



UBA BICENTENARIO
18102010
DE LA REVOLUCIÓN DE MAYO



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA

Tesis presentada para optar por el título de Doctora de la Universidad de Buenos Aires

“VIGILANCIA INTENSIVA DE INHIBIDORES
CALCINEURÍNICOS EN TRASPLANTE RENAL Y
HEPÁTICO PEDIÁTRICO”

Natalia Riva

Año 2017

Directora: Dra. Paula Schaiquevich

Co-Directora: Farm. Marcela Rousseau

Consejero de Estudios de Tesis: Dr. Christian Höcht

Sub-área de Investigación: Ciencias Farmacéuticas.

Lugar de realización: Unidad de Farmacocinética Clínica, Hospital de Pediatría SAMIC J.P. Garrahan, Buenos Aires, Argentina

.....
Farm. Natalia Riva

.....
Farm. Marcela Rousseau
Co-Directora

.....
Dra. Paula Schaiquevich
Directora

.....
Dr. Christian Höcht
Consejero de Estudios de Tesis

AGRADECIMIENTOS

Al Hospital de Pediatría JP Garrahan y al Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante (INCUCAI), al Hospital de enfermedades infecciosas FJ Muñiz,

A Paula Schaiquevich, mi directora y Paulo Cáceres Guido por ser mis referentes en el trabajo, por su paciencia, generosidad, creatividad y apoyo. A toda hora.

A Marcela Rousseau y Christian Höcht, por su mirada e incentivo,

Oscar Imventarza y Marcelo Dip, del Servicio de Trasplante Hepático por su generosidad al abrirme las puertas para trabajar. A todos los coautores, por confiar en el trabajo en equipo.

Liliana y Raúl, a mi hermano Ramiro, por acompañarme, alegrarse conmigo, y bancarse mis miedos y enojos. A Agus Guido y mis amigas de nuestra familia Picadilly. A toda hora.

A Nacho, por ayudarme a superar miedos, por su mirada distinta, pensada, reflexiva, por expandir mis límites. Por tu rol fundamental este tiempo.

Mis compañeros de ruta en la Unidad de Farmacocinética Clínica: Emi mi amigo, Ursula, Paula y Santi.

“Quizá la masa ignore sus nombres y no sepa que ustedes existen. Pero serán conocidos, estimados, seguidos por un reducido número de hombres eminentes, repartidos por toda la superficie del globo, sus émulos, sus pares en el senado universal de la inteligencia, los únicos con derecho a apreciarles y a asignarles a ustedes un rango, un rango merecido, del que ni la influencia de un ministro, ni la voluntad de un príncipe, ni el capricho popular podrán hacerles bajar, como tampoco habrán podido elevarlos hasta él, y en el que permanecerán mientras sean fieles a la ciencia que se lo otorga”.

“Peste y Cólera”, Patrick Deville, 2012.

PUBLICACIONES

Los resultados obtenidos en el marco de la presente tesis doctoral se encuentran parcialmente publicados en los siguientes artículos:

- Pharmacovigilance of calcineurin inhibitor in pediatric kidney and liver transplantation. **Riva N**, Cáceres Guido P, Rousseau M, Dip M, Monteverde M, Inventarza O, Mato G, Schaiquevich P. Farm Hosp. 2013 Nov-Dec;37(6):441-9
- Therapeutic monitoring of pediatric renal transplant patients with conversion to generic cyclosporin. **Riva N**, Cáceres Guido P, Ibañez J, Licciardone N, Rousseau M, Mato G, Monteverde M, Schaiquevich P. Int J Clin Pharm. 2014 Aug;36(4):779-86.
- Dosing algorithms for initiation of immunosuppressive drugs in solid organ transplant recipients. Andrews LM, **Riva N**, de Winter BC, Hesselink DA, de Wildt SN, Cransberg K, van Gelder T. Expert Opin Drug MetabToxicol. 2015 Jun;11(6):921-936.
- Monitoreo terapéutico de inmunosupresores para trasplantes, laboratorios bioanalíticos y regulación: situación y perspectiva en Argentina. Schaiquevich P, Taich P, **Riva N**, Mato G y Cáceres Guido P. Rev Panam Salud Pública. 2016 Mar;39(3):142-148.
- Monitoreo terapéutico de tacrolimus en pacientes pediátricos trasplantados sujetos a conversión de marcas comerciales. **Riva N**, Cáceres Guido P, Licciardone N, Inventarza O, Monteverde M, Staciuk R, Charroqui A, Schaiquevich P. Revista de Farmacia Hospitalaria de la Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria, Volumen 41 Número 2, 2017

- Adequate exposure to tacrolimus with sublingual administration in pediatric liver transplant patients. **Riva, N.**; Galvan, M. E.; Caceres Guido, P.; Dip, M.; Licciardone, N.; Inventarza, O.; Schaiquevich, P.; Buamscha.D.Int J Clin Pharmacol Ther.2017 Jan 12.doi: 10.5414/CP202719. [Epub ahead of print]
- Pharmacoepidemiology of Tacrolimus in Pediatric Liver Transplantation. Pediatric Transplantation. (PEDTRANS-16-O-0284, aceptado).

RESUMEN

Los fármacos inhibidores calcineurínicos, ciclosporina y tacrolimus, son el pilar de los esquemas inmunosupresores para evitar el rechazo del injerto en pacientes pediátricos trasplantados. Se realiza su monitoreo terapéutico de rutina debido a ser fármacos de estrecho margen terapéutico, alta variabilidad farmacocinética inter e intra-individual, presentar interacciones farmacológicas y eventos adversos así como existir una demostrada relación entre las concentraciones sanguíneas y la evolución clínica. Dada la vulnerabilidad de la población pediátrica y la escasez de datos respecto al uso de inhibidores calcineurínicos, se plantea la presente tesis con el objetivo de estudiar y caracterizar su seguridad y eficacia en la población pediátrica trasplantada renal y hepática, y específicamente en ciertas situaciones de uso de vías de administración alternativas y de sustitución de marcas comerciales.

Se desarrolló un sistema de farmacovigilancia intensiva de inhibidores calcineurínicos en pacientes pediátricos trasplantados en el HPJPG entre 2010 y 2012 para registrar los eventos adversos a ciclosporina en una población trasplantada renal y los eventos adversos a tacrolimus en una población trasplantada hepática, en la cual se registraron asimismo los episodios de rechazo agudo. Además se estudió la seguridad y eficacia de la administración sublingual de tacrolimus en una sub-población de pacientes trasplantados hepáticos por atresia de vías biliares (AVB) con incapacidad para deglutir las capsulas debido a su corta edad, ventilación mecánica y/o sedoanalgesia en el post trasplante inmediato durante la internación en la unidad de terapia intensiva. Adicionalmente, en la población trasplantada hepática tratada con tacrolimus se construyeron modelos de regresión logística binaria y de Cox para estudiar las variables que afectan significativamente el desarrollo de eventos adversos y de rechazo agudo, cuantificando su nivel de asociación. Se registraron variables peri-trasplante incluyendo las genéticas,

farmacológicas, farmacocinéticas, bioquímicas y demográficas. Por último, en pacientes trasplantados renales y hepáticos en etapa de mantenimiento, se evaluó la exposición sanguínea, dosis, seguridad y eficacia durante la interconversión entre marcas comerciales (medicamento innovador *versus* medicamento similar) de tacrolimus y ciclosporina.

Se evaluaron 25 pacientes trasplantados renales tratados con ciclosporina y se describieron 39 eventos adversos. La incidencia (número de casos/pacientes expuestos) de hipertensión (56%), hipertrofia gingival (32%), hirsutismo (28%) y de nefrotoxicidad (20%) es comparable a lo reportado por otros autores en poblaciones pediátricas. Además, se estudiaron 72 pacientes trasplantados hepáticos que desarrollaron 69 eventos adversos a tacrolimus. La incidencia de hipomagnesemia (48,6%), hipertensión (5,6%), nefrotoxicidad (22,2%) y enfermedad linfoproliferativa post trasplante (5,6%) guarda relación con lo descrito en la literatura para poblaciones pediátricas similares. El desarrollo e implementación del presente programa de farmacovigilancia intensiva permitió incrementar notablemente el número de reportes de eventos adversos a inhibidores calcineurínicos en el Hospital JP Garrahan, efector periférico del Sistema Nacional de Farmacovigilancia de ANMAT.

En cuanto al estudio de tacrolimus luego de la administración por vía sublingual en 22 pacientes trasplantados hepáticos con AVB, la exposición temprana fue comparable a la reportada luego de la administración oral del fármaco en una población pediátrica de referencia, siendo la concentración sanguínea alcanzada (mediana, rango) de 6,4 ng/ml (2,0-23,2). La incidencia de eventos adversos, las interacciones farmacológicas y la tasa de rechazo agudo se corresponden con las descriptas para la administración por vía oral.

En cuanto a la población trasplantada hepática, se evaluaron las variables que predicen el desarrollo de eventos adversos mediante modelos de regresión logística y de Cox. La expresión

del CYP3A5 del receptor y la concentración sanguínea media de tacrolimus en los 10 días previos al evento (C01), resultaron factores de riesgo para el desarrollo de toxicidad. En conclusión, para el desarrollo de un evento adverso a tacrolimus, sea hipomagnesemia o nefrotoxicidad, una concentración media de tacrolimus mayor a 6,5 ng/ml al menos 10 días previos, predice el desarrollo de estos eventos. Asimismo, los modelos de regresión para estudiar la probabilidad de rechazo agudo en función de variables predictoras incluyen el uso de esteroides como variable de protección frente a rechazo y a la variabilidad en las C0 como factor de riesgo para su desarrollo.

La introducción de medicamentos similares de inhibidores calcineurínicos resulta controvertida y es objeto de debate en el mundo. Mediante el monitoreo intensivo realizado en los pacientes expuestos a la sustitución con medicamentos similares de inhibidores calcineurínicos se observó una exposición adecuada y comparable, antes y después de la conversión. Además, no se observaron diferencias significativas en la incidencia de eventos adversos y dosis con ambos medicamentos innovador y similar. No se observaron rechazos agudos, pérdida de injerto u óbitos durante el seguimiento.

