



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

DIVISION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MEXICO
'FEDERICO GOMEZ'
DEPARTAMENTO DE NEFROLOGIA



VALIDACION DE MODELO DE MUESTREO LIMITADO PARA
CALCULAR EL AREA BAJO LA CURVA DE CONCENTRACION
PLASMATICA VS. TIEMPO DE CICLOSPORINA EN PACIENTES
PEDIATRICOS CON TRASPLANTE RENAL

SUBDIRECCION DE
CIENTIFICOS

2000
J. R. Peña

TRABAJO PRESENTADO
PARA OBTENER EL TITULO DE
NEFROLOGO PEDIATRA
PRESENTADO POR:
DRA. DORA LUZ HUEDA MORALES



DIRECTORES DE TESIS: DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO
DR. RICARDO MUÑOZ ARIZPE

MEXICO, D. F.

FEBRERO 2000

Handwritten signatures and dates



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.

Autorizo a la Dirección General de Bibliotecas de la UNAM a difundir en formato electrónico e impreso el contenido de mi trabajo recepcional.

NOMBRE: Hilda Meneses Donaluz

FECHA: 15-10-07

P.A. [Signature]

DEDICATORIA

A mis padres y hermanos:

Por su amor incondicional
Por ser el pilar que me sostiene siempre
Por hacer propios mis éxitos y fracasos
Sin su apoyo incansable me habría dado por vencido
hace mucho tiempo.
Ustedes son mi estímulo para seguir adelante.

A Mis Tios: Enrique y Misa,
A Mis Primas: Yuri, Yuki
Por su apoyo siempre tan cercano

¡GRACIAS!

CON ESPECIAL AGRADECIMIENTO

Dr. Ricardo Muñoz Arizpe: Por su entrega a la enseñanza, por compartir sus conocimientos con nosotros además de guiarnos con su ejemplo en disciplina, justicia y honestidad.

Dr. Luis Velásquez Jones: Por su incondicional paciencia para dar solidez con su experiencia a nuestros conocimientos pediátricos como punto de partida para despertar nuestro interés en la nefrología, Por su gran calidez humana.

Dr. Benjamín Romero Navarro: Por hacernos partícipes en su experiencia clínica cada día junto al paciente, como guía permanente en mi formación durante estos dos años.

Dra. Mara Medeiros Domingo: Por darnos una visión clara, práctica y lúcida de la nefrología, por fomentar en nosotros el espíritu de superación incansable, sobretodo por su apoyo cálido y sincero.

Dr. Saul Valverde Rosas: Por ser fiel a sus principios como compañero, amigo y maestro, por mostrarnos que todo en la vida debe ser bien hecho, Ejemplo de dedicación y perseverancia. "Hasta la Victoria"

Por que la vida es resbaladiza todos necesitamos una mano amiga en que sostenemos.

A mis amigos: Ariel, Pedro, Fernando, Chely, Martín, Carlos y Natalia.



INDICE

Introducción _____	1
Farmacocinética _____	3
Interacciones medicamentosas _____	7
Efectos adversos y toxicidad _____	8
Monitoreo terapéutico _____	10
Justificación _____	16
Hipótesis _____	17
Objetivo _____	18
Material y métodos _____	19
Consideraciones éticas _____	22
Resultados _____	23
Conclusión _____	25
Bibliografía _____	33

SUBDIRECCION DE
ENSEÑANZA

2000

INTRODUCCIÓN

La ciclosporina (CsA) es un metabolito del hongo *Tolypocladium inflatum gams* que se descubrió entre 1969 y 1970. Inicialmente 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 tenido un papel fundamental en la terapia inmunosupresora en una variedad de trasplantes de órganos. Posteriormente se 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.

Desde el punto de vista químico es un péptido cíclico de once aminoácidos con peso molecular de 1202.64, neutral e insoluble en agua pero altamente soluble en solventes orgánicos y lípidos, con un coeficiente de partición de 4000 (2)(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 (3-8). Se conoce que la CsA ocasiona una supresión selectiva de la inmunidad celular al inhibir la activación y proliferación de los linfocitos T.

La CsA es liposoluble y atraviesa con facilidad la bicapa lipídica de la membrana celular por medio de un mecanismo de transporte facilitado por un receptor de membrana no identificado. La CsA puede considerarse una prodroga 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 mas estudiada es la ciclofilina A. El complejo ciclosporina-ciclofilina se une a la subunidad catalítica de la calcineurina y ejerce un efecto inhibitor sobre esta proteína.

La calcineurina participa en la activación de factores nucleares y genes de activación de los linfocitos T que regulan la transcripción de citocinas, 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 citocinas. La producción de estas sustancias por los linfocitos T es fundamental en el proceso de rechazo del injerto.

Otra hipótesis para explicar la acción inmunosupresora es el aumento en la expresión del RNA-m del factor transformador de crecimiento β , citocina que ejerce diferentes funciones y en estudios in vitro disminuye el crecimiento y la activación de los linfocitos T. También aumenta la producción de matriz extracelular y la expresión de 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 y la hipertensión arterial (7,8).

