo Internacional de Enfermedades Renales en Niños (ISKDC) [7] reportó que los niños con síndrome nefrótico presentaron lesiones histopatológicas compatibles con cambios glomerulares mínimos en 77%; HSF en 10%; MPGN en 5%; PMD en 3%; GNEED en 3% y EM en 2%.

## CLASIFICACIÓN HISTOPATOLÓGICA DEL SN.

Una de las contribuciones más importantes de la biopsia renal ha sido identificar estas diferentes enfermedades glomerulares y proporcionar ayuda para conocer el pronóstico y decidir el tratamiento. Existen relativamente pocas lesiones histopatológicas que son las responsables de la mayoría de los casos de síndrome nefrótico, principalmente LGM, HSF, PMD y con menor frecuencia las diversas lesiones que aparecen en el Cuadro II.1. A diferencia de lo que sucede con los adultos en los pacientes pediátricos no se realiza la biopsia renal en cuanto se diagnostica el SN, esto se debe a que la lesión histológica de cambios glomerulares mínimos es la más frecuente hasta en 80% de los casos. Por esto se da un tratamiento inicial con esteroides y si hay corticodependencia, corticorresistencia o recaídas frecuentes se procede a realizar biopsia renal ya que puede tratarse de una lesión renal compleja [8]. En el Cuadro II. 3 se mencionan algunas de las indicaciones de biopsia renal en pacientes pediátricos con SN, entre las que destacan el deterioro en la función renal, hipocomplementemia e historia de nefritis familiar.

### **Cuadro II. 3.-Indicaciones de biopsia renal en síndrome nefrótico primario**

*Historia previa de enfermedad renal*

*Historia de nefritis familiar*

*Deterioro progresivo de la función renal*

*Retención de azoados*

*Hipocomplementemia*

*Corticorresistencia*

*Corticodependencia*

*Recaídas frecuentes*

El espécimen de biopsia renal se procesa para microscopía óptica, inmunofluorescencia y microscopía electrónica. Para la microscopía óptica se realizan las tinciones de hematoxilina y eosina, el ácido periódico de Schiff (PAS), la metenamina de plata y el tricrómico de Masson, en algunas ocasiones pueden requerirse otro tipo de tinciones como rojo Congo para detectar los depósitos de amiloide [8, 9].

#### ***Lesiones Glomerulares Mínimas (LGM)***

También conocido como SN de cambios mínimos, enfermedad de cambios mínimos y nefrosis lipoidea. Se refiere a la entidad clinicopatológica que se asocia al SN con un cambio de configuración específico limitado a las células del epitelio visceral del glomérulo. Se caracteriza por glomérulos de apariencia normal en la microscopía de luz y sin depósito de inmunorreactantes en la inmunofluorescencia, sin embargo en la microscopía electrónica se observa fusión de los pedicelos lo cual ocasiona que el lado urinario de la membrana basal glomerular se cubra por una capa homogénea de citoplasma de células epiteliales en vez de ser una compleja interdigitación de los

pedicelos de las células adyacentes. Con frecuencia se observa vacuolización como gotas de grasa y gotas hialinas en el citoplasma de las células tubulares proximales, que corresponden a la reabsorción de lípidos y proteínas respectivamente, y también aparece un discreto ensanchamiento del espacio intersticial, relacionado con el edema en este sitio. Ya que el diagnóstico de LGM depende de la ausencia de cambios en los glomérulos en la microscopía de luz, es necesario que se preparen muchas secciones de cada espécimen de biopsia para ser examinado exhaustivamente.

El Estudio Internacional de Enfermedades Renales en Niños (ISKDC) reportó que el SN con LGM es la causa más frecuente de SN en los niños, 80% de las LGM se encontraron en menores de 6 años, pero puede ocurrir a cualquier edad. Aproximadamente 95% de ellos responden a la terapia con esteroides y también se han reportado remisiones espontáneas. La progresión de LGM a insuficiencia renal crónica ocurre en menos de 1% de los pacientes en quienes se reportó LGM. Se han informado casos de pacientes con recaídas frecuentes del SN en donde las biopsias subsecuentes han encontrado glomeruloesclerosis focal y segmentaria. Esto puede ser interpretado como una progresión de la enfermedad de LGM a glomeruloesclerosis focal y segmentaria o bien que esta última entidad no se detectó en la biopsia inicial porque no aparecieron glomérulos afectados en la muestra de tejido [10].

#### ***Glomeruloesclerosis Segmentaria Focal***

También se conoce como hialinosis segmentaria focal (HSF), esclerosis focal o glomeruloesclerosis focal. Se presenta tanto en el SN primario como en el secundario. Se define como la presencia de áreas localizadas de esclerosis o solidificación por depósitos de fibrina dentro del ovillo glomerular. La esclerosis ocurre con mayor frecuencia en la periferia del ovillo y puede estar en la región hilar. Los glomérulos no involucrados por lo general tienen apariencia normal o pueden tener un incremento difuso en la celularidad o en el tamaño, pero no muestran lesiones inflamatorias segmentarias. Las áreas escleróticas con frecuencia contienen pequeñas áreas eosinofílicas hialinas en las asas capilares. Los túbulos muestran atrofia focal y fibrosis intersticial. En la inmunofluorescencia se observa con frecuencia depósitos de IgM y C3 en las áreas de lesión segmentaria. También puede haber depósitos de C1q y C4 [11, 12].

El pronóstico de los pacientes con SN y HSF en la biopsia renal está determinado por la respuesta al tratamiento con esteroides. Aquellos pacientes corticorresistentes o corticodependientes pueden evolucionar a insuficiencia renal crónica. Aproximadamente 80% de los pacientes no responden a esteroides. Cameron ha reportado que 40-60% de los pacientes desarrollan insuficiencia renal crónica en un periodo de 10 años [13, 14]. También se ha identificado un subgrupo de pacientes que evolucionan rápidamente a insuficiencia renal terminal, la lesión glomerular y túbulointersticial en estos niños es muy grave y si la uremia se alcanzó en un tiempo menor de 2 años existe un alto riesgo de recurrencia de la enfermedad en el riñón transplantado [10, 15-17].

La lesión histológica de HSF puede presentarse en otras nefropatías secundarias con o sin síndrome nefrótico, tales como: la asociada a VIH, la nefropatía por heroína, la diabetes mellitus, el síndrome de Alport, la glucogenosis tipo I, el rechazo crónico del injerto renal, la preeclampsia, la nefropatía hipertensiva, la nefropatía del reflujo, la obesidad, entre otras [13].

#### ***Proliferación Mesangial Difusa***

Esta categoría de enfermedad renal es clínicamente indistinguible del SN de LGM. Se caracteriza por un aumento en el número de células del mesangio. En la inmunofluorescencia se encuentran con frecuencia depósitos de IgM en el mesangio, en ocasiones también puede haber C3. En la microscopía electrónica se aprecia fusión de los pedicelos de las células epiteliales viscerales, pero en forma menos difusa que en la lesión de LGM. La mayoría de los autores no consideran a esta entidad diferente del SN de LGM. Cuando hay proliferación mesangial pura, sin afección del intersticio, la evolución a largo plazo es similar al SN LGM [13, 18-20].

### **PRESENTACIÓN CLÍNICA.**

El diagnóstico de SN se basa en la presencia de edema, proteinuria ( $\geq 40$  mg/h/m<sup>2</sup> SC) ó  $> 2.5$  g/L en un examen general de orina, hipercolesterolemia ( $\geq 200$  mg/dL) e hipoalbuminemia ( $< 2.5$  mg/dL) (Cuadro II. 4).

#### **Cuadro II. 4.- Hallazgos clínicos y de laboratorio para el diagnóstico del SNI**

##### ***Edema.***

Retención de líquidos en el espacio intersticial  $\geq 10\%$  del peso corporal.

##### ***Proteinuria masiva:***

3-4 + con tiras reactivas, o;

$> 2.5$  g/L en una muestra aislada, o;

$\geq 40$  mg/h/m<sup>2</sup> SC, en colección urinaria de 12 horas, o;

Relación proteínas/creatinina en una muestra urinaria:  $> 200$  mg/mmol.

##### ***Hipoalbuminemia:***

$\leq 2.5$  mg/dL

##### ***Hiperlipidemia:***

Colesterol:  $> 200$  mg/dL

Triglicéridos:  $> 200$  mg/dL

Para que el edema se manifieste clínicamente se requiere que exista un aumento mínimo del peso corporal de 10%, a expensas de aumento de volumen del espacio líquido intersticial por retención de sodio y agua.

La proteinuria es el signo cardinal y requisito sine qua non para establecer el diagnóstico de SN. En condiciones normales la albúmina se filtra en cantidades insignificantes a través de las membranas basales de los capilares

glomerulares y se reabsorbe casi en su totalidad en los túbulos proximales. La mínima fracción que no se reabsorbe aparece en la orina acompañada de la proteína de Tamm-Horsfall, cuya producción ocurre en los túbulos renales y se elimina en la orina en escasa cantidad, apenas detectable con los métodos convencionales. En cambio, en condiciones patológicas la proteinuria es abundante y se detecta fácilmente por medio de las tiras reactivas colorimétricas marcadas con tetrabromofenol, que cambia progresivamente de coloración (de amarillo a verde y azul) en relación a la cantidad de proteínas presentes en la orina; ó por la determinación de turbidez de la orina con ácido sulfosalicílico. En pacientes los con SNI se marcan 3 o 4 cruces por cualquiera de éstos métodos. Para una determinación más precisa se cuantifica la proteinuria en una muestra urinaria de 12 horas de colección nocturna con el objeto de evitar confusión con la presencia de proteinuria ortostática, que en algunas personas puede ser un hallazgo normal, aunque poco frecuente y no implica la presencia de SN. La proteinuria ortostática desaparece después de iniciar la deambulación, mientras que ésta es permanente en pacientes con SN. Cuando se colecta la orina en la forma ya indicada, la excreción urinaria normal de proteínas es hasta 4 mg/h/m<sup>2</sup> SC; entre 4 y 39 mg/h/m<sup>2</sup> SC se considera una proteinuria significativa y deberá descartarse algún problema renal, mientras que cifras iguales o mayores de 40 mg/h/m<sup>2</sup> SC se consideran como proteinuria masiva, característica determinante del síndrome nefrótico [21, 22].

La hipoalbuminemia generalmente es menor de 2.5 mg/dL, frecuentemente con concentraciones entre 0.5 y 1.0 mg/dL. La producción de albúmina se encuentra normal o elevada, por lo que se descarta que la síntesis de albúmina sea la causa de la hipoalbuminemia, sino que más bien es secundaria a la pérdida renal de albúmina por el aumento de la permeabilidad de la membrana basal glomerular.

La etiología de la hipercolesterolemia no se conoce con precisión, pero parece que se encuentra en relación con la mayor síntesis hepática de albúmina [3].

Como se mencionó previamente, la mayoría de los pacientes presentan una buena respuesta a la administración de esteroides. Sin embargo, se presentan recaídas que pueden ser esporádicas o frecuentes. En el cuadro II.5 se mencionan las definiciones de uso corriente en la descripción clínica de la enfermedad. Las recaídas se pueden acompañar de infecciones de poca gravedad, como resfriados, diarrea, etc., aunque ocasionalmente la infección intercurrente es grave, como peritonitis primaria ó septicemia. La remisión del SNI ocurre en forma espontánea al curarse la infección intercurrente, o bien después de un nuevo tratamiento con esteroides. La remisión del síndrome nefrótico suele durar varios meses antes de presentarse una nueva recaída y en algunos casos afortunados la remisión es permanente. La evolución natural del padecimiento se caracteriza por la presentación de recaídas esporádicas, una o dos veces al año, que ceden paulatinamente hasta la pre-adolescencia o la adolescencia, durante la cual la remisión se vuelve permanente conservándose normal la función renal y sin dejar secuelas.

## **Cuadro II. 5. Definiciones Clínicas en el SNI**

### ***Remisión completa:***

Desaparición del edema y reducción de la proteinuria  $< 4 \text{ mg/h/m}^2 \text{ SC}$  ó proteinuria negativa o trazas medida por tiras reactivas.

### ***Remisión parcial:***

Persistencia de proteinuria con resolución de la hipoalbuminemia (albúmina sérica  $> 2.5 \text{ mg/dL}$ ) y desaparición del edema.

### ***Recaída:***

Aumento en la proteinuria a  $\geq 40 \text{ mg/h/m}^2 \text{ SC}$  ó  $\geq 2.5 \text{ g/L}$  en examen general de orina, por más de 3 días consecutivos cuando el paciente ya se encontraba en remisión del síndrome nefrótico.

### ***Corticosenible:***

La desaparición de síntomas y datos de laboratorio que caracterizan al SN, principalmente la negativización de la proteinuria y albúmina sérica  $> 2.5 \text{ mg/dL}$ .

### ***Corticorresistente:***

Persistencia de proteinuria  $> 40 \text{ mg/m}^2 \text{ SC/h}$  ó  $2.5 \text{ g/L}$  en examen general de orina e hipoalbuminemia (albúmina sérica menor de  $2.5 \text{ mg/dL}$ ) después de un mes de tratamiento con prednisona  $60 \text{ mg/m}^2 \text{ SC/día}$ , seguido por un mes de prednisona  $40 \text{ mg/m}^2 \text{ SC/días}$  alternos.

### ***Recaídas Frecuentes:***

La aparición del SN en  $\geq 2$  ocasiones en período de 6 meses.

### ***Corticodependiente:***

La aparición de  $\geq 2$  recaídas mientras se recibe el tratamiento esteroideo, o durante las 2 semanas después de la suspensión del tratamiento.

## **FISIOPATOLOGÍA.**

El edema es la manifestación clínica más sobresaliente del SN y constituye la razón principal para solicitar atención médica. Inicialmente el edema es matutino y aparece en cara y párpados, luego se distribuye en las partes declives y se generaliza hasta llegar a la anasarca, manifestándose como derrame pleural, ascitis a tensión, hinchazón de miembros inferiores y edema escrotal. Tanto la ascitis como el derrame pleural pueden interferir con la mecánica respiratoria cuando se acumula una cantidad importante [22].

El edema es la acumulación de líquidos en el espacio intersticial, como resultado de una retención renal de los mismos por incremento en la reabsorción tubular de agua y sodio en presencia de hipovolemia. La fisiopatogenia inicial en la formación del edema implica el aumento de la permeabilidad de la membrana basal glomerular, la cual en condiciones normales solamente permite el paso del agua y las moléculas de bajo peso molecular hacia el filtrado glomerular, tales como electrolitos y glucosa, mientras que no permite el paso de las proteínas y otros péptidos de mayor peso molecular. Al aumentar la permeabilidad de la membrana basal glomerular, la primera proteína que pasa es la albúmina, con un peso molecular de 68 000, que por lo tanto se filtra y se pierde en la

orina [23]. La pérdida de la albúmina se traduce en una reducción de la presión oncótica plasmática con alteraciones del equilibrio de las fuerzas de Starling, que provoca la extravasación de sodio y agua del espacio vascular hacia el espacio intersticial. El edema se manifiesta clínicamente cuando el acopio de líquidos en el espacio intersticial sobrepasa al 10% del peso corporal. La mayoría de los niños con SNI desarrollan hipovolemia secundaria al escape del líquido vascular, lo que a su vez induce una respuesta renal con una mayor reabsorción tubular de sodio y agua que empeora el estado edematoso.

En presencia de las condiciones fisiológicas mencionadas el volumen del edema aumenta en forma proporcional a la cantidad de ingesta de sodio y de agua. Cuando la conservación renal de agua es mayor que la de sodio se desarrolla una dilución generalizada de los espacios líquidos corporales que se traduce en hiponatremia. Ésta última situación clínica se observa con frecuencia en niños nefróticos con restricción sódica, pero sin restricción hídrica.

En la mayoría de los casos con lesiones glomerulares mínimas en la histopatología renal la proteinuria es selectiva a la albúmina, mientras que otras proteínas de mayor peso molecular suelen aparecer en la orina cuando las lesiones histopatológicas son diferentes a las mínimas y de tipo complejo [24].

Un componente del SNI es la hiperlipidemia que aparentemente se encuentra relacionada etiológicamente a la hipoalbuminemia, a la reducción de la presión oncótica plasmática y al aumento de la viscosidad sanguínea que se observan en éstos pacientes [25]. La síntesis hepática de las lipoproteínas se encuentra aumentada y tanto el colesterol total como los triglicéridos se elevan entre 250 y 1000 mg/dL. Las lipoproteínas de baja densidad y las de muy baja densidad son las que se encuentran más afectadas, lo que se traduce también en alteraciones del transporte de las lipoproteínas. En la mayoría de los pacientes éstas alteraciones son temporales y desaparecen con la remisión del cuadro nefrótico. Sin embargo, en pacientes con SN corticorresistente de evolución crónica se puede requerir la administración de terapia farmacológica para reducir las cifras del colesterol, ya que con las restricciones dietéticas generalmente no se obtienen resultados satisfactorios.

La función renal es normal en la mayoría de los niños nefróticos. Sin embargo, la creatinina en sangre puede elevarse temporalmente en presencia de infecciones intercurrentes, hipovolemia o deshidratación. Inclusive se puede desarrollar un cuadro de insuficiencia renal aguda cuando los factores mencionados son graves y persistentes. Cuando la creatinina en sangre se eleva en forma permanente como manifestación de reducción de la velocidad de filtración glomerular, indica que probablemente el SN es de lesiones complejas y es una indicación de realizar la biopsia renal.

## **COMPLICACIONES.**

El edema, la hipercolesterolemia y la hipoalbuminemia son signos cardinales del SN y además, por sí mismas pueden ser complicaciones graves del SN que requieran manejo específico. Con frecuencia se desarrollan



otras complicaciones clínicas en los niños nefróticos que repercuten en la morbilidad del padecimiento y se describirán brevemente.

**Infecciones:** Las infecciones son complicaciones frecuentes de los niños nefróticos, principalmente cuando se encuentra en recaída del SN y es uno de los factores más importantes que influyen en la sobrevida del paciente. La susceptibilidad de los niños nefróticos al desarrollo de procesos infecciosos es de origen multifactorial. En primer lugar los cambios en la concentración de las inmunoglobulinas explican la tendencia de los niños nefróticos para adquirir infecciones intercurrentes, principalmente a gérmenes encapsulados y a bacterias gram negativas, tales como *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Hemophilus influenzae* y *Enterobacter*, que dan origen a bronconeumonía, artritis séptica, peritonitis primaria, erisipela, infecciones respiratorias altas, otitis media y meningitis. Éstas infecciones pueden acompañarse de septicemia y evidencias clínicas de choque séptico [26, 27].

Las infecciones virales con frecuencia se asocian al desarrollo de una recaída del SN, pero generalmente no son graves, excepto la varicela, Herpes zoster y ocasionalmente el citomegalovirus cuando el paciente se encuentra en tratamiento con corticosteroides.

**Trombosis:** Los niños nefróticos tienen la tendencia a desarrollar complicaciones tromboembólicas de venas y arterias de grande y mediano calibre. La fisiopatogenia se relaciona con la presencia de hipovolemia y aumento de la viscosidad sanguínea, así como con un estado de hipergoagulación descrito en éstos pacientes, que se caracteriza por trombocitosis, agregación plaquetaria, aumento del factor V plaquetario, fibrinógeno, factores VII, VIII y alfa-2-macroglobulina, con reducción de antitrombina III. Los accidentes vasculares son graves y de alto riesgo para la vida del paciente, siendo los más frecuentes trombosis de venas cavas superior o inferior, seno longitudinal cerebral, arterias y venas renales, tromboembolismo pulmonar, etc. Los episodios de deshidratación y la administración de diuréticos potentes facilitan el desarrollo de las trombosis [28, 29].

## **TRATAMIENTO DEL SINDROME NEFROTICO**

El tratamiento del síndrome nefrótico idiopático debe incluir recomendaciones con respecto a la dieta, actividad, control del edema, exposición y tratamiento de infecciones, inmunizaciones, apoyo psicológico al paciente y su familia así como terapia inmunosupresora.

### **Tratamiento Inmunosupresor**

Si bien existen remisiones espontáneas del síndrome nefrótico que pueden presentarse incluso varios años después de haber iniciado la enfermedad no se conoce la verdadera frecuencia de remisiones espontáneas ya que dicha información proviene de la era preesteroides y en muchas de las series reportadas hace falta información sobre la histología del síndrome nefrótico. Actualmente se prefiere administrar tratamiento con esteroides en

cuanto se diagnostica la enfermedad ya que el paciente corre el riesgo de sufrir complicaciones potencialmente fatales del síndrome nefrótico y se ha demostrado que el tratamiento con los esteroides mejora la sobrevida y reduce los períodos de incomodidad y de riesgo de infección.

La prednisona y la prednisolona son los agentes más comúnmente empleados. Dado que la lesión histológica más frecuente en la población pediátrica es LGM no es necesario realizar biopsia renal antes de observar la respuesta a esteroides pues alrededor de 90% de los pacientes con síndrome nefrótico idiopático responden al tratamiento con esteroides [30].

El Grupo Internacional para el Estudio de las Enfermedades Renales en Niños (ISKDC) recomendó iniciar el tratamiento específico con prednisona diaria 60 mg/m<sup>2</sup>SC dividida en dosis durante 4 semanas sin exceder 80 mg/día, reduciendo a 40 mg/m<sup>2</sup>SC/días alternos por 4 semanas. Con este esquema el ISKDC reportó que responden 93% de los pacientes y se consideran corticosensibles [31]. Las recaídas se tratan con prednisona 60 mg/m<sup>2</sup>SC/día (dosis máxima 80 mg/día) hasta que desaparezca la proteinuria por tres días consecutivos, posteriormente el paciente recibe prednisona 40 mg/m<sup>2</sup> SC/días alternos por cuatro semanas. Cuando hay corticorresistencia, corticodependencia, recaídas frecuentes o efectos adversos a los esteroides; el paciente debe ser referido al nefrólogo pediatra para considerar biopsia renal y el uso de otros agentes terapéuticos.

En el Cuadro II.6 se mencionan los medicamentos inmunosupresores más comúnmente empleados en el tratamiento del SN. Los agentes citotóxicos no deben emplearse como terapia inicial del síndrome nefrótico y deben reservarse para aquellos pacientes que desarrollan efectos adversos al tratamiento con esteroides, corticodependencia, corticorresistencia y en los pacientes que por presentar complicaciones infecciosas frecuentes no pueden completar un tratamiento de 8 semanas con esteroides [30]. En estos casos se ha empleado ciclofosfamida, clorambucil y mostaza nitrogenada pero sus efectos adversos potenciales han limitado su uso. En los casos de recaídas frecuentes y corticodependencia el agente que se emplea con mayor frecuencia es la ciclofosfamida 2 mg/kg/día por ocho semanas, con mejor respuesta si se asocia inicialmente con esteroides [32]. En los casos de corticorresistencia se pueden emplear agentes alquilantes, sin embargo, no siempre se obtiene respuesta [32, 33].

### **Tratamiento con ciclosporina en el SN**

La ciclosporina A (CsA) puede reducir la proteinuria en varias formas de glomerulopatías humanas y experimentales [34-39]. Se ha utilizado en el manejo del síndrome nefrótico idiopático tanto de primera intención como en los casos de corticorresistencia, corticodependencia y recaídas frecuentes [40]. Específicamente en el caso de SN corticorresistente existen muchos reportes, incluyendo dos estudios controlados que muestran la utilidad de la CsA para inducir la remisión en esta población, y el porcentaje de respuesta varía de 0 a 100% según la serie consultada [24, 37, 41-46]. En un estudio realizado en el Hospital Infantil de México con 14 pacientes

**Cuadro II. 6. Medicamentos inmunosupresores empleados en el síndrome nefrótico. Indicaciones, dosis y efectos adversos.**

Prednisona	Tratamiento inicial de SNI Recaída de SN	60mg/m <sup>2</sup> SC/día max. 80mg por 4 semanas 40mg/ m <sup>2</sup> SC /días alternos por 4 semanas En caso de recaída se inicia 60mg/ m <sup>2</sup> SC/día hasta que la proteinuria sea negativa por 3 días; posteriormente 40mg/ m <sup>2</sup> SC /días alternos 4 semanas	Hipertensión arterial Hipertroficosis Cushing Cataratas Susceptibilidad a infecciones Leucocitosis Psicosis Osteopenia Pseudotumor cerebral Miopatía
Ciclofosfamida	Corticodependencia Recaídas frecuentes Corticorresistencia	2mg/ m <sup>2</sup> SC /día durante 12 semanas Puede asociarse a prednisona 1mg/kg/día durante un mes con descenso en el mes siguiente	Leucopenia Infecciones Cistitis hemorrágica Toxicidad gonadal (con dosis acumulada > 250mg/kg) Leucemia
Mostaza nitrogenada	Efectos adversos a esteroides Recaídas frecuentes Corticodependencia	0.1mg/kg/día IV x 4 días Prednisona 0.5mg/kg vía oral por 4 días con descenso rápido posteriormente	Leucopenia Infecciones
Ciclosporina	Corticorresistencia Corticodependencia Recaídas frecuentes Efectos adversos a esteroides	6-10mg/kg/día en dos dosis 12-18 meses Se puede asociar a dosis bajas de esteroides por 3 meses	Nefrototoxicidad Hepatotoxicidad Mielotoxicidad Hipertensión arterial Hipertroficosis Hipertrofia gingival
Clorambucil	Corticorresistencia Corticodependencia Recaídas frecuentes	0.15-0.2mg/Kg/día por 8-12 semanas	Leucopenia Infecciones Toxicidad gonadal (con dosis acumulada > 10mg/kg) Leucemia Crisis convulsivas

corticorresistentes tratados con CsA-Prednisona respondieron 10, tres en forma parcial y siete en forma completa [38]. Existen muchas interrogantes sobre el uso de CsA en los pacientes nefróticos 1) **La dosis.** Se ha sugerido iniciar la CsA a razón de 6 mg/kg/día y ajustar la dosis para mantener los niveles en valle similares a los de los pacientes con trasplante renal y los requerimientos pueden variar de 2 a 20 mg/kg/día, el porcentaje de respuesta se incrementa si se agregan esteroides en los primeros meses [37]. En los pacientes que responden al tratamiento, la dosis de CsA se disminuye progresivamente hasta alcanzar el nivel mínimo con el cual el paciente continúa en remisión sin dar importancia a las concentraciones en valle [37, 45]. Los pacientes con hipercolesterolemia grave pueden requerir dosis mayores para responder [47, 48]. Meyrier y col. encontraron que en los pacientes adultos con SIN la dosis umbral por encima de la cual el medicamento ocasionaba nefrototoxicidad era de 5.5 mg/kg/día,

también señalaron que la tolerancia renal a la CsA difiere de acuerdo al tipo de lesión glomerular primaria y los pacientes con LGM tuvieron mejor tolerancia que los que presentaron HSF [45].