Los resultados obtenidos surgen de la implementación de un programa de farmacovigilancia intensiva que permitió describir el perfil de seguridad y eficacia de inhibidores calcineurínicos en una gran cohorte de pacientes pediátricos con trasplante renal y hepático. Hasta el momento, la presente tesis representa el reporte con mayor número de pacientes pediátricos con trasplante de órgano sólido evaluados en Argentina y en Latinoamérica. Se registró la incidencia de eventos adversos, se describió la administración sublingual y se identificaron variables que pueden ser importantes para predecir el rechazo y la aparición de los eventos adversos más frecuentes y graves a tacrolimus. La vigilancia intensiva de inhibidores calcineurínicos es útil en casos de

sustitución de marcas comerciales para asegurar la exposición sistémica del fármaco. La presente tesis permitiría diseñar programas efectivos para el manejo del tratamiento inmunosupresor con tacrolimus y ciclosporina, y contribuir a mejorar los esquemas terapéuticos de los pacientes trasplantados pediátricos.

ABREVIATURAS

ABC: Área bajo la curva de concentración del fármaco en función del tiempo.

ALT: alanina transaminasa.

ANMAT: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica.

AST: aspartato transaminasa.

C0: concentración previa a la administración del medicamento o bien denominada, concentración del fármaco alcanzada en el valle.

C01: concentración sanguínea mediana de tacrolimus 10 días antes del rechazo agudo.

C02: concentración sanguínea mediana de tacrolimus 10 días antes del periodo de cálculo de C01.

|C01 - C02|: diferencia absoluta entra C01 y C02.

C2: concentración alcanzada 2 horas posterior a la administración del medicamento.

C_{máx}: concentración máxima.

CMS: Citomegalovirus

CPH: Células Progenitoras Hematopoyéticas.

CsA: ciclosporina.

CYP3A5: citocromo P450 3A5.

CYP-R: polimorfismo del citocromo P450 3A5 del receptor del trasplante.

CYP-D: polimorfismo del citocromo P450 3A5 del donante del injerto.

CV%: coeficiente de variación porcentual de los C0 obtenidos en el periodo de cálculo de C01.

DCI: Denominación común internacional.

EA: evento adverso.

EBV: Virus de Epstein Barr.

EMA: European Medicines Agency.

FAL: fosfatasa alcalina.

FGe: Filtrado glomerular estimado.

FK: tacrolimus.

FDA: Food and Drug Administration.

GGT: Gamma-glutamyl transpeptidasa.

IC: intervalo de confianza.

ICN: inhibidores calcineurínicos.

IS: inmunosupresores concomitantes.

ID: número de identificación del paciente.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

OPS: Organización Panamericana de la Salud.

PK: Farmacocinética.

PTLD: Enfermedad linfoproliferativa post trasplante (del inglés, *Post transplant lymphoproliferative disease*).

RA: rechazo agudo.

RAM: reacción adversa a medicamentos.

TDM: monitoreo terapéutico de fármacos.

Tortcateg: tortuosidad categorizada siendo la mediana de la tortuosidad el punto de corte 1,10.

INDICE

Indice.....	XII
Tablas.....	XIV
Figuras.....	XVI
Capítulo 1 Introducción al trasplante renal y hepático pediátrico	- 1 -
1.1 Generalidades	- 1 -
1.1 a) Trasplante hepático.....	- 3 -
1.1 b) Trasplante renal	- 6 -
1.2 Rechazo celular agudo en trasplante renal y hepático.....	- 8 -
1.2 a) Rechazo hepático.....	- 9 -
1.2 b) Rechazo agudo renal	- 11 -
1.3 Fármacos inmunosupresores utilizados en el trasplante de órgano sólido: clasificación farmacológica y mecanismos de acción	- 12 -
Protocolos de inmunosupresión en HPJPG	- 17 -
1.4 Farmacovigilancia	- 21 -
Eventos adversos a inhibidores calcineurínicos:	- 30 -
1.5 Farmacocinética de ICN y Monitoreo terapeutico	- 36 -
Intercambio de medicamentos inmunosupresores similares	- 45 -
1.6 Hipótesis general	- 50 -
1.7 Objetivo general	- 50 -
Capitulo 2 Seguridad y eficacia del tratamiento con inhibidores calcineurínicos en trasplante renal y hepático pediátrico	- 51 -
2.1 Introducción	- 51 -
2.2 Hipótesis y Objetivos	- 54 -
2.3 Materiales y métodos	- 55 -
2.4 Resultados	- 62 -

2.5 Discusión.....	- 81 -
Capitulo 3 Analisis multivariado para identificar variables predictoras del rechazo celular agudo y eventos adversos secundarios a tacrolimus en el trasplante hepatico	- 88 -
3.1 Introducción	- 88 -
3.2 Hipótesis y Objetivos	- 91 -
3.3 Métodos.....	- 92 -
3.4 Resultados	- 106 -
3.5 Discusión.....	- 139 -
Capitulo 4 Farmacocinética, seguridad y eficacia del intercambio de medicamentos similares	- 148 -
4.1 Introducción.....	- 148 -
4.2 Hipótesis y Objetivo	- 150 -
4.3 Métodos	- 151 -
4.4 Resultados.....	- 161 -
4.5 Discusión	- 174 -
Discusion final	- 184 -
Glosario.....	- 189 -
Bibliografía	- 194 -

TABLAS

Tabla 1. Clasificación según severidad del rechazo agudo hepático.	- 10 -
Tabla 2. Características de la población trasplantada renal	- 64 -
Tabla 3. Eventos adversos a ciclosporina en pacientes pediátricos con trasplante renal.....	- 65 -
Tabla 4. Características de la población trasplantada hepática	- 69 -
Tabla 5. Eventos adversos a tacrolimus en pacientes pediátricos con trasplante hepático.	- 70 -
Tabla 6. exposición sistémica a tacrolimus y variabilidad en función del periodo post trasplante.-	73 -
Tabla 7. Características demográficas y bioquímicas de pacientes con trasplante hepático luego de la administración sublingual de tacrolimus.....	- 76 -
Tabla 8. Exposición a tacrolimus sublingual	- 77 -
Tabla 9. Complicaciones quirúrgicas severas e infecciosas en la población tratada con tacrolimus por vía sublingual.....	- 80 -
Tabla 10. Distribución de los eventos de interés (n=72)	- 107 -
Tabla 11. Análisis univariado de las variables asociadas al rechazo agudo	- 110 -
Tabla 12. Análisis univariado de Cox de factores de riesgo para rechazo agudo.....	- 113 -
Tabla 13. Modelo multivariado final obtenido por regresión de Cox de identificación de factores asociados al riesgo de rechazo agudo	- 115 -
Tabla 14. Resumen de variables predictoras de rechazo agudo según dos modelos de regresión logística binaria y de Cox.	- 115 -
Tabla 15. Análisis univariado por regresión logística binaria de asociación entre eventos adversos y variables explicativas	- 117 -
Tabla 16. Análisis univariado de Cox de los factores de riesgo para presentar eventos adversos .-	119 -
Tabla 17. Análisis multivariado por regresión de Cox para factores de riesgo de eventos adversos.....	- 121 -
Tabla 18. Resumen de variables predictoras de eventos adversos según dos modelos de regresión logística y de Cox.....	- 121 -

Tabla 19. Análisis univariado de hipomagnesemia por regresión logística binaria.....	- 123 -
Tabla 20. Análisis univariado de Cox de los factores de riesgo de hipomagnesemia	- 127 -
Tabla 21. construcción de modelos por regresión de Cox para factores de riesgo de hipomagnesemia.	- 128 -
Tabla 22. Resumen de variables predictoras de hipomagnesemia según dos modelos de regresion logistica binaria y de Cox	- 130 -
Tabla 23. Análisis univariado de nefrotoxicidad por regresión logística binaria	- 132 -
Tabla 24. Análisis univariado de Cox de los factores de riesgo para presentar nefrotoxicidad	- 134 -
Tabla 25. Variables significativas para cada evento clínico analizado según regresion logistica y modelos de cox.	- 137 -
Tabla 26. Criterios de inclusión y exclusión.....	- 152 -
Tabla 27. Criterios de inclusión y exclusión.....	- 156 -
Tabla 28. Características demográficas de la población incluida	- 163 -
Tabla 29. Concentraciones sanguíneas de tacrolimus normalizadas por la dosis luego de la administración del medicamento innovador y similar.	- 165 -
Tabla 30. Características de los pacientes y datos demográficos al inicio del tratamiento) ..	- 169 -
Tabla 31. Parámetros farmacocinéticos individuales de ciclosporina del medicamento innovador y el similar.....	- 170 -
Tabla 32. Parámetros farmacocinéticos de ciclosporina en pacientes pediátricos con trasplante renal con interconversion entre marcas comerciales	- 171 -

FIGURAS

Figura 1. Distribución de frecuencias de eventos adversos a ciclosporina en la población pediátrica trasplantada renal.	- 66 -
Figura 2. Exposición a ciclosporina previo y durante la hipertensión y nefrotoxicidad	- 67 -
Figura 3. Distribución de frecuencias de eventos adversos a tacrolimus en la población pediátrica trasplantada hepática	- 71 -
Figura 4. Concentraciones sanguíneas de tacrolimus en pacientes que desarrollan o no eventos adversos.....	- 74 -
Figura 5. Exposición a tacrolimus previo y durante la nefrotoxicidad e hipomagnesemia.	- 75 -
Figura 6. Exposición a tacrolimus en presencia de interacciones farmacológicas y administración sublingual de tacrolimus.	- 79 -
Figura 7. Sobrevida libre de rechazo agudo y crónico	- 108 -
Figura 8. Sobrevida global del paciente.....	- 109 -
Figura 9. Curva ROC para el modelo que relaciona el rechazo agudo y la diferencia absoluta entre los valores de C01 y C02 como variable predictora.	- 111 -
Figura 10. Curva ROC para estimación de eventos adversos considerando la variable predictora el C01	- 118 -
Figura 11. Dosis de tacrolimus en pacientes que reciben o libres de inmunosupresión concomitante.	- 125 -
Figura 12. Dosis diaria de tacrolimus normalizada por peso corporal (A) y concentraciones sanguíneas de tacrolimus normalizadas por la dosis (B) en pacientes expresores y no expresores de CYP3A5	- 126 -
Figura 13. Curva ROC para predicción de hipomagnesemia con variable predictora C01...-	- 129 -
Figura 14. Curva ROC para estimación de nefrotoxicidad con variable predictora C02	- 133 -
Figura 15. Curva ROC para la variable C01 como predictora de nefrotoxicidad	- 136 -
Figura 16. Pacientes analizados y excluidos.....	- 161 -
Figura 17. cociente de las Concentraciones sanguíneas individuales normalizadas por la dosis entre el medicamento innovador y el similar.	- 166 -

Figura 18. Evaluación de los parámetros de laboratorio individuales previa y posterior al intercambio entre marcas comerciales de tacrolimus. - 167 -

Figura 19. Evolución de los valores de creatinina sérica previo y posterior a la sustitución del medicamento similar de ciclosporina..... - 173 -

CAPÍTULO 1 INTRODUCCIÓN AL TRASPLANTE RENAL Y HEPÁTICO PEDIÁTRICO

1.1 GENERALIDADES

El trasplante de órgano sólido consiste en el reemplazo de un órgano vital enfermo sin posibilidad de recuperación por otro sano. Es un tratamiento médico indicado cuando toda otra alternativa para recuperar la salud del paciente se ha agotado y sólo es posible gracias a la voluntad de las personas que dan su consentimiento para la donación.