PRESENTACIONES FARMACÉUTICAS

Existen tres tipos de presentaciones farmacéuticas:

- 1.- Para uso intravenoso. (Sandimmun®). Ampolleta de 1 ml que contiene CsA 50 mg/ml en Cremophor-EL (base de aceite de castor polioxietilado) y alcohol y se diluye 1:20 o 1:100 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 polioxietilado y etanol como excipientes. Contiene CsA 100 g/L, 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 surfactante, un componente hidrofílico, un componente lipofílico y un cosolvente, con el fin de obtener una mejor biodisponibilidad oral. Se presenta en solución de 100 mg/L y en cápsulas de 25, 50 y 100 mg.

FARMACOCINÉTICA

En comparación con la información disponible sobre la farmacocinética de la CsA en diferentes poblaciones de pacientes adultos, existe poca información en 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 niños pequeños; la distribución de la grasa, 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 (10)

Absorción

Por vía oral la CsA se absorbe principalmente en el duodeno y en el yeyuno. 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 es absorbible en el íleo y el intestino grueso. La formulación en microemulsión se absorbe 50-90% más que la formulación tradicional. 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, reconversión de metabolitos nuevamente en CsA o 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.

También es importante considerar la administración de medicamentos concomitantes, tales como la metoclopramida, que incrementa el vaciado gástrico, 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 (10-13).

Distribución

La CsA se distribuye ampliamente en todos los tejidos del organismo. El volumen de distribución varía de 3.5 a 13 L/Kg de peso corporal. El hígado, páncreas y el 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 de la cual 85-90% está unida a proteínas plasmáticas, principalmente lipoproteínas.

La CsA en plasma se une al 43-57% de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) al 25% de las lipoproteínas de baja densidad (LDL) y solo el 2% a lipoproteínas de muy baja densidad (VLDL). Tal parece que la lipoproteína de baja densidad no sólo es transportadora de la CsA sino que puede facilitar la entrada a las células vía receptores de lipoproteínas de baja densidad. (14, 15) El volumen de distribución varía con la edad

y probablemente se relaciona con la diferencia en la concentración de lipoproteínas (16). La proporción de CsA unida a la fracción celular 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(6,17-18).

Metabolismo

El metabolismo de la CsA comienza en el tubo digestivo y debido a que es un péptido se supone 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 prevenir la degradación en el tracto gastrointestinal. El principal sitio de metabolismo de la CsA es el sistema enzimático del citocromo P450 dependiente de monooxigenasa en el hígado y las membranas intestinales, principalmente CYP3A (17). Todos los fármacos que se metabolizan por este sistema interfieren con el metabolismo de la CsA. Al menos 30 metabolitos se han aislado, la mayoría son hidroxilados, N-desmetilados o ambos y retienen la estructura cíclica. El principal metabolito es el monohidroxilado M1. Los niveles en valle de este metabolito pueden exceder al compuesto original. La actividad inmunosupresora de los metabolitos es objeto de estudio, en el caso del M1 va de 10-20% en relación a la actividad del compuesto original y también se les atribuyen efectos tóxicos (19, 20). El jugo de toronja inhibe al CYP3A4 presente en la mucosa intestinal y de esta manera aumenta la absorción de CsA (21).

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 vía renal. La presencia de insuficiencia renal no parece afectar la farmacocinética. La vida media después de la administración oral varía de 10 a 27 horas (11,12,17). La depuración de CsA está disminuida en la terapia crónica debido a que la CsA inhibe su propio metabolismo. Los pacientes pediátricos tienen mayor velocidad de depuración de CsA que los adultos y requieren mayores dosis de ciclosporina para mantener los niveles terapéuticos, estas diferencias son mayores en niños menores de 10 años (12).

INTERACCIONES MEDICAMENTOSAS

Las interacciones medicamentosas se pueden dividir en tres categorías

- 1) Fármacos que afectan las concentraciones de CsA en sangre ya sea aumentándolos como verapamil, vancomicina, fluconazol, eritromicina, cimetidina y diltiazem entre otros o también disminuyéndolos como carbamazepina, isoniazida, rapamicina, metoprolol, fenobarbital, fenitoina, cotrimoxazol en administración IV.
- 2) Fármacos que pueden potenciar la nefrotoxicidad de la CsA, ej; vancomicina, anfotericina B, gentamicina, cotrimoxazol y melfalan.
- 3) Fármacos cuya cinética se ve afectada por la CsA (22).

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 trasplantado. Los fármacos que son nefrotóxicos pueden

adicionarse al daño renal ocasionado por la CsA. Los antagonistas de 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. Existen reportes de intoxicación por digital en pacientes que iniciaron ciclosporina después del trasplante cardíaco (23). La importancia clínica de estas interacciones se determina por el índice terapéutico de las drogas concomitantes, las dosis, las características del paciente y la patología a tratar. Una interacción clínica significativa debe anticiparse evitando las consecuencias adversas.