**2) La duración del tratamiento.** Debido a que los pacientes pueden presentar recaída del síndrome nefrótico poco después de que se suspende la CsA, muchos autores recomiendan disminuir la dosis de CsA en forma progresiva hasta el nivel mínimo que mantenga al paciente en remisión, y cuando los pacientes permanecen en remisión por seis meses se intenta discontinuar el tratamiento [18, 47, 49]. En la literatura se señalan intervalos de tratamiento desde 2 meses hasta cinco años y como el uso a largo plazo incrementa el riesgo de nefrotoxicidad en los pacientes con un daño renal preexistente, la elección entre tratamientos cortos o prolongados se presenta como un dilema para el nefrólogo. Algunos centros realizan biopsias periódicas cada 12 ó 18 meses para documentar nefrotoxicidad y decidir sobre el retiro del medicamento [18, 37, 39, 43, 46, 47, 49].

**3) La evolución de los pacientes una vez que suspenden ciclosporina.** Si bien se ha reportado que los pacientes que inicialmente eran corticorresistentes después de haber recibido CsA podían volverse corticosensibles, también se ha reportado a pacientes que ya no responden con el reinicio de ciclosporina (CsA-resistentes) o bien que requieren de la CsA para mantenerse en remisión (CsA-dependientes) [37].

**4) Información sobre la farmacocinética de CsA en el síndrome nefrótico.** Existe poca información en la literatura sobre la biodisponibilidad de medicamentos en los pacientes nefróticos, sin embargo se sabe que la disminución marcada de proteínas séricas aumenta la cantidad del fármaco libre [50-52]. Otras características del estado nefrótico que pueden influir en la biodisponibilidad de los medicamentos son la hiperlipidemia [48], el edema de asas intestinales que con frecuencia ocasiona diarrea en estos pacientes y la mala absorción intestinal de nutrientes, así como la hipovolemia relativa. Vernillet y col. realizaron un estudio farmacocinético con una sola dosis de CsA en 8 pacientes adultos con síndrome nefrótico, administrada de forma intravenosa y por vía oral utilizando la formulación estándar y compararon sus resultados con lo descrito en la literatura para otras poblaciones de pacientes sin síndrome nefrótico, encontraron que los pacientes nefróticos presentaron el doble de los valores plasmáticos de la CsA cuando se administró por vía intravenosa pero no hubo diferencia con la administración oral y sugieren que las modificaciones en los parámetros farmacocinéticos que se observan al administrar el medicamento IV están directamente relacionadas con los cambios en las lipoproteínas que caracterizan al síndrome nefrótico. La hipoalbuminemia favorece la migración de la CsA hacia los tejidos al reducir la presión oncótica intravascular mientras que la hiperlipoproteinemia favorece la retención de la CsA en el compartimento central al incrementar la cantidad de CsA unida a las lipoproteínas [53]. En los pacientes con trasplante hepático se ha descrito que si tienen cifras de colesterol menores de 120 mg/dL en la primera semana postrasplante presentan más efectos adversos a la CsA, lo cual puede estar relacionado con un aumento en la cantidad de fármaco libre [54]. No se ha esclarecido si las diferencias bioquímicas entre los estados de recaída y de remisión en el síndrome nefrótico alteran ó no la farmacocinética de la CsA y si estas diferencias son

importantes como para realizar un ajuste de la dosis. **5) Información sobre la farmacodinamia de la CsA en síndrome nefrótico.** Se han descrito dos tipos de marcadores farmacodinámicos para la ciclosporina, unos tienen que ver con la actividad inmunosupresora y otros con la nefrotoxicidad [Awni, 1992 #80], entre los marcadores de inmunosupresión más estudiados destacan la interleucina-1 (IL-1), la interleucina-2 (IL-2), el receptor para interleucina-2, la interleucina-6 (IL-6), el factor de necrosis tumoral  $\beta$ , la expresión del receptor de transferrina y el interferón gamma. La mayoría de estos marcadores han sido estudiados en pacientes con trasplante renal. Hulton y col. reportaron un incremento en los niveles de IL-2 y el receptor soluble de IL-2 en el sobrenadante de niños con síndrome nefrótico y después del tratamiento con CsA los niveles de IL-2 y el receptor soluble de IL-2 fueron indetectables [62], se ha sugerido también que la CsA puede disminuir el factor de permeabilidad glomerular secretado por los linfocitos T [63]. Como marcadores de nefrotoxicidad se mencionan la creatinina sérica y la depuración de creatinina, la excreción urinaria de calicreína y  $\beta$ -2 microglobulina, el factor transformador de crecimiento  $\beta$  y la trombomodulina plasmática [Ader JL, 1998 #154; Awni, 1992 #80; Hojo, 1999 #20]

### **Modelos animales del síndrome nefrótico**

Existen diferentes modelos animales del síndrome nefrótico experimental que permiten estudiar la bioquímica y la fisiología del síndrome nefrótico [55-57]. El modelo más utilizado es el que se induce con la inyección subcutánea de aminonucleósido de puromicina (ANP) ya que se asemeja al síndrome nefrótico de lesiones glomerulares mínimas que se encuentra en los humanos. Se ha caracterizado la secuencia de eventos clínicos e histopatológicos que se producen después de la administración de ANP a las ratas, los animales desarrollan proteinuria en los días 4 a 30 y presentan hipoproteinemia en los días 4 a 16, que se considera la etapa nefrótica, posteriormente la proteinuria va desapareciendo después del día 30. También hay un incremento en los lípidos séricos, incluyendo el colesterol, los triglicéridos, las lipoproteínas de alta y de baja densidad durante la etapa nefrótica [57-61].

La ciclosporina es capaz de disminuir la proteinuria en las ratas nefróticas, aún cuando en el modelo animal el síndrome nefrótico se debe al efecto tóxico de un fármaco y no a un trastorno inmunológico como puede suceder en la práctica clínica, de esta manera hay dos acciones de la ciclosporina en el síndrome nefrótico, la primera es la relacionada con el efecto inmunosupresor al inhibir la transcripción de IL-2 ya que mecanismos inmunológicos se han implicado en el desarrollo y la progresión del síndrome nefrótico [1]. La segunda acción no es inmunológica y se debe tanto a una disminución en la velocidad de filtración glomerular como a la disminución de la permeabilidad a la albúmina por la pared capilar glomerular [64]. A pesar de que un mecanismo implicado en la nefrotoxicidad de CsA es la vasconstricción aguda de la microvasculatura con la generación cosecuente de radicales libres de oxígeno y peroxidación de lípidos [65] en el caso específico del modelo nefrótico por ANP se ha postulado que la CsA tiene un efecto benéfico al aumentar la expresión de las enzimas antioxidantes [66].

## OBJETIVOS

- 1.- Estudiar la biodisponibilidad de la CsA en ratas con síndrome nefrótico y ratas normales.
- 2.- Estudiar la biodisponibilidad de la CsA en pacientes con síndrome nefrótico durante las fases de recaída y remisión

## JUSTIFICACION

Se ha demostrado que la CsA es de utilidad en pacientes con síndrome nefrótico, sin embargo no se sabe de qué manera el estado nefrótico influye sobre la farmacocinética del medicamento y si las diferencias de biodisponibilidad que existen durante el estado nefrótico son de magnitud importante como para recomendar ajuste de la dosis.

Se decidió realizar un estudio con animales para realizar las observaciones en una situación de variabilidad controlada además de un estudio en pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente.

## HIPOTESIS

La biodisponibilidad de CsA se modifica durante el estado nefrótico

## MATERIAL Y METODOS

### A. Síndrome nefrótico experimental

El estudio se llevó a cabo de acuerdo a las guías institucionales para el cuidado y uso de animales de laboratorio [67].

Se realizó un estudio prospectivo, comparativo, longitudinal, experimental, con dos grupos de ratas Wistar macho, de cinco a seis semanas de edad, con de peso  $150 \pm 25$ g y acceso libre al agua y al alimento. Grupo I.- Seis ratas a las cuales se les inyectó ANP 150 mg/kg vía subcutánea, diluido al 2% en solución salina isotónica, dosis única. Grupo II.- Seis ratas a las cuales se les inyectó 0.3 mL de solución salina isotónica subcutánea (grupo testigo).

Nueve días después de la inyección subcutánea, ambos grupos de ratas recibieron una dosis única intravenosa de 10 mg/kg de CsA, para lo cual los animales fueron ligeramente anestesiados con éter y se les canalizó la vena yugular y una de las arterias caudales con una cánula de polipropileno calibre PE-10, esta técnica ha sido descrita previamente [68] y una persona experimentada en el procedimiento supervisó su realización en los animales de experimentación. Consideramos que el éter proporciona una anestesia rápida de la cual los animales se recuperan rápidamente y no interfiere con el metabolismo de CsA a diferencia de otros anestésicos como el pentobarbital o la ketamina. Se tomaron 150 mL de sangre en los siguientes tiempos: 0, 0.5, 1, 2, 4, 6 y 12 horas, para la

determinación de la CsA en sangre total por el método de radioinmunoanálisis (Cyclotrac). Antes de sacrificar a los animales se tomó una muestra de sangre para la determinación de albúmina, colesterol y triglicéridos que fueron procesados en un aparato Monarch plus de Instrumentation Laboratory.

#### **Análisis estadístico**

Se realizó el perfil farmacocinético (vida media,  $C_{max}$ ,  $t_{max}$ ,  $K_e$  y  $V_d$ ) en ambos grupos, el área bajo la curva de la concentración sanguínea contra tiempo se obtuvo por el método de los trapecios, las diferencias en la biodisponibilidad se analizaron con la prueba t de Student para muestras independientes y con ayuda del programa de cómputo WinNonlin versión 1998.

#### **Tamaño de la muestra**

Se realizó el cálculo con ayuda del programa de cómputo Sigmaplot versión 1.0, considerando un valor de alfa de 0.05 y beta de 0.999, dado que en el estado nefrótico los valores de albúmina disminuyen en más de 50%, y las cifras de colesterol y triglicéridos aumentan más de 40% [1, 52], esperamos encontrar una diferencia en la biodisponibilidad de la CsA de por lo menos 40%, con lo que se calculó un tamaño de muestra de 4 sujetos de estudio, y se decidió ampliar a 6 sujetos.

### **B. Pacientes nefróticos**

Se realizó un estudio prospectivo abierto con pacientes pediátricos con síndrome nefrótico corticorresistente, definido este como la falta de respuesta al tratamiento de 4 semanas con esteroides 60 mg/m<sup>2</sup>SC/día seguido de 40 mg/m<sup>2</sup>SC/días alternos durante cuatro semanas, atendidos en el Departamento de Nefrología del Hospital Infantil de México Federico Gómez. El estudio se llevó a cabo de acuerdo con las recomendaciones de la Declaración de Helsinki para la investigación en seres humanos.

#### **Criterios de Inclusión**

- 1.- Niños con síndrome nefrótico primario corticorresistente, de ambos sexos con edades de 5 a 12 años.
- 2.- Función renal normal (Depuración de creatinina por fórmula de Schwartz [69] mayor de 70 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>SC).
- 3.- Sin infecciones en el momento de iniciar tratamiento
- 4.- Aceptación por escrito para participar en el estudio

#### **Criterios de Exclusión**

- 1.- Pacientes que reciban algún medicamento que interfiera con las cifras de ciclosporina en sangre (Ver Tabla 3).
- 2.- Pacientes con afección hepática de cualquier índole
- 3.- Síndrome de malabsorción intestinal
- 4.- Deterioro de la función renal (depuración de creatinina por la fórmula de Schwartz menor de 70 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>SC).
- 5.- Imposibilidad para comprar el medicamento de experimentación

### **Criterios de Eliminación**

- 1.- Desarrollo de un proceso infeccioso que requiera la disminución o el retiro del tratamiento con ciclosporina.
- 2.- Evidencia de efectos tóxicos graves de ciclosporina (hipertensión arterial de difícil control, hepatotoxicidad, deterioro en la función renal con elevación de creatinina mayor de 0.3 mg/dL con respecto al valor basal, en forma permanente, que no ceda con la disminución de la dosis de ciclosporina).

### **Diseño Experimental**

Se realizó un estudio prospectivo, abierto en donde los pacientes una vez seleccionados para entrar al estudio recibieron CsA microemulsión 6 mg/kg/día dividida en dos dosis administrada cada 12 horas (08:00 y 20:00) mezclada con jugo de naranja natural. Una semana después de haber iniciado el tratamiento ingresaron a la sala de Nefrología del Hospital Infantil de México y se tomaron muestras de 1.5ml sangre total para determinación de CsA por TDx a las 0, 0.5, 1, 2, 4, 6, 8 y 12 horas. Posterior a la realización del perfil farmacocinético se inició prednisona 30 mg/m<sup>2</sup>SC/día por 4 semanas y posteriormente se disminuyó a días alternos hasta la semana 20. Un mes después de haber terminado el tratamiento con prednisona y 24 semanas después del inicio de CsA ingresaron para un nuevo perfil farmacocinético de CsA (Esquema II.1).

### **Esquema II.1 Cronograma de la administración de CsA, Prednisona y realización de estudios farmacocinéticos.**

	SEMANAS				
	1	2-4	5-20	21-23	24
CsA (6 mg/kg/día)	X	X	X	X	X
PREDNISONA (30 mg/m <sup>2</sup> sc/día)		X			
PREDNISONA (30 mg/m <sup>2</sup> /SC/días alternos)			X		
FARMACOCINÉTICA	X				X

Los pacientes recibieron un control clínico quincenal en la Consulta Externa de Nefrología los primeros 2 meses de tratamiento, posteriormente el control fue mensual. En cada visita además del examen clínico completo se solicitaron los siguientes exámenes de laboratorio: creatinina sérica, transaminasas, proteínas totales y sus fracciones, colesterol, triglicéridos, biometría hemática completa, examen general de orina y proteinuria de 12 horas. Se definió como remisión completa del síndrome nefrótico cuando se observó disminución de la proteinuria a valores inferiores a 4 mg/m<sup>2</sup>SC/hora en colección nocturna de orina de 12 horas, o 0.15 g/L en examen general de orina, con corrección de la hipoalbuminemia e hipercolesterolemia y desaparición completa del edema. Se definió como remisión parcial cuando se observó reducción importante de la proteinuria manteniéndose la misma en valores



entre 5 a 20 mg/m<sup>2</sup>SC/hora ó entre 0.15 a 1g/L, con elevación de la concentración de albúmina sérica por arriba de 2.5 g/dL y desaparición completa del edema. Se consideró falta de respuesta al tratamiento cuando la proteinuria se mantuvo por arriba de 20 mg/m<sup>2</sup>SC/hora ó 1 g/L con hipoalbuminemia persistente con o sin edema.

### Análisis estadístico

Se determinó la proporción de pacientes en los que remitió el síndrome nefrótico. Se realizaron curvas de concentración sanguínea vs tiempo para cada paciente en las semanas 1 y 24. Los parámetros farmacocinéticos fueron analizados con el programa WinNonLin 98. Se compararon los parámetros farmacocinéticos de cada paciente en la semana 1 y semana 24 con la prueba t de Student pareada y se analizaron en forma separada los pacientes que respondieron al tratamiento y los que fracasaron.

## RESULTADOS

### A. Síndrome nefrótico experimental

En la tabla II.1 se muestra el valor promedio y desviación estándar para el peso, colesterol, triglicéridos y albúmina sérica en las ratas nefróticas y controles.

En la tabla II.2 se muestran los valores para el ABC, vida media (t<sub>1/2</sub>), volumen de distribución (Vd) y depuración (Cl) en ambos grupos. La CsA muestra una mayor biodisponibilidad en ratas nefróticas, con un incremento de 41% en el ABC, debido tanto a un incremento en la vida media como en una reducción en el volumen de distribución. Asimismo, se observó una disminución en la depuración. La mayor biodisponibilidad en el grupo de ratas nefróticas puede apreciarse en forma gráfica en la figura II.A de la concentración sanguínea vs tiempo de CsA.

**Tabla II.1.- Valores promedio ± DS de peso, colesterol, triglicéridos y albúmina en ratas nefróticas y controles.**

	Nefróticas	Controles
<b>Peso (g)</b>	169 ± 21.75	182 ± 24.8 <sup>ns</sup>
<b>Colesterol mg/dL</b>	392 ± 109.2	132 ± 12.7 *
<b>Triglicéridos mg/dL</b>	202 ± 92	40.5 ± 26 *
<b>Albúmina g/dL</b>	0.48 ± 0.5	2.5 ± 0.3 *

<sup>ns</sup>=No hubo diferencia significativa entre ratas nefróticas y controles.

\*Indica una diferencia significativa (p<0.05) entre ratas nefróticas y controles con la prueba t de Student para muestras independientes.

**Tabla II. 2.-Valores promedio y DS de los parámetros farmacocinéticos estudiados en ratas nefróticas (N) y controles (C).**

ABC (ng/mL/h)		t 1/2 (horas)		Vd (L)		Cl (Lxmin)	
N	C	N	C	N	C	N	C
27759*	19607	11.45*	7.0	1.45*	1.84	0.10*	0.18
± 6942	± 2787	± 2.4	± 1.6	± 0.152	± 0.182	± 0	± 0.04

\*Indica una diferencia significativa entre N y C (p<0.05)

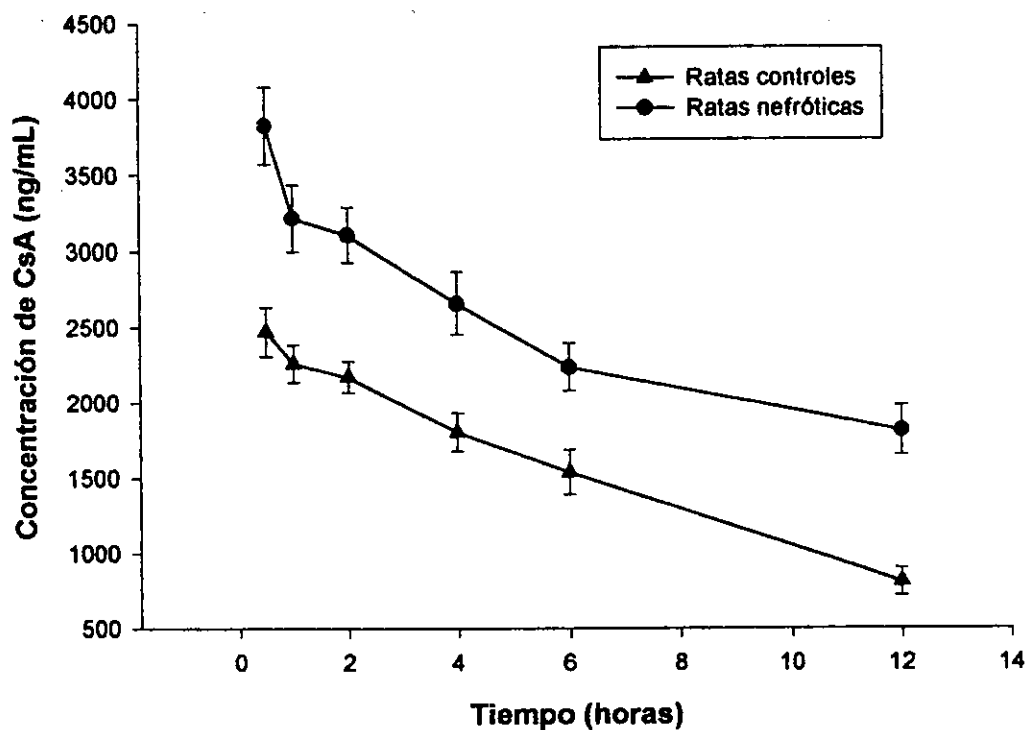


Figura II.A.- Curvas de Concentración sanguínea vs Tiempo en ratas nefróticas (●) y controles (▲)

Tabla II.3. Características generales de los pacientes.

Paciente	Sexo	Edad	Tiempo con SN (meses)	Diagnóstico histopatológico
1	M	5 a	6	HSF
2	M	1a 11m	3	HSF
3	M	7a 8m	21	HSF
4	F	12a 11m	51	HSF
5	F	6a 7m	24	HSF
6	M	3a 6m	21	PMD
7	F	4a	9	PMD
8	F	5a 4m	12	PMD
9	M	7a	3	PMD
10	M	5a	23	PMD

M: Masculino, F: Femenino, HSF: Esclerosis segmentaria y focal, PMD: Proliferación mesangial difusa

**Tabla II.4.- Tipo de respuesta y tiempo en el que se alcanzó la remisión en 10 pacientes con SNCR tratados con CsA.**

Paciente	Tipo de respuesta a las 24 semanas	Tiempo en que se alcanzó la respuesta
1	Sin respuesta	
2	Remisión completa	4 semanas
3	Remisión completa	20 semanas
4	Remisión completa	12 semanas
5	Remisión completa	8 semanas
6	Sin respuesta	
7	Sin respuesta	
8	Remisión parcial	12 semanas
9	Remisión completa	1 semana
10	Remisión parcial	8 semanas

**Tabla II.5.- Variables bioquímicas en diez pacientes con síndrome nefrótico antes de iniciar CsA (semana 0), una semana y 24 semanas después.**

Pte	Hematocrito (%)			Albúmina* (mg/dL)			Colesterol* (mg/dL)			Triglicéridos* (mg/dL)			Creatinina (mg/dL)			Proteinuria* (mg/m <sup>2</sup> SC/h)		
	0	1	24	0	1	24	0	1	24	0	1	24	0	1	24	0	1	24
1	40.5	41	38	1.6	2.0	2.2	444	525	427	1445	326	204	0.4	0.4	0.7	247	132	146
2	38	38	33.2	2.5	3.0	3.3	290	257	276	150	107	107	0.4	0.4	0.4	756	420	0
3	30	29	39	1.2	1.4	4.5	593	816	195	432	932	86	0.4	0.4	0.7	452	386	12
4	37.8	38	36	2.2	3.0	4.3	380	376	203	210	155	93	0.5	0.5	0.8	301	155	10
5	38	38.2	37	1.3	1.4	4.6	410	383	242	170	132	99	0.4	0.4	0.7	138	75	0
6	46	45	44.7	0.7	1.8	1.4	680	594	355	482	282	125	0.3	0.3	0.4	326	96	49.5
7	45	44	42.4	1.0	1.1	2.1	450	420	223	326	344	153	0.6	0.6	0.2	400	72	124
8	32	31.2	30	1.6	1.4	3.2	615	583	401	145	212	176	0.3	0.2	0.4	320	68	22
9	42	41.6	36.5	1.5	2.4	3.9	226	206	188	102	102	76	0.3	0.3	0.6	86	0	0
10	36	35.8	30	1.9	3.1	3.0	496	205	232	223	58	182	0.5	0.5	0.6	224	113	32.9
X	38.2	38.5	36.6	1.5	2.0	3.2	458	436	274	368	265	130	0.4	0.4	0.5	325	151	39
DS	5.15	5.12	4.78	0.5	0.7	1.0	143	195	88	398	254	45	0.09	0.11	0.19	187	139	52

\* Indica una diferencia Significativa entre semana 1 y semana 24 ( $p < 0.05$ )

### B. Pacientes Nefróticos

El estudio se llevó a cabo en 10 pacientes, 6 fueron del género masculino. La edad promedio fue de  $5.7 \pm 2.9$  años, en cuanto al diagnóstico histopatológico 5 pacientes tenían HSF y 5 PMD. Las características clínicas de los pacientes en el momento de ingresar al estudio se describen en la tabla II.3.