El Instituto Nacional Central Único Coordinador de Ablación e Implante (INCUCAI) impulsa, regula, fiscaliza y coordina las actividades de donación y trasplante de órganos, tejidos y células en Argentina. Actúa en las provincias argentinas junto a 24 organismos jurisdiccionales de ablación e implante y ofrece a la población un acceso transparente y equitativo al trasplante.

Entre sus funciones relacionadas al trasplante, según Ley 24.193 de Trasplante de Órganos y Tejidos y actualización según Ley 26.066, podemos destacar(1):

- a) Dictar, con el asesoramiento del Consejo Federal de Salud (COFESA), las normas para la habilitación de establecimientos, autorización de profesionales de trasplante y coordinación de las inspecciones. Asistir a los organismos provinciales y municipales responsables del poder de policía sanitaria.
- b) Colaborar en la ejecución de leyes afines a la temática. Realizar actividades de capacitación y perfeccionamiento de los recursos humanos vinculados con el trasplante así como promover la investigación científica.

- c) Intervenir en la autorización de investigaciones que se realicen con recursos propios incluyendo las investigaciones farmacológicas tendientes a la experimentación y obtención de drogas inmunosupresoras.
- d) Coordinar la distribución, recepción y envío de órganos a nivel nacional e internacional, y actualizar la lista de espera de potenciales receptores de órganos y tejidos en el orden nacional. Luego, efectuar las actividades inherentes al seguimiento de los pacientes trasplantados.
- e) Asistir técnica y financieramente a los tratamientos trasplantológicos que se realicen en establecimientos públicos nacionales, provinciales o municipales. Asimismo, promover y asistir directamente la creación y desarrollo de centros regionales y/o provinciales de ablación y/o implantes de órganos.
- f) Asesorar al Poder Ejecutivo en todo lo concerniente a las campañas de difusión masiva y concientización de la población respecto de la problemática de los trasplantes.

Entre los años 1988 y 2008, en el Hospital de Pediatría J.P. Garrahan (HPJPG) se realizaron 575 trasplantes renales y entre los años 1992 y 2009 fueron realizados 469 trasplantes hepáticos. Sólo en el año 2015 en Argentina se realizaron 1750 trasplantes, de los cuales 204 trasplantes fueron pediátricos y de esos, 122 trasplantes se realizaron en el HPJPG como se detalla a continuación: 45 fueron hematopoyéticos, 40 hepáticos, 32 renales, 4 cardíacos y 1 pulmonar (2). Es decir, el HPJPG es centro de referencia en trasplante, ya que aproximadamente el 50% de pacientes pediátricos del país son trasplantados en dicho hospital. Es por ello, que la realización de la presente tesis doctoral tiene mayor relevancia por haber sido desarrollada en dicho centro

pediátrico, y dado los resultados obtenidos a nivel nacional y regional, con traslación directa y alto impacto en el sistema de salud.

De los trasplantes realizados en el HPJPG, se estudió con particular atención aquellos pacientes con trasplante renal o hepático en los distintos aspectos farmacológicos como se detalla en las secciones subsiguientes.

1.1 A) TRASPLANTE HEPÁTICO

El primer trasplante hepático pediátrico fue realizado en la Universidad de Denver en 1963 en un paciente portador de una atresia de vías biliares(3). Durante casi dos décadas este procedimiento fue realizado en forma esporádica en varios centros de Estados Unidos y Europa alcanzando una sobrevida anual de 30% (4). A comienzo de los años ochenta la introducción de la ciclosporina como agente inmunosupresor asociado a fármacos esteroides permitió mejorar los resultados de este tipo de trasplantes con una sobrevida de casi el 70% al año(5, 6).

En la Argentina el primer trasplante hepático fue realizado en el Hospital Italiano de Buenos Aires en 1987 (7). El HPJPG comenzó la organización de un programa de trasplante hepático en 1991 y un año más tarde, en Noviembre de 1992, se realizó el primer trasplante hepático en un paciente portador de una hepatitis autoinmune(8, 9).

Actualmente, las principales causas de trasplante hepático en la población pediátrica incluyen: la atresia de vías biliares (AVB, 34,5%), falla hepática aguda (FHA, 29,6%), cirrosis autoinmune (9,8%), enfermedades metabólicas (4,3%), cirrosis criptogénicas (2,6%), colangitis esclerosantes

(2,6%), síndrome de Alagille (2,3%), tumores (2,3%), colestasis intrahepática familiar progresiva (2,1%) y otras misceláneas (9,9%)(10).

Desde el inicio del programa hasta la actualidad el programa de trasplante hepático del HPJPG fue acompañando los avances trasplantológicos y farmacológicos tanto en la aplicación de distintas estrategias inmunosupresoras como en la utilización de nuevas técnicas para contrarrestar la escasez de órganos para procuración.

Por este motivo, dada la escasez de donantes cadavéricos especialmente con pacientes pediátricos, la utilización de hígados enteros es infrecuente. Para evitar esta situación, se describieron tres procedimientos: la reducción hepática, la técnica de bipartición hepática (split), y el donante vivo relacionado (11-13). La reducción hepática es la técnica más usada en pediatría, y se utiliza el segmento lateral izquierdo preferentemente así como el derecho también puede utilizarse. En los últimos 5 años la mayoría de los centros clínicos acreditados por el Instituto Nacional han mostrado un interés significativo en aumentar el uso de esta técnica(14). El equipo de trasplante tiene la obligación de indicar la intención de utilizar un hígado reducido, usualmente un segmento lateral izquierdo, con la consecuente posibilidad de asignación del lóbulo extendido derecho. Si éste es el caso, se ofrece el lóbulo derecho a los destinatarios de la lista de espera nacional, y si se acepta, se realiza el procedimiento con un hígado dividido o “split”.

A pesar de los avances quirúrgicos, ocurren complicaciones post trasplante, siendo las más frecuentes: fístula biliar, estenosis biliar, trombosis o estenosis de la arteria hepática o de la vena porta, trombosis o estenosis de las venas suprahepáticas, perforación intestinal, oclusión intestinal mecánica, rechazo celular agudo, rechazo crónico y falla primaria del hígado. Una definición de cada situación se detalla en el **glosario** de esta tesis.

Dentro de las complicaciones que pueden ocurrir durante el post trasplante hepático, la falla primaria del órgano es de extrema gravedad y requiere de un retrasplante para su solución. Aunque no están claramente establecidas las causas de la falla primaria, el mantenimiento del donante parece tener un rol importante en esta entidad. Factores como la hipoxia, anemia o hipotensión, no siempre son datos bien recabados en un donante de órganos, sumado a otros factores como el infiltrado graso severo (mayor del 40-50%). Estos factores deben hacer sospechar la posibilidad de una falla del órgano(15, 16). Los problemas vasculares son otras complicaciones serias del trasplante y son la principal causa temprana de pérdida del órgano. Cabe destacar que dichas complicaciones ocurren con más frecuencia en los pacientes pediátricos que en los adultos. Las formas de presentación de la trombosis de la arteria hepática son: 1) falla hepática aguda, 2) lesión biliar habitualmente con la presencia de una fístula y 3) sepsis. Las complicaciones arteriales son la causa más frecuente de re trasplante precoz (menos de 12 meses) (17, 18). El tiempo de isquemia en frío (CIT) mayor de 10 horas y el uso de donantes de alto riesgo (edad \geq 40 años o índice de masa corporal \geq 30 kg/m² o \geq 5 días de estancia en unidad de cuidados intensivos) son factores independientes para la menor sobrevida del lóbulo extendido derecho. Las complicaciones biliares son las complicaciones más frecuentes en ambos grupos de pacientes trasplantados con split izquierdo y derecho (57% en izquierdo y 33% en derecho).

Sobrevida del paciente y del injerto hepático

La sobrevida global de pacientes adultos y pediátricos trasplantados hepáticos en Argentina evaluada en base al tipo de injerto, split derecho o izquierdo, fue reportada recientemente (14).

La sobrevida global y del injerto de los pacientes con injerto de lado izquierdo fue en ambos casos de 83% en tanto que para el injerto derecho fue de 84% y 78%, respectivamente. Las tasas de re trasplante para injerto izquierdo y derecho fueron de 3,5% y 11%, respectivamente(14).

La sobrevida del paciente al año post trasplante en un estudio realizado en la población pediátrica trasplantada hepática del HPJPG fue de 84,1% entre los años 2005 y 2010 (19). Los datos internacionales de sobrevida del paciente, publicados en una población pediátrica trasplantada hepática fueron de 94% al año, 91% a cinco años y 88% a diez años(20). La mortalidad post trasplante hepático en 2 de 3 pacientes puede ser atribuida a complicaciones relacionadas con la inmunosupresión, infecciones y malignidades(21, 22). De esto se puede deducir, que la sobrevida del paciente y del injerto se ve afectada significativamente por las complicaciones secundarias a la inmunosupresión, de manera que al estudiar, controlar y reducir dichas complicaciones podría mejorar la sobrevida en la población trasplantada hepática del HPJPG.

1.1 B) TRASPLANTE RENAL

El trasplante renal es considerado el tratamiento de elección para los niños en diálisis debido a insuficiencia renal crónica terminal o IRCT, definida según el filtrado glomerular <15 ml/min/1,73m² (23-26). El trasplante renal en pediatría disminuye la sintomatología urémica y permite mejorías en el crecimiento en pre-púberes, mejorías en la madurez sexual, rendimiento cognitivo, funcionamiento psicosocial y calidad de vida con respecto a la diálisis.

El análisis de la etiología de la insuficiencia renal crónica en Argentina demostró que las causas principales de enfermedad renal de base son las malformaciones de riñón y vía urinaria (48%), síndrome urémico hemolítico (16%), otras glomerulopatías (11%) y glomerulosclerosis focal y segmentaria (GSFS, 11%), otras causas varias (9%) y desconocidas (5%)(27).

Las complicaciones quirúrgicas post trasplante renal incluyen el retardo en la función del injerto, rechazo agudo, temprano o tardío, rechazo crónico, recidiva de enfermedad de base y pérdida de Injerto. Las definiciones se encuentran incluidas en el **glosario**.