EFFECTOS ADVERSOS Y TOXICIDAD

Se han reportado varias reacciones adversas y de toxicidad, entre las que destacan la nefrotoxicidad y la hipertensión arterial. En los pacientes nefróticos o con trasplante renal los 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 (24). El daño tubulointersticial mejora al disminuir la dosis; sin embargo la afección vascular puede producir fibrosis intersticial irreversible que no se distingue del daño ocasionado por el rechazo crónico al injerto u otras condiciones que produzcan arteriopatía renal. La manifestación más frecuente es el incremento asintomático de la concentración de creatinina en sangre. También se puede presentar hiperkalemia, acidosis metabólica hiperclorémica, hipomagnesemia,

hiperuricemia e hipocalcemia, entre otros. La nefrotoxicidad crónica por CsA puede llevar a la uremia, inclusive en pacientes que han recibido dosis bajas del medicamento para problemas dermatológicos, como psoriasis (25, 26). Se ha propuesto que la nefrotoxicidad de la CsA se debe a las siguientes causas: inhibición de la calcineurina, inhibición de la glicoproteína p (transportador de fármacos que se expresa en las células tubulares proximales y confiere resistencia a medicamentos facilitando la secreción de fármacos quimioterapéuticos); generación de radicales libres de oxígeno que inducen peroxidación de lípidos, daño celular y la liberación de endotelina-1 (27).

La administración de ciclosporina puede afectar la actividad de la lipasa hepática y contribuir al aumento de la concentración de lípidos en pacientes con trasplante renal y cardíaco, 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 aumento de los niveles de lípidos en sangre por su propia enfermedad, aún antes del uso de la CsA (28, 29).

Los efectos adversos no renales más frecuentes son hipertricosis, hiperplasia gingival, temblor fino de manos e hipertensión arterial. El hirsutismo es 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. También se presenta fatiga, cefalea, hepatotoxicidad que se caracteriza por la elevación de las cifras de bilirrubina y transaminasas y generalmente se resuelve al disminuir la dosis de CsA. En menos de 2% de los pacientes

tratados con CsA se han reportado reacciones alérgicas, anemia, leucopenia, trombocitopenia, conjuntivitis, hiperglicemia, crisis convulsivas, ceguera, diarrea, náuseas y síndrome hemolítico urémico (30).

MONITOREO TERAPÉUTICO

El monitoreo terapéutico proporciona información útil sobre el esquema de dosificación y la posibilidad de toxicidad. Estas situaciones incluyen: medicamentos con ventana terapéutica estrecha (niveles tóxicos cercanos a la concentración que ejerce el efecto terapéutico, medicamentos con gran variabilidad intra e interindividual, presencia de otros factores que pueden interferir con la farmacocinética o farmacodinámica del medicamento, falla terapéutica a las dosis habituales y para vigilar la adherencia terapéutica. La ciclosporina cumple con todos los requisitos para ser un fármaco que requiere monitoreo terapéutico. Es importante señalar que la eficacia inmunosupresora de la ciclosporina puede variar de un individuo a otro y en el mismo individuo y esto no se detecta con las concentraciones sanguíneas. Sería ideal contar con un sistema que permitiera 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 (correlación farmacocinética-farmacodinamia).

Para interpretar en forma adecuada la concentración sanguínea de ciclosporina se deben conocer las condiciones de toma de la muestra, el método analítico por el cual se procesó, el régimen de dosificación que recibe el paciente (ej. cada 8 o cada 12 horas), la terapia concomitante y el estado clínico actual (18, 31-33). El esquema que

generalmente se lleva a cabo es midiendo los niveles en valle, en plasma o en sangre total (32).

Métodos de determinación de ciclosporina

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

El consenso internacional recomienda que la determinación de CsA se realice en sangre total con EDTA como anticoagulante: 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 monitoreo de los niveles 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 (18, 34-37). Se ha reportado un ritmo circadiano en la farmacocinética de la CsA y los niveles en valle vespertinos son menores que los matutinos (38).

A continuación se mencionan los diferentes métodos para determinación de ciclosporina:

1.- Cromatografía líquida de alta presión (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. Este método al determinar fármaco original y a sus

metabolitos tiene una sensibilidad de 20 a 40 g/L, requiere un volumen de muestra de 1ml (17,32).

2.- Radioinmunoanálisis no específico

El radioinmunoanálisis no específico (NS-Pab-³H RIA) con anticuerpos policlonales tritados no específicos, fué el método analítico más usado 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 substituyó por radioinmunoanálisis (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 ¹²⁵I ya que tiene menos reactividad cruzada. Requiere volúmenes de muestra pequeños de 10µl (30,32).

3.- Radioinmunoanálisis específico

En forma paralela a los RIAs no específicos se desarrolló un RIA específico que utiliza el mismo anticuerpo monoclonal marcado con ¹²⁵I, 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 (32).

4.- Inmunoanálisis de fluorescencia polarizada no específico

Utiliza un anticuerpo policlonal no específico de 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 metabolitos, tiende a

sobreestimar las concentraciones de CsA. Utiliza muestras de suero y requiere un volumen de muestra de 500µl (32).

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 metabolitos de CsA (2-8%) y los valores obtenidos son hasta 30% mayores que con HPLC. Requiere un volumen de muestra de 150µl (32).

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 Cobas Mira (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 500ug/L y si se requiere medir niveles mayores se diluye la muestra (32).

En los pacientes con injerto renal se inicia la ciclosporina una vez que el riñón funciona en forma adecuada, generalmente cuando la concentración de creatinina en sangre son alrededor de 2 mg%. Se administra una dosis inicial de 10 mg/Kg y se toman niveles en valle diariamente durante la primera semana para mantener la concentración en sangre total entre 200 y 400 ng/ml. Posteriormente se toman niveles por lo menos una vez a la

semana durante los siguientes tres meses y después cada vez que el paciente acude a la consulta.