Siete pacientes respondieron al tratamiento con CsA, y de éstos dos tuvieron remisiones parciales. Tres pacientes no respondieron en forma bioquímica ya que persistieron con proteinuria masiva, hipoalbuminemia e hipercolesterolemia, sin embargo desapareció el edema. El paciente 9 no recibió prednisona ya que respondió en

**Tabla II.6.- Parámetros farmacocinéticos en las semanas 1 y 24 en los pacientes que respondieron y en los que no hubo respuesta al tratamiento (valor promedio  $\pm$  DS).**

	ABC		C <sub>max</sub>		t <sub>max</sub>		t <sub>1/2</sub>	
	S1	S24	S1	S24	S1	S24	S1	S24
<b>Respondieron</b>	5120.39 $\pm$	3300.54 $\pm$ *	1079	812.86	1.86 $\pm$	1.00 $\pm$ *	4.86 $\pm$	4.38 $\pm$
(n = 7)	703.07	230.12	$\pm$ 158.51	$\pm$ 51.19	0.14	0.00	0.62	0.27
<b>No respondieron</b>	3160 $\pm$	4560.92 $\pm$	895	1218	1 $\pm$	1.33 $\pm$	2.96 $\pm$	3.35 $\pm$
(n = 3)	1634	1418	$\pm$ 336.61	$\pm$ 247	0.00	0.33	0.70	0.56

\* $p < 0.05$

**Tabla II.7.- Estado clínico de cada paciente en la semana 1 y 24 así como los valores de ABC y niveles en valle.**

Paciente	Semana 1			Semana 24		
	Estado clínico	ABC (ng/ml/h)	Niveles en valle(ng/ml)	Estado clínico	ABC (ng/ml/h)	Niveles en valle(ng/ml)
1	Recaída	6400.25	240	Recaída	7395.5	287
2	Recaída	4490	104	Remisión	3506	136
3	Recaída	8728.75	297	Remisión	3670.25	112
4	Recaída	5947.5	218	Remisión	2478.5	42
5	Recaída	5217.25	152	Remisión	2499.25	58
6	Recaída	1917.25	23	Recaída	3027.25	33
7	Recaída	1163	0	Recaída	3260	32
8	Recaída	4203	81	Remisión parcial	4091	86
9	Remisión	2805.25	61	Remisión	3243.25	82
10	Recaída	4451	128	Remisión parcial	3615.5	81

la primera semana de tratamiento con CsA. En la Tabla II.4 se describen el tipo de respuesta y el tiempo en el que se alcanzó la remisión. Las variables bioquímicas en antes de iniciar CsA (semana 0), una semana y 24 semanas después de iniciado el tratamiento se describen en la tabla II.5. Hubo diferencia significativa en los valores de colesterol, triglicéridos, albúmina y proteinuria entre la semana 0 y semana 24, no así para hematocrito y creatinina sérica.

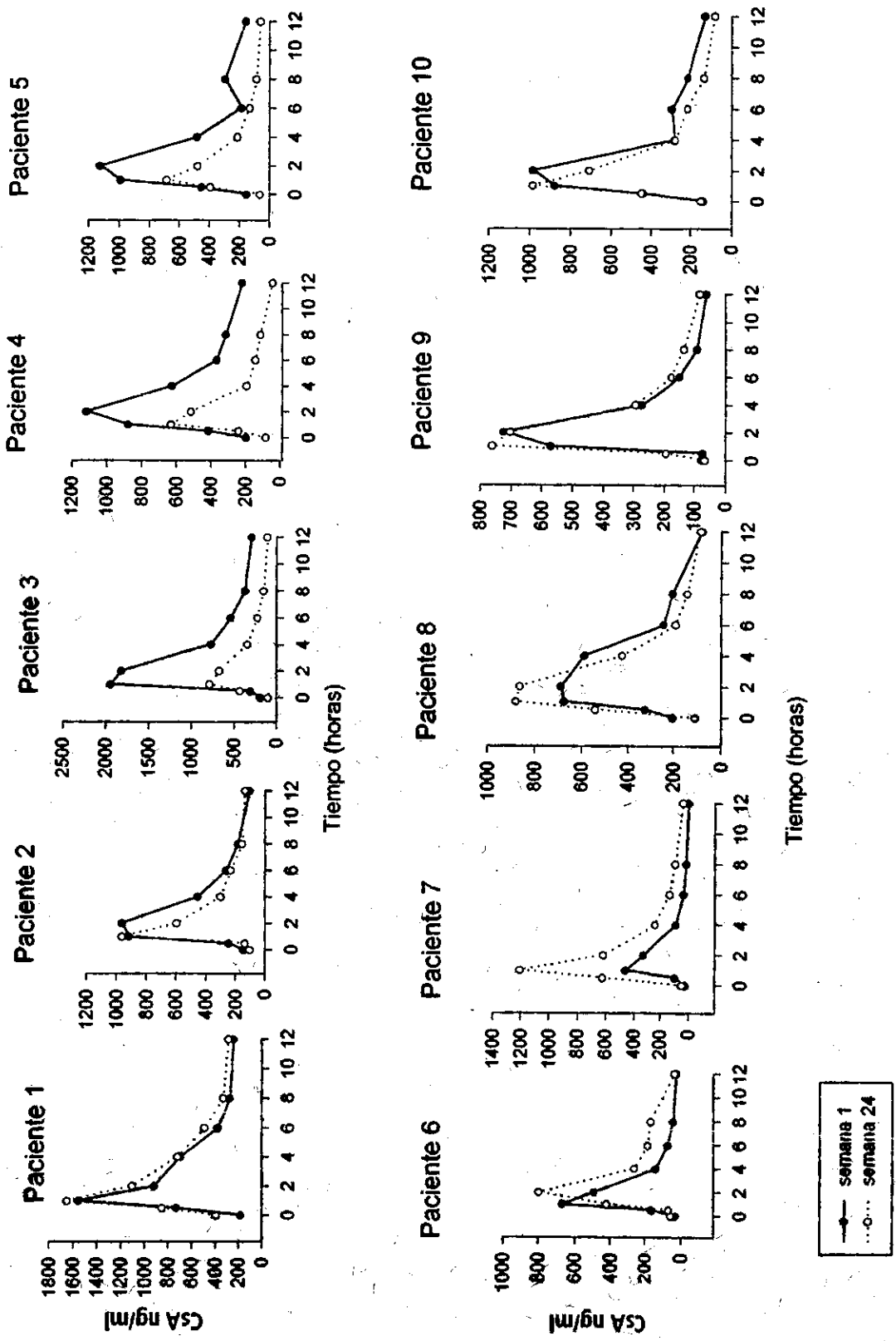
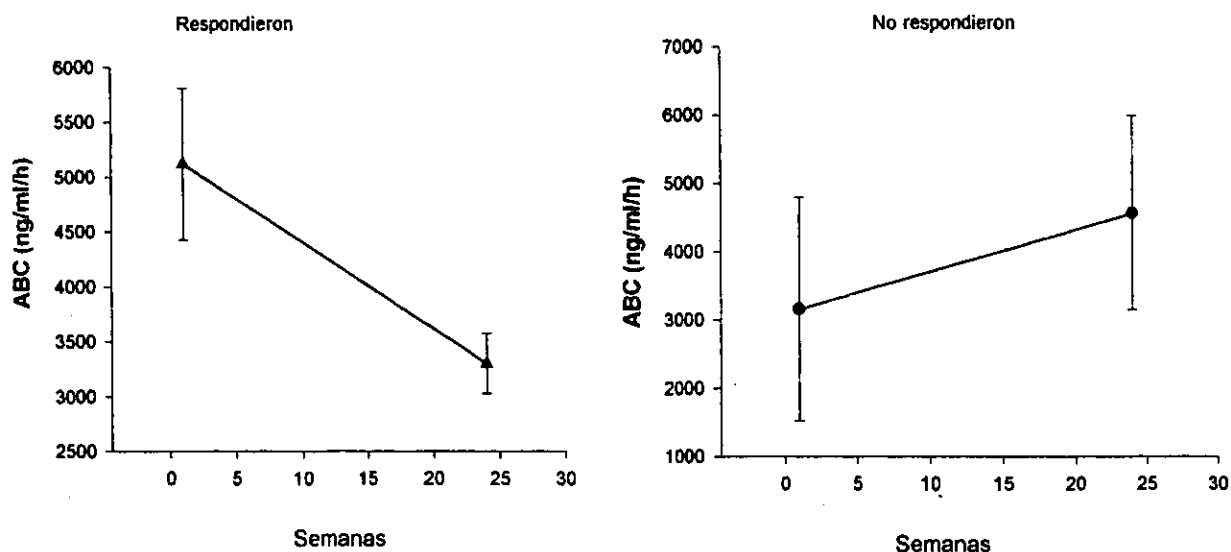
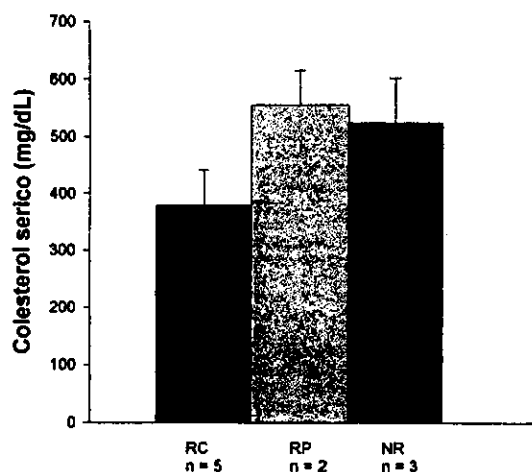


Figura II.B.- Area bajo la curva de concentración sanguínea vs tiempo de CsA en 10 pacientes con síndrome nefrótico, semana 1 (●) y semana 24 (○)



**Figura II.C.-** Area bajo la curva de CsA (promedio  $\pm$  DS) en las semanas 1 y 24 en los pacientes que respondieron (▲) y en los pacientes sin respuesta (●).



**Figura II.D.-** Valores de colesterol inicial (promedio  $\pm$  DS) según el tipo de respuesta. No respondieron (NR), remisión parcial (RP) y remisión completa (RC).

En la Tabla II.6 se muestran los parámetros farmacocinéticos en las semanas 1 y 24 en los pacientes que remitieron y en los que no hubo respuesta al tratamiento (valor promedio  $\pm$  DS). Hubo diferencia significativa en los valores de ABC y  $t_{max}$  en la semana 1 y 24 en el grupo de pacientes que respondieron. Para el análisis estadístico se excluyó al paciente 9 ya que se encontraba en remisión desde la primera semana.

En la tabla II. 7 se muestra el estado clínico de cada paciente en la semana 1 y 24 así como los valores de ABC y niveles en valle. Llama la atención que la paciente 7 tenía niveles en valle indetectables en la primera semana, una baja biodisponibilidad podría explicar la falta de respuesta. El paciente 9 se encontraba en remisión una

semana después de haber iniciado el tratamiento con ciclosporina, y el ABC y los niveles en valle son similares en la semana 1 y 24.

En la Figura II. B se muestran las curvas de concentración plasmática vs tiempo de cada paciente en la semana 1 (●) y semana 24 (○). La diferencia en biodisponibilidad es muy evidente en los pacientes que respondieron en forma completa (2, 3, 4 y 5) en el caso del paciente 9 los dos estudios farmacocinéticos se hicieron en estado de remisión y probablemente debido a esto no se encuentra diferencia entre la semana 1 y 24, los pacientes con remisión parcial tienen una biodisponibilidad similar en la semana 1 y 24 mientras que los pacientes que no respondieron tienen una mayor biodisponibilidad a las 24 semanas.

En la Figura II.C se muestra el área bajo la curva en las semanas 1 y 24 en los pacientes que respondieron y en el grupo de pacientes sin respuesta. Para la elaboración de este gráfico se eliminó al paciente 9 ya que se encontraba en remisión desde la primera semana.

Dado que se ha mencionado que los pacientes con hipercolesterolemia requieren mayor dosis de CsA para alcanzar la remisión del síndrome nefrótico, se analizó la cifra de colesterol inicial y el tipo de respuesta obtenido en los 10 pacientes tratados sin observar diferencia significativa aunque los pacientes con remisión completa tuvieron valores menores que los demás grupos (Figura II.D.).

## DISCUSIÓN

En el modelo animal se observó que las ratas nefróticas tienen una mayor biodisponibilidad de CsA que el grupo control, con un incremento del ABC de 41% debido a una menor distribución y a una reducción en la eliminación (Tabla II.2), el volumen de distribución fue de 1.45 L en ratas nefróticas vs 1.84 L en controles y la depuración de 0.10 L x min en ratas nefróticas vs 0.18 L x min en controles. La razón de emplear este modelo fue estudiar los cambios en la farmacocinética de CsA en un síndrome nefrótico controlado. Sin embargo en la práctica clínica es difícil tener un grupo de pacientes homogéneo, se abundó en la introducción sobre las diversas causas de síndrome nefrótico así como los diferentes tipos histológicos que pueden ser encontrados y que influyen tanto en la respuesta a los medicamentos como en el progreso de la lesión renal.

En los 10 pacientes con síndrome nefrótico corticorresistente estudiados, la CsA resultó ser un fármaco de utilidad ya 70% de ellos respondieron al tratamiento en forma parcial o completa, el porcentaje fue similar al estudio previamente realizado en el Hospital Infantil de México Federico Gómez [38]. Cabe señalar que incluso los pacientes que persistieron con las características bioquímicas del síndrome nefrótico tuvieron una mejoría en el estado clínico con desaparición del edema y en todos los casos hubo un aumento de los valores de albúmina sérica y una disminución del colesterol y los triglicéridos (Tabla II.5). La respuesta terapéutica se obtuvo entre las semanas 1 y 20. Los pacientes que presentaron remisión completa tuvieron una mayor biodisponibilidad de CsA durante la fase de recaída, con un incremento en el ABC de 36%, de forma similar a lo observado en el

modelo animal. Lo anterior probablemente esté relacionado a una mayor unión a lipoproteínas ya que el medicamento es altamente lipofílico y el estado nefrótico se caracteriza por hiperlipidemia que se corrige en el estado de remisión. Vernillet y col. habían descrito una mayor biodisponibilidad de CsA al administrarla en forma IV en pacientes con síndrome nefrótico [53], pero no encontraron cambios cuando se administró por vía oral, tal vez porque utilizaron la formulación tradicional de CsA que depende mucho de la secreción biliar para su absorción así como de los alimentos concomitantes y con la que se ha demostrado una gran variabilidad interindividual, a diferencia de la formulación en microemulsión cuya absorción ya no depende de la secreción biliar [70, 71]. Llama la atención que los pacientes con remisión parcial tienen una farmacocinética similar tanto en la fase nefrótica como en la fase de remisión parcial (pacientes 8 y 10, Tabla II.7) a diferencia de los pacientes sin respuesta en quienes aumenta la biodisponibilidad a las 24 semanas de tratamiento (pacientes 1, 6 y 9), si bien los cambios en la biodisponibilidad tanto en los pacientes con remisión parcial como en los que no respondieron no son estadísticamente significativos ( $p = 0.0571$ ) es necesario un mayor número de pacientes para poder documentar si existen diferencias. En receptores de trasplante renal se ha descrito un incremento de la biodisponibilidad de CsA con la terapia crónica ya que se inhibe su propio metabolismo [72] y posiblemente este efecto se ve reflejado en los pacientes que persisten nefróticos y reciben terapia crónica con CsA.

El diagnóstico histopatológico no influyó en el tipo de respuesta, hubo pacientes con HSF y PMD que respondieron al tratamiento y que fracasaron. Para fines del protocolo todos los pacientes recibieron la misma dosis de CsA sin realizar ajuste de acuerdo a la cifra de colesterol sérico, no se observó una relación entre la hiperlipidemia y el tipo de respuesta ya que no hubo diferencia significativa en las cifras de colesterol inicial entre los pacientes que respondieron al tratamiento y los que permanecieron nefróticos, sin embargo el tamaño de la muestra es pequeño. Se ha documentado en series con mayor número de pacientes que la hiperlipidemia es causa de mala respuesta al tratamiento con CsA [48] y que los niveles bajos de colesterol favorecen la presentación de efectos adversos [54]. Llama la atención que aún en los pacientes que persistieron nefróticos disminuyó la cifra de colesterol y triglicéridos a las 24 semanas de tratamiento con CsA (Tabla II.5).

Los pacientes 6 y 7, que no respondieron al tratamiento, tuvieron una mala biodisponibilidad inicial de CsA, con ABC de 1917 y 1163 ng/mL/h respectivamente, el paciente 6 incluso tuvo niveles en valle de 0 en la primera semana de tratamiento, tal vez en este tipo de casos sea conveniente cambiar el intervalo de dosificación y en vez de administrar la CsA cada 12 horas se deba cambiar a cada 8 horas o bien incrementar la dosis del medicamento. Los resultados de este trabajo muestran que existe una mayor biodisponibilidad de la CsA durante el estado nefrótico tanto en los animales de experimentación como en los pacientes que responden al tratamiento. En la práctica clínica se suele disminuir la dosis de CsA una vez que el paciente ha respondido y se ajusta al mínimo indispensable para mantener al paciente en remisión.



Durante la fase nefrótica existe una mayor cantidad de CsA unida a lipoproteínas que no llega al sitio intracelular para ejercer el efecto inmunosupresor y esta situación se resuelve una vez que remite el estado nefrótico y los valores de albúmina, colesterol y triglicéridos vuelven a cifras normales. En el presente trabajo se encontró un aumento en la biodisponibilidad de CsA en el estado nefrótico de 41% en el modelo animal y de 36% en los pacientes que respondieron en forma completa. Es necesario realizar estudios que relacionen la farmacocinética con la farmacodinamia y de esta manera poder recomendar un esquema terapéutico apropiado que considere el grado de inmunosupresión.

## BIBLIOGRAFIA

1. Orth S, Ritz E: The Nephrotic Syndrome. *N Engl J Med* 17:1202-1211, 1998
2. International Study of Kidney Diseases in Children: Nephrotic syndrome in children: prediction of histopathology from clinical and laboratory characteristics at time of diagnosis. *Kidney Int* 13:159-165, 1978
3. Nash M, Edelman C, Burnstein J, Barnett H: The nephrotic syndrome, in *Pediatric Kidney Disease*, edited by Edelman C, Boston, Little, Brown and Company, 1992, pp 1247-1266
4. Barrat TM, Clark G: Minimal change nephrotic syndrome and focal glomerulosclerosis, in *Pediatric Nephrology*, edited by Holliday AM BT, Avner DE, Baltimore, Williams and Wilkins, 1994, pp 767-787
5. Schlesinger E, Sultz H, Mosher W, Feldman J: The nephrotic syndrome. Its incidence and implications in the community. *Am J Dis Child* 116:623-632, 1968
6. Gordillo P, Muñoz A: Epidemiology around the world: México, en *Pediatric Nephrology*, edited by Holliday AM, Barrat TM, Vernier LR, 2nd ed, Baltimore, Williams and Wilkins, 1987, p 360
7. Primack W, Schulman S, Kaplan B: An analysis of the approach to management of childhood nephrotic syndrome by pediatric nephrologists. *Am J Kidney Dis* 23:524-527, 1994
8. Striker L, Olson J, Striker G: Handling and preparation of specimens, in *The Renal Biopsy*, edited by Striker LJ OJ, Striker GE, 2nd ed ed, Philadelphia, W.B. Saunders Company, 1990, pp 37-40
9. Habib R: Focal glomerular sclerosis. *Kidney Int* 4:335-361, 1973
10. Olson J, Schwartz M: The Nephrotic syndrome: Minimal change disease, focal segmental glomerulosclerosis and miscellaneous causes, in *Heptinstall's Pathology of the Kidney*, edited by Jennette JC OJ, Schwartz MM, Silva FG, 5th ed ed, Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1998, pp 187-257
11. Cameron J: The natural history of glomerulonephritis, in *Renal disease*, edited by Black D, Jones NF, Oxford, Blackwell ed, 1979, p 329
12. Churg J, Habib R, White R: Pathology of the nephrotic syndrome in children. A report of the international study of kidney disease in children. *Lancet* 1:1299, 1970
13. Cameron J: The enigma of focal segmental glomerulosclerosis. *Kidney Int* 57:S-119-131, 1996
14. Cameron J, Senguttuvan P, Hartley B, Rigden S, Chantler C, Koffman G, Williams D, Ogg C: Focal segmental glomerulosclerosis in fifty-nine renal allografts from a single centre: analysis of risk factors for recurrence. *Transplant Proc* 21:2117-12302, 1989
15. Artero M, Biava C, Amend W, Tolmanovich S, Vicenti F: Recurrent focal glomerulosclerosis: natural history and response to therapy. *Am J Med* 92:375-383, 1992

16. Kim E, Striegel J, Kim Y, Matas A, Najarian J, Mauer S: Recurrence of steroid resistant nephrotic syndrome in kidney transplants is associated with increased acute renal failure and acute rejection. *Kidney Int* 45:1440-1445, 1994
17. Raafat R, Travis L, Kalia A, Diven S: Role of transplant induction therapy on recurrence rate of focal segmental glomerulosclerosis. *Pediatr Nephrol* 14:189-194, 2000
18. Silva F: Mesangial proliferative glomerulonephritis, in *Heptinstall's Pathology of the Kidney*, edited by Jennette JC, Olson J, Schwartz MM, Silva FG, 5th ed, Philadelphia, Lippincott-Raven Publishers, 1998, pp 455-478
19. Tejani A, Nivastri A: Mesangial IgM nephropathy. *Nephron* 35:1-5, 1983
20. Kaku Y, Hisano S, Yamane I, Atea K, Ueda K, Sueishi K: Long term prognosis and prognostic factors of Japanese children with mesangial proliferative glomerulonephritis without IgA deposition. *Acta Paed Jpn* 37:458-463, 1995
21. Bergstein J: A practical approach to proteinuria. *Pediatr Nephrol* 13:607-700, 1999
22. Clark G, Barrat M: Steroid responsive nephrotic syndrome, in *Pediatric Nephrology*, edited by Barrat TM AE, Harmon WE, Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 1999, p 732
23. Gitlin D, Janeway C, FL: Studies on the metabolism of plasma proteins in the nephrotic syndrome. Albumin, gamma globulin and iron binding globulin. *J Clin Invest* 35:44-56, 1956
24. Niaudet P: Steroid-resistant idiopathic nephrotic syndrome, in *Pediatric Nephrology*, edited by Barrat TM AE, Harmon WE, 4th edition ed, Baltimore, Lippincott Williams & Wilkins, 1999, pp 749-763
25. Kaysen G: Hyperlipidemia in the nephrotic syndrome. *Am J Kidney Dis* 12:548, 1988
26. Krensky A, Ingelfinger J, Grupe W: Peritonitis in childhood nephrotic syndrome 1970-1980. *Am J Dis Child* 136:732-736, 1982
27. Wilfutz C, Katz S: Etiology of bacterial sepsis in nephrotic children. *Pediatrics* 56:598-601, 1975
28. Hoyer P, Gonda S, Barthels M, Krohin H, Brodel J: Thromboembolic complications in children with nephrotic syndrome. *Acta Ped Scand* 75:804-810, 1986
29. Citak A, Emre S, Sirin A, Bilge I, Nayir A: Hemostatic problems and thromboembolic complications in nephrotic children. *Pediatr Nephrol* 14:138-142, 2000
30. Bargman J: Management of minimal lesion glomerulonephritis: evidence-based recommendations. *Kidney Int* 55:S3-S 16, 1999
31. International Study of Kidney Diseases in Children: Nephrotic syndrome in children: A randomized trial comparing two prednisone regimens in steroid responsive patients who relapse early. *J Pediatr* 95:239-243, 1979
32. Barratt TM, Soothill J: Controlled trial of cyclophosphamide in steroid sensitive relapsing nephrotic syndrome of childhood. *Lancet* 2:479-482, 1970
33. Saldaña I, Velásquez J, García G, Urbina J, Romero N, Medeiros D, Muñoz A: Ineficacia de la mostaza nitrogenada en el tratamiento del síndrome nefrótico corticorresistente. *Bol Med Hosp Infant Mex* 55:144-147, 1998
34. Collaborative Study Group of Sandimmun in Nephrotic Syndrome: Safety and tolerability of cyclosporin A (Sandimmun) in idiopathic nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 35:S48-60, 1991