La recuperación de la función renal posterior al trasplante en pacientes trasplantados con donante cadavérico (DC) es más lenta respecto de los pacientes que reciben un injerto de un donante vivo relacionado (DVR). El requerimiento de diálisis es de las complicaciones post trasplante más frecuente y ocurre aproximadamente en el 17% de los pacientes con donante cadavérico debido mayormente a necrosis tubular aguda (NTA). Por lo contario, sólo un 5% de los pacientes trasplantados renales con donante vivo relacionado requieren diálisis luego del trasplante secundario a NTA moderada, trombosis, recidiva de glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GSFS) y carcinoma de células en el donante. El tiempo de isquemia fría prolongada superior a 24 horas también condiciona los requerimientos dialíticos. A largo plazo los pacientes trasplantados retornan a diálisis debido a nefropatía crónica del trasplante. También es importante señalar que al menos la mitad de los pacientes se reconocen con indicios de inadecuada adherencia a la medicación (27).

Las recidivas en la primera semana posterior al trasplante ocurren en el 45% de los pacientes con GSFS presentándose con proteinuria masiva (superior a 50 mg/kg/día) y síndrome nefrótico. La trombosis, que ocurre en un 3% de los pacientes, requiere la exéresis (extirpación) del riñón

trasplantado. Otra complicación frecuente es el rechazo celular agudo, que ocurre en el 15% de los pacientes durante el primer año post-trasplante (27).

Sobrevida del paciente y del injerto

El informe reciente del servicio de trasplante renal del HPJPG describió que la sobrevida entre 1 y 10 años post trasplante para donante vivo relacionado (DVR) fue de entre 100% y 96% y la del injerto entre 95% y 76% (28). En el grupo de pacientes con donante cadavérico la sobrevida del paciente fue similar al grupo de DVR mientras que la sobrevida del injerto fue entre 95% y 61% a 10 años. El rechazo crónico representó la primera causa de pérdida del injerto (62%) mientras que la segunda causa fue el óbito del paciente con injerto funcionante. La sepsis bacteriana fue la primera causa de óbito (67%).

Los datos internacionales de sobrevida a cinco años del paciente y del injerto, publicados en una población pediátrica trasplantada renal fueron mayores entre los receptores que reciben ciclosporina-micofenolato mofetil/sódico-prednisona en comparación con ciclosporina-azatioprina-prednisona (29). La sobrevida a los 5 años para los pacientes fue de 86% y para los injertos de 74%.

1.2 RECHAZO CELULAR AGUDO EN TRASPLANTE RENAL Y HEPÁTICO

Uno de los principales problemas que presenta el trasplante es el rechazo del órgano o tejido trasplantado. Los episodios de rechazo se confirman por biopsia y se clasifican según literatura internacional. En particular, para los pacientes con trasplante hepático y renal, el rechazo se

confirma por diagnóstico histopatológico y se registra según la clasificación de Banff. Cada sociedad de trasplante establece un consenso propio para definir y clasificar el rechazo agudo o la enfermedad injerto *versus* huésped según el tipo de órgano trasplantado (30-32).

1.2 A) RECHAZO HEPÁTICO

El rechazo agudo es la inflamación del injerto motivada por las diferencias genéticas entre donante y receptor, que afecta a los conductos biliares interlobulares y el endotelio de las ramas de arteria y vena hepáticas. Cuando es clínicamente sospechado debe ser confirmado mediante la presencia de: a) inflamación portal por linfocitos activados, neutrófilos y eosinófilos; b) daño inflamatorio de conductos biliares y c) inflamación subendotelial de vénulas hepáticas o venas centrales(33). Los espacios porta se encuentran expandidos por infiltrado inflamatorio mixto y edema. La lesión de conductos biliares va desde cambios degenerativos con vacuolación citoplasmática y pérdida de la polaridad nuclear, hasta esfacelación y necrosis de las células de revestimiento epitelial. El daño al endotelio vascular se caracteriza por marginación y contacto de linfocitos y polimorfonucleares con las células endoteliales y presencia de elementos inflamatorios en el subendotelio y pared venosa.

La clasificación por severidad de la lesión se detalla en la **Tabla 1**.

TABLA 1. CLASIFICACIÓN SEGÚN SEVERIDAD DEL RECHAZO AGUDO HEPÁTICO.

Categoría	Criterios
Indeterminado	Infiltrado inflamatorio portal escaso
Leve (grado I)	Infiltrado inflamatorio mixto leve confinado a espacios porta
Moderado (grado II)	Infiltrado mixto que expande a la mayoría de los espacios porta
Grave (grado III)	El infiltrado rebasa la placa limitante y con inflamación perivenular que se extiende al lobulillo y necrosa hepatocitos

La biopsia debe tener un mínimo de 5 espacios porta evaluables.

En la población pediátrica, el rechazo agudo del injerto tardío se asocia con la pérdida del injerto mientras que el desarrollo de rechazo crónico del injerto se relaciona con el óbito del paciente.

El rechazo crónico se define como el daño inmunológico del injerto antecedido por eventos de rechazo agudo que genera daño potencialmente irreversible en conductos biliares, arterias y venas. Los criterios mínimos para establecer el diagnóstico de rechazo crónico son: a) atrofia en la mayoría de conductos biliares, con o sin disminución en su número; b) arteriopatía con acumulación de células espumosas subendoteliales y c) ausencia de conductos biliares en más del 50% de los espacios porta analizados. Los cambios morfológicos de rechazo crónico aparecen después de varios eventos de rechazo agudo o de un solo cuadro de rechazo agudo que no se resuelve favorablemente. Clínicamente se asocia con colestasis progresiva y elevación de enzimas ductales sin respuesta a los esquemas de inmunosupresión.

El rechazo agudo es tratado con bolos de corticoides a 10 mg/kg/día por tres días, que en más del 80% mejoran, especialmente en el post trasplante inmediato(10).

1.2 B) RECHAZO AGUDO RENAL

En pacientes trasplantados renales pediátricos, se ha descrito que uno o más episodios de rechazo agudo están fuertemente correlacionados con el rechazo crónico. El rechazo celular agudo es diagnosticado por punción aspirativa con aguja fina o por punción de biopsia.

El sistema inmune del receptor puede dañar el injerto a través de diversos mecanismos que se superponen. El rechazo hiperagudo, manifestado por trombosis intravascular, isquemia y falla del injerto inmediata, es mediado por anticuerpos pre-formados del sistema mayor de histocompatibilidad (HLA) contra antígenos. El rechazo agudo del injerto se caracteriza por una disminución súbita de la función del injerto renal acompañada de infiltración de mononucleares con o sin inflamación vascular. Puede ser precipitado por células T y/o aloanticuerpos y ocasiona pérdida del injerto si no se trata.

Se utiliza la clasificación Banff para el análisis histopatológico a partir de 1997, actualizada al año 2011(34-36). El rechazo agudo mediado por células T se clasifica en distintos grados:

I A: casos con infiltrado intersticial significativo (>25%) del parénquima afectado y foco de tubulitis moderada.

I B: infiltrado intersticial significativo (>25%) del parénquima afectado y tubulitis severa

II A: leve a moderada arteritis de la íntima.

II B: severa arteritis de la íntima comprendiendo >25% del área luminal.

III: arteritis “transmural” y/o cambio arterial y necrosis de las células de musculo liso acompañado de inflamación linfocítica.

Además se puede desarrollar fibrosis intersticial y atrofia tubular lo que comprende esclerosis vascular y glomerular no específica con severidad según las características tubulointersticiales.

Los pacientes con diagnóstico confirmado son medicados con series de tres días de metilprednisolona (10mg/kg/día) y posterior timoglobulina, en los corticorresistentes.

El rechazo crónico, definido como un deterioro lento y progresivo en la función renal asociado a arteriopatía del injerto y fibrosis, puede estar mediado por células T y/o anticuerpos anti-injerto formados post trasplante (37).

En los últimos años se ha obtenido evidencia del papel fundamental que juegan las células B en la patogénesis del rechazo agudo. Estos pacientes suelen presentar rechazo severo resistente a la terapia inmunosupresora convencional dirigidos contra células T (38, 39).

1.3 FÁRMACOS INMUNOSUPRESORES UTILIZADOS EN EL TRASPLANTE DE ÓRGANO SÓLIDO: CLASIFICACIÓN FARMACOLÓGICA Y MECANISMOS DE ACCIÓN

Los avances en el desarrollo de esquemas inmunosupresores permitieron mejorar sustancialmente la supervivencia de los pacientes y del injerto desde 1954. En gran parte esto se debe al descubrimiento de inmunosupresores calcineurínicos (ICN) que incluyen el tacrolimus y la ciclosporina (40). Con el fin de evitar el rechazo, se administran fármacos inmunosupresores que modulan negativamente la respuesta inmunológica al dirigirse contra sitios efectoros del sistema inmune.

Se utilizan agentes inmunosupresores para la inducción (inmunosupresión intensa en los días iniciales después del trasplante) el mantenimiento de la inmunosupresión y para revertir el rechazo si es que se establece.

La respuesta inmune a los antígenos que no son propios (aloantígenos) se denomina respuesta aloinmune. La misma se puede explicar mediante un modelo de tres señales. En los ganglios linfáticos ocurre la interacción entre el complejo TCR (receptor del linfocito T y co-receptores) del linfocito T y el complejo mayor de histocompatibilidad (CMH) expresado en la superficie de la célula dendrítica o célula presentadora de antígeno). Los linfocitos T CD4⁺ reconocen péptidos derivados de antígenos proteicos que fueron endocitados asociados a moléculas del CMH de tipo II y los linfocitos T CD8⁺ reconocen péptidos derivados de antígenos proteicos que son citosólicos asociados a moléculas del CMH de tipo I. La segunda señal, la proporcionan las moléculas co-estimuladoras cuando CD80 y CD86 en la superficie de las células dendríticas se unen a CD28 en células T. Una vez activados los linfocitos T se activan tres vías celulares de transducción de señales: la vía calcio-calcineurina, la vía de la quinasa activada por el mitógeno-MAP (MAP), y la vía del factor nuclear κ B (FN κ B)(41).

Estas vías activan los factores de transcripción que desencadenan la expresión de diversas moléculas incluyendo interleuquina-2, CD154 y CD25. La interleuquina-2 es un mediador muy importante que desencadena la proliferación celular.

La proliferación y la diferenciación conducen a un gran número de células T efectoras. Las células B (que son células presentadoras de antígenos) se activan cuando el antígeno se acopla a su complejo receptor de linfocito B (BCR: receptor de célula B) receptores de antígeno, generalmente en folículos linfoides, en sitios extra-foliculares, o posiblemente en el órgano trasplantado, produciendo aloanticuerpos frente a antígenos HLA del donante. Así, en pocos días la respuesta inmune genera agentes de rechazo del injerto, células T efectoras y aloanticuerpos.