Diversos autores han señalado que los niveles en valle no son la mejor manera de realizar el seguimiento clínico ya que no reflejan la exposición total al fármaco ni la concentración máxima, que puede estar relacionada con los efectos tóxicos por lo que se ha propuesto el área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo (ABC) como un mejor indicador de la exposición al fármaco (32,40,41), 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 τ = intervalo de dosificación

ABC = área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo

La C_{ss} y el ABC pueden ser una mejor herramienta para conocer el riesgo de nefrotoxicidad o bien de rechazo del injerto. Sin embargo en el seguimiento cotidiano de los pacientes con trasplante renal es poco práctico y costoso realizar perfiles farmacocinéticos completos en forma regular debido a que 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 en forma confiable (42-44).

En relación con pacientes pediátricos, existe poca información al respecto y se han propuesto modelos de muestreo limitado para calcular el ABC de CsA en la presentación

tradicional, pero no con Neoral (presentación en microemulsión) que se encuentra recientemente en el mercado (44).

Con los datos farmacocinéticos de un estudio realizado previamente en nuestro departamento comparando la biodisponibilidad de las dos formulaciones de CsA en pacientes urémicos en espera de trasplante renal (11), desarrollamos un MML que con la concentración de CsA a las 2 y 12 horas permite en forma sencilla y confiable calcular el ABC y la concentración máxima (C_{max}) de CsA (45). Sin embargo dado que el MML se realizó en pacientes urémicos es necesario validarlo en pacientes con trasplante renal antes de recomendar su uso. El MML se desarrolló de la siguiente manera: para cada paciente urémico con cada formulación se realizó una curva de concentración plasmática de CsA contra tiempo. Se utilizó modelo de regresión lineal simple para valorar la correlación entre un determinado punto de muestreo y el ABC a 12 horas (ABC_{12h}). Posteriormente se construyeron modelos de regresión múltiple con varios puntos de muestreo y el ABC_{12h} y se encontró que la ecuación que considera los puntos de muestreo de 2 y 12 horas (C_2 y C_{12}) puede predecir en forma adecuada el ABC_{12h} para ambas formulaciones con un buen desempeño predictivo en términos de sesgo y precisión (45, 46).

JUSTIFICACION

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

Desarrollamos un MML que con las concentraciones de CsA a las 2 y 12 horas estima en forma adecuada el ABC_{12h} de CsA independientemente de la formulación utilizada en niños urémicos.

El presente estudio está diseñado para validar el MML de CsA en niños con trasplante renal antes de recomendar su uso.

HIPÓTESIS

El MML que considera la concentración de CsA a las 2 y 12 horas permite estimar en forma adecuada el ABC_{12h} en niños con trasplante renal.

OBJETIVO

Demostrar que el ABC_{12h} de CsA se puede 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 clínico prospectivo y comparativo en niños con trasplante renal y función estable del injerto, que fueron admitidos al Departamento de Nefrología para realizar el perfil farmacocinético completo de CsA con nueve puntos de muestreo. El ABC_{12h} obtenida por el método de los trapezoides se comparó con el ABC_{12h} obtenida con el modelo de muestreo limitado que considera únicamente la concentración de CsA a las 2 y 12 horas, mediante la siguiente ecuación (46):

$$ABC_{12h} = 2.24 \times C_{2h} + 24.6 \times C_{12h} - 53.9$$

ABC_{12h} = área bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo de 12 horas.

C_{2h} = concentración de CsA a las 2 horas después de la administración

C_{12h} = concentración de CsA a las 12 horas después de la administración

DEFINICION DE VARIABLES

ABC_{12h} completa: Area bajo la curva de concentración plasmática contra tiempo de 12 horas obtenida con nueve puntos de muestreo mediante el método de los trapezoides.

ABC_{12h} calculada ó predicha: Area bajo la curva de 12 horas calculada con la ecuación ya mencionada, que considera los puntos de muestreo a las 2 y 12 horas.

CRITERIOS DE INCLUSION

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

CRITERIOS DE EXCLUSION

1. Pacientes pediátricos con TR que no reciban ciclosporina
2. Pacientes en quienes se hayan modificado los medicamentos y/o las dosis de los mismos en las últimas dos semanas

CRITERIOS DE ELIMINACION

1. Deseo voluntario de abandonar el estudio
2. Presencia de algún evento que requiera la administración de medicamentos diferentes de la terapia de mantenimiento que pueden interferir con la determinación o con los niveles de ciclosporina, 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 plasmática contra tiempo para cada paciente y se calculó el ABC_{12h} con el método de los trapezoides. La concentración máxima (C_{max}) y el tiempo en alcanzar la concentración máxima (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. El desempeño predictivo del modelo se evaluó con los criterios propuestos por Sheiner y Beal:

Predicción de error promedio (MPE) como medida de sesgo:

$$MPE = \Sigma(\text{predichos-observados})/n$$

Un valor negativo de MPE indica que el modelo subestima el valor real mientras que el valor positivo de MPE indica que el modelo sobrestima los valores. Cuando no hay sesgo el MPE es igual a cero.