35. Ponticelli C, Rizzoni G, Edefonti A, Altieri P, Rivolta E, Rinaldi S, Ghio L, Lusvardi E, Gusmano R, Locatelli F, Pasquali S, Castellani A, Della Casa-Alberighi O: A randomized clinical trial of cyclosporine in steroid resistant idiopathic nephrotic syndrome. *Kidney Int* 43:1377-1384, 1993
36. Niaudet P, Habib R: Cyclosporine in the treatment of idiopathic nephrosis. *J Am Soc Nephrol* 5:1049-1056, 1994
37. Niaudet P, Fuchshuber A, Gagnadoux M, Habib R, Broyer M: Cyclosporine in the therapy of steroid resistant idiopathic nephrotic syndrome. *Kidney Int* 51 :S85-S90, 1997
38. Velásquez J, Dobras R, Ocotitla J, Zavala N, Ramón G, Romero N, Gomezchico V, Medeiros D, Muñoz A: Tratamiento con ciclosporina en niños con síndrome nefrótico corticorresistente. *Bol Med Hosp Infant Mex* 53:109-116, 1996
39. Gregory M, Smoyer W, Sedman A, Kershaw D, Valentini R, Johnson K, Bunchman T: Long term cyclosporin therapy for pediatric nephrotic syndrome: a clinical and histologic analysis. *J Am Soc Nephrol* 7:543-549, 1996
40. Lieberman F, Tejani A: A randomized double-blind, placebo-controlled trial of cyclosporine in steroid-resistant idiopathic focal segmental glomerulosclerosis in children. *J Am Soc Nephrol* 7:56-63, 1996
41. Ingulli E, Singh A, Ahmad H, Moazami S, Tejani A: Aggressive, long term cyclosporine therapy for steroid resistant glomerulosclerosis. *J Am Soc Nephrol* 5:1820-1825, 1995
42. Singh A, Tejani C, Tejani A: One-center experience with cyclosporine in refractory nephrotic syndrome in children. *Pediatr Nephrol* 13:26-32, 1999
43. Smoyer W, Gregory M, Bajwa R, Johnson K, Bunchman T: Quantitative morphometry of renal biopsies prior to cyclosporine in nephrotic syndrome. *Ped Nephrol* 12:737-743, 1998
44. Meyrier A: Treatment of idiopathic nephrotic syndrome with cyclosporine A. *Am J Nephrol* 10:14-24, 1997
45. Meyrier A, Noel L, Auriche P, Callard P: Long term renal tolerance of cyclosporin A treatment in adult idiopathic nephrotic syndrome. *Kidney Int* 45:1446-1456, 1994
46. Melocoton L, Kamil E, Cohen A, Fine R: Long term cyclosporine A treatment of steroid resistant and steroid dependant nephrotic syndrome. *Am J Kid Dis* 18:583-588, 1991
47. Seikaly M, Prashner H, Nolde-Hurlbert B, Browne R: Long-term clinical and pathological effects of cyclosporin in children with nephrosis. *Pediatr Nephrol* 14:214-217, 2000
48. Ingulli E, Tejani A: Severe hypercholesterolemia inhibits cyclosporin A efficacy in a dose dependent manner in children with nephrotic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 3:245-249, 1992
49. Hino S, Takemura T, Okada M, Murakami K, Yagi K, Fukushima K, Yoshioka K: Follow up study of children with nephrotic syndrome treated with a long term moderate dose of cyclosporine. *Am J Kid Dis* 31:932-939, 1998
50. Rane A, Villeneuve J, Stone W, Nies A, Wilkinson G, Branch R: Plasma binding and disposition of furosemide in the nephrotic syndrome and in uremia. *Clin Pharm Ther* 24:199-207, 1978

51. Vhrovac B, Sarapa N, Bakran Y, Huic M, Macolic-Sarinto V, Francetic Y, Wolf-Coporda A: Pharmacokinetic changes in patients with oedema. *Clin Pharmacokinet* 28:405-418, 1995
52. Gugler R, Shoeman D, Huffman D, Cohlma J, Azarnoff D: Pharmacokinetics of drugs in patients with nephrotic syndrome. *J Clin Invest* 55:1182-1189, 1975
53. Vernillet L, Moulin C, Dadoun C, Le Bigot J, Fillastre J: Pharmacokinetics of cyclosporin A in patients with nephrotic syndrome. *Transplant Proc* 20:529-535, 1988
54. De Groen P: Cyclosporine A-Induced side effects related to a low total serum cholesterol level: an indication for a free cyclosporine A assay ? *Transplant Proc* 20:374-376, 1988
55. Heymann W, Lund H: Nephrotic syndrome in rats. *Pediatrics* 7:691-706, 1951
56. Bertani T, Poggi A, Pozzoni R, Delaini F, Sacchi G, Tohua Y, Mecca G, Remuzzi G, Donati M: Adriamycin induced nephrotic syndrome in rats. *Lab Invest* 46:16-23, 1982
57. Rossmann P, Bukovsky A, Matousovic K, Holub M, Kral J: Puromycin aminonucleoside nephropathy: ultrastructure, glomerular polyanion, and cell surface markers. *J Pathol* 148:337-348, 1986
58. Olson J, Rennke H, Venkatachalam M: Alterations in the charge and size selectivity barrier of the glomerular filter in aminonucleoside nephrosis in rats. *Lab Invest* 44:271-279, 1981
59. Pedraza-Chaverri J, Cruz C, Ibarra-Rubio M, Chavez M, Calleja C, Tapia E, del Carmen Uribe M, Romero L, Pena J: Pathophysiology of experimental nephrotic syndrome induced by puromycin aminonucleoside in rats I. hypoproteinemia, and renin-angiotensin-aldosterone system on sodium retention. *Rev Invest Clin* 42:29-38, 1990
60. Pedraza Chaverri J, Sosa G, Cruz C, Medina Campos O, Ibarra Rubio M: Time course analysis of serum and urinary proteins by SDS PAGE in experimental nephrotic syndrome. *Renal Failure* 18:181-194, 1996
61. Yamazaki T: Podocytic degeneration and regeneration in puromycin aminonucleoside nephropathy in the rat. *Pathol Int* 45:465-472, 1995
62. Hulton S, Neuhaus T, Dillon M, TM B: Circulating IL-2 R in nephrotic syndrome. *Kidney Int* 51:583-584, 1997
63. Harris R: Molecular basis of injury and progression in focal glomerulosclerosis. *Nephron* 82:289-299, 1999
64. Desassis J, Raats C, Bakker M, van der Born J, Berden J: Antiproteinuric effect of ciclosporin A in adriamycin nephropathy in rats. *Nephron* 75:336-341, 1997
65. Ader JL, Rostaing L: Cyclosporin nephrotoxicity: pathophysiology and comparison with FK-506. *Curr Opin Nephrol Hypert* 7:539-545, 1998
66. Wang J, Yang A, Chen S, Young T, Chiang H, Liu H: Amelioration of antioxidant enzyme suppression and proteinuria in cyclosporin treated puromycin nephrosis. *Nephron* 65:418-425, 1993
67. Ley General de Salud: Título Séptimo. De la investigación que incluye la utilización de animales de experimentación, en *Ley General de salud*, 12a ed, México D.F., Editorial Porrúa, 1995, pp 430-431
68. Granados Soto V, Flores-Murrieta F, López Muñoz F, Salazar L, Villarreal J, Castañeda-Hernández G: Relationship between paracetamol plasma levels and its analgesic effect in the rat. *J Pharm Pharmacol* 44:741-744, 1992

69. Schwartz G, Feld L, Langford D: A simple estimate of glomerular filtration rate in full-term infants during the first year of life. *J Pediatr* 104:849-854, 1984
70. Coukell A, Plosker G: Cyclosporine Microemulsion (Neoral). A pharmaco-economic review of its use compared with standard cyclosporin in renal and hepatic transplantation. *Pharmacoeconomics* 14:691-708, 1998
71. Noble S, Markham A: Cyclosporin. A review of the pharmacokinetics properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion based formulation (Neoral®). *Drugs* 50:924-941, 1995
72. Kahan B, Ried M, Newburguer J: Pharmacokinetics of cyclosporine in human renal transplantation. *Transplant Proc* 15:446-453, 1983

## ESTUDIO III.

### ESTABLECIMIENTO DE LOS TIEMPOS ÓPTIMOS DE MUESTREO PARA LA CICLOSPORINA

#### INTRODUCCION

A pesar de que la ciclosporina A (CsA) es el pilar de la terapia inmunosupresora en los trasplantes de órganos sólidos, una de las preocupaciones de su uso en el trasplante renal es la nefrotoxicidad que se presenta en forma dependiente de la dosis [1] por ésta razón se recomienda el monitoreo terapéutico que generalmente se lleva a cabo midiendo los niveles en valle, ya sea en plasma o en sangre total [2-4].

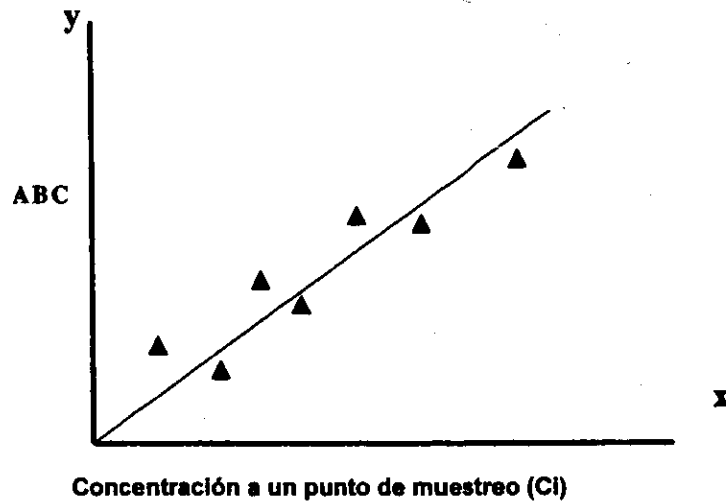
El consenso internacional recomienda que la determinación de CsA se realice en sangre total ya que 50-70% del fármaco se une a la fracción celular, principalmente a los eritrocitos y los valores en plasma se modifican al cambiar el hematocrito [5]. A pesar de esto en muchos centros se realiza el seguimiento de los pacientes con determinaciones séricas debido a que el costo de los reactivos para procesar la muestra es menor y existen kits disponibles en el mercado (TDx, Abbott).

Se ha reportado una gran variabilidad intra e interindividual en las concentraciones de CsA, principalmente con la formulación tradicional. La manera más simple de tener un monitoreo terapéutico en la terapia crónica son los niveles en valle, que estiman la concentración mínima durante el intervalo de dosificación ( $C_{min}$ ). Hay muchos reportes que apoyan esta estrategia de monitoreo ya que los niveles en valle parecen ser útiles para diferenciar los episodios de rechazo agudos de la nefrotoxicidad [6-10]. Sin embargo este tipo de monitoreo ha servido sólo para identificar a pacientes con una dificultad para la absorción ó rápido metabolismo de CsA. Cada vez hay más reportes de pacientes que a pesar de tener niveles en valle dentro del rango terapéutico recomendado presentan nefrotoxicidad ó rechazo [11-13]. Diversos autores han señalado que los niveles en valle no son la mejor manera de realizar el monitoreo clínico ya que no reflejan la exposición total al fármaco ni la concentración máxima, que puede estar relacionada con los efectos tóxicos, y se ha propuesto el área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo (ABC) como un mejor indicador de la exposición al fármaco ya que se relaciona mejor con la evolución de los pacientes [7, 14-22], además de que permite conocer la concentración de CsA en el estado estacionario ( $C_{ss}$ ) mediante la siguiente ecuación:

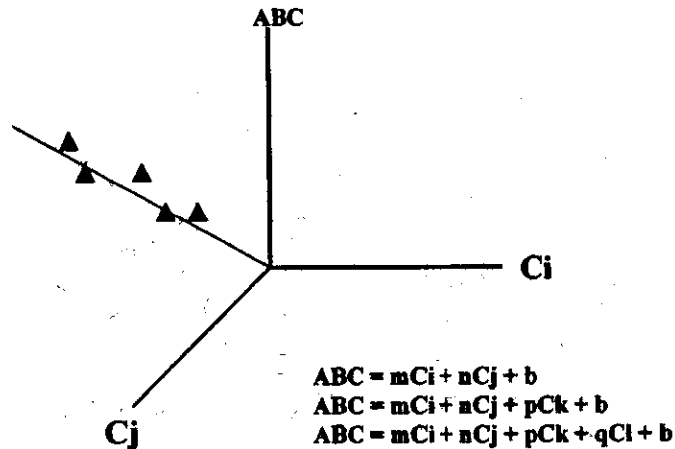
$$C_{ss} = ABC / \tau$$

En donde  $\tau$  = intervalo de dosificación

La  $C_{ss}$  y el ABC pueden ser una mejor herramienta para conocer el riesgo de nefrotoxicidad o bien de rechazo del injerto [23]. En un estudio farmacocinético realizado en 160 pacientes adultos con trasplante renal se observó una mayor incidencia de rechazos agudos en tres situaciones: a) cuando los pacientes tuvieron bajos niveles de CsA en estado estacionario durante la administración intravenosa ( $C_{ss} < 350$  ng/mL) b) Concentración en estado



**Figura III.A.-** Cálculo del ABC mediante la correlación del ABC con un punto de muestreo.  
 $ABC = mC_i + b$



**Figura III.B.-** Cálculo del ABC mediante la correlación del ABC con varios puntos de muestreo. La línea gris corresponde a la línea de identidad donde los valores predichos son iguales a los observados.

estacionario de administración oral <400 ng/mL y c) Biodisponibilidad absoluta (F; 25%) y/o altos valores de depuración (Cl; >325 mL/min) [24]. No hay reportes a este respecto en población pediátrica.

En el seguimiento cotidiano de los pacientes con trasplante renal es poco práctico y costoso realizar perfiles farmacocinéticos completos de forma regular, para lo cual se requieren por lo menos seis puntos de muestreo. Para resolver este problema se han propuesto modelos de muestreo limitado (MML) que con la obtención de uno a tres puntos permiten calcular el ABC de forma confiable (Figuras III.A y III.B) [14, 25-27].

En relación con los pacientes pediátricos, existe poca información al respecto. La farmacocinética de la CsA se modifica con la edad y en general los pacientes pediátricos requieren mayor dosis de CsA para alcanzar niveles

terapéuticos debido a que la secreción biliar, el tamaño del intestino y la actividad del citocromo P450 es diferente que en los adultos [1, 28-30]. Por estas razones los modelos de muestreo limitado desarrollados para pacientes adultos no pueden ser extrapolados a la población pediátrica [31, 32].

En 1997 Charlebois y col. realizaron una extensa evaluación de las ecuaciones de MML para niños que recibían CsA cada 12 horas y concluyeron que los niveles sanguíneos a las 5 horas se correlacionan bien con el ABC en niños con trasplante renal (TR), de manera que el ABC podría ser predicha con un solo punto de muestreo [33]. Sin embargo este estudio se realizó en pacientes que recibían la formulación tradicional de CsA, que tiene una menor biodisponibilidad que la formulación en microemulsión [6]. La presentación tradicional ha sido sustituida en forma gradual por la formulación en microemulsión y ambas formulaciones están disponibles en el mercado. Estas formulaciones no son bioequivalentes y en el primer estudio de esta tesis se reportó que la concentración máxima y el ABC en niños con la formulación en microemulsión se incrementan en 90% y 130% respectivamente con respecto a la formulación tradicional [34, 35], a pesar de las diferencias encontradas en el ABC y  $C_{max}$ , los niveles en valle fueron similares con las dos formulaciones por lo que se cuestiona la utilidad de emplear únicamente los niveles en valle para monitoreo clínico.

Debido a que en muchos casos la presentación tradicional es sustituida por la microemulsión es conveniente tener un esquema terapéutico que pueda ser empleado con las dos formulaciones.

Para el establecimiento de los tiempos óptimos de muestreo se consideraron dos fases:

- **Fase I.**

Evaluar el desempeño predictivo de varias ecuaciones para la determinación del ABC de CsA en pacientes pediátricos que recibieron las dos formulaciones de CsA y determinar el modelo de muestreo limitado más eficiente.

- **Fase II.**

Validación de dicho modelo en pacientes con TR

## **FASE I.**

**EVALUACIÓN DEL DESEMPEÑO PREDICTIVO DE VARIAS ECUACIONES PARA LA DETERMINACIÓN DEL ABC DE CSA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS QUE RECIBIERON LAS DOS FORMULACIONES DE CSA**

## **MATERIAL Y METODOS**

Los datos para el desarrollo de los modelos de muestreo limitado se derivaron del Estudio I de esta tesis. Se incluyeron 10 pacientes de 5-15 años con insuficiencia renal terminal en programa de diálisis peritoneal. Se estudió la biodisponibilidad de las formulaciones tradicional (Sadimmun) y en microemulsión (Neoral). Los detalles completos del estudio se describen en la sección correspondiente. Brevemente, se realizó de acuerdo con un diseño cruzado, aleatorizado, doble ciego. Cada paciente recibió cinco dosis de CsA (2.5 mg/kg) ya sea como



Sandimmune o Neoral cada 12 horas. Después de un periodo de lavado de un mes los pacientes recibieron otras cinco dosis ya sea de Sandimmun o Neoral con el fin de completar el otro brazo del diseño cruzado. Después de la quinta dosis de ambos cursos con CsA se tomaron 10 muestras de sangre en un periodo de 12 horas para construir las curvas de concentración vs tiempo. La determinación de CsA se realizó en suero con un analizador TDx de Abbott utilizando anticuerpos monoclonales específicos.

Se construyeron curvas de concentración plasmática vs tiempo para cada paciente con cada formulación, la  $C_{max}$  se tomó directamente de los puntos de muestreo, el ABC se estimó con el método de los trapecios. Se aplicaron modelos de regresión lineal simple para evaluar la correlación entre un solo punto de muestreo y la  $C_{max}$  y el ABC. Se emplearon modelos de regresión lineal múltiple para evaluar la correlación entre varios puntos de muestreo y el ABC [33] con ayuda del paquete de cómputo SPSS.

El desempeño predictivo, en términos de sesgo y precisión de los modelos obtenidos se evaluó de acuerdo a los criterios propuestos por Sheiner y Beal para sesgo y precisión [36]. Para este propósito el sesgo en las predicciones se estimó calculando la predicción de error promedio (MPE):

$$MPE = \Sigma(PRED-OBS)/n \quad (\text{ecuación 1})$$

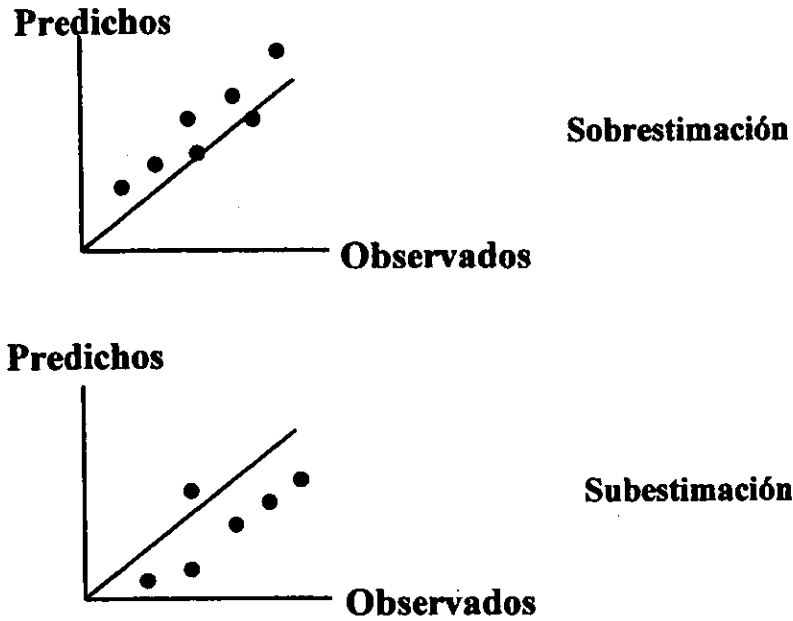
En donde PRED es el valor predicho con el modelo de muestreo limitado, OBS es el valor observado considerando todos los puntos de muestreo, n es el número de observaciones. Un valor negativo de MPE indica que el modelo predice menos que el valor real (subestima) mientras que si el MPE tiene un valor positivo, esto indica que el modelo sobrestima los valores. Cuando no hay sesgo el MPE es igual a cero (Figuras III.C).

La precisión en las predicciones se estimó empleando el Error cuadrado promedio (MSE) como se describe a continuación:

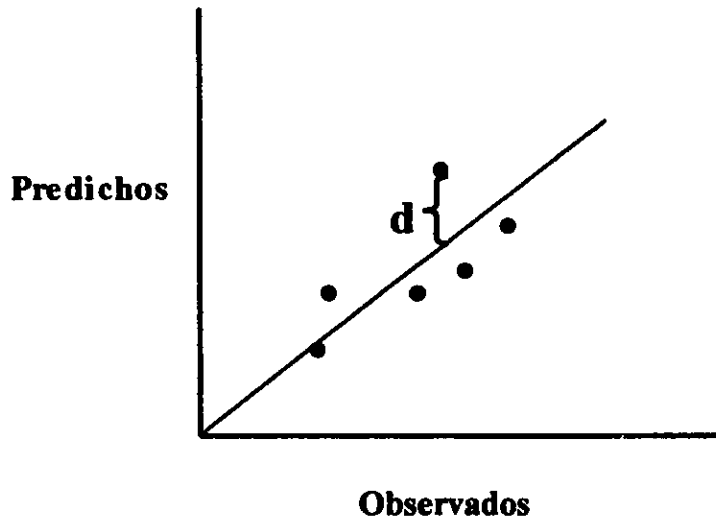
$$MSE = \Sigma(PRED-OBS)^2/n \quad (\text{ecuación 2})$$

En una predicción ideal el MSE es igual a cero, lo que significa que los predichos son iguales a los observados. Cuando los valores predichos difieren de los observados y son ya sea mayores o menores, el MSE se incrementa. Un valor alto de MSE indica una mala precisión predictiva (Figura III.D).

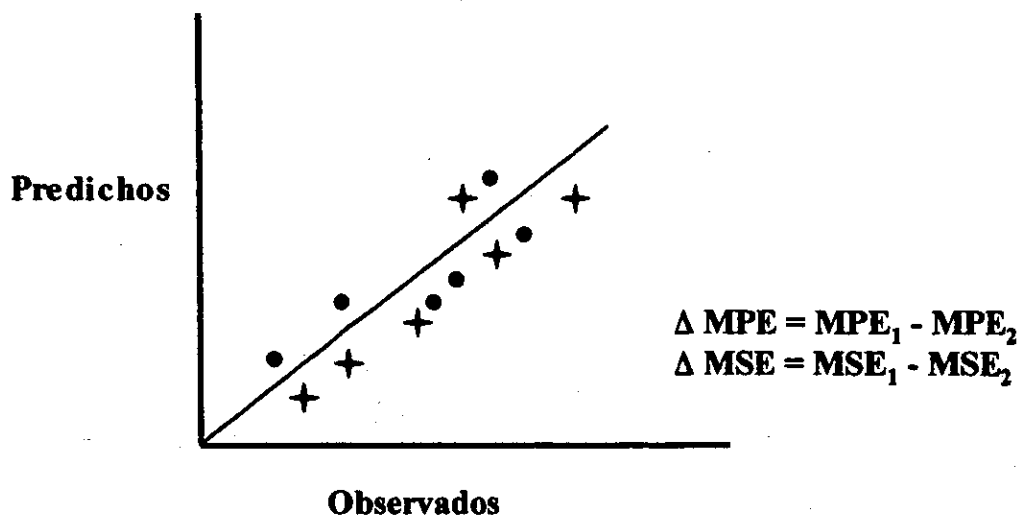
Para comparar dos modelos se utilizó el desempeño predictivo relativo. El sesgo relativo se estimó como la diferencia en el MPE entre el modelo 1 y modelo 2 ( $\Delta MPE = MPE_1 - MPE_2$ ), mientras que la precisión relativa se estimó con la diferencia en el MSE ( $\Delta MSE = MSE_1 - MSE_2$ ). Valores positivos de  $\Delta MPE$  y  $\Delta MSE$  indican un mejor desempeño del modelo 2 que el modelo 1. Valores negativos indican un mejor desempeño del modelo 1 que el modelo 2. Mientras mayor sea el valor absoluto de  $\Delta MPE$  y  $\Delta MSE$ , mejor desempeño predictivo de un modelo sobre el otro (Figura III.E). Con el fin de establecer si estas diferencias son significativas considerando un error  $\alpha$  de 0.05 se calcularon intervalos de confianza al 95% para  $\Delta MPE$  y  $\Delta MSE$ . Si el intervalo de confianza no



**Figura III.C.-** Estimación del sesgo de un modelo de muestreo limitado mediante el cálculo del error promedio ( $MPE = [\sum \text{pred-obs}/n]$ ). Los puntos corresponden a los valores predichos por el modelo de muestreo limitado. La línea negra corresponde a la línea de identidad donde los valores predichos son iguales a los observados. El gráfico superior representa a un modelo que sobrestima los valores y el gráfico inferior a un modelo que subestima los valores observados, apesar de tener una buena correlación.



**Figura III.D.-** Estimación de la precisión de un modelo de muestreo limitado mediante el cálculo del error promedio cuadrado ( $MPE = [\sum \text{pred-obs}/n]^2$ ). Los puntos corresponden a los valores predichos por el modelo de muestreo limitado. La línea negra corresponde a la línea de identidad donde los valores predichos son iguales a los observados, *d* representa la distancia del punto a la línea de identidad.



**Figura III.E.-** Desempeño predictivo relativo para comparar dos modelos de muestreo limitado. Puntos modelo 1 y estrellas modelo 2.

incluye al cero se supone que la diferencia en el desempeño predictivo es estadísticamente significativa, si el intervalo de confianza incluye al cero, se considera que la diferencia no es significativa [36].

## RESULTADOS

En un primer abordaje, evaluamos la ecuación propuesta por Charlebois y col.:

$$ABC = 7.3 * C_{5h} + 659 \quad (\text{ecuación 3})$$

En donde  $C_{5h}$  es la concentración de CsA determinada 5 horas después de la administración en estado estacionario. No hubo otras ecuaciones derivadas de un solo punto de muestreo que tuvieran un sesgo y precisión aceptable. Por esto se probaron ecuaciones utilizando dos o más puntos. Las que mostraron los mejores resultados fueron:

$$ABC = 2.24 * C_{2h} + 24.6 * C_{12h} - 53.9 \quad (\text{ecuación 4})$$

$$ABC = 2.35 * C_{2h} + 5.43 * C_{8h} - 16.2 * C_{12h} - 73.0 \quad (\text{ecuación 5})$$

En donde  $C_{2h}$ ,  $C_{8h}$  y  $C_{12h}$  son las concentraciones de CsA a las 2, 8 y 12 horas después de la administración en estado estacionario respectivamente. Otras ecuaciones que derivaron de dos o más puntos de muestreo no mejoraron en forma significativa el sesgo y la precisión, algunas tuvieron un MPE y MSE incrementado lo que indica una pérdida del poder predictivo.