La estrategia farmacológica inmunosupresora consiste en agotar, desviar el tráfico o bloquear las vías de respuesta de los linfocitos. Los fármacos inmunosupresores se pueden clasificar según su mecanismo de acción distinguiéndose:

- a) Agonistas de los receptores de glucocorticoides: son fármacos antiinflamatorios que inhiben la síntesis de prostaglandinas, reducen la formación de edema, disminuyen la exudación celular y reducen los depósitos de fibrina alrededor del área de inflamación.
- b) Inhibidores de la calcineurina (ICN): incluye la ciclosporina y el tacrolimus. La ciclosporina en el interior celular, se une a una ciclofilina formando un complejo que inhibe la actividad fosfatasa de la calcineurina lo cual en definitiva bloquea la producción de IL2 y la activación de células T. En cuanto al tacrolimus, actúa de manera similar a ciclosporina pero se une otra inmunofilina, la FKBP12.
- c) Inhibidores del *target* de Rapamicina: este grupo incluye a sirolimus y everolimus. Los fármacos se unen a la inmunofilina FKBP12, formando un complejo que inhibe al *target* de rapamicina (mTOR), e inhibe la proliferación de células T desencadenada por interleuquina-2.
- d) Inhibidores de la síntesis de nucleótidos: incluye el micofenolato mofetilo y la sal sódica. Estos compuestos son profármacos que se metabolizan en el hígado al compuesto activo, ácido micofenólico, el cual es inhibidor de la inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH). Esta enzima es necesaria para la síntesis de purinas, de manera que se bloquea su síntesis, previniendo la formación de linfocitos T y B.
- e) Antimetabolitos: la azatioprina interfiere en la síntesis del ácido desoxirribonucleico inhibiendo la síntesis de purinas y por lo tanto, la replicación de los linfocitos T.

- f) Anticuerpos para la depleción linfocitaria (contra células T, B o ambos): Incluye la inmunoglobulina de conejo antitimocitos humanos o timoglobulina bloquea las proteínas de membrana de células T (CD2, CD3, CD45), causando alteración en sus funciones, lisis y depleción de las células T. En cuanto a los anticuerpos monoclonales, se utiliza el rituximab el cual se une al CD20 expresado en las células B y ésta interacción media la lisis celular.
- g) Anticuerpos no-depletoreos linfocitarios: el basiliximab es un anticuerpo monoclonal quimérico murino/humano recombinante anti-CD25 que se une y bloquea la cadena alfa del receptor de interleuquina-2 en las células T activadas, inhibiendo la activación de células T(42).

Durante dos décadas, las opciones para los tratamientos inmunosupresores incluyeron:

- a) la inducción inicial con el uso de terapia inmunosupresora proteica, anticuerpos monoclonales y policlonales.
- b) La terapia de mantenimiento con tres fármacos incluyendo un inhibidor de la calcineurina, una segunda línea de fármacos (azatioprina o micofenolato mofetilo) y glucocorticoides.
- c) la terapia de post adaptación con la misma combinación de fármacos en dosis más bajas.

En particular, el rechazo agudo y crónico fue tratado con dosis altas de esteroides o anticuerpos que deplecionan. En la actualidad existe mayor número de combinaciones farmacológicas, y han surgido muchos protocolos nuevos, incluyendo una menor dependencia de los glucocorticoides y los inhibidores de la calcineurina(43).

El desafío de la inmunosupresión en la población pediátrica es el de encontrar el balance entre la eficacia y la toxicidad dado que si el margen terapéutico no se alcanza, las consecuencias son

graves. En la medida que se combinan los inmunosupresores en esquemas terapéuticos, se favorece el efecto sinérgico entre varios fármacos. En concreto, la selección de los regímenes inmunosupresores apropiados debe ser individualizada y basada en una comprensión clara de la eficacia, los riesgos asociados y/o las complicaciones a largo plazo(44).

Historia de los inhibidores calcineurínicos

La introducción de la ciclosporina en 1983 marcó un avance clínico significativo en la supervivencia del injerto y de los pacientes receptores de trasplante de órgano (1,2). En concreto, la supervivencia del injerto a 1 año en el trasplante renal experimentó su mayor aumento del 64% en 1980-1984 al 78% en 1985-1989 (2). Del mismo modo, en el trasplante de hígado, la supervivencia al año escaló a más del doble (de aproximadamente 33% a 68%) después de la introducción de la ciclosporina (45, 46).

El tacrolimus fue descubierto por primera vez en Japón en 1984 y se introdujo su uso clínico en pacientes por primera vez en el año 1991. En 1994, fue aprobado por primera vez en los Estados Unidos para su uso en el trasplante de hígado por la *Food and Drug Administration* (FDA). Los usos aprobados por la FDA para el tacrolimus se extienden ahora a trasplante renal y cardíaco. Además, se utiliza rutinariamente como el agente inmunosupresor de elección en trasplante de pulmón, páncreas, piel, tráquea y en trasplante de tejido compuesto, y ha reemplazado rápidamente a ciclosporina, como el fármaco de elección para prevenir y tratar el rechazo del injerto. Cabe destacar que lidera el mercado como el ICN de elección durante los últimos 10 años y se espera que continúe siendo el principal inmunosupresor en los esquemas terapéuticos(40) .

PROTOSCOLOS DE INMUNOSUPRESIÓN EN HPJPG

Los protocolos de inmunosupresión consideran el uso de distintos fármacos dirigidos a modular la respuesta inmune. Se utilizan los inhibidores calcineurínicos como el pilar de los esquemas terapéuticos inmunosupresores. El nivel de inmunosupresión deseado se adapta a cada paciente en función del tipo de trasplante, de la composición del esquema inmunosupresor utilizado, de las cargas virales de CMV y EBV, la funcionalidad renal y hepática, el desarrollo de eventos adversos, la sospecha de rechazo y el tiempo post trasplante.

1.3 A) TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR SEGÚN PROTOCOLO INTERNO DEL SERVICIO DE TRASPLANTE HEPÁTICO DEL HPJPG

Los principios clínicos que guiaron la construcción del protocolo que se utiliza actualmente en el servicio de trasplante hepático del HPJPG se basan en los estudios realizados que demuestran que el desarrollo de tolerancia inmunológica es favorecido por esquemas que no utilizan corticoides y mantienen una mínima inmunosupresión post trasplante como se describe a continuación. Con este fin, la utilización de basiliximab como inducción y bajas dosis de tacrolimus como mantenimiento es una estrategia inmunosupresora segura y efectiva. El protocolo se desarrolla entonces en dos fases, cada una con un objetivo inmunológico diferente.

Fase I: Aceptación del órgano. Se extiende desde el implante hasta el primer año de post trasplante. Durante esta etapa se busca lograr un balance inmunológico que favorezca el agotamiento clonal recíproco mediante el uso de inducción y luego terapia de mantenimiento a

niveles mínimos que evite la injuria del órgano trasplantado. En la inducción se utiliza el basiliximab en dos dosis endovenosas en bolo, la primera dentro de las 8 h posterior a la reperusión del injerto y la segunda al cuarto día posterior al trasplante. Se utilizan dosis entre 10 mg y 20 mg según el peso corporal (47). Para la terapia de mantenimiento, el fármaco de elección es tacrolimus, el cual se comienza a administrar 24 h después de la reperusión. La dosis inicial es de 0,1 mg/kg/día administrada cada 12 horas por vía oral. Luego la dosis es ajustada de acuerdo a los niveles plasmáticos, la función hepática y renal, y a la carga viral de Virus Epstein Barr (EBV).

En los pacientes que desarrollen toxicidad renal, independientemente de la carga viral, se disminuyen las concentraciones sanguíneas de tacrolimus administrando concomitantemente micofenolato mofetilo (MMF) como terapia de rescate, en dosis de 20 mg/kg/día y se puede incrementar hasta 40 mg/kg/día luego de una semana de tratamiento.

Los pacientes que pasan a la siguiente fase son aquellos que se encuentren libres de rechazo durante un año, presenten función normal del injerto, tengan buena adherencia al tratamiento y cumplan con los controles médicos, y cuyos padres acepten consientan el protocolo.

Fase II: Casi tolerancia. La tolerancia clínica después del trasplante hepático puede definirse como la función normal del injerto sin características de rechazo y sin la necesidad de fármacos inmunosupresores. La “casi tolerancia” es un término acuñado por Calne para describir la función normal del injerto en presencia de niveles mínimos o indetectables de inmunosupresión(48). Una inmunosupresión mínima se puede lograr mediante reducciones escalonadas de la dosis o manteniendo una dosis fija a medida que el paciente crece.

La respuesta a la reducción será evaluada durante las 2 semanas sucesivas por medio de hepatograma y concentraciones sanguíneas de tacrolimus. Si la respuesta es favorable se controla con laboratorio una vez por mes hasta completar los 6 meses. Si el hepatograma es normal se continúa la reducción de tacrolimus pasando a días alternos, luego tres veces por semana, y por último 2 veces a la semana.

Se utiliza profilaxis en todas las combinaciones serológicas de donante y receptor, excepto en el caso de que el donante sea negativo y el receptor positivo para citomegalovirus (CMV). Así se administra ganciclovir 10 mg/kg/día endovenoso cada 12 horas durante 14 días. En el caso de rechazo agudo, se administra ganciclovir 5 mg/kg/día cada 12 horas durante el período de aumento de inmunosupresión, y se continúa por 3 días (7 días si se utilizan anticuerpos para el tratamiento) luego de restablecer la inmunosupresión basal.

1.3 B) TRATAMIENTO INMUNOSUPRESOR SEGÚN PROTOCOLO INTERNO DEL SERVICIO DE TRASPLANTE RENAL DEL HPJPG

El protocolo farmacológico en el paciente con trasplante renal consiste en la administración de inducción en aquellos pacientes con donantes cadavéricos (DC). Desde el año 1996 los pacientes reciben timoglobulina como terapia de inducción. Los receptores de injertos provenientes de donantes vivos relacionados (DVR) recibieron terapia de inducción con basiliximab entre los años 2005 a 2013 según disponibilidad de la medicación y desde el año 2013 reciben basiliximab todos los pacientes con DVR. El basiliximab se administra inmediatamente antes, al momento o inmediatamente luego del trasplante para deplecionar o modular la respuesta del linfocito T a la

presentación de un antígeno extraño al receptor y de este modo, reducir la tasa de rechazo y/o la dosis de otros inmunosupresores.