Error cuadrado promedio (MSE) como medida de sesgo:

$$MSE = \Sigma(\text{predichos-observados})^2/n$$

En una predicción ideal el MSE es igual a cero, lo que significa que los predichos son iguales a los observados.

CONSIDERACIONES ETICAS

El seguimiento terapéutico del ABC de ciclosporina permitirá un mejor control de los pacientes con trasplante renal con el fin de prevenir el rechazo y evitar la nefrotoxicidad. El estudio de validación considera la toma de nueve muestras de 1 ml sangre un periodo de 12 horas, sumando un total 9 ml que corresponde al 2.2% del volumen sanguíneo circulante del paciente por lo que no existe riesgo.

RESULTADOS

Se incluyeron 9 pacientes, de los que 3 fueron del sexo masculino. La edad varió de 10-17 años, promedio de 13 años (± 2.5) Todos recibieron triple terapia inmunosupresora con prednisona, azatioprina y ciclosporina y con función renal estable, con creatinina en sangre de $1.05 \text{ mg/dL} \pm 0.2$. El tiempo post-trasplante fue de 17.8 meses ± 17.2 y recibieron dosis de CsA de $6.8 \text{ mg/kg/día} \pm 2.92$ (Tabla 1).

En la Figura 2 se observa la curva de concentración plasmática vs tiempo de CsA de los 9 pacientes incluidos en el estudio. En la Tabla 2 se describen los parámetros farmacocinéticos generales, $C_{\text{max}} 1530 \text{ ng/mL} \pm 536$, $T_{\text{max}} 1.66\text{h} \pm 0.5$ y $t_{1/2} 7.39\text{h} \pm 2.27$.

En la Tabla 3 se reportan los valores de $ABC_{12\text{h}}$ observados en 9 puntos de muestreo y los predichos con el MML, teniendo en todos los casos una variación menor al 20%, el error predictivo medio (MPE) fue -0.1% y el error promedio cuadrado (RMSE) fue 6 %.

DISCUSIÓN

Dado que los niveles de CsA a las 0 y 12 horas son similares porque los pacientes se encontraban en estado estacionario para el medicamento, para el cálculo de ABC con el MML se tomaron los valores de CsA a las 0 en vez de los valores a las 12 horas, ambos se consideran valores en valle ya que son justo antes de la siguiente administración y el tomar los niveles en la mañana permitió acortar el tiempo de permanencia del paciente en el Hospital y es más práctico en estudios a largo plazo.

En la Figura 3 se observa la relación entre el ABC predicha con el MML vs el ABC observada de CsA en los 9 pacientes con trasplante renal que son similares a lo reportado en estudios previos realizados en población pediátrica (12).

CONCLUSION

El MML propuesto, que considera la concentración de CsA a las 2 y 12 horas, puede estimar en forma confiable el ABC de CsA en pacientes pediátricos con trasplante renal y puede ser de utilidad para el seguimiento a largo plazo.

Tabla 1- 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

Tabla 2. 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 3.-Valores de ABC observados y predichos con el MML en 9 pacientes con TR

Sujeto	ABCobs	ABCmml	%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	98738.65	-0.6
9	8921	8911.18	0.1