En la Tabla III.1 se muestran los coeficientes de correlación ( $r$ ), sesgo y precisión de las ecuaciones utilizadas para predecir el ABC después de la administración de Sandimmun o Neoral. Cuando se emplea la  $C_{5h}$  para estimar

el ABC el valor predicho subestima el valor real ya que el MPE tiene un valor negativo. También la precisión es pobre, ya que el valor de MSE es alto. El sesgo y la precisión mejoran notablemente cuando el ABC se estima en función de  $C_{2h}$  y  $C_{12h}$ . Se puede obtener todavía una ligera mejoría en el desempeño predictivo con la ecuación que considera  $C_{2h}$ ,  $C_{8h}$  y  $C_{12h}$ . Las ecuaciones con dos y tres puntos de muestreo tienen un mejor desempeño predictivo que la que considera un solo punto de muestreo, en términos de MPE y MSE independientemente del valor del coeficiente de correlación ( $r$ ), que en todos los casos fue mayor de 0.9.

**Tabla III.1.-Coeficientes de correlación ( $r$ ), sesgo (expresado como error promedio, MPE) y precisión (expresado como error cuadrado promedio) de tres ecuaciones de muestreo limitado para estimar el área bajo la curva (ABC) en estado estacionario de pacientes pediátricos que recibieron CsA en sus dos formulaciones.**

Ecuación	$r$	MPE ( $\mu\text{g h/mL}$ )	MSE ( $\mu\text{g h/mL}$ ) <sup>2</sup>
$ABC = 7.3 * C_{5h} + 659$	0.944	-0.271	609.8
$ABC = 2.24 * C_{2h} + 24.6 * C_{12h} - 53.9$	0.990	0.003	30.4
$ABC = 2.35 * C_{2h} + 5.43 * C_{8h} - 16.2 * C_{12h} - 73.0$	0.994	0.002	19.5

\* Análisis de varianza  $P < 0.0001$

**Tabla III.2. Comparación del desempeño predictivo, en términos de sesgo y precisión relativos expresados como  $\Delta$ MPE y  $\Delta$ MSE de las ecuaciones de muestreo limitado para estimar el ABC en estado estacionario de pacientes pediátricos que recibieron dos formulaciones de CsA.**

Comparación	$\Delta$ MPE ( $\mu\text{g h/mL}$ )	$\Delta$ MSE ( $\mu\text{g h/mL}$ ) <sup>2</sup>
$ABC = 7.3 * C_{5h} + 659$ vs.	0.27	579.4
$ABC = 2.24 * C_{2h} + 24.6 * C_{12h} - 53.9$	(0.11, 0.44)*	(218.4, 940.4)
$ABC = 2.24 * C_{2h} + 24.6 * C_{12h} - 53.9$	0.001	10.8
$ABC = 2.35 * C_{2h} + 5.43 * C_{8h} - 16.2 * C_{12h} - 73.0$	(-0.024, 0.0025)	(5.3, 16.3)

\* Los valores en paréntesis indican los intervalos de confianza a 95%. Un desempeño predictivo significativamente mejor de un modelo sobre otro se considera cuando el cero no se incluye en el intervalo de confianza.

En la Tabla III.2 se muestra el sesgo y precisión relativos. Cuando las predicciones de ABC con  $C_{5h}$  se comparan con las de ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) estimando el  $\Delta$ MPE y  $\Delta$ MSE, los límites de confianza a 95% no incluyen al cero indicando que ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) es significativamente mejor predictor en términos de sesgo y precisión que  $C_{5h}$ . Cuando se compararon las estimaciones de ABC obtenidas por ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) con las obtenidas con ( $C_{2h}$ ,  $C_{8h}$ ,  $C_{12h}$ ) el intervalo de confianza a 95% para  $\Delta$ MPE incluye al cero, indicando que no hay diferencia significativa en cuanto a sesgo entre los dos modelos. El intervalo de confianza para  $\Delta$ MSE no incluyó al cero, sin embargo el valor es menor

que el obtenido cuando se comparó  $C_{5h}$  con  $(C_{2h}, C_{12h})$ , indicando que la ganancia de precisión con  $(C_{2h}, C_{8h}, C_{12h})$  aunque es estadísticamente significativa, no es importante.

La ganancia de precisión con  $(C_{2h}, C_{8h}, C_{12h})$  sobre  $(C_{2h}, C_{12h})$  es pequeña, considerando que se requiere una muestra de sangre extra. Así, considerando el sesgo, la precisión, el costo y las implicaciones éticas se decidió que  $(C_{2h}, C_{12h})$  es el método más apropiado para estimar el ABC. En la Tabla III.3 se muestra la comparación en los valores predichos con  $(C_{2h}, C_{12h})$  y los observados con 10 puntos de muestreo para cada paciente con cada formulación, se puede apreciar que el modelo de muestreo limitado tiene buen desempeño con las dos formulaciones.

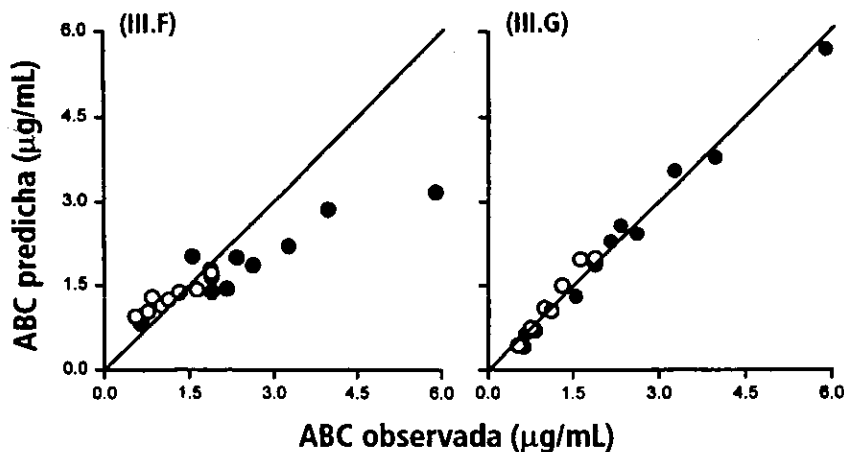
confianza.

**Tabla III.3. Comparación de los valores observados de ABC de CsA en sus dos formulaciones con 10 puntos de muestreo y los valores de ABC predichos con el modelo de muestreo limitado con la ecuación  $(ABC = 2.24 * C_{2h} + 24.6 * C_{12h} - 53.9)$  en 10 niños tratados con CsA 2.5 mg/kg cada 12 horas como Sandimmun® o Neoral® en un diseño cruzado.**

Sujeto	Sandimmun		Neoral	
	ABC <sub>obs*</sub>	ABC <sub>pred</sub>	ABC <sub>obs*</sub>	ABC <sub>pred</sub>
1	1.870	1.924	3.977	3.770
2	0.825	0.702	2.160	2.283
3	0.993	1.108	2.621	2.419
4	0.753	0.747	1.548	1.311
5	1.119	1.052	0.634	0.400
6	0.536	0.434	0.659	0.640
7	1.310	1.501	3.263	3.539
8	1.888	1.938	1.891	1.855
9	1.885	1.984	5.891	5.649
10	1.626	1.964	2.338	2.571

ABC<sub>obs\*</sub> es el valor observado con 10 puntos de muestreo, ABC<sub>pred</sub> es el valor predicho con el MML. Los valores se expresan como  $\mu\text{g h/mL}$ .

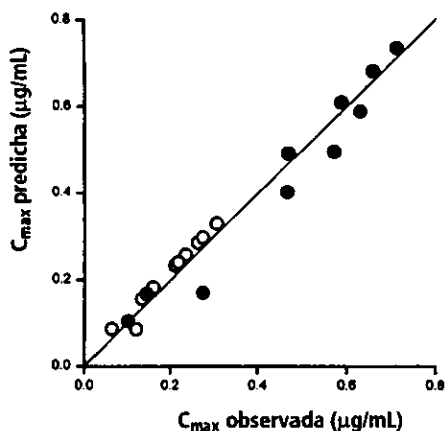
Cuando los valores de ABC predichos son graficados en función de los valores observados la línea de identidad representa la predicción ideal, en donde OBS = PRED. En la figura 1a se puede observar que la ecuación  $C_{5h}$  tiene una buena predicción para la formulación tradicional, no así para la formulación Neoral. Las estimaciones que se obtuvieron con la ecuación  $(C_{2h}, C_{12h})$  para las dos formulaciones de CsA fueron adecuadas ya que todos los puntos están cerca de la línea de identidad (Figuras III.F y III.G).



**Figuras III.F. y III.G.-** Relación entre los valores de ABC predicha vs ABC observada en 10 niños con IRCT que recibieron dos formulaciones orales de ciclosporina Sandimmun® (○) y Neoral® (●) en un diseño cruzado, aleatorizado. La línea negra corresponde a la línea de identidad.

**Figura III.F.-** Las estimaciones se hicieron con la ecuación  $ABC = 7.3 * C_{5h} + 659$

**Figura III.G.-** Las estimaciones se hicieron con la ecuación  $ABC = 2.24 * C_{2h} + 24.6 * C_{12h} - 53.9$



**Figura III.H.-** Relación entre la  $C_{max}$  observada vs predicha con la ecuación  $C_{max} = C_{2h} + 22.8$  en 10 niños con IRCT que recibieron dos formulaciones orales de ciclosporina como Sandimmun® (○) y Neoral® (●).

Un parámetro importante en la vigilancia terapéutica es la  $C_{max}$  ya que con frecuencia se asocia a los efectos adversos del medicamento en estudio. Debido a que la  $C_{max}$  de CsA en niños se alcanza alrededor de 2 horas después de la administración del medicamento en cualquiera de sus formulaciones [34], se evaluó el desempeño de  $C_{2h}$  para predecir el valor de  $C_{max}$ . La ecuación que se obtuvo por regresión lineal fue la siguiente:

$$C_{max} = C_{2h} + 22.8$$

Los valores de correlación, sesgo y precisión para esta ecuación fueron  $r = 0.984$ ,  $MPE = 002\mu\text{g/mL}$  y  $MSE 1.56 (\mu\text{g/mL})^2$  respectivamente. Cuando los valores predichos fueron graficados como función de los valores

observados (Figura III.H) la  $C_{2h}$  parece ser un predictor aceptable de la  $C_{max}$  ya que todos los puntos caen cerca de la línea de identidad.

Dado que la CsA se administró cada 12 horas, al tomar muestras a las 2 y 12 horas es posible estimar el ABC como función de ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ),  $C_{max}$  como función de  $C_{2h}$  y los valores en valle, que corresponden a los valores de  $C_{12h}$ .

## DISCUSIÓN

La CsA es un inmunosupresor que se emplea en la terapia a largo plazo de pacientes con trasplantes de órganos sólidos y otras patologías.

Actualmente existen dos formulaciones de CsA, Neoral y Sandimmun (o genéricos de Sandimmun). Muchos pacientes que reciben Sandimmun son cambiados a Neoral ya que ésta última tiene una biodisponibilidad mayor y más predecible [37-39]. Se ha propuesto una sustitución de Sandimmun por Neoral 1:1 ya que los niveles en valle son semejantes con ambas formulaciones [40]. Cabe señalar que el monitoreo terapéutico de CsA con niveles en valle se considera inferior al monitoreo con ABC en términos de la evolución de los pacientes [14, 16, 17, 41]. Los niveles en valle no son suficientes para establecer un nuevo régimen terapéutico cuando un paciente cambia a otra formulación ya que la  $C_{max}$  y la exposición total al fármaco son mucho mayores con Neoral que con Sandimmun. Por esta razón el monitoreo basado en ABC parece ser necesario [35] particularmente en la población pediátrica en quienes se ha reportado una mayor diferencia entre las formulaciones [34, 42].

El monitoreo terapéutico utilizando ABC es difícil de llevar a cabo en niños debido a que se requieren numerosas muestras de sangre para tener un perfil completo de concentración vs tiempo [43]. Por esto se han propuesto diversas estrategias de muestreo limitado con el fin de obtener un ABC confiable con 1 a 4 puntos de muestreo. Charlebois y col. evaluaron varios de estos modelos y proponen una ecuación derivada de un solo punto de muestreo ( $C_{5h}$ ) para predecir en forma aceptable el ABC en niños con TR que reciben Sandimmune [33]. Se evaluó el desempeño predictivo de la ecuación propuesta por estos autores en niños con IRCT que recibieron tanto Sandimmun como Neoral. Los resultados muestran que si bien la ecuación propuesta por Charlebois y col. tiene una predicción aceptable para el ABC de Sandimmun no funciona para Neoral. Por esto se probaron diversas combinaciones de tiempos de muestreo de muestreo para encontrar una ecuación que permitiera estimar el ABC con ambas formulaciones y que pudiera ser utilizada en los pacientes pediátricos que cambian de una formulación a otra.

Hubo un alto coeficiente de correlación cuando el ABC se correlacionó con  $C_{5h}$  en ambas formulaciones. Sin embargo la ecuación derivada no fue capaz de predecir en forma aceptable los valores de ABC obtenidos con Neoral, como se muestra en la figura III.F. Sheiner y Beal demostraron que el coeficiente de correlación no es el mejor parámetro para estimar el desempeño predictivo [36]. Siguiendo los criterios propuestos por estos autores, se evaluaron las ecuaciones de muestreo limitado para estimar el ABC de CsA en términos de sesgo y precisión.

Cuando el ABC de CsA se estimó con dos puntos de muestreo ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ), el desempeño predictivo mejoró con respecto a  $C_{5h}$ . Cuando se utilizaron tres puntos de muestreo ( $C_{2h}$ ,  $C_{8h}$ ,  $C_{12h}$ ) mejoró ligeramente la precisión pero no el sesgo. Si se comparan los beneficios de la ecuación con tres puntos de muestreo con la estrategia de dos puntos de muestro para el seguimiento rutinario de los niños que reciben CsA, la pequeña ganancia en la precisión no compensa el incremento en el costo y la implicaciones éticas de una muestra de sangre adicional [44].

Como ha sido discutido previamente, es posible que la  $C_{max}$  tenga relación con la aparición de los efectos tóxicos de CsA [34, 45, 46]. Esta posibilidad tiene que ser evaluada con la formulación Neoral en pacientes pediátricos. La  $C_{2h}$  para ser útil para predecir la  $C_{max}$  utilizando la ecuación 6. De esta manera, la estrategia de monitoreo con ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) permite no sólo estimar el ABC, sino también la  $C_{max}$  de ambas formulaciones. Cuando la CsA se administra dos veces al día, como sucede con frecuencia en la práctica clínica,  $C_{12h}$  corresponde a los niveles en valle. De esta manera la estrategia de monitoreo ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) también proporciona información sobre los niveles en valle y permite comparar el monitoreo terapéutico con ABC y con niveles en valle en términos de la evolución del paciente. Las ecuaciones con un único punto de muestreo, como  $C_{5h}$  no permiten estimar la  $C_{max}$  ni los niveles en valle.

Se ha reportado que los niveles de CsA en sangre total son el método ideal para el monitoreo terapéutico [5, 47]. El presente estudio se llevó a cabo utilizando muestras de suero, ya que en el Hospital Infantil de México, como en muchas instituciones de nuestro país, se empleaba inmunoanálisis de fluorescencia polarizada no específico (TDx Abbott) para medir las determinaciones de CsA en forma rutinaria debido a su menor costo. Se prefiere medir CsA en sangre total ya que 50-70% se une a la fracción celular, principalmente eritrocitos y la cantidad de fármaco libre puede variar si hay cambios en el hematocrito. Bajo las condiciones en las que se realizó el estudio los valores de hematocrito permanecieron estables. En el estado estacionario existe un equilibrio entre la concentración de CsA en suero y en la fracción celular, por estas razones se puede pesar que el modelo de muestreo limitado propuesto puede ser útil tanto para muestras de suero como de sangre total. La ecuación que Charlebois y col. describen en su trabajo derivó de muestras en sangre total [33] y dio resultados similares para las muestras de suero que se emplearon en este estudio. Sin embargo es necesario validar el modelo propuesto empleando sangre total.

## **FASE II.**

### **VALIDACIÓN DE MODELO DEL MUESTREO LIMITADO PARA OBTENER EL ÁREA BAJO LA CURVA DE CONCENTRACIÓN VS TIEMPO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TRASPLANTE RENAL**

La mejor forma de monitoreo terapéutico de CsA es el ABC, sin embargo no se lleva a cabo en la práctica clínica debido a que resulta muy caro y representa mayor incomodidad al paciente.

Desarrollamos un MML que con las concentraciones de CsA a las 2 y 12 horas estima en forma adecuada el ABC de CsA, independientemente de la formulación utilizada, en niños urémicos, empleando determinación de CsA en suero.



Cuando el ABC de CsA se estimó con dos puntos de muestreo ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ), el desempeño predictivo mejoró con respecto a  $C_{5h}$ . Cuando se utilizaron tres puntos de muestreo ( $C_{2h}$ ,  $C_{8h}$ ,  $C_{12h}$ ) mejoró ligeramente la precisión pero no el sesgo. Si se comparan los beneficios de la ecuación con tres puntos de muestreo con la estrategia de dos puntos de muestro para el seguimiento rutinario de los niños que reciben CsA, la pequeña ganancia en la precisión no compensa el incremento en el costo y la implicaciones éticas de una muestra de sangre adicional [44].

Como ha sido discutido previamente, es posible que la  $C_{max}$  tenga relación con la aparición de los efectos tóxicos de CsA [34, 45, 46]. Esta posibilidad tiene que ser evaluada con la formulación Neoral en pacientes pediátricos. La  $C_{2h}$  para ser útil para predecir la  $C_{max}$  utilizando la ecuación 6. De esta manera, la estrategia de monitoreo con ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) permite no sólo estimar el ABC, sino también la  $C_{max}$  de ambas formulaciones. Cuando la CsA se administra dos veces al día, como sucede con frecuencia en la práctica clínica,  $C_{12h}$  corresponde a los niveles en valle. De esta manera la estrategia de monitoreo ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) también proporciona información sobre los niveles en valle y permite comparar el monitoreo terapéutico con ABC y con niveles en valle en términos de la evolución del paciente. Las ecuaciones con un único punto de muestreo, como  $C_{5h}$  no permiten estimar la  $C_{max}$  ni los niveles en valle.

Se ha reportado que los niveles de CsA en sangre total son el método ideal para el monitoreo terapéutico [5, 47]. El presente estudio se llevó a cabo utilizando muestras de suero, ya que en el Hospital Infantil de México, como en muchas instituciones de nuestro país, se empleaba inmunoanálisis de fluorescencia polarizada no específico (TDx Abbott) para medir las determinaciones de CsA en forma rutinaria debido a su menor costo. Se prefiere medir CsA en sangre total ya que 50-70% se une a la fracción celular, principalmente eritrocitos y la cantidad de fármaco libre puede variar si hay cambios en el hematocrito. Bajo las condiciones en las que se realizó el estudio los valores de hematocrito permanecieron estables. En el estado estacionario existe un equilibrio entre la concentración de CsA en suero y en la fracción celular, por estas razones se puede pesar que el modelo de muestreo limitado propuesto puede ser útil tanto para muestras de suero como de sangre total. La ecuación que Charlebois y col. describen en su trabajo derivó de muestras en sangre total [33] y dio resultados similares para las muestras de suero que se emplearon en este estudio. Sin embargo es necesario validar el modelo propuesto empleando sangre total.

## **FASE II.**

### **VALIDACIÓN DE MODELO DEL MUESTREO LIMITADO PARA OBTENER EL ÁREA BAJO LA CURVA DE CONCENTRACIÓN VS TIEMPO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TRASPLANTE RENAL**

La mejor forma de monitoreo terapéutico de CsA es el ABC, sin embargo no se lleva a cabo en la práctica clínica debido a que resulta muy caro y representa mayor incomodidad al paciente.

Desarrollamos un MML que con las concentraciones de CsA a las 2 y 12 horas estima en forma adecuada el ABC de CsA, independientemente de la formulación utilizada, en niños urémicos, empleando determinación de CsA en suero.

Es necesario validar dicho MML en niños con trasplante renal y con determinación de CsA en sangre total antes de recomendar su uso.

## **OBJETIVO**

Determinar si el ABC y la  $C_{max}$  de CsA se pueden calcular en forma confiable con el modelo de muestreo limitado que considera dos puntos de muestreo (2 y 12 horas) en pacientes pediátricos con trasplante renal.

## **MATERIAL Y METODOS**

Se realizó un estudio prospectivo, comparativo, en donde los niños con trasplante renal y función estable del injerto que aceptaron participar en el estudio fueron admitidos al servicio de Nefrología del Hospital Infantil de México Federico Gómez para realizar un perfil farmacocinético completo de CsA con nueve puntos de muestreo. El ABC obtenida por el método de los trapecoides fue comparado con el ABC obtenida con el modelo de muestreo limitado que considera únicamente la concentración de CsA a las 2 y 12 horas [48]. La  $C_{max}$  se tomó directamente de los puntos de muestreo ( $C_{max}$  observada), y fue comparada con la  $C_{max}$  obtenida mediante la ecuación que considera únicamente la concentración a las 2 horas.

### ***Criterios de inclusión***

- 1.- Pacientes pediátricos con trasplante renal y triple terapia inmunosupresora, con régimen de dosificación de ciclosporina cada 12 horas.
- 2.- Tener por lo menos 4 meses post-trasplante renal y dos semanas con sin modificaciones en el tratamiento
- 3.- Aceptación por escrito para participar en el estudio

### ***Criterios de exclusión***

- 1.- Pacientes pediátricos con TR que no recibieran ciclosporina
- 2.- Pacientes en quienes se hayan modificado los medicamentos y/o las dosis de los mismos en las dos semanas previas al estudio.

### ***Criterios de eliminación***

- 1.- Deseo voluntario de abandonar el estudio
- 2.- Presencia de algún evento que requiera la administración de medicamentos diferentes de la terapia de mantenimiento y que pueden interferir con la determinación y/o los niveles de ciclosporina (p. ej. rechazo agudo, hipertensión arterial, cuadro infeccioso).

Los pacientes ingresaron por un día a la sala de nefrología y recibieron la dosis habitual de ciclosporina a las 20:00hrs, a las 8:00hrs se canalizó una vena y se tomaron muestras de 1mL de sangre en tubo con EDTA a las 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 8 y 12 horas después de la administración de CsA. Se determinaron los niveles de CsA en sangre total por el método de RIA (Cyclotrac).

Se trazaron las curvas de concentración sanguínea contra tiempo para cada paciente y se calculó el ABC con el método de los trapezoides. La  $C_{max}$  y  $t_{max}$  se tomaron directamente de los puntos de muestreo. Posteriormente se calculó el ABC con el MML que considera las concentraciones a las 2 y 12 hrs para lo cual se empleó un modelo de regresión lineal múltiple para evaluar la correlación entre  $C_{2h}$  y  $C_{12h}$  y el ABC con ayuda del paquete de cómputo SPSS y se obtuvo la siguiente ecuación :

$$ABC = C_{2h} * 3.19 + C_{12h} * 8.94 + 525.7$$

Dado que los niveles a las 0 y 12 horas son similares porque los pacientes se encontraban en estado estacionario (Tabla III.4), se tomaron los valores de CsA a las 0h en vez de los valores a las 12h, ambos se consideran valores en valle ya que son justo antes de la siguiente administración, y es más práctico si se considera emplear el modelo como seguimiento de pacientes a largo plazo. El desempeño predictivo del modelo se evaluó con los criterios propuestos por Sheiner y Beal para sesgo y precisión [36].

La  $C_{max}$  se calculó con la ecuación descrita en el estudio previo:

$$C_{max} = C_{2h} + 22.8$$

## RESULTADOS

Se incluyeron nueve pacientes, de los cuales 3 fueron del sexo masculino. La edad varió de 10 a 17 años, promedio de 13 años ( $\pm 2.5$ ). Todos recibieron triple terapia inmunosupresora con prednisona, azatioprina y ciclosporina y tenían función renal estable, con creatinina sérica de  $1.05 \pm 0.2$  mg/dL. El tiempo post-trasplante

**Tabla III.4.- Concentración de CsA a las 0 y 12 horas en nueve pacientes con trasplante renal**

Paciente	Concentración 0h (ng/mL)	Concentración 12h (ng/mL)
1	194	192
2	44	66
3	299	281
4	198	200
5	188	302
6	142	215
7	303	271
8	381	327
9	292	270
Promedio	226.8*	236.7
DS	101.9	79.2

\* No hubo diferencia significativa entre 0 y 12 h.