Como inmunosupresión se administra una dosis de ciclosporina de 10 mg/kg/día inicialmente y luego 8 mg/kg/día en la etapa de mantenimiento. La medicación inmunosupresora concomitante a ciclosporina es meprednisona o meprednisona concomitante a micofenolato sódico o mofetilo. Algunos pacientes reciben azatioprina en lugar de micofenolato mofetilo o sódico según la estabilidad del injerto.

El tacrolimus se indica como inmunosupresor de elección en pacientes receptores de un segundo trasplante desde el inicio del programa en el año 1988 y desde el año 2012 se usa en todos los pacientes en reemplazo de la ciclosporina(49).

Como profilaxis para CMV se indica ganciclovir durante las primeras 2 semanas a todos los pacientes que reciben terapia de inducción, luego aciclovir o valganciclovir durante 3 meses (50, 51). Se indica también profilaxis para CMV a los pacientes que reciben timoglobulina como tratamiento de rechazo. Se utiliza trimetoprima-sulfametoxazol como profilaxis para *Pneumocystis Jirovesi* (PCP) y para profilaxis de infección urinaria se indica trimetoprima-sulfametoxazol o nitrofurantoína(52).

Los distintos medicamentos inmunosupresores disponibles han cambiado la forma de prevenir y tratar el rechazo de órganos. Sin embargo, pese a todas las ventajas que ofrecen, cada vez hay más pruebas de que los eventos adversos que producen son una causa frecuente, a veces prevenible, de enfermedad, discapacidad o incluso causante del óbito del paciente (53). Para prevenir o reducir los efectos nocivos para el paciente y mejorar así su calidad de vida es fundamental contar con mecanismos para conocer, evaluar y controlar el nivel de seguridad que ofrece el uso clínico de los medicamentos, lo que en la práctica supone tener en marcha un

sistema de farmacovigilancia, el cual es un elemento clave para que los sistemas de reglamentación farmacéutica, la práctica clínica y los programas de salud pública resulten eficaces.

1.4 FARMACOVIGILANCIA

Con el objetivo de demostrar la eficacia y seguridad de un nuevo principio activo, es necesario desarrollar estudios pre-clínicos *in vitro* y en animales de laboratorio para la patología que se desea tratar. Una vez demostrados estos estudios, se comienzan los ensayos clínicos en humanos en tres fases consecuentes, tal que si los resultados obtenidos son satisfactorios, permiten comercializar el medicamento luego de la aprobación de la autoridad sanitaria correspondiente. La cuarta etapa, conocidos como estudios post-comercialización o de Fase IV involucran a los estudios de farmacovigilancia.

Cuando un producto farmacéutico alcanza la fase de comercialización su perfil de seguridad no está completamente caracterizado. En ese sentido, pueden aparecer eventos adversos inesperados. El número y el tipo de pacientes o voluntarios que participan en los estudios clínicos previos a la comercialización no permiten la detección de reacciones adversas raras o muy raras. Lo más frecuente es que en ese momento sólo se hayan comprobado la eficacia y seguridad a corto plazo del medicamento en un pequeño número de personas cuidadosamente seleccionadas. Por tal razón es fundamental controlar la eficacia y seguridad que presentan en condiciones reales. Por regla general se necesita más información sobre el uso del fármaco en grupos concretos, en especial los niños, las mujeres embarazadas y los ancianos, y sobre el nivel de eficacia y seguridad que ofrece un producto tras largo tiempo de utilización ininterrumpida,

sobre todo combinado con otros medicamentos. La experiencia demuestra que un gran número de eventos adversos, interacciones (con alimentos u otros fármacos) y factores de riesgo no salen a la luz hasta los años posteriores a la comercialización de un medicamento(53).

En este contexto, la farmacovigilancia ha sido definida como la ciencia y las actividades relacionadas con la detección, evaluación, conocimiento y prevención de reacciones adversas y otros posibles problemas relacionados con los medicamentos (OMS, 2002a).

Se define como evento adverso a un medicamento a todo efecto indeseado o nocivo, que aparece en el paciente a las dosis establecidas como normales, para medicamentos utilizados con fines diagnósticos o terapéuticos. Una reacción adversa medicamentosa, al contrario de un evento adverso, se caracteriza por la sospecha de una relación causal entre la droga y la ocurrencia, por ejemplo, al considerarse posiblemente relacionada al tratamiento por el notificador o un profesional de la salud revisor(54). En esta tesis doctoral utilizaremos ambos términos indistintamente para referirnos a las reacciones adversas ocasionadas por los inhibidores calcineurínicos.

En particular, la farmacovigilancia es la ciencia y las actividades relacionadas con la detección, evaluación, comprensión y prevención de los efectos adversos o cualquier otro problema relacionado con los fármacos (55). Es importante señalar que este tipo de estudios permite también detectar fallas de respuesta terapéuticas. Así, se evalúa la relación entre el beneficio y el riesgo de un dado medicamento.

Por todo ello, se introduce el concepto de manejo de riesgo como un proceso iterativo donde se determina el balance entre el beneficio y riesgo de un producto, se desarrollan e implementan herramientas tal de minimizar los riesgos mientras se mantienen los beneficios, se evalúa la

efectividad y se re-diseña el balance entre el beneficio y el riesgo. Finalmente, se realizan los ajustes necesarios de las herramientas de riesgo para continuar mejorando el balance.

Tal como informa la Organización Panamericana de la Salud, para desarrollar actividades de farmacovigilancia se emplean diversos métodos:

- Un sistema de notificaciones espontáneas (que también son voluntarias y confidenciales) basado en la identificación y detección de las reacciones adversas sospechosas, por parte de los profesionales de la salud en su práctica diaria, y el envío de esta información a un organismo que la centraliza. Es la metodología utilizada por los centros participantes del programa internacional de farmacovigilancia de la Organización Mundial de la Salud (OMS).
- Búsqueda de RAM a través de disparadores (*triggers*): Seguimiento de pacientes a través de la detección de indicaciones de medicamentos utilizados para tratar RAM, detección de patologías relacionadas a RAM, suspensiones abruptas de medicamentos, cambios a equivalentes terapéuticos y resultados de laboratorio (por ej. anticonvulsivantes en trasplantados, ajuste de dosis de medicamentos por insuficiencia renal, concentraciones sanguíneas elevadas de inmunosupresores). Los disparadores se encuentran relacionados con la toxicidad de los medicamentos y se identifican durante la internación.
- Información sobre medicamentos y preguntas canalizadas a través del Centro de Información de Medicamentos del HPJPG (CIME) sobre temas relacionados con los pacientes estudiados.
- Estudios epidemiológicos cuya finalidad es establecer una causalidad entre la presencia de reacciones adversas a los medicamentos y su empleo.

- Procedimientos de farmacovigilancia intensiva basados en la recolección sistemática y detallada de datos sobre todos los efectos perjudiciales que pueden suponerse inducidos por determinados medicamentos en determinados grupos de población.

Estos métodos para desarrollar actividades de farmacovigilancia se dividen en dos grandes grupos (56):

- a) Sistemas centrados en el medicamento
- b) Sistemas centrados en el paciente

Los programas de farmacovigilancia intensiva (una de los métodos de estudio de la farmacovigilancia) son especialmente útiles en el caso de ciertos principios activos que presentan riesgos particulares en su aplicación terapéutica con el fin último de asegurar que los pacientes que los consumen obtengan el mayor beneficio, limitando en la medida de lo posible los riesgos a los que dichos pacientes se exponen.

La ficha amarilla de la ANMAT se utiliza como sistema de comunicación de eventos adversos (57). La información recopilada a través de las mismas incluye:

- Identificación del paciente incluyendo sexo, edad, peso, patología o diagnóstico de base
- Localización del origen del reporte de EA.
- Identificación de la persona responsable del reporte (no es obligatorio)
- Tipo de reporte: notificación voluntaria, farmacovigilancia intensiva, seguimiento de pacientes o información a través del CIME.
- Fecha de comienzo; fecha de finalización.

- Información relacionada con el medicamento en uso: nombre de la droga, nombre comercial del producto, formulación, vía de administración, dosis y fechas de administración (comienzo, discontinuación, retorno de administración), lote y vencimiento.
- Detalles del evento, datos de laboratorio o pruebas relacionadas, reacción adversa registrada, severidad, tratamiento del evento adverso
- Desenlace del evento adverso según sea “Recuperado *ad integrum*”; “Recuperado con secuela”; “No recuperado aún”; “Desconocido”; “Óbito”.

El equipo de farmacovigilancia procesa los reportes, añadiéndole especialmente clasificaciones adicionales para mantener una base de datos útil para los Programas de Farmacovigilancia en un hospital como el HPJPG:

1- Clasificación ATC del medicamento sospechoso

Es un sistema de codificación farmacológica estructurado en cinco niveles, a saber: Primer nivel (anatómico): órgano o sistema sobre el que actúa el fármaco (existen 14 grupos en total); Segundo nivel: subgrupo terapéutico; Tercer nivel: subgrupo terapéutico o farmacológico; Cuarto nivel: subgrupo terapéutico, farmacológico o químico; Quinto nivel: nombre del principio activo (monofármaco) o de la asociación medicamentosa(58).

2- Establecimiento de la causalidad

Una vez detectados los eventos adversos se procede a clasificarlos según la relación causal entre el evento y el inmunosupresor. Por lo tanto se clasifican en:

- Definitivos: la reacción sigue una secuencia temporal, posee un patrón de respuesta conocida al fármaco, reaparece al repetir la exposición y desaparece al suspender el medicamento, no hay relación alternativa causal.
- Probables: la reacción sigue una secuencia temporal razonable, sigue un patrón conocido de respuesta, mejora al suspender el medicamento, no hay relación alternativa causal de esa reacción.
- Posibles: la reacción sigue una secuencia temporal razonable, sigue un patrón de respuesta conocida, podría haber sido producida por el estado clínico del paciente o por otros modos de terapia administrados al paciente.
- Dudosos: la reacción sigue una secuencia temporal razonable, no responde a un modelo conocido, pero no puede explicarse por las características del estado clínico del paciente.

Esta imputación se realiza mediante el Algoritmo de Naranjo (59), por medio del cual se asigna causalidad a cada evento adverso. Este algoritmo evalúa la secuencia temporal entre el fármaco en estudio y la aparición del cuadro clínico, su relación con la causalidad, la evolución de la reacción después de la retirada del fármaco, y si es posible una repetición del episodio por re-administración.