MPE: -0.1%, RMSE: 6%

Figura 1.- Estructura química de la ciclosporina

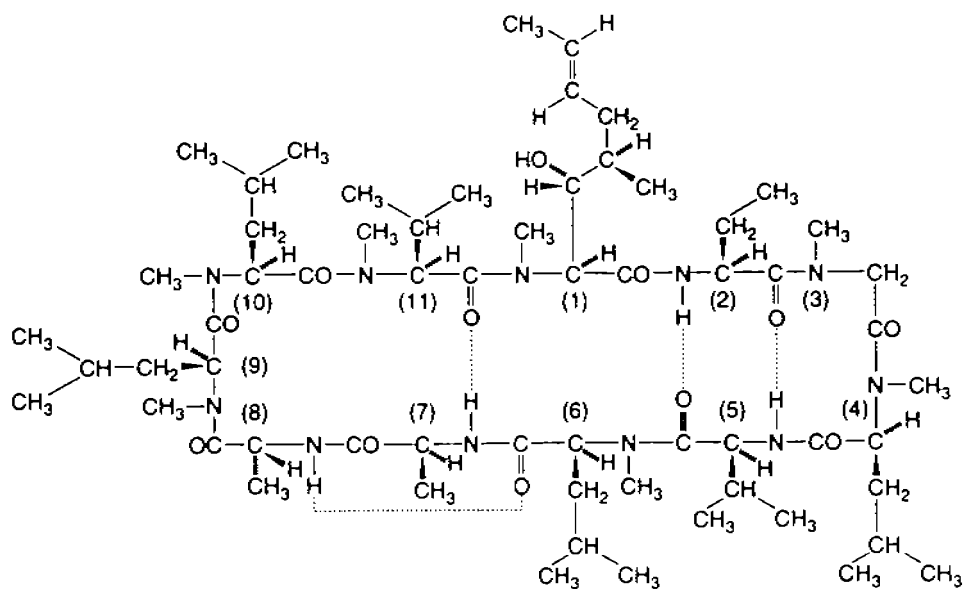


FIGURA 2

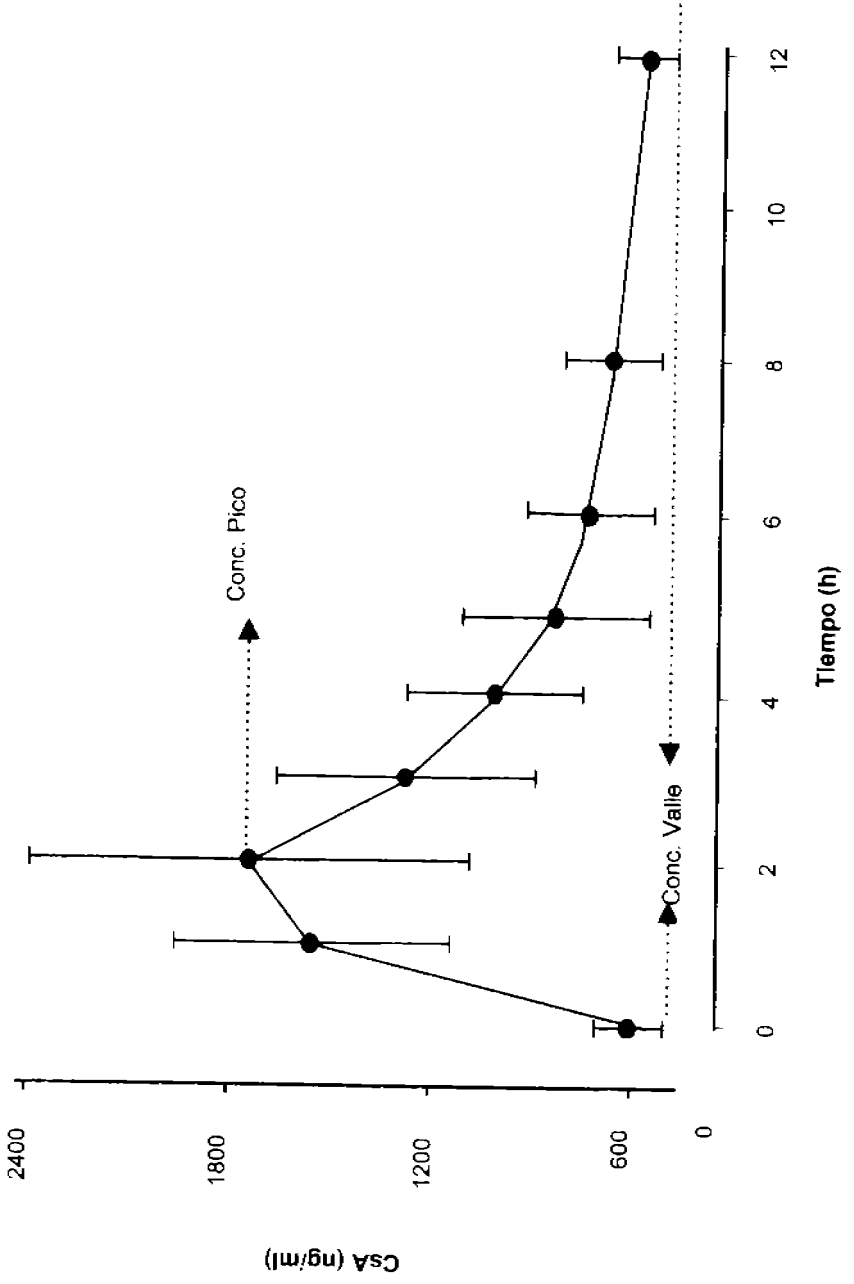
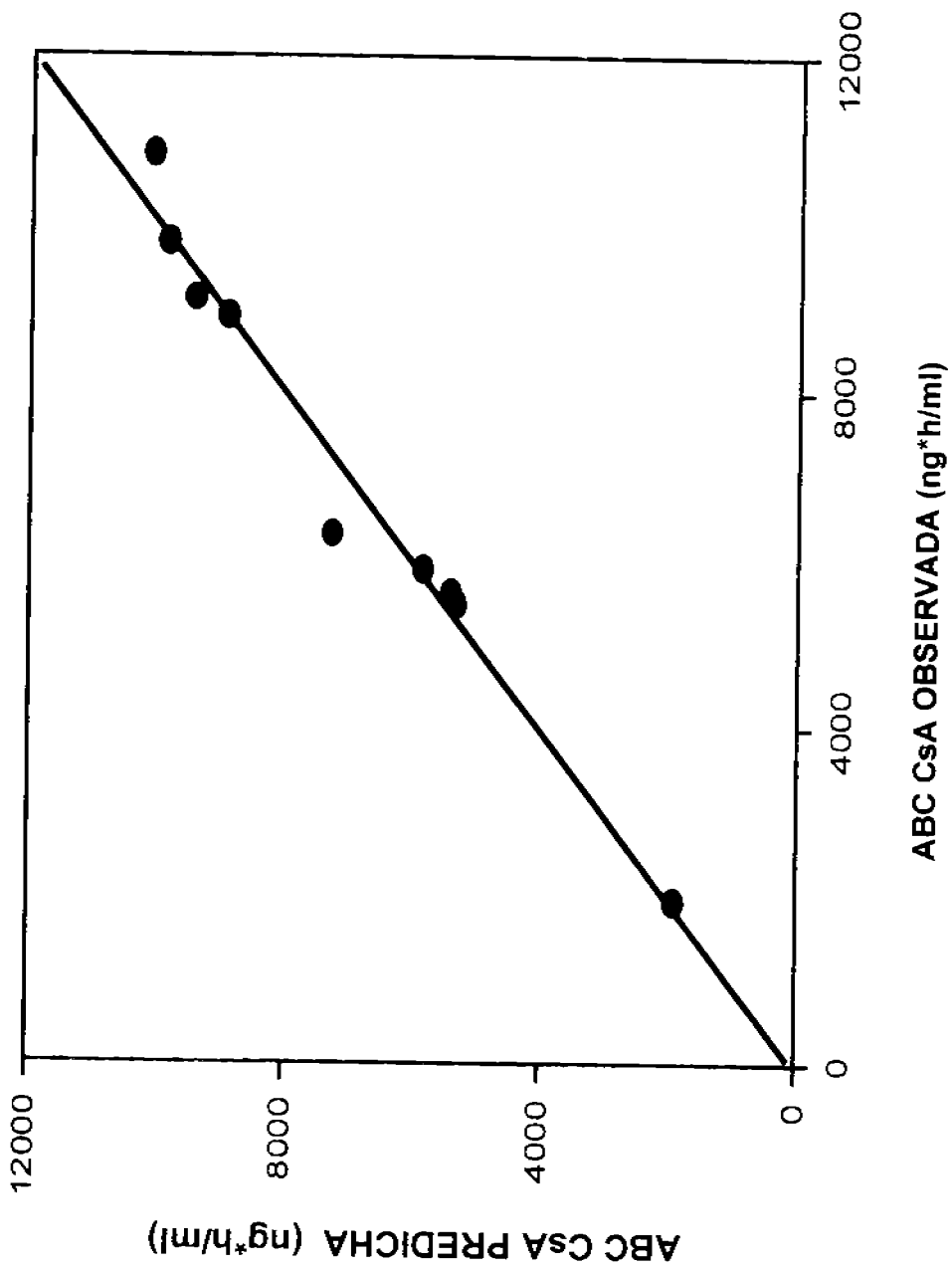