Tabla III.5.- Dosis de CsA, tiempo de TR y Cr en 9 pacientes pediátricos

Paciente	Dosis CsA (mg/kg/día)	Tiempo TR (meses)	Cr (mg/dL)
1	5.6	7	1.1
2	2.24	26	0.7
3	3.6	13	0.9
4	7.3	20	1.4
5	8.2	6	1.1
6	6.1	60	1.1
7	11.4	6	1.2
8	6.5	8	1.1
9	10.3	15	0.9
Promedio	6.8	17.8	1.05
DS	2.92	17.22	0.2

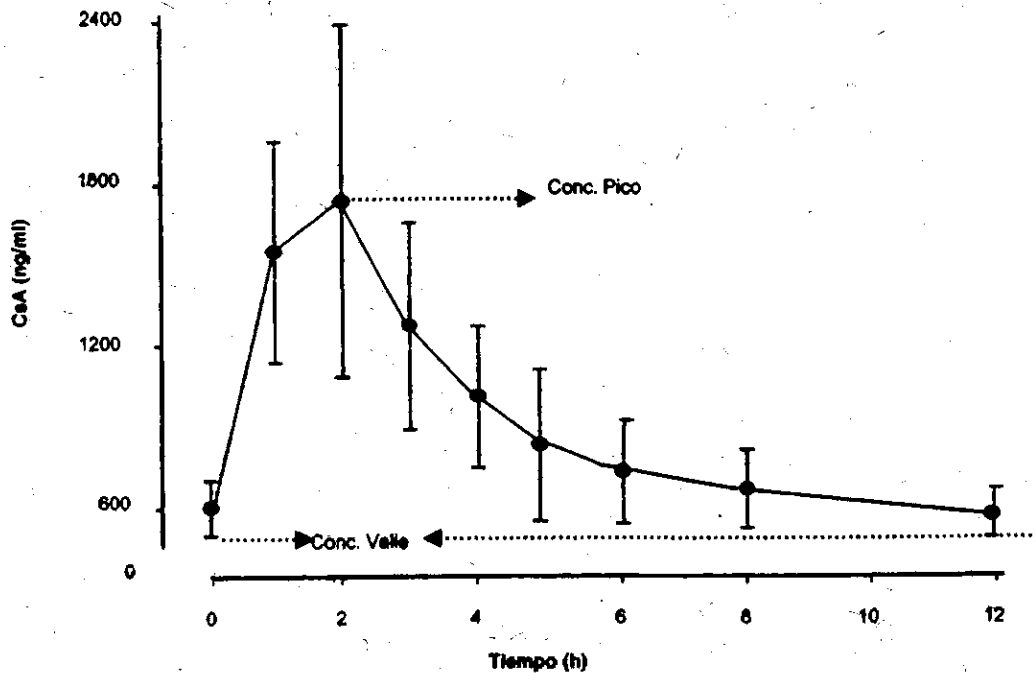


Figura III.1.- Curva de concentración sanguínea vs tiempo de CsA (promedio  $\pm$  DS) de los 9 pacientes incluidos en el estudio. Con líneas punteadas se señala la concentración pico ( $C_{max}$ ) y la concentración mínima (niveles en valle).

**Tabla III.6.- Parámetros farmacocinéticos ( $C_{max}$ ,  $T_{max}$  y vida media) de CsA en 9 niños con TR.**

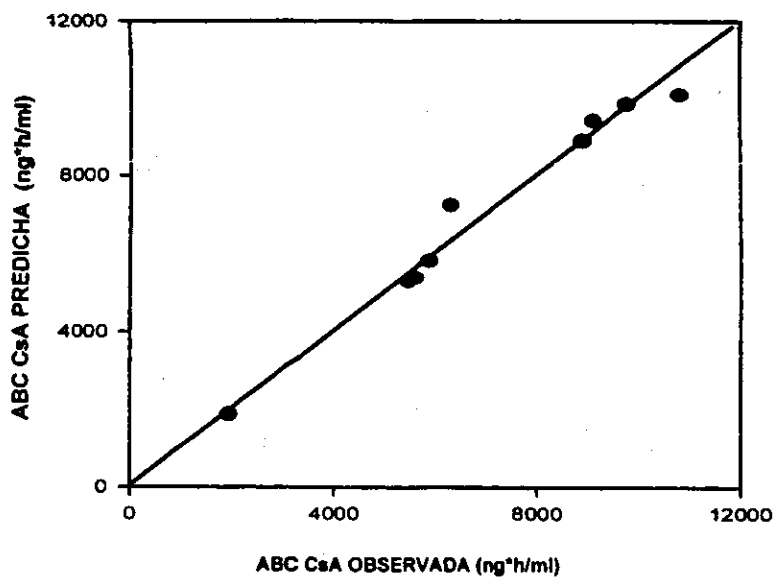
Paciente	$C_{max}$	$t_{max}$	$t_{1/2}$
1	1245	1	9.7
2	602	1	11.57
3	974	2	5.6
4	1547	2	7.2
5	1944	2	6.5
6	1351	1	9.2
7	2239	2	4.6
8	2003	2	5.8
9	1872	2	6.4
Promedio	1530.77	1.66	7.39
DS	536	0.5	2.27

**Tabla III.7.- Valores de ABC observados (obs) y predichos (pred) con el MML en 9 pacientes con TR.**

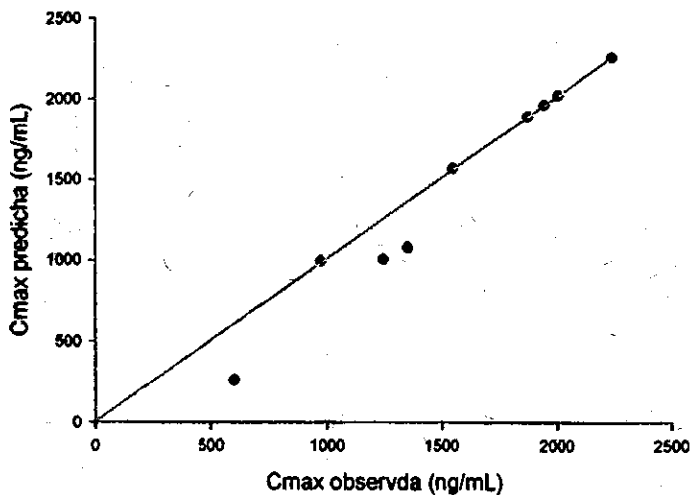
Paciente	ABCobs	ABCpred	%var
1	5625.5	5387.52	4.2
2	1952.5	1881.34	3.6
3	5484	6198.54	-13
4	6324.5	7248.63	-14.6
5	9128	9426.94	-3.3
6	5898.5	5822.82	1.3
7	10842	1090.85	6.9
8	9783.5	9838.65	-0.6
9	8921	8911.18	0.1

renal fue de 17.8 meses  $\pm$  17.2 y la dosis de CsA promedio de  $6.8 \pm 2.92$  mg/kg/día (Tabla III.5).

En la Figura III.I se observa la curva de concentración plasmática vs tiempo de CsA ( promedio  $\pm$  DS) de los 9 pacientes incluidos en el estudio. Con líneas punteadas se señala la concentración pico ( $C_{max}$ ) y la concentración mínima (concentraciones en valle).



**Figura III.J.-** Relación entre el ABC predicha con el MML propuesto y el ABC observada en los 9 pacientes con trasplante renal.



**Figura III.K.-** Relación entre la  $C_{max}$  observada vs predicha con la ecuación  $C_{max} = C_{2h} + 22.8$  en 9 niños con Trasplante Renal bajo tratamiento con CsA.

En la Tabla III.6 se describen los parámetros farmacocinéticos generales  $C_{max}$   $1530.77 \pm 536$  ng/mL,  $t_{max}$   $1.66h \pm 0.5$  y  $t_{1/2}$  de  $7.39$  horas  $\pm 2.27$ .

En la Tabla III.7 se reportan los valores de ABC observados en los 9 pacientes considerando todos los puntos de muestreo y los predichos con el MML propuesto, en todos los casos se tuvo una variación menor de 20%. El error predictivo medio (MPE) fue de -0.1 y el error promedio cuadrado (RMSE) de 6%.

En la Figura III.J se observa la relación entre el ABC predicha con el MML propuesto y el ABC observada en los 9 pacientes con trasplante renal.

En la Figura III.K se observa la relación entre la  $C_{max}$  observada vs predicha con la ecuación:  $C_{max} = C_{2h} + 22.8$ .

## DISCUSIÓN

La estrecha ventana terapéutica de la CsA hace necesario un monitoreo terapéutico constante en los pacientes con trasplante renal. El método que se emplea con mayor frecuencia es el seguimiento de los niveles en valle [47], sin embargo tiene mala correlación con el ABC que se considera el estándar de oro para evaluar la exposición al fármaco y este problema parece acentuarse en los pacientes pediátricos que reciben la formulación Neoral [34, 35]. Los modelos de muestreo limitado permiten estimar el ABC con uno o más puntos de muestreo, hay varios modelos descritos para población adulta [14, 15, 17, 21, 25, 27, 43], y son escasos para población pediátrica [32, 33, 48, 49]. Los niños tienen una farmacocinética de CsA diferente a los adultos se sabe que presentan menor absorción oral, depuración más rápida y el volumen de distribución es mayor [1, 29, 34].

Se desarrolló un MML en niños que considera las concentraciones de CsA a las 2 y 12 horas para predecir el ABC y la  $C_{max}$  de las dos formulaciones del medicamento disponibles en el mercado, sin embargo los datos para el desarrollo de este modelo derivaron de niños urémicos y las determinaciones de CsA fueron en suero, no en sangre total [48]. En el presente trabajo se corrobora la utilidad del muestreo a las 2 y 12 horas para predecir en forma confiable el ABC y la  $C_{max}$  de CsA en niños con trasplante renal que reciben la formulación Neoral (Tabla III.7 y Figura III.F) y puede ser de utilidad para el seguimiento de estos pacientes a largo plazo con la ventaja de que permite conocer los niveles en valle, la  $C_{max}$  y el ABC en forma paralela [31], cabe señalar que aún no se han propuesto valores objetivo de ABC de CsA en niños con los que se evite la nefrotoxicidad y se prevenga el rechazo agudo del injerto renal, y no se sabe si el ABC puede ser empleada como estrategia de monitoreo sin considerar los niveles en valle, por lo que aún quedan muchas preguntas sin respuesta.

En el presente trabajo de tesis se estudió la farmacocinética de la ciclosporina en tres poblaciones de pacientes pediátricos: urémicos, nefróticos y trasplante renal, en la tabla III.8 se describen los parámetros farmacocinéticos de la CsA en microemulsión (ABC,  $C_{max}$ ,  $t_{max}$  y  $t_{1/2}$ ) en cada una de estas poblaciones. Hay que considerar que las condiciones de cada estudio fueron distintas, en el caso de los pacientes urémicos y nefróticos se administró una dosis fija de CsA en mg/kg mientras que en los niños trasplantados recibían diferente dosis de CsA según sus requerimientos, pero salta a la vista que existen diferencias farmacocinéticas. Dado que el medicamento es nefrotóxico es importante conocer la farmacocinética en cada población en particular y establecer el régimen de dosificación y la estrategia de monitoreo más adecuada.

**Tabla III.8.- Parámetros farmacocinéticos de la ciclosporina en microemulsión en las diferentes poblaciones estudiadas**

Población (método de determinación y matriz)	ABC <sub>12h</sub>	C <sub>max</sub>	t <sub>max</sub>	t <sub>1/2</sub>
Urémicos n = 10 (TDx suero)	2727.5 ± 1633.7	452.0 ±213	1.9 ± 0.87	11.4 ± 3.5
Trasplante renal n = 9 (RIA sangre total)	7106.5 ± 2782.9	1530.77 ± 536	1.66 ± 0.5	7.39 ± 2.27
Nefróticos n = 10 (TDx sangre total)	4532 ± 2232	1023.3 ± 448	1.6 ± 0.51	4.3 ± 1.7

### BIBLIOGRAFIA

1. Cooney G, Habucky K, Hoppu K: Cyclosporin pharmacokinetics in pediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 32:481-495, 1997
2. Shaw L: Advances in cyclosporin pharmacology. measurement and therapeutic drug monitoring. *Clin Chem* 35:1299-1308, 1989
3. Faulds D, Goa K, Benfield P: Cyclosporin: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 45:953-1040, 1993
4. Tsunoda S, Aweeka F: The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 30:107-140, 1996
5. Oellerich M, Armstrong V, Kahan B, Shaw L, Holt D, Yatscoff R, Lindholm A, Halloran P, Gallicano K, Wonigeit K, Schütz E, Schran H, Annesley T: Lake Louise Consensus Conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 17:642-654, 1995
6. Noble S, Markham A: Cyclosporin. A review of the pharmacokinetics properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion based formulation (Neoral®). *Drugs* 50:924-941, 1995
7. Kasiskie B, Heim-Duthoy K, Rao K, Awni WM: The relationship between cyclosporine pharmacokinetic parameters and subsequent acute rejection in renal transplant recipients. *Transplantation* 46:716-722, 1988
8. Irschik E, Tilg H, Niederwieser D, Gast G, Huber C, Margreitor R: Cyclosporine blood levels do correlate with clinical complications. *Lancet* 2:692-693, 1984
9. Kahan B, Shaw L, Holt D, Grevel J, Johnston A: Consensus Document: Hawk's Cay meeting on therapeutic drug monitoring of cyclosporine. *Clin Chem*:1510-1516, 1990
10. Holt D, Marsden J, Johnston A, Bewick M, Taube O: Blood cyclosporine concentrations and renal allograft dysfunction. *Br Med J* 293:1057-1059, 1986
11. Stiller C, Keown P: Failure of 125I-tracer selective monoclonal antibody levels on whole blood matrix to predict rejection or nephrotoxic episodes in renal transplant patient under anti-lymphocyte globulin and prednisone therapy. *Transplant Proc* 22:1253-1254, 1990



12. Bowers L, Canafax D, Singh J, et al.: Studies of cyclosporine blood levels: analysis, clinical utility, pharmacokinetics, metabolites and chronopharmacology. *Transplant Proc* 28:137-143, 1986
13. Nankivell B, Hibbins M, Chapman J: Diagnostic utility of whole blood cyclosporine measurements in renal transplantation using triple therapy. *Transplantation* 58:989-996, 1994
14. Grevel J: Area under the curve versus trough level monitoring of cyclosporine concentration: critical assessment of dosage adjustment practices and measurement of clinical outcome. *Ther Drug Monit*:488-491, 1993
15. Grevel J, Kahan B: Abbreviated kinetic profiles in area-under-the-curve monitoring of cyclosporine therapy. *Clin Chem* 37:1905-1908, 1991
16. Grevel J, Napoli K, Welsh M, Atkinson N, Kahan B: Prediction of acute graft rejection in renal transplantation: the utility of cyclosporine blood concentrations. *Pharm Res* 8:278-281, 1991
17. Kahan B, Welsh M, Rutzky L: Challenges in cyclosporine Therapy: The role of therapeutic monitoring by area under the curve monitoring. *Ther Drug Monit* 17:621-624, 1995
18. Lindholm A: A prospective study of cyclosporine monitoring in renal transplantation. *Transplantation* 22:1260-1263, 1990
19. Lindholm A: Cyclosporine A: Clinical experience and therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 17:631-637, 1995
20. Lindholm A, Säwe J: Pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of immunosuppressants. *Ther Drug Monit* 17:570-573, 1995
21. Morris R: Target concentration strategy for cyclosporin monitoring. *Clin Pharmacokinet* 32:175-179, 1997
22. Schroeder T, Hariharan S, First R: Relationship between cyclosporine bioavailability and clinical outcome in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 26:2782-2790, 1994
23. Grevel J, Welsh M, Kahan B: Cyclosporin monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monit* 11:246-248, 1989
24. Lindholm A, Kahan B: Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations and AUC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 54:205-218, 1993
25. Marsh C: Abbreviated pharmacokinetic profiles in area-under-the curve monitoring of cyclosporine therapy in de novo renal transplant patients with sandimmune or neoral. *Ther Drug Monit* 21:27-34, 1999
26. Serino F, Citterio F, Pozzetto U, Grevel J, Castagneto M: Abbreviated three-point kinetic profile in the 12-hours area under the curve for pharmacokinetic monitoring calculations in pediatric renal transplant recipients. *Transplant Proc* 26:2807-2808, 1994
27. Mahalatti K, Belitsky P, Sketris I, West K, Panec R: Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve. *Transplantation* 68:55-62, 1999
28. de Wildt S, Kearns G, Leeder S, van den Anker JN: Cytochrome P4503A, ontogeny and drug disposition. *Clin Pharmacokinet* 37:485-505, 1999
29. Ettenger R: Children are different: The challenges of pediatric renal transplantation. *Am J Kid Dis* 20:668-672, 1992
30. Hoppu K, Koskimies, Holmberg C, Hirvisalo E: Pharmacokinetically determined cyclosporine dosage in young children. *Pediatr Nephrol* 5:1-4, 1991
31. Hoyer P: Therapeutic drug monitoring of cyclosporin A: Should we use the area under the concentration-time curve and forget trough levels? *Pediatr Transplantation* 4:2-5, 2000

32. Filler G, Mai I, Filler S, Ehrich J: Abbreviated cyclosporine AUCs on Neoral- the search continues! *Ped Nephrol* 13:98-102, 1999
33. Charlebois J, Lum B, Cooney G, Mochon M, Kaiser B: Comparison and validation of limited sampling equations for cyclosporine area-under-the-curve monitoring calculations in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 19:277-280, 1997
34. Medeiros M, Gómez A, Urizar J, Campos Sepúlveda A, Saldaña I, Ramírez L, Romero N, Velásquez J, Castañeda-Hernández G, Muñoz R: Bioavailability of two oral formulations of cyclosporin in uremic children before renal transplantation. *Pediatr Transplantation* 2:145-149, 1998
35. Castañeda-Hernández G, Pérez-Urizar J, Medeiros M: Current bioequivalence criteria are adequate for oral cyclosporin A formulations. *Ther Drug Monit* 20:722-723, 1998
36. Sheiner L, Beal S: Some Suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinetic Biopharm* 9:503-512, 1981
37. Coukell A, Plosker G: Cyclosporine Microemulsion (Neoral). A pharmacoeconomic review of its use compared with standard cyclosporin in renal and hepatic transplantation. *Pharmacoeconomics* 14:691-708, 1998
38. Martin J, Daoud A, Schroeder T, First R: The clinical and economic potential of cyclosporin drug interactions. *Pharmacoeconomics* 15:317-337, 1999
39. Friman S, Bäckman L: A new microemulsion formulation of cyclosporin. *Clin Pharmacokinetic* 30:181-193, 1996
40. Johnston A, Keown P, Holt D: Simple bioequivalence criteria: are they relevant to critical drugs. Experience gained from cyclosporine. *Ther Drug Monit* 19:375-381, 1997
41. Shibata N, Hoshino N, Minouchi T, et al: Relationship between area under the curve of cyclosporin A, creatinine clearance, hematocrit value and other clinical factors in Japanese renal transplant patients. *Int J Clin Pharmacol* 36:202-209, 1998
42. Kabasakul S, Clarke M, Kane H, Karsten J, Clark G: Comparison of neoral and sandimmune cyclosporin A pharmacokinetic profiles in young renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol*:318-321, 1997
43. Reed M: Optimal sampling theory: an overview of its application to pharmacokinetic studies in infants and children. *Pediatrics* 104:627-632, 1999
44. Kauffman R, Kearns G: Pharmacokinetic studies in paediatric patients. Clinical and ethical considerations. *Clin Pharmacokinetic* 23:10-29, 1992
45. Skorecki K, Rutledge W, Scriwer R: Acute cyclosporine nephrotoxicity. Prototype for a renal membrane signalling disorder. *Kidney Int* 42:1-10, 1992
46. Ader JL, Rostaing L: Cyclosporin nephrotoxicity: pathophysiology and comparison with FK-506. *Curr Opin Nephrol Hypert* 7:539-545, 1998
47. Brodehl J: Consensus statements on the optimal use of cyclosporine in pediatric patients. *Transplant Proc* 26:2759-2762, 1994
48. Medeiros M, Pérez-Urizar J, Muñoz R, Castañeda-Hernández G: Limited sampling model for area-under-the-curve monitoring in pediatric patients receiving either Sandimmune or Neoral cyclosporin A oral formulations. *Pediatr Transplantation* 3:225-230, 1999
49. Kelles A, Herman J, Tjandra-Maga T, Van Damme-Lombaerts R: Sandimmune to Neoral conversion and value of abbreviated AUC monitoring in stable pediatric kidney transplant recipients. *Pediatr Transplantation* 3:282-287, 1999

# Bioavailability of two oral formulations of cyclosporin A in uremic children before renal transplantation

Medeiros M, Gómez AC, Urizar JP, Campos-Sepúlveda AE, Saldaña IM, Ramírez LE, Romero NB, Velásquez JLF, Castañeda-Hernández G, Muñoz R. Bioavailability of two oral formulations of cyclosporin A in uremic children before renal transplantation. *Pediatr Transplantation* 1998; 2: 145-149. © Munksgaard 1998

**Abstract:** The bioavailability of two oral formulations of cyclosporin A (Sandimmun and Neoral™) was assessed in 10 children with end-stage renal disease (ESRD), while at a steady state on a dialytic procedure. The study was performed according to a randomized, double blind, cross-over design, allowing a 1-month washout period between studies. Each patient received 2.5 mg/μg of oral cyclosporin A every 12 h, either Sandimmun (SAN) or Neoral (NEO). Serum concentrations of cyclosporin A were determined serially during a 24 h period, after the 5th dose of cyclosporin. Serum concentrations against time curves were constructed and bioavailability of both medications, expressed as AUC and  $C_{max}$ , were compared. A statistically significant increase was observed in the AUC and  $C_{max}$  of NEO, which were 90% and 130% higher, respectively, than those of SAN. Considering that the internationally accepted criteria for bioequivalence allows a 20% variation in AUC and  $C_{max}$ , it appears that Neoral and Sandimmun do not bear bioequivalence in children with ESRD. Notwithstanding, there were no significant differences in trough levels between both formulations. We conclude that, if trough levels are the only source of information for dosing design, Neoral could be substituted for Sandimmun on a 1:1 basis. However, a 1:1 drug substitution is not suitable when AUC is used in children with ESRD.

**M. Medeiros<sup>1</sup>, A. C. Gómez<sup>2</sup>, J. P. Urizar<sup>4</sup>, A. E. Campos-Sepúlveda<sup>2</sup>, I. M. Saldaña<sup>2</sup>, L. E. Ramírez<sup>2</sup>, N. B. Romero<sup>1</sup>, J. L. F. Velásquez<sup>1</sup>, G. Castañeda-Hernández<sup>4</sup> and R. Muñoz<sup>1</sup>**

Departamento de Nefrología y Farmacología Clínica, Hospital Infantil de México Federico Gómez, <sup>2</sup>Departamento de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad Nacional Autónoma de México and <sup>4</sup>Sección de Terapéutica Experimental, Departamento de Farmacología y Toxicología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN, México

**Key words:** cyclosporin A - Neoral bioavailability - pharmacokinetics - end-stage renal disease - immunosuppression - Sandimmun

Ricardo Muñoz, M. D., Departamento de Nefrología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, Dr Márquez 162, Col. Doctores CP 06720, Mexico City, Mexico

Accepted for publication 21 January 1998

Cyclosporin A (CsA) is widely used as prophylactic immunosuppressive therapy in organ transplantation and in the treatment of several immunological diseases (1). CsA is available for parenteral and oral administration. Notwithstanding, since there is an important intra- and interindividual variability in CsA bioavailability after oral administration (2), the design of an adequate dosing regimen may be a difficult task, particularly in children, in whom the CsA absorption is more variable (3-6).

Oral CsA used to be available only as an oily oral solution until recently (Sandimmun, Sandoz; SAN).

**Abbreviations:** ESRD, end-stage renal disease; SAN, Sandimmun; NEO, Neoral; CsA, cyclosporin A; CAD, continuous ambulatory peritoneal dialysis; AUC, area under curve;  $C_{max}$ , peak concentration;  $t_{max}$ , time needed to reach peak concentration.

CsA intestinal absorption is erratic with this formulation, since it depends on bile secretion. Nowadays, a new oral formulation containing CsA as a microemulsion (Neoral, Sandoz; NEO) is commercially available. Studies in adults with kidney transplantation have shown that CsA bioavailability of NEO is 5-64% greater than SAN (7, 8). Studies specifically addressing the issue of NEO bioavailability comparatively with SAN in children are still pending.

NEO is commonly used as a substitute of SAN on a 1:1 basis in pediatric patients, despite the fact that the efficacy and safety of the new formulation has not been adequately assessed in this particular population (9-11). Hence, the purpose of the present study was to examine the bioequivalence of SAN and NEO by comparing the bioavailabilities of these two formulations in children with end stage renal disease (ESRD), undergoing continuous ambulatory

peritoneal dialysis (CAPD). The patients were either on the waiting list for cadaveric renal transplantation, or they were awaiting an imminent allograft from a living related donor. Therefore, all the patients would eventually receive CsA after transplantation. The reason why the study was not done after renal transplantation is due to ethical considerations, since CsA would have to be withheld between the study of the two drugs during the washout period.