Algoritmo de Naranjo

		SI	No	No sabe
1	Existen estudios previos acerca de esta reacción?	+1	0	0
2	Apareció el efecto adverso después de la administración del medicamento?	+2	-1	0
3	Mejora el paciente cuando se suspende el medicamento, o bien se administra un antagonista específico?	+1	0	0
4	Aparece de nuevo la reacción cuando se readministra el medicamento?	+2	-1	0
5	Existen causas alternativas, distintas a medicamentos que podrían haber causado la reacción?	-1	+2	0
6	Aparece la reacción de nuevo al administrar placebo?	-1	+1	0
7	Se detectó el medicamento en sangre (u otros fluidos) en concentraciones sabidas como tóxicas?	+1	0	0
8	La reacción fue de mayor severidad cuando se incrementó la dosis o menos severa cuando la dosis se disminuyó?	+1	0	0
9	Tuvo el paciente una reacción similar al mismo medicamento o similar en una exposición anterior?	+1	0	0
10	Se confirmó el efecto adverso por alguna evidencia objetiva?	+1	0	0

Según el puntaje obtenido, los resultados de los eventos adversos son

EA Definitivo: puntuación >9; EA Probable: puntuación 5-8; EA Posible: puntuación 1-4; EA

Dudoso: puntuación < 0.

3- Establecimiento de la Severidad

La severidad de los eventos adversos se establece de acuerdo a la clasificación de la *Food and Drug Administration* (FDA) y *European Medicines Agency* (EMA)(60, 61):

- Leve: no es necesario un antídoto o administrar tratamiento y no prolonga la hospitalización.
- Moderada: es necesario cambiar la terapia aunque puede no ser necesario suspender el medicamento. Puede aumentar la hospitalización y requerir tratamiento.
- Grave: Potencialmente pone en peligro la vida del paciente, es necesario suspender el medicamento y administrar un tratamiento específico.
- Letal: Contribuye directa o indirectamente al fallecimiento del paciente(55).

4- Establecimiento de la evitabilidad

Los eventos adversos también se clasifican de acuerdo a su evitabilidad. Un evento adverso evitable se define como todo evento adverso producido por causas identificables y controlables. Para la clasificación por evitabilidad de los eventos adversos, se estudia la presencia de los siguientes factores:

- Información aportada por alguna evidencia clínica.
- Valores de laboratorio.
- Monitoreo periódico de drogas.
- Antecedentes patológicos del paciente.
- Alergias previas.
- Corrección de errores en el proceso de medicación: prescripción, transcripción, dispensación, administración.

- Ajustes por insuficiencia renal o hepática.
- Reconocimiento del EA producido por interacción entre dos o más drogas.
- Educación sanitaria a la población con respecto a los riesgos de la automedicación.
- Asimismo, se consideran factores de exposición a la droga: el indicador es la concentración de ciclosporina o tacrolimus en sangre del paciente y su relación con la aparición del evento adverso(62).

Un evento adverso no evitable puede ser previsible, pero no existe la posibilidad de evitarla por ninguno de los métodos anteriormente descritos. Esta información es útil para establecer acciones preventivas en el hospital, que redundan en beneficios directos al paciente, por ej, se pueden establecer diluciones y tiempos de administración óptimos en medicamentos cuyas RAM se relacionan a la velocidad de infusión.

En el HPJPG funciona el Comité de Drogas y Medicamentos que se creó desde su inicio con el objetivo de seleccionar los medicamentos para utilizar en el hospital y de esta forma elaborar el formulario terapéutico y las normas de uso de los mismos. En 1996 se creó el Subcomité de Farmacovigilancia dentro de esta estructura con el objetivo de centralizar los reportes de eventos adversos a medicamentos y establecer medidas para su reducción. El subcomité constituye un Efecto Periférico pionero del Sistema Nacional de Farmacovigilancia de ANMAT. Desde el año 2012 este subcomité funciona como el Comité Multidisciplinario de Farmacovigilancia con participantes de todo el equipo de salud del hospital.

Al inicio de la presente tesis de investigación, la base de datos de Farmacovigilancia del HPJPG contaba con 809 reportes de los cuales 28 correspondían a casos relacionados con ciclosporina. De los 28 reportes, 8 casos eran pacientes con trasplante de médula ósea, 13 correspondían a

trasplante hepático, 4 reportes a trasplante renal y 3 reportes a trasplante cardiopulmonar. A pesar de la conocida toxicidad de ciclosporina en pacientes trasplantados, como puede observarse, el número de reportes relacionados con eventos adversos respecto del número total de reportes de farmacovigilancia en HPJPG era muy bajo (menor al 4 %) y prácticamente nulo para tacrolimus.

Como se comentó previamente, dada la importancia del HPJPG en cuanto a número de trasplantes realizados por año y la repercusión de sus decisiones a nivel del sistema de salud nacional y regional, es que este sub-reporte era necesario que fuese actualizado y potenciado el sistema de farmacovigilancia. En dicho contexto se plantea la presente tesis, con especial foco en los eventos adversos a inhibidores calcineurínicos en trasplante pediátrico renal y hepático.

EVENTOS ADVERSOS A INHIBIDORES CALCINEURÍNICOS:

En el trasplante de órgano sólido el objetivo principal del tratamiento farmacológico con inmunosupresores como los ICN se centra en evitar el rechazo del injerto. Existen una gran cantidad de factores que pueden influenciar la respuesta y seguridad con el uso de dichos fármacos llevando a la aparición de reacciones adversas. Esto se acentúa dada la cronicidad de la administración de las drogas inmunosupresoras.

Según lo descrito en la literatura, estos eventos comprenden: insuficiencia renal aguda y crónica, enfermedad linfoproliferativa post-trasplante, diabetes post-trasplante, hipomagnesemia, hipertensión, neurotoxicidad, hiperplasia gingival, hirsutismo, alopecia, hiperlipidemia, entre otros eventos adversos(63-65).

Para la identificación de los eventos adversos a ICN más frecuentes y graves se consideran los lineamientos publicados en el Boletín CIME del HPJPG, publicaciones científicas y se consensuaron con el equipo médico a los fines de asegurar la validez de los registros en la población pediátrica trasplantada renal y hepática en HPJPG(66). En la presente tesis doctoral, se evaluaron los eventos adversos a ICN según las siguientes definiciones(67):

La nefrotoxicidad se define según el aumento de creatinina de al menos 30% respecto del valor basal propio del paciente, oliguria/anuria o proteinuria significativa o masiva sin informe posterior de rechazo en punción de biopsia renal (trasplante renal) o informe específico de anatomía patología asignando el hallazgo a la toxicidad por ICN. No se considera el evento adverso si se administran otros fármacos concomitantemente como vancomicina y aminoglucósidos, y se descartan aquellos eventos adversos en los que haya variables confusoras como sepsis o deshidratación. Los efectos secundarios nefrotóxicos de la ciclosporina fueron reconocidos por Calne y col. cuando prescribieron el fármaco por primera vez a receptores de trasplante renal a finales de los años setenta(68). Los efectos nefrotóxicos crónicos debidos al uso de ciclosporina se hicieron evidentes frente a su uso prolongado en pacientes con enfermedad autoinmune y en receptores de otros tipos de trasplante. Asimismo, la introducción clínica de tacrolimus a principios de los años 90 mostró tener efectos secundarios nefrotóxicos comparables a los asociados con el uso de ciclosporina. En la actualidad, la nefrotoxicidad crónica de los inhibidores de la calcineurina es uno de los mayores desafíos que enfrentan los médicos de trasplante (69). La nefrotoxicidad aguda usualmente ocurre dentro de varios días después de iniciar el tratamiento con ICN. Puede presentarse como un síndrome oligoanúrico agudo (DGF) o como un aumento de la creatinina sérica que puede asemejarse a otras causas de

disfunción precoz del injerto como, por ejemplo, el rechazo agudo renal. En general, la nefrotoxicidad aguda inducida por ICN es rápida y completamente reversible, mediante la reducción de la dosis o la interrupción del ICN. Se caracteriza por la constricción de la arteriola glomerular aferente, lo que conduce a una disminución del flujo plasmático renal y a una reducción de la tasa de filtrado glomerular (GFR) (70). Este cambio en el tono vascular parece resultar de un desequilibrio en la secreción y metabolismo del óxido nítrico y prostaglandinas vasodilatadores y del tromboxano y endotelina vasoconstrictores y una mayor actividad del sistema nervioso simpático. En segundo lugar, se ha informado que los ICN causa la contracción de las células mesangiales, alterando así la permeabilidad glomerular.

La nefrotoxicidad crónica inducida por CNI se asocia con el uso prolongado de estos agentes y se ha observado después de todos los tipos de trasplante(71-73). El curso clínico se caracteriza por una lenta disminución de la función renal que puede progresar hasta enfermedad renal en etapa terminal. Aunque algunos pacientes con nefrotoxicidad crónica inducida por ICN pueden tener proteinuria, la mayoría de los pacientes no la desarrollan, como resultado de los efectos vasoconstrictores de ICN (reduciendo así la presión de filtración glomerular).

La hipomagnesemia se considera un evento adverso si el magnesio sérico se encuentra en niveles menores a 1,6 mmol/L y se administran suplementos de magnesio(74, 75). El mecanismo fisiopatológico por el cual aumenta la excreción de magnesio está relacionado con una interferencia entre los ICN y la función tubular normal, causando retención de sodio y edema, disminución de la excreción de potasio y ácido úrico, aumento de la excreción urinaria de magnesio. También produce acidosis metabólica hiperclorémica(71, 76, 77).

La hipertensión se define dada la existencia de 3 registros de presión arterial sistólica y/o diastólica igual o mayor al percentilo 95 definido según la edad, género y talla. Asimismo, si los registros son seguidos de administración de medicación antihipertensiva incluyendo inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y bloqueantes de canales de calcio, en pacientes sin historia de hipertensión previa. Se excluyen los casos de administración concomitante de agonistas alfa/beta adrenérgicos por administrarse en cuadros de hipotensión y por provocar hipertensión como evento adverso(78). Ambos ICN aumentan la resistencia sistémica y vascular renal, afectando las arteriolas aferentes. Las endotelinas juegan un rol importante en la patogénesis de la hipertensión, ya que la administración de antagonistas del receptor de endotelinas, revierte la hipertensión causada por ciclosporina(77).

La hipertrofia gingival se define de acuerdo con la Academia Americana de Medicina Oral y se registró según la evolución clínica. El agrandamiento gingival secundario a la ciclosporina implica encías típicamente firmes, cuyos tejidos no son blandos, tienen color rosa pálido y no sangran fácilmente. En casos severos, la encía puede cubrir completamente las coronas de los dientes, causando enfermedad periodontal (debido a la dificultad de mantener los dientes limpios), así como problemas con la erupción y alineación de los dientes. Es fundamental instruir al paciente sobre una higiene dental adecuada para prevenir las infecciones orales. El agrandamiento gingival puede desaparecer parcial o totalmente cuando se suspende la ciclosporina(79). El mecanismo patogénico es desconocido.