FIGURA 3



HOJA DE VACIAMIENTO DE DATOS

Nombre del Paciente: _____

Registro: _____ Fecha de TR _____

Creatinina _____

Medicamentos que recibe actualmente:

Dosis (mg/día)

(mg/kg/día)

Ciclosporina

Azatioprina

Prednisona

Fecha de estudio farmacocinético: _____

Peso: _____ Talla: _____

Toma de muestra (horas)	Niveles de CsA
0	
1	
2	
3	
4	
5	
6	
8	
12	

BIBLIOGRAFIA

1. Borel JF, Feurer C, Gubler HU, Stabelin H. Biological effects of cyclosporin A: new antilymphocytic agent. *Agents and Actions* 1976, 6: 468-475.
2. Fahr A. Cyclosporin Clinical Pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1993, 24 (6): 472-495.
3. Noble S, Markham A. Cyclosporin. *Drugs* 1995, 50(5): 924-941.
4. Erlanger BF. Do we know the site of action of cyclosporin? *Immunol Today* 1992, 13: 487-490.
5. Schreiber SL, Crabtree GR. The mechanism of action of cyclosporin A and FK06. *Immunol Today* 1992, 13:136-142.
6. De Mattos AM, Olayei AJ, Bennet WM. Pharmacology of immunosuppressive medications used in renal diseases and transplantation. *Am J Kid Dis* 1996, 28(5): 631-667.
7. Brabeltz T, Pfeuffer I, Schorr E, Siebelt F, Wirth T, Serfling E. Transforming growth factor β and cyclosporin A inhibit the inducible activity of the interleukin-2 gene in T cells through a noncanonical octamer-binding site. *Mol Cell Biol* 1993, 13:1155-1162.
8. Khanna A, Li B, Sehajpal, Sharma VK, Suthanthiran M. Mechanism of action of cyclosporine: a new hypothesis implicating transforming growth factor- β . *Transplant Rev* 1995, 9:41-48.
9. Mahalatti K, Belitsky P, Sketris I, West K, Panec R. Neoral Monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve. *Trasplantation* 1999, 68 : 55-62.
10. Drewe J, Beglinger C, Kissel T. The absorption site of cyclosporin in the human gastrointestinal tract. *Br J Clin Pharmacol* 1992, 33: 39-43.
11. 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 in uremic children before renal transplantation. *Pediatr Transplantation* 1998, 2:145-149.
12. Cooney GF, Habucky K, Hoppu K. Cyclosporin Pharmacokinetics in pediatric transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 1997, 32(6): 481-495.
13. Noble S, Markham A. Cyclosporin. A review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion based formulation (Neoral®). *Drugs* 1995, 50 (5): 924-941.
14. De Groen PC. Cyclosporin, low density lipoprotein and cholesterol. *Mayo Clin Proc* 1988, 63: 1012-1021
15. Sgoutas D, MacMahon W, Love A et al. Interaction of cyclosporin A with human lipoproteins. *J Pharm Pharmacol* 1986, 38: 583-588.
16. Yee GC, Lennon TP, Ginver DJ, Kennedy HS Deeg HJ. Age-dependant cyclosporine pharmacokinetics in bone marrow transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther* 1986, 40: 438-443.
17. Fahr A. Cyclosporin clinical pharmacokinetics. *Clin Pharmacokinet* 1993; 24(6): 630-635
18. Oellerich M, Armstrong VW, Kahan B, Shaw L, Holt DW, Yatscoff R, Lindholm A, Halloran P, Gallicano K, Wonnigeit 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* 1995, 17: 642-654.