#### Patients and methods

Twelve patients aged 5–15 years old with ESRD were included into the study. All patients were on CAPD. Patients with liver disorders or systemic lupus erythematosus, as well as those taking any medication that might alter CsA pharmacokinetics (12), were excluded from the study. Patients were treated with erythropoietin, calcitriol, calcium carbonate and multivitamins at variable doses, according to their individual requirements. The study was conducted according to the recommendations of the Declaration of Helsinki, and it was approved by the Hospital's Internal Revision Board and the Ethics Committee. Written informed consent from the parents was obtained before enrollment.

Taking into consideration previously published data on the variability of CsA bioavailability of SAN (7) and considering that, in children, bioavailability with NEO appears to be increased by at least 50% with respect to SAN (9, 10), the minimal estimated sample size is 8 patients with a power of 80% and  $\alpha = 0.05$ .

Two patients were excluded: one received a renal transplant and the other was disenrolled because of deviations from the protocol. Therefore, the study was carried out in 10 patients. Relevant demographic and clinical data, as well as the sequence of the CsA formulation administered to the 10 patients who completed the study, are shown in Table 1.

#### Pharmacokinetic profile

The study was conducted according to a randomized, double-blind, crossover design. Each patient received five doses (2.5 mg/kg) of either SAN or NEO every 12-h. Since reported CsA mean half-life values in children range between 7 and 10 h (8, 9), it may be assumed that a steady state was achieved. After the administration of the fifth dose, an indwelling cannula was inserted in a suitable forearm vein, and blood samples were drawn at 0, 0.25, 0.5, 0.75, 1, 2, 4, 6, 8, 12 and 24 h after dosing. Following a 1-month washout period, the patients received another five doses of either SAN or NEO in order to complete the other arm of the crossover design. After the fifth dose of the second course of therapy,

Table 1. Clinical data of ten patients with ESRD receiving CSA as (SAN) or Neoral (NEO) according to a randomized crossover design.

Subject	Sex	Age (years)	Weight (kg)	Haematocrit (g/Dl)	Time (months)	Sequence
1	F	14	33.0	27.8	13	NEO/SAN
2	M	8	21.2	24.3	3	NEO/SAN
3	F	10	24.0	30.4	2	SAN/NEO
4	M	5	15.7	35.8	5	SAN/NEO
5	M	11	29.5	25.6	2	NEO/SAN
6	F	5	12.8	28.1	7	NEO/SAN
7	F	15	50.0	34.0	1	SAN/NEO
8	F	15	43.5	27.6	1	SAN/NEO
9	M	15	44.5	26.8	16	SAN/NEO
10	M	14	61.0	32.9	7	SAN/NEO

blood samples were drawn as described above. SAN or NEO was each thoroughly dissolved in a glass of orange juice just before administration, and a standard meal was served 30 min afterwards. The patients were hospitalized for CsA administration and blood sampling, but they were allowed to leave the premises during the washout periods.

The CsA serum concentrations were determined by an Abbott TDx analyzer using a specific monoclonal antibody. Serum concentrations against time curves were constructed for each patient and for each formulation. Peak concentrations ( $C_{max}$ ) and the time needed to reach peak concentrations ( $t_{max}$ ) were directly determined from these plots. The area under the curve (AUC) was estimated by the trapezoidal rule. Half-life values were obtained by log-linear regression of the terminal concentration decay phase.

#### Statistical analysis

In order to assure the study was performed at steady state for each formulation, serum levels at 0 and 12 h were compared by Student's t-test for paired data. A bioequivalence analysis was done comparing  $C_{max}$  and AUC values for SAN and NEO using the Biopak data analysis system (SCI Software, Lexington, KY). According to internationally accepted criteria, it was assumed that the two formulations were bioequivalent when the ratios  $AUC^{SAN}/AUC^{NEO}$  and  $C_{max}^{SAN}/C_{max}^{NEO}$  were between 0.8 and 1.25 (13).

Half-life values obtained with SAN and NEO were compared by Student's t-test for paired data. Interindividual variability in CsA pharmacokinetics for each formulation was assessed by calculating the coefficients of variation for  $C_{max}$ ,  $t_{max}$ , AUC and half-life. Trough serum levels (i.e. at 12 h) observed with SAN and NEO were also compared by Student's t-test for paired data.

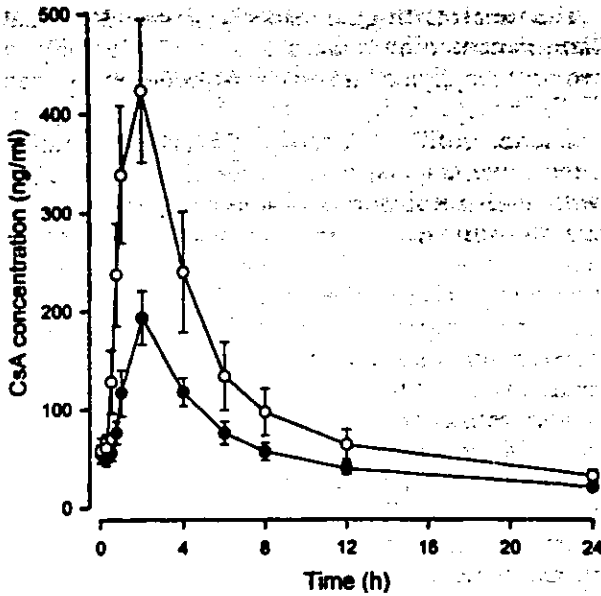


Fig. 1. CsA serum concentrations of ten patients with ESRD after receiving five doses of 2.5 mg/kg q12h of CsA, administered as Sandimmun (●) or Neoral (○). Data are shown as mean ± SEM.

**Results**

Mean (± SEM) serum CsA concentrations observed after administration of SAN and NEO at a steady state are shown in Fig. 1. Individual pharmacokinetic parameters are shown in Table 2. The AUC was ca. 90% greater with NEO than with SAN, while  $C_{max}$  increased by ca. 130%. Conversely,  $t_{max}$  and half-life values were similar with both formulations.

Table 2. Pharmacokinetic parameters at steady state of cyclosporin observed in ten children with ESRD after administration of two oral formulations: Sandimmun (SAN) and Neoral (NEO).

Subject	$C_{max}$		$T_{max}$		AUC		Half-life	
	SAN	NEO	SAN	NEO	SAN	NEO	SAN	NEO
1	235	587	2	2	2071.8	4306.9	11.6	9.9
2	121	659	4	2	1803.9	2475.9	9.1	8.6
3	211	630	2	1	2084.1	6311.9	12.3	10.1
4	160	276	2	4	2025.8	2039.1	8.7	14.5
5	263	102	2	1	1487.5	3485.5	6.1	9.4
6	64	145	2	2	590.6	749.4	9.2	19.8
7	134	473	2	2	509.8	1155.6	14.3	8.4
8	307	467	2	1	800.6	1743.6	8.8	12.8
9	218	712	2	2	1806.5	2745.8	10.1	8.4
10	275	469	2	2	902.5	2261.5	11.4	12.1
Mean	198.8	452.0*	2.2	1.9 <sup>ns</sup>	1408.3	2727.5*	10.2	11.4 <sup>ns</sup>
SEM	24.4	67.4	0.2	0.3	202.8	516.6	0.7	1.1
CV	38.7	47.2	28.7	46.1	45.5	59.9	22.6	31.6

\*Significantly different from SAN ( $p < 0.01$ ). Variation greater than 20% as determined by bioequivalence analysis using the BioPack software.  
<sup>ns</sup>Not significantly different from SAN ( $p > 0.05$ ) as determined by Student's t-test.

Table 3. Trough CsA serum levels at steady state observed before and 12 h after the oral administration of 2.5 mg/kg every 12 h in ten patients with ESRD.

Subject	SAN		NEO	
	0 h	12 h	0 h	12 h
1	124	59	116	102
2	39	25	28	35
3	34	28	50	49
4	17	18	45	42
5	32	21	14	11
6	65	14	15	15
7	63	51	78	103
8	42	53	44	43
9	71	63	128	167
10	56	57	63	64
Mean	54.30	38.90*	58.10	63.10*
SEM	9.44	6.10	12.38	15.19
CV	55.0	49.6	67.4	76.1

\*Not significantly different from SAN ( $p = 0.15$ ).

There were no significant differences in CsA levels determined at 0 and 12 h after the fifth dose (Table 3), indicating that a steady state was achieved after five doses were given every 12 h for both SAN and NEO.

SAN and NEO bioavailabilities were compared by bioequivalence analysis using the Biopak software. These results showed that the probability that the ratios  $AUC^{SAN}/AUC^{NEO}$  and  $C_{max}^{SAN}/C_{max}^{NEO}$  were below the bioequivalence limit of 0.8 was highly significant ( $p < 0.01$ ). There were no significant differences between sampling periods, nor in their sequence, i.e. SAN-NEO or NEO-SAN.

The difference between SAN and NEO bioavailabilities appears to be due to drug absorption, as half-life values were similar in both formulations. Moreover, there were no significant differences between trough levels (i.e. at 12 h) of SAN and NEO (Table 3), indicating that the difference in AUC was mainly due to peak levels, which were significantly higher with NEO.

Interindividual variability was assessed by comparing the coefficients of variation of the estimated pharmacokinetic parameters. As can be seen in Table 2, coefficients of variation were higher with NEO for  $C_{max}$ ,  $t_{max}$ , AUC and half-life. This was also observed for CsA serum concentrations at 0 and 12 h (Table 3).

**Discussion**

Our results indicate that, in children with ESRD, NEO yielded CsA AUC and  $C_{max}$  values that were 90% and 130% higher, respectively, than those ob-

served with SAN. It clearly appears that SAN and NEO are not bioequivalent formulations in the patients studied herein. These results are consistent with those reported by Kabasakul et al. in young renal transplant patients (10), although the authors did not perform their study according to a crossover design. It thus appears that the difference in bioavailability of SAN and NEO is more important in pediatric patients than in the adult population. Friman and Bäckman have pointed out that the increased bioavailability of NEO may lead to a convenient dose reduction of the drug. However, many questions concerning long-term effects have not yet been fully answered (7).

We did not observe a reduction in interindividual variability, as suggested by Cooney et al. (9); however, our study was not carried out in transplant patients as theirs was, and the uremic milieu may be responsible for our inability to show reduction in interindividual variability. Coefficients of variation for  $C_{max}$ , AUC,  $t_{max}$  and half-life were lower with SAN (Table 2), suggesting that NEO does not provide a reduction in the pharmacokinetic variability in pediatric patients with ESRD.

Despite the differences in AUC and  $C_{max}$ , trough CsA levels were similar with SAN and NEO (Table 3). This has been observed by several authors in both children and adults (10). It is the usual practice to base CsA dosing according to trough levels (5, 9). This practice, however, has been criticized because it is not reflective of total drug exposure (11, 14–19). Recently, several authors have suggested that CsA dosing should be based on AUC values, which better reflect total drug exposure (14–19). Hypothetically, SAN can be substituted for NEO on a 1:1 basis only if trough levels are considered as the unique source of information. However, our study, if confirmed by others, would suggest that 1:1 substitution may not be advisable if the criterion for substitution is the AUC.

Because of the potential advantages of the new microemulsion formulation, i.e. better absorption and lower variability (7, 9), it is becoming common practice in several countries for SAN to be substituted by NEO, frequently without any dose adjustment. The fact that the bioavailability of NEO is 20% greater than that of SAN raises the issue of whether dose adjustment is necessary. Johnston et al. have stated that this increase in bioavailability is not clinically relevant (14). However, there have been no long-term studies in children to substantiate the clinical irrelevancy.

It should be mentioned, however, that the efficacy and safety of NEO compared with SAN has been only scarcely documented in children. Therefore, it is not clear whether the 1:1 substitution is safe in pediatric patients.

The usual starting cyclosporin A dose after renal transplantation in children is 8–10 mg/kg daily in two or three divided doses. A lower dose was used in the present study, but according to the pharmacokinetic profile obtained in the patients studied herein, we may assume a higher  $C_{max}$  to be found with both medications if a higher dose is used, mainly with NEO, leading perhaps to an increased toxicity of the drug. The question that may arise at this point is whether the higher  $C_{max}$  seen in our patients may improve the capability of immunosuppression or, rather, if it may increase the risk of acute toxicity (20).

Our results show that, in children with ESRD, NEO did not appear to be a better formulation than SAN from a pharmacokinetic point of view, as interindividual variability was not reduced and it is not clear whether high CsA peaks improve the therapeutic response or result in increased toxicity. In conclusion, considering the information available at present, a 1:1 substitution of SAN for NEO cannot be indiscriminately performed in children. Information on the efficacy and safety of NEO in pediatric patients, as well as on an adequate therapeutic drug monitoring strategy, is needed before a clear substitution pattern can be established.

#### Acknowledgments

We thank the personnel of Diplomado en Farmacología Clínica UNAM for their assistance in this study. M. M. is a CONACYT fellow. This study was supported by the Hospital Infantil de México Federico Gómez.

#### References

1. FAULDS D, GOA KL, BENFIELD P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 1993; 45: 953–1040.
2. FAHR A. Cyclosporin clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1993; 24: 472–495.
3. BRODHÉL J. Consensus statements on the optimal use of cyclosporin in pediatric patients. *Transplant Proc* 1994; 26: 2759–2762.
4. HOPFU K, KOSKIMIES O, HOLMBERG C, HIRVISALO EL. Pharmacokinetically determined cyclosporine dosage in young children. *Pediatr Nephrol* 1991; 5: 1–4.
5. GUSMANO R, YERRINA E, PIAGGIO G, CORBETTA G, BASILE GC, PERFUMO F. Pharmacokinetics of oral cyclosporine in children awaiting renal transplantation. *Transplant Proc* 1994; 26: 2781–2783.
6. JEWKES FEM, JENKINS HR, LORD R, VERRIER-JONES K. Absorption of a new oral formulation of cyclosporin A in a child on parenteral nutrition. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 617–618.
7. FRIMAN S, BÄCKMAN L. A New microemulsion formulation of cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 181–193.

8. FEUTREN G, WONG R, JIN J, NIESE D, MELLEIN B. Safety and tolerability of neoral in transplant recipients. *Transplant Proc* 1996; 28: 2177-2182.
9. COONEY G, HABUCKY K, HOPPU K. Cyclosporin pharmacokinetics in paediatric transplant patients. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 481-495.
10. KABASAKUL SC, CLARKE M, KANE H, KARSTEN J, CLARK G. Comparison of neoral and sandimmun cyclosporin A pharmacokinetic profiles in young renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol* 1997; 11: 318-321.
11. BÖKENKAMP A, OFFNER G, HOYER P, VESTER U, WONIGET K, BRODHÉL J. Improved absorption of cyclosporin A from a new microemulsion formulation: implications for dosage and monitoring. *Pediatr Nephrol* 1995; 9: 196-198.
12. CAMPANA C, REGAZZI MB, BUGLIA Y, MOLINARO M. Clinically significant drug interactions with cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 141-179.
13. SCHIRMAN DJ. A comparison of the two one-sided tests procedure and the power approach for assessing the equivalence of average bioavailability. *J Pharmacokinet Biopharmacol* 1987; 15: 657-680.
14. JOHNSTON A, KEWON PA, HOLT DW. Simple bioequivalence criteria: are they relevant to critical dose drugs? Experience gained from cyclosporine. *Ther Drug Monitor* 1997; 19: 375-381.
15. GREVEL J, WELSH MS, KAHAN BD. Cyclosporin monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monitor* 1989; 11: 246-248.
16. GREVEL J. Area under the curve versus trough level monitoring of cyclosporine concentration: critical assessment of dosage adjustment practices and measurement of clinical outcome. *Ther Drug Monitor* 1993; 15: 488-491.
17. TSUNODA SM, AWEKA F. The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 107-140.
18. MORRIS R. Target concentration strategy for cyclosporin monitoring. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 175-179.
19. CHARLEBOIS JE, LUM BL, COONEY GF, MOCHON M, KAISER BA. Comparison and validation of limited sampling equations for cyclosporine area-under-the-curve monitoring calculations in pediatric renal transplant recipients. *Ther Drug Monitor* 1997; 19: 277-280.
20. SKORECKI KL, RUTLEDGE WP, SCRIVER R. Acute cyclosporine nephrotoxicity- Prototype for a renal membrane signalling disorder. *Kidney Int* 1992; 42: 1-10.

## Letter to the Editor

### Current Bioequivalence Criteria Are Adequate for Oral Cyclosporin A Formulations

*To the Editor:* In a recent article, Johnston and coworkers (1) criticized the presently accepted criteria for bioequivalence on the basis of the results obtained with two oral formulations of cyclosporin A, namely Sandimmune (Sandoz; Basel, Switzerland) and Neoral (Novartis; East Hanover, NJ, U.S.A.). Sandimmune is the trade name for an oral, oil-based formulation. Cyclosporin A is barely soluble in water, thus after administration of Sandimmune, its absorption from the gastrointestinal tract depends on bile secretion, leading to a limited bioavailability. On the other hand, Neoral is a microemulsion-based oral formulation. As a result, cyclosporin A dissolution in the gastrointestinal tract is enhanced, leading to improved absorption. It is this change in vehicle composition that improves Neoral's bioavailability compared with that of Sandimmune. However, the active principle, cyclosporin A, is the same in both formulations.

One possible interpretation of the article by Johnston and coworkers (1) is that Sandimmune can be substituted for Neoral, as if both formulations were bioequivalent, despite the differences in their pharmacokinetic profile. It is our view that Sandimmune and Neoral should be considered to be different drug products. Because Neoral has recently been introduced in several countries (e.g., Mexico), we think that it is necessary to examine further some aspects regarding this new formulation.

As Johnston and coworkers stated in their article (1), the purpose of bioequivalence testing is to ensure that different brands of the same medicine can be safely substituted for one other, which means that the same therapeutic outcome can be expected with both formulations (2). Bioequivalence testing is usually performed for generic drug products, and it is generally accepted that two formulations are bioequivalent if the test-to-reference ratios of the logarithmically transformed area under the curve (AUC) and  $C_{max}$  values fall in the range of 0.80 to 1.25 (3). Neoral yields such a considerably higher cyclosporin A bioavailability than does Sandimmune that the AUC and  $C_{max}$  ratios are not included within this range (1.4); therefore, these two formulations cannot be considered as bioequivalent. Neoral is neither a generic product with respect to Sandimmune nor is it intended to be one. Neoral improves cyclosporin A absorption from

the gastrointestinal tract when compared with Sandimmune (4); if one formulation improves another, the two cannot be equivalent.

The differences in bioavailability between Neoral and Sandimmune vary between patient populations. It has been reported that in adult patients, Neoral increases cyclosporin A bioavailability by 5% to 64% (4). However, in children, the differences between formulations are greater. We have observed that AUCs and  $C_{max}$  are increased by 90% and 130%, respectively, with Neoral in pediatric patients awaiting renal transplantation. Similarly, Kabasakul and colleagues (5) have reported that with Neoral, AUC and  $C_{max}$  are increased by 77% and 114%, respectively, in young renal transplant patients. The clinical impact of Neoral's suprabioavailability in children has barely been examined.

There are other aspects of the differences between Sandimmune and Neoral that need to be studied. Cyclosporin A is biotransformed by CYP3A, a subfamily of cytochrome P450 that metabolizes a wide variety of drugs (6). It is as yet unclear whether the greater bioavailability resulting from Neoral increases the potential for drug interactions. Moreover, the existence of interethnic variability in cyclosporin A pharmacokinetics has been recently reported. After oral Sandimmune administration, Mexican subjects exhibited an increased cyclosporin A bioavailability compared with whites, probably because of a reduced CYP3A activity (7). The impact of such interethnic variability in bioavailability on Neoral administration also requires attention.

It is our opinion that the presently accepted bioequivalence criteria are valid for oral cyclosporin A formulations. Sandimmune and Neoral cannot be considered bioequivalent. As an improved formulation, Neoral is a new drug product, not a generic equivalent of Sandimmune. Hence, Sandimmune cannot be indiscriminately substituted for Neoral in the absence of information about its clinical efficacy and safety in different patient populations and ethnic groups. It can be argued that cyclosporin A trough blood levels obtained with Neoral are similar to those of Sandimmune and that therapeutic drug monitoring is frequently performed on the basis of trough levels (1). Nevertheless, there is evidence that AUC monitoring is superior to trough level monitoring because it reflects total drug exposure (8,9). Information on total drug exposure is critical to assess potential cyclosporin A toxicity and drug interactions between Neoral and Sandim-



mune. Therefore, these formulations should not be considered interchangeable without proper monitoring, which should be performed on the basis of AUC to account for differences in bioavailability. Furthermore, the efficacy and the safety of Neoral should be documented according to the regulatory requirements of each country for a new drug product.

Gilberto Castañeda-Hernández

José Pérez-Urizar

Mara Medeiros

*Departamento de Farmacología y Toxicología,  
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del  
I.P.N. and Hospital Infantil de México Federico Gómez,  
México, D.F., México*

#### REFERENCES

1. Johnston A, Keown PA, Holt DW. Simple bioequivalence criteria: Are they relevant to critical dose drugs? Experience gained from cyclosporin. *Ther Drug Monit* 1997;19:375-81.
2. Marzo A, Balant LP. Bioequivalence: An updated reappraisal addressed to applications of interchangeable multi-source pharmaceutical products. *Arzneim Forsch* 1995;45:109-15.
3. Food and Drug Administration. Bioavailability and bioequivalence requirements. *Fed Reg* 1992;17997-18001.
4. Friman S, Bäckman L. A new microemulsion formulation of cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 1996;30:181-93.
5. Kabasakul SC, Clarke M, Kane H, et al. Comparison of Neoral and Sandimmune cyclosporin A pharmacokinetic profiles in young renal transplant patients. *Pediatr Nephrol* 1997;11:318-21.
6. von Moltke LL, Greenblatt DJ, Schmider J, et al. Metabolism of drugs by cytochrome P450 3A isoforms. *Clin Pharmacokinet* 1995;29:33-44.
7. Palma-Aguirre JA, González-Llaven J, Flores-Murrieta FJ, et al. Bioavailability of oral cyclosporine in healthy Mexican volunteers: Evidence for interethnic variability. *J Clin Pharmacol* 1997;37:630-4.
8. Grevel J, Welsh MS, Kahan BD. Cyclosporin monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monit* 1989;11:246-8.
9. Grevel J. Area under the curve versus trough level monitoring of cyclosporine concentration: Critical assessment of dosage adjustment practices and measurement of clinical outcome. *Ther Drug Monit* 1993;15:388-91.

# Limited sampling model for area-under-the-curve monitoring in pediatric patients receiving either Sandimmune<sup>®</sup> or Neoral<sup>®</sup> cyclosporin A oral formulations

Medeiros M, Pérez-Urizar J, Muñoz R, Castañeda-Hernández G. Limited sampling model for area-under-the-curve monitoring in pediatric patients receiving either Sandimmune<sup>®</sup> or Neoral<sup>®</sup> cyclosporin A oral formulations. *Pediatr Transplantation* 1999; 3: 225–230. © Munksgaard, 1999

**Abstract:** Several limited sampling equations were tested to predict the area under the curve (AUC) of cyclosporin A (CsA) at steady state in 10 children with end-stage renal disease receiving oral CsA 2.5 mg/kg b.i.d. as two different formulations, namely Sandimmune<sup>®</sup> and Neoral<sup>®</sup>, according to a randomized crossover design with a one-month washout period. AUC was significantly correlated with CsA concentration at 5 h. The equation derived from this single concentration–time point was able to adequately predict the AUC for Sandimmune but not for Neoral. The equation derived from CsA concentration data, measured at 2 and 12 h, significantly improved predictive performance in terms of bias and precision, allowing adequate AUC predictions in both formulations. CsA concentration at 2 h was also able to predict  $C_{max}$ , while the concentration at 12 h corresponded to the trough value in a b.i.d. dosing scheme. Therefore, it is concluded that a limited sampling model including concentration data at 2 and 12 h allows the estimation of AUC,  $C_{max}$  and trough levels, yielding a complete profile in patients exposed to CsA as Sandimmune or Neoral. Hence, this model can be used for therapeutic monitoring of CsA levels in pediatric patients being switched from one formulation to another.

**M. Medeiros<sup>1</sup>, J. Pérez-Urizar<sup>2</sup>, R. Muñoz<sup>1</sup> and G. Castañeda-Hernández<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Departamento de Nefrología, Hospital Infantil de México Federico Gómez, México, D.F., México.

<sup>2</sup>Departamento de Farmacología y Toxicología, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional, México, D.F., México

**Key words:** Neoral – Sandimmune – area under the curve – pharmacokinetics

Gilberto Castañeda-Hernández, Ph.D.,  
Departamento de Farmacología y Toxicología,  
Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del  
Instituto Politécnico Nacional, Apartado Postal  
22026, 14000 México, D.F., México  
Tel: 52-5-675-6373  
Fax: 52-5-675-9168

Accepted for publication 25 February 1999

Cyclosporin A (CsA) is the cornerstone in immunosuppressive therapy to avoid rejection of organ transplantation, in spite of its nephrotoxicity. It is well-known that CsA pharmacokinetics vary according to patient age. Pediatric patients usually require higher CsA doses to obtain target concentrations, as bile secretion, bowel length and metabolic clearance in children

differ to those of adults (1). Because of these variations, limited sampling models for CsA developed for adult patients cannot be extrapolated to children.