19. Copeland KR, Thliveris JA, Yatscoff RW. Toxicity of cyclosporin metabolites. *Ther Drug Monit* 1990; 12:525-532.
20. Christians U, Sewing KF. Cyclosporin metabolism in transplant patients. *Pharmacol Ther* 1993, 57: 291-345.
21. Bailey DG, Arnold DM, Spence JD. Grapefruit juice and drugs: how significant its interaction? *Clin Pharmacokinet* 1994, 26: 91-98
22. Campana C, Regazzi MB, Buggia I, Molinaro M. Clinically significant drug interactions with cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 1996, 30(2): 141-179.
23. Robieux I, Dorian P, Klein J. The effects of cardiac transplantation and cyclosporine therapy in digoxine pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol* 1992, 32: 338-343.
24. Masson J. Renal side effects of cyclosporine. *Transplant Proc* 1990, 22: 1250-1283.
25. Young EW, Ellis CN, Messana JM. A prospective study of renal structure and function in psoriasis patients treated with cyclosporine. *Kidney Int* 1994, 46: 1216-1222.
26. Bennet WM. The nephrotoxicity of immunoppressive drugs. *Clin Nephrol* 1995,43 (Suppl 1) : S3-S7.
27. Benigni A, Morigi M, Perico N, Zoja C, Amuchastegui CS, Piccinelli A, Donadelli R, Renuzzi G. The acute effect of FK506 and cyclosporine on endothelial cell function and renal vascular resistance. *Transplantation* 1992, 54: 775-780
28. Superko HR, Haskell WL, Di-Ricco CD. Lipoprotein and hepatic lipase activity and high density lipoprotein subclasses after cardiac transplantation. *Am J Cardiol* 1990, 66: 1131-1134.
29. Harris KPG, Russell GI, Parvin SD. Alterations in lipid and carbohydrate metabolism attributable to cyclosporin A in renal transplant recipients. *BMJ* 1986, 292:16.
30. Kuster GM, Drexel H, Bleisch JA, Rentsch K, Pei P, Binswanger U, Amann FW. Relation of cyclosporine blood levels to adverse effects on lipoproteins. *Transplantation* 1994, 57: 1479-1483.
31. Faulds D, Goa KL, Benfield P. Cyclosporine: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 1993, 45: 953-1040.
32. Lindholm A, Säwe J. Pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of immunosuppressants. *Ther Drug Monit* 1995, 17(6):570-573.
33. Tsunoda S, Aweeka F. The use of therapeutic drug monitoring to optimise immunosuppressive therapy. *Clin Pharmacokinet* 1996, 30(2): 107-140.
34. Morris RG. Target concentration strategy for cyclosporine monitoring. *Clin Pharmacokinet* 1997, 32(3): 175-179.
35. Kahan BD, Shaw LM, Holt D, Grevel J, Johnston A. Consensus document: Hawk's Cay meeting on therapeutic drug monitoring of cyclosporine. *Clin Chem* 1990, 36: 1510-1516.
36. Potter JM, Self H. Cyclosporin A: Variation in whole blood levels related to in vitro anticoagulant usage. *Ther Drug Monit* 1986, 8: 122-125.
37. Shaw LM, Annesley TM, Kaplan B, Brayman K. Analytic requirements for immunosuppressive drugs in clinical trials. *Ther Drug Monit* 1995, 17: 577-583.
38. Ohlman S, Lindholm A, Hagglund H, Säwe J, Kahan BD. On the intraindividual variability and chronobiology of cyclosporine pharmacokinetics in renal transplantation. *Eur J Clin Pharmacol* 1993, 44: 265-269.
39. Lindholm A. Cyclosporine A: Clinical Experience and therapeutic drug monitoring. *Ther Drug Monit* 1995, 17: 631-637.

40. Grevel J, Welsh M, Kahan B. Cyclosporine monitoring in renal transplantation: area under the curve monitoring is superior to trough-level monitoring. *Ther Drug Monit* 1989; 11: 246-248.
41. 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.
42. Grevel J, Kahan B. Abbreviated kinetic profiles in area-under-the-curve monitoring of cyclosporine therapy. *Clin Chem* 1991; 37: 1905-1908.
43. 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.
44. 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 patients. *Ther Drug Monit* 1997; 19: 413-419.
45. Medeiros M, Pérez-Urizar J, Muñoz R, Castañeda-Hernández G. Limited sampling model for area-under-the-curve monitoring in pediatric patients receiving either Sandimmun or Neoral oral cyclosporin A formulations. *Pediatr Transplantation*. 1999, 3: 225-230.
46. Sheiner L, Beal S. Some suggestions for measuring predictive performance. *J Pharmacokinet Biopharm* 1981; 9: 503-512.