Monitoring CsA concentration has shown to be useful for adjusting dosage in order to avoid nephrotoxicity and graft rejection (2). Therapeutic monitoring is frequently performed by measuring trough concentrations (3, 4). This approach, however, yields limited information for diagnosis and prediction of adverse effects (5, 6). On the other hand, AUC monitoring has been shown to be a reliable indicator of transplant outcome and is therefore currently considered to

Abbreviations: CsA, cyclosporin A; AUC, area under the curve; ESRD, end-stage renal disease; CAPD, continuous ambulatory peritoneal dialysis; MPE, mean prediction error; MSE, mean squared error.

be better than trough-level monitoring in CsA-treated patients (5-7).

Usually AUC determinations require six or more concentration-time points. It is questionable from an ethical point of view to perform such an extensive sampling for routine monitoring in pediatric patients. Furthermore, such schemes are expensive. Therefore, several limited sampling models derived from equations obtained by multiple regression analyses have been proposed to calculate AUC for different CsA dosing schedules in children (8-12). Charlebois and colleagues performed an extensive evaluation of limited sampling equations in pediatric patients receiving CsA b.i.d (12). These authors concluded that CsA blood levels determined 5 h after dosing were well-correlated with AUC values in pediatric renal transplant recipients. Hence, the AUC may be predicted from this concentration-time point.

The study of Charlebois and coworkers (12) was performed in children treated with Sandimmune<sup>®</sup> (Sandoz), an oil-based formulation that exhibits low bioavailability. In recent years, a microemulsion-based oral formulation (Neoral<sup>®</sup>, Novartis), which results in an improved gastrointestinal absorption has been introduced in many countries. Sandimmune has been gradually substituted for Neoral, but both formulations are currently used. Nonetheless, Neoral is not bioequivalent to Sandimmune, because it renders a higher CsA bioavailability (13). Our previous observations in children on Neoral therapy show that CsA peak concentration ( $C_{max}$ ) and AUC are increased in 90% and 130%, respectively, in relationship to the values obtained with Sandimmune (14). Because in many cases Sandimmune is being substituted by Neoral, it is convenient to have a monitoring scheme that can be used for both CsA oral formulations. The objective of the present study was to evaluate the predictive performance of several limited sampling equations for the determination of the AUC of CsA in pediatric patients receiving either Sandimmune or Neoral.

#### Patients and methods

The data for the development of limited sampling models were derived from 10 patients aged 5-15 yrs with ESRD, undergoing CAPD, while awaiting renal transplantation. CsA bioavailability at steady state was studied in these patients after Sandimmune and Neoral administration. Full details of the bioavailability of CsA have been previously published (14). Briefly, the study was conducted according to a randomized cross-

over design. Each patient received five CsA doses (2.5 mg/kg) as either Sandimmune or Neoral every 12 h. After a 1-month washout period, patients received an additional course of five doses of either Sandimmune or Neoral to complete the other arm of the crossover design. After the fifth dose of both courses of therapy, 10 blood samples were drawn during a period of 12 h to construct complete concentration-time curves. CsA concentrations in serum samples were determined by an Abbott TDx analyzer using specific monoclonal antibodies.

Serum concentration against time curves were constructed for each patient and for each formulation.  $C_{max}$  was directly determined from these plots. AUC was estimated by the trapezoidal rule. Simple linear regression models were applied to assess the correlation between single concentration-time points and either  $C_{max}$  or AUC. Multiple linear regression models were used to assess the correlation between several concentration-time points and AUC (12).

The predictive performance, in terms of bias and precision, of the derived models was evaluated as suggested by Sheiner and Beal (15). For this purpose, bias in predictions was estimated by calculation the MPE as:

$$MPE = \frac{\sum(PRED - OBS)}{n} \quad \text{eqn 1}$$

Where PRED is the predicted value, OBS is the actual observed value, and  $n$  is the number of observations. A negative MPE value indicates underestimation by the predictor, while a positive MPE value indicates overestimation. A prediction with no bias results in a MPE value of zero.

The precision of the predictions was estimated as the MSE, as follows:

$$MSE = \frac{\sum[(PRED - OBS)^2]}{n} \quad \text{eqn 2}$$

The ideal prediction yields a MSE of zero, which means that  $PRED = OBS$ . When predicted values differ from the observed ones, being either higher or lower, the MSE increases. Therefore, a high MSE value indicates a poor predictive precision.

The relative predictive performance was evaluated to compare the two models (15). Relative bias was estimated as the difference in the MPE between model 1 and model 2 ( $\Delta MPE = MPE_1 - MPE_2$ ), whereas relative precision was estimated as the difference in the MSE ( $\Delta MSE = MSE_1 - MSE_2$ ). Positive values in  $\Delta MPE$  and  $\Delta MSE$  indicate a better performance of model 2 than model 1. Negative values indicate a better performance of model 1 than model 2. The greater the absolute values of  $\Delta MPE$  and  $\Delta MSE$ , the better the predictive performance of one

## Limited sampling model for CsA monitoring

Table 1. Correlation coefficients (*r*), bias [expressed as mean prediction error (MPE)] and precision [expressed as mean squared error (MSE)] of three limited sampling equations derived for the estimation of area-under-the-curve (AUC) at steady state in pediatric patients receiving CsA, as Sandimmune<sup>®</sup> and Neoral<sup>®</sup>, 2.5 mg/kg b.i.d.

Equation	<i>r</i>	MPE (µg h/mL)	MSE [(µg h/mL) <sup>2</sup> ]
AUC = 7.3 · C <sub>5h</sub> + 659	0.944	- 0.271	609.8
AUC = 2.24 · C <sub>2h</sub> + 24.6 · C <sub>12h</sub> - 53.9	0.990	0.003	30.4
AUC = 2.35 · C <sub>2h</sub> + 5.43 · C <sub>8h</sub> - 16.2 · C <sub>12h</sub> - 73.0	0.994	0.002	19.5

C<sub>2h</sub>, C<sub>5h</sub>, C<sub>8h</sub>, and C<sub>12h</sub> are the plasma concentrations in µg/mL determined at 2, 5, 8, and 12 h after an oral CsA administration at steady state.

model than the other. In order to establish if these differences are significant at  $\alpha=0.05$ , 95% confidence intervals were calculated for both,  $\Delta$ MPE and  $\Delta$ MSE. If the confidence interval does not include zero, it is assumed that the difference in the predictive performance of the models is statistically significant; if the confidence intervals include zero, the difference is not considered to reach statistical significance (15).

### Results

In a first approach, the equation proposed by Charlebois and colleagues (12) was tested, as follows:

$$\text{AUC} = 7.3 \cdot C_{5h} + 659 \quad \text{eqn 3}$$

Where C<sub>5h</sub> is the concentration of CsA determined 5 h after administration at steady state. No other equation derived from a single concentration-time point was able to render acceptable bias and precision. Therefore, we tested the equations using two or more points. Those that yielded the best results were:

$$\text{AUC} = 2.24 \cdot C_{2h} + 24.6 \cdot C_{12h} - 53.9 \quad \text{eqn 4}$$

$$\text{AUC} = 2.35 \cdot C_{2h} + 5.43 \cdot C_{8h} - 16.2 \cdot C_{12h} - 73.0 \quad \text{eqn 5}$$

Where C<sub>2h</sub>, C<sub>8h</sub>, and C<sub>12h</sub> are the CsA concentrations determined 2, 8 and 12 h after administration at steady state, respectively. Other equations derived from two or more data points did not significantly improve bias and precision,

or even resulted in an increased MPE and MSE, indicating a loss of predictive performance.

Correlation coefficients (*r*), bias and precision of the equations used for CsA AUC prediction after administration of Sandimmune and Neoral are given in Table 1. When AUC was estimated from C<sub>5h</sub>, it seemed that predictions were underestimated, as indicated by a negative MPE value. Precision was poor, as indicated by a high MSE value. Bias and precision improved when AUC was estimated as a function of (C<sub>2h</sub>, C<sub>12h</sub>). A further slight improvement was observed when AUC was estimated from (C<sub>2h</sub>, C<sub>8h</sub>, C<sub>12h</sub>). The predictive performance of two- or three-point equations was better than the single-point equation, in terms of MPE and MSE, regardless of the fact that *r*-values were only slightly increased.

Relative bias and precision are shown in Table 2. When the predictions of C<sub>5h</sub> were compared with those of (C<sub>2h</sub>, C<sub>12h</sub>) by estimating  $\Delta$ MPE and  $\Delta$ MSE, it appeared that zero was not included within the 95% confidence limits, indicating that (C<sub>2h</sub>, C<sub>12h</sub>) is a significantly better predictor in terms of bias and precision. When (C<sub>2h</sub>, C<sub>12h</sub>) AUC estimations were compared with (C<sub>2h</sub>, C<sub>8h</sub>, C<sub>12h</sub>), it appeared that the 95% confidence interval for  $\Delta$ MPE included zero, indicating that there is no statistically significant difference in bias. The confidence interval for  $\Delta$ MSE did not include zero. However, the  $\Delta$ MSE value was considerably lower than that obtained when the C<sub>5h</sub> and (C<sub>2h</sub>, C<sub>12h</sub>) equations were compared, indicating that the gain in precision with (C<sub>2h</sub>, C<sub>8h</sub>, C<sub>12h</sub>),

Table 2. Comparisons of the predictive performance, in terms of relative bias [expressed as relative mean prediction error ( $\Delta$ MPE)] and relative precision [expressed as relative mean squared error ( $\Delta$ MSE)] of limited sampling equations derived for the estimation of area under the curve (AUC) at steady state in pediatric patients receiving CsA, as Sandimmune<sup>®</sup> and Neoral<sup>®</sup>, 2.5 mg/kg b.i.d.

Comparison	$\Delta$ MPE (µg h/mL)	$\Delta$ MSE [(µg h/mL) <sup>2</sup> ]
AUC = 7.3 · C <sub>5h</sub> + 659 vs.	0.27	579.4
AUC = 2.24 · C <sub>2h</sub> + 24.6 · C <sub>12h</sub> - 53.9	(0.11, 0.44)*	(218.4, 940.4)
AUC = 2.24 · C <sub>2h</sub> + 24.6 · C <sub>12h</sub> - 53.9 vs	0.001	10.8
AUC = 2.35 · C <sub>2h</sub> + 5.43 · C <sub>8h</sub> - 16.2 · C <sub>12h</sub> - 73.0	(- 0.024, 0.025) <sup>†</sup>	(5.3, 16.3)

\*Values in parenthesis indicate 95% confidence intervals. A significantly better predictive performance of one model over the other is considered when zero is not included in the 95% confidence interval. See text for details. C<sub>2h</sub>, C<sub>5h</sub>, C<sub>8h</sub>, and C<sub>12h</sub> are the plasma concentrations in µg/mL determined at 2, 5, 8, and 12 h after an oral CsA administration at steady state.

Table 3. Comparison of actually observed 12-h area-under-the-curve (AUC) values at steady state, obtained from 10 concentration-time points, and those estimated with a limited sampling equation ( $AUC = 2.24 \cdot C_{2h} + 24.6 \cdot C_{12h} - 53.9$ ) in 10 children treated with 2.5 mg/kg of CsA b.i.d. with Sandimmune<sup>®</sup> and Neoral<sup>®</sup>, according to a crossover design

Subject	Sandimmune		Neoral	
	AUC <sub>OBS</sub> *	AUC <sub>PRED</sub>	AUC <sub>OBS</sub>	AUC <sub>PRED</sub>
1	1.870	1.924	3.977	3.770
2	0.825	0.702	2.160	2.283
3	0.993	1.108	2.621	2.419
4	0.753	0.747	1.548	1.311
5	1.119	1.052	0.634	0.400
6	0.536	0.434	0.659	0.640
7	1.310	1.501	3.263	3.539
8	1.888	1.938	1.891	1.855
9	1.885	1.984	5.891	5.649
10	1.526	1.964	2.338	2.571

\*AUC<sub>OBS</sub> is the observed value, AUC<sub>PRED</sub> is the predicted value. Values are expressed as  $\mu\text{g h/mL}$ .

although statistically significant, was not as important.

The gain in precision with ( $C_{2h}$ ,  $C_{8h}$ ,  $C_{12h}$ ) over ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) was small, considering that an additional blood sample is required. Thus, considering bias, precision, cost and ethical implications, it was decided that the ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) equation was the most suitable model for AUC estimation. A comparison between observed AUC and predicted AUC by the ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) equation is shown in Table 3, where it can be appreciated that the performance of this two-point model was acceptable for both Sandimmune and Neoral.

When predicted AUC values are plotted as a function of the observed AUC values, the identity line (i.e. OBS=PRED) depicts the ideal prediction (15). As it can be seen in Fig. 1a, the  $C_{5h}$  equation yielded a good prediction (i.e. points being near the identity line) for Sandimmune, but not for Neoral. On the other hand ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) estimations for both Sandimmune and Neoral

were adequate as all points fell close to the identity line (Fig. 1b).

Another important parameter in therapeutic drug monitoring is  $C_{\text{max}}$ , because it is frequently related to the side-effects of the medication under study. As  $C_{\text{max}}$  occurs at times close to 2 h in children receiving CsA, as either Sandimmune or Neoral (14), we evaluated the performance of  $C_{2h}$  as a predictor of  $C_{\text{max}}$ . The equation obtained by linear regression was:

$$C_{\text{max}} = C_{2h} + 22.8 \quad \text{eqn 6}$$

Correlation, bias and precision of this equation were  $r=0.984$ ,  $\text{MPE}=-0.02 \mu\text{g/mL}$ , and  $\text{MSE}=1.56 (\mu\text{g/mL})^2$ , respectively. When predicted values were plotted as a function of the observed values (Fig. 2), it appeared that  $C_{2h}$  was an acceptable predictor of  $C_{\text{max}}$ , because all points were close to the identity line. Because CsA was given every 12 h, it appeared that with CsA concentration data at 2 and 12 h it is possible to estimate AUC as a function of ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ),  $C_{\text{max}}$  as a function of  $C_{2h}$ , and the trough concentration, which actually corresponds to  $C_{12h}$ .

## Discussion

CsA is widely used in patients who have undergone organ transplantation and in the treatment of some immunological diseases. Currently, two oral formulations are used, Neoral and Sandimmune (or generic equivalents of Sandimmune). In many cases, patients are being switched from Sandimmune to Neoral, because the latter shows a higher and more predictable bioavailability (16). A 1:1 dosing substitution of Sandimmune for Neoral has been proposed, as trough CsA concentrations are similar with both formulations (17). It should be noted, however, that trough-level monitoring is considered to be inferior to AUC monitoring in

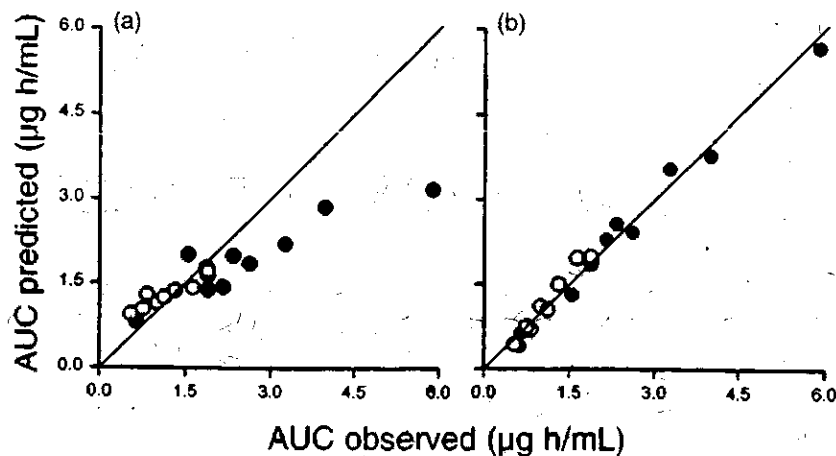


Fig. 1. Relationship between predicted and observed area-under-the-curve (AUC) values at steady state in 10 children with end-stage renal disease ESRD receiving two oral cyclosporin formulations, Sandimmune<sup>®</sup> (O) and Neoral<sup>®</sup> (●), following a randomized crossover design. (a) Estimations from the equation  $AUC = 7.3 \cdot C_{5h} + 659$ . Traces indicate the identity line, corresponding to ideal predictions. (b) Estimations from the equation  $AUC = 2.24 \cdot C_{2h} + 24.6 \cdot C_{12h} - 53.9$ .

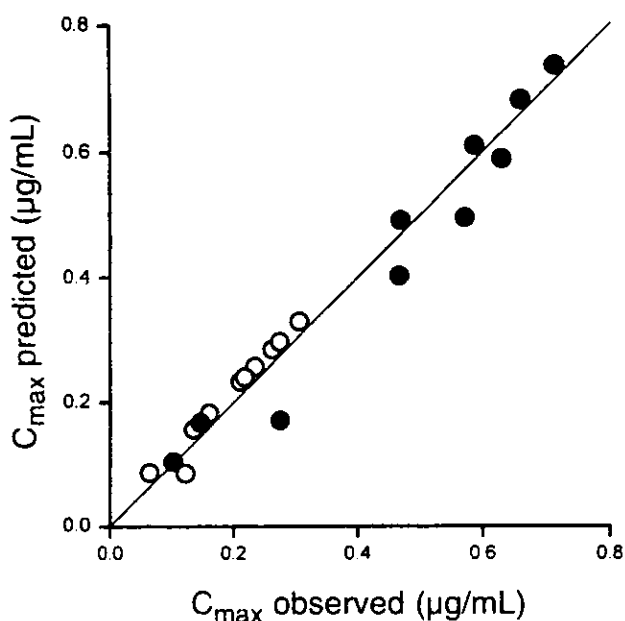


Fig. 2 Relationship between predicted and observed  $C_{max}$  values at steady state in 10 children with end-stage renal disease who received two oral cyclosporin formulations. Sandimmune<sup>®</sup> (○) and Neoral<sup>®</sup> (●). Estimations were made from the equation  $C_{max} = C_{2h} + 22.8$ . The trace

terms of patient outcome (5–7). Moreover, as  $C_{max}$  and total drug exposure with Neoral are considerably greater than with Sandimmune, trough-level monitoring is insufficient to establish a new dosing regimen when a patient is being switched from one formulation to the other. Therefore, AUC monitoring appears to be mandatory (13), particularly in pediatric patients in whom bioavailability differences between formulations are more pronounced (14).

AUC monitoring is difficult to perform in children because of the numerous blood samples required to establish a complete concentration–time profile. Therefore, several limited sampling strategies have been proposed in children in order to determine CsA AUC from one to four concentration–time points (8, 9, 11, 12). Charlebois and coworkers evaluated several of these models and concluded that an equation derived from a single concentration–time point ( $C_{5h}$ ) allowed an acceptable prediction of AUC in children with renal transplantation receiving Sandimmune (12). We evaluated the predictive performance of the equation proposed by these authors in children with ESRD receiving both Sandimmune and Neoral. Our results showed that although the equation proposed by Charlebois and colleagues (12) allowed an acceptable prediction of AUC for Sandimmune, it failed for Neoral. Therefore, we tested several other concentration–time point combinations to

find an equation allowing AUC estimation for both formulations, which could be used in pediatric patients when switched from Sandimmune to Neoral.

Our results showed that there was a high correlation coefficient when AUC was correlated to  $C_{5h}$  for both CsA formulations. Notwithstanding, the derived equation was not able to acceptably predict AUC values obtained with Neoral, as shown in Fig. 1a. Sheiner and Beal (15) demonstrated that the correlation coefficient is not the best parameter to estimate predictive performance. Therefore we followed their suggestions to evaluate the predictive performance, in terms of bias and precision, for several limited sampling equations derived for CsA AUC estimation.

When AUC was estimated from two concentration–time points ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ), the predictive performance improved when compared with  $C_{5h}$ . When three points ( $C_{2h}$ ,  $C_{8h}$ ,  $C_{12h}$ ) were used, precision, but not bias, was slightly improved. Therefore, when the three-point equation is compared with the two-point strategy for routine monitoring in children, it appears that the small gain in precision does not compensate for the increase in cost and the ethical implications of additional blood sampling.

As has been previously discussed (14), it is probable that  $C_{max}$  may be related to the appearance of CsA toxicity. This possibility needs to be evaluated for Neoral in pediatric patients.  $C_{2h}$  appeared to be a good predictor of  $C_{max}$  by using equation 6. Therefore, the ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) sampling strategy allows not only the estimation of AUC, but also of  $C_{max}$ , for both Sandimmune and Neoral. Moreover, when CsA is given twice daily, as it is frequently the case in clinical practice,  $C_{12h}$  corresponds to trough levels. Hence, the ( $C_{2h}$ ,  $C_{12h}$ ) sampling strategy also yields information on trough concentrations and allows the comparison of AUC monitoring with trough-level monitoring in terms of patient outcome. Single-point sampling strategies, such as the  $C_{5h}$  equation proposed by Charlebois and coworkers (12), do not allow for the estimation of either  $C_{max}$  or trough levels.

It has been reported that whole blood appears to be the most appropriate method for CsA monitoring (18). Notwithstanding, the present study was carried out in serum samples: this is the method currently used in our center as well as in numerous institutions in the third world because the cost of CsA determinations is significantly lower. Whole blood is preferred as CsA binding to the cellular fraction is 50–70%. Hence the free fraction may vary with differences in hematocrit.

Under the conditions of our study, hematocrit values were stable. At steady state, there is an equilibrium between CsA concentration in serum and in the cellular fraction. Therefore, it can be assumed that the limited sampling model presented here can be useful for both serum and blood samples. In fact, the equation derived by Charlebois and coworkers for Sandimmune for blood samples (12) yielded similar results for our serum samples. Evidently, it is still necessary to validate our model using whole blood.

In conclusion, we propose a limited sampling model derived from two-concentration data, determined 2 and 12 h after CsA administration at steady state, which allows the estimation of AUC,  $C_{max}$  and trough levels in pediatric patients treated with oral CsA as either Sandimmune or Neoral, b.i.d. This procedure yields more information on CsA exposure than just trough-level monitoring, with the advantage of requiring only one extra sample to measure CsA concentration.

References

1. COONEY GF, HABUCKY K, HOPPU K. Cyclosporin pharmacokinetics in paediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 1997; 32: 481-495.
2. FAULDS D, GOA KL, BENFIELD P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and its therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 1993; 45: 953-1040.
3. TSUNODA SM, AWEKA FT. The use of therapeutic drug monitoring to optimize immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 107-140.
4. SHAW LM. Advances in cyclosporine pharmacology, measurement, and therapeutic monitoring. *Clin Chem* 1989; 35: 1299-1308.
5. GREVEL J, WELSH MS, KAHAN BD. Cyclosporine monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monit* 1989; 11: 246-248.
6. GREVEL J. Area-under-the-curve versus trough-level monitoring of cyclosporine concentration: critical assessment of dosage adjustment practices and measurement of clinical outcome. *Ther Drug Monit* 1993; 15: 488-491.

7. SHIBATA N, HOSHINO N, MINOUCHI T, et al. Relationship between area under the concentration versus time curve of cyclosporin A, creatinine clearance, hematocrit value, and other clinical factors in Japanese renal transplant patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 1998; 36: 202-209.
8. GREVEL J, KAHAN BD. Abbreviated kinetic profiles in area-under-the-curve monitoring of cyclosporine therapy. *Clin Chem* 1991; 37: 1905-1908.
9. SERINO F, CITTERIO F, POZZETTO U, GREVEL J, CASTAGNETO M. Abbreviated three-point kinetic profile in the 12-hours area under the curve for pharmacokinetic monitoring of cyclosporine. *Transplant Proc* 1994; 26: 2807-2808.
10. KELLES A, VAN DAMME-LOMBAERTS R, TJANDRA MAGA TB, VAN DAMME B. Long-term cyclosporin A pharmacokinetic profiles in pediatric transplant recipients. *Transpl Int* 1996; 9: 546-550.
11. MEIER-KRIESCHE HU, KAPLAN B, BRANNAN P, KAHAN BD, PORTMAN R. A limited sampling strategy for the estimation of eighth-hour neoral areas under the curve in renal transplantation. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 401-407.
12. CHARLEBOIS JE, LUM BL, COONEY GF, MOCHON M, KAISER BA. Comparison and validation of limited sampling equations for cyclosporine area-under-the-curve monitoring calculations in pediatric renal transplant patients. *Ther Drug Monit* 1997; 19: 413-419.
13. CASTANEDA-HERNÁNDEZ G, PÉREZ-URIZAR J, MEDEIROS M. Current bioequivalence criteria are adequate for oral cyclosporin A formulations. *Ther Drug Monit* 1998; 20: 722-723.
14. MEDEIROS M, GÓMEZ AC, PÉREZ-URIZAR J, et al. Bioavailability of two oral cyclosporin A formulations in uremic children before renal transplantation. *Pediatr Transplantation* 1998; 2: 145-149.
15. SHEINER LB, BEAL ST. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinet Biopharm* 1981; 9: 503-512.
16. FRIMAN S, BÄCKMAN LA. A new microemulsion formulation of cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 1996; 30: 181-193.
17. JOHNSTON A, KEOWN PA, HOLT DW. Simple bioequivalence criteria: are they relevant to critical dose drugs? Experience gained from cyclosporin. *Ther Drug Monit* 1997; 19: 375-381.
18. OLLERICH M, ARMSTRONG VW, KAHAN B, et al. Lake Louise Consensus Conference on cyclosporin monitoring in organ transplantation: report of the consensus panel. *Ther Drug Monit* 1995; 17: 642-654.