El hirsutismo secundario a la ciclosporina A se define como un efecto de crecimiento capilar registrado en las historias clínicas(80, 81). Es reversible al discontinuar el medicamento. El mecanismo no se encuentra completamente dilucidado aunque se sabe que no estimula indirectamente el crecimiento del pelo a través de la inducción de una mayor producción de andrógenos ya que la hipertrichosis inducida por ciclosporina ocurre independientemente de otros cambios masculinos dependientes de andrógenos, incluyendo la profundización de la voz y el aumento de la masa muscular. Además la hipertrichosis inducida por ciclosporina ocurre en las mujeres sin introducir virilización y ocurre a menudo en sitios de la piel no estimulados por andrógenos como la parte superior de la columna vertebral, los lóbulos de las orejas y la nariz(81).

La hepatotoxicidad se define como colestasis secundaria a tacrolimus (elevación de bilirrubina >10 mg/dl) descartándose causas biliares, vasculares, infecciosas, inflamatorias, inmunológicas, una vez estabilizado el hepatograma post-trasplante. La ciclosporina se asocia con una secreción disminuida de ácido biliar lo que reduce el flujo biliar y favorece la formación de cálculos de las vías biliares. Por su parte, tacrolimus también produce colestasis. En un modelo de rata, se encontró que las dosis altas de tacrolimus inducen colestasis principalmente inhibiendo la excreción biliar de glutatión y bicarbonato sin un efecto significativo sobre la secreción de ácido biliar. Otro mecanismo de toxicidad hepática puede ser la aparición de enfermedad veno-oclusiva (VOD)(82).

El diagnóstico de enfermedad linfoproliferativa post trasplante, (por sus siglas en inglés *Post Transplant Lymphoproliferative disease*, PTLD) se realiza mediante evidencia

histopatológica de linfoproliferación, comúnmente con la presencia de ADN, ARN o proteína del virus de Epstein Barr detectado en tejido. El desarrollo de proliferaciones linfoides y neoplasias se asocia con virus linfotróficos capaces de inducir la transformación maligna de las células de linaje linfoide. Uno de estos virus, el EBV, se asocia con el desarrollo de PTLD en receptores de trasplante, especialmente en niños (83-85).

La hiperglucemia post trasplante se define según la definición de Crutchlow y col. realizada sobre los pacientes en riesgo después del trasplante(86). En los pacientes con glucosa plasmática en ayunas (FPG) ≥ 126 mg/dl, se considera diabetes. Aquellos pacientes con valores entre 100 y 125mg/dl se consideran pacientes con glucemia alterada en ayunas (IFG). Si se utiliza una prueba oral de tolerancia a la glucosa por administración de 75g, entonces un nivel de glucemia de entre 140 y 200 mg/dl luego de 2 h diagnostica una tolerancia alterada a la glucosa (IGT), mientras que un valor mayor a 200mg/dl representa diabetes. También se considera la administración de insulina en pacientes sin antecedentes de diabetes.

Se ha descrito recientemente que la hipomagnesemia es un factor de riesgo significativo para el desarrollo de diabetes post trasplante. Los mecanismos mediante los cuales esto ocurre no están dilucidados hasta el momento(87). Además existe una relación con el óxido nítrico (NO), sintetizado a partir de LS-arginina por la enzima endotelial óxido nítrico sintasa (eNOS). El NO es un potente vasodilatador y tiene un rol en la absorción y metabolismo de la glucosa inducido por insulina en el músculo esquelético. Los polimorfismos del gen eNOS se han asociado con una actividad alterada de eNOS y esto, con el desarrollo de diabetes mellitus post trasplante(88). El tacrolimus también puede producir toxicidad de las células β , reducir la síntesis o liberación

de insulina y disminuir la sensibilidad periférica a la insulina(89). Por esto mismo también producen toxicidad pancreática.

La pancreatitis se define como dolor abdominal, náuseas y vómitos acompañado de elevación de lipasa sérica >1000 U/L (normal 114–286) y elevación de la amilasa >100 U/l (normal 20–85)(90). Se descartan otras causas como obstrucción biliar extra hepática, hipercalcemia e hiperlipidemia, infecciones incluyendo CMV, herpes zoster, adenovirus, paperas, micoplasma y hepatitis viral.

La alopecia se define como una ausencia de crecimiento capilar registrado en los registros clínicos. La patogenia no ha sido dilucidada hasta el momento (91, 92).

Resulta interesante evaluar los eventos adversos a ICN en función de las características farmacocinéticas de ciclosporina y tacrolimus.

1.5 FARMACOCINÉTICA DE ICN Y MONITOREO TERAPEUTICO

Los fármacos inhibidores de calcineurina son altamente lipofílicos y su absorción oral es lenta e incompleta. Los alimentos causan una disminución clínicamente significativa en la concentración máxima y la exposición de los inhibidores calcineurínicos (ICN).

La biodisponibilidad oral de ciclosporina oscila entre el 10 y el 89% y se encuentra ampliamente distribuida en los tejidos periféricos. Su volumen de distribución es de 3 a 5 L/kg. En sangre se

distribuye aproximadamente un 41 a 58% unido a eritrocitos, 4 a 9% a linfocitos, 5 a 12% a granulocitos y un 33 a 47% distribuido en plasma. La ciclosporina se une principalmente a las lipoproteínas y secundariamente a la albúmina, en el plasma. Su fracción libre es el 10% (93).

La ciclosporina es ampliamente metabolizada en el hígado a través de la vía CYP3A y en menor medida se metaboliza en riñón y pared intestinal. Además es inhibidor y sustrato de CYP3A4 y del transportador de eflujo, la glicoproteína-P (93). Se han identificado al menos 25 metabolitos de la ciclosporina, algunos de los cuales son biológicamente activos, aunque su actividad es mucho menor (93). Son excretados extensamente en la bilis y en menor medida (6%) se excretan por orina. Los metabolitos recirculan en la sangre, vuelven al hígado, posteriormente se introducen en el árbol biliar y se dirigen al intestino donde pueden ser reabsorbidos (94, 95). El *clearance* de la ciclosporina es de 0,3 a 0,4 L/kg y la vida media oscila entre 5 y 27 h (93).

En cuanto a la farmacocinética de tacrolimus en pacientes pediátricos trasplantados renales el volumen de distribución del compartimento central (VC/F) fue de 22,7 L y el *clearance* aparente (CL/F) fue de 21,4 L/.h (96).

Por su parte, el tacrolimus presenta una gran variabilidad en los parámetros farmacocinéticos(97). La biodisponibilidad es pobre y variable reportándose un valor entre 5 y 93% (98).

El tacrolimus se une a proteínas en un 99%, principalmente albúmina y alfa-1-ácido glicoproteína, y a eritrocitos en sangre (99). Por dicho motivo, el efecto del hematocrito en una población trasplantada renal es significativo. Los valores bajos de hematocrito dan como resultado una fracción mayor de tacrolimus libre disponible para la distribución en los tejidos periféricos con consecuencias tales como neurotoxicidad o toxicidad hepática y función retardada del injerto (100-103).

En el hígado, el tacrolimus es ampliamente metabolizado por el CYP3A4 y el CYP3A5 (98 a 99%). La edad y el peso corporal también son covariables importantes en la variabilidad en el *clearance* (104). Además se describieron otros factores como el tipo de injerto, la actividad de la aspartato aminotransferasa (AST) y el tiempo transcurrido desde el trasplante. En particular, el polimorfismo de nucleótido único (SNP) altamente prevalente del CYP3A5 (6986A>G) es un factor importante que afecta al *clearance* de tacrolimus(95). El polimorfismo CYP3A5 se asoció significativamente con los requerimientos de dosis de tacrolimus. Los pacientes que expresan CYP3A5 (aquellos que portan el nucleótido A, definido como el alelo *1) tienen un 50% más de requerimiento de dosis que los no expresores (aquellos homocigotos para el nucleótido G, definido como el alelo *3) para alcanzar las mismas concentraciones sanguíneas de tacrolimus(105). Así, el genotipo del CYP3A del donante y del receptor del trasplante hepático puede diferir afectando la biodisponibilidad del tacrolimus. Además, otras enzimas metabolizadoras fueron implicadas en la variación en la biodisponibilidad de tacrolimus: POR, CYP3A7, receptor de pregnano X (PXR) y UDP-glucuronosiltransferasa (UGT). En los receptores de hígado pediátricos, la variación en la disposición de tacrolimus parece relacionada con el genotipo ABCB1(104, 106).

Más del 95% de los metabolitos de tacrolimus(13 y 31-desmetiltacrolimus) son eliminados por excreción biliar(107). Menos del 1% de la dosis administrada se excreta sin cambios en la orina y del 92,4% a 92,6% de la dosis recuperada se excreta en las heces. El *clearance* aparente en adultos trasplantados hepáticos es 26,5 L/h (DS 8,2) y el volumen de distribución aparente 399 L (DS 185) (108). La vida media de eliminación en el adulto varía de 8,7 a 37,9 horas (98). Específicamente, en una población de pacientes pediátricos con trasplante hepático, el volumen de distribución del compartimento central fue de 31,3 L y el *clearance* aparente 12,1L/h.

La variabilidad reportada en la farmacocinética de los ICN puede ser producto de diversos factores a ser tenidos en cuenta para ajustar la dosis y el esquema terapéutico de éstos fármacos tal de lograr una adecuada inmunosupresión post-trasplante. Los cambios en el desarrollo (ontogenia) de los parámetros fisiológicos y bioquímicos provocan diferencias en la absorción, distribución, metabolismo y *clearance* de un fármaco (109). Esta ontogenia a menudo hace que los resultados obtenidos en estudios realizados en pacientes trasplantados adultos no sean trasladables al paciente pediátrico. En general, la maduración tardía de las enzimas metabolizadoras del fármaco puede explicar la marcada toxicidad de los fármacos en los muy jóvenes por lo que se requieren regímenes de dosis apropiados según la edad. La biotransformación de fármacos es evidente para muchas enzimas metabolizadoras de Fase I (principalmente la oxidación) y de Fase II (conjugación) (110). Los cambios dependientes de la edad en la composición corporal alteran los espacios fisiológicos en los que puede distribuirse un fármaco. Los niños pequeños y recién nacidos presentan espacios corporales y de agua extracelular relativamente más grandes en comparación con adultos, junto con depósitos adiposos que tienen una proporción más alta de agua que lípido. Ello da lugar a niveles plasmáticos más bajos de fármacos en estos compartimentos cuando los fármacos se administran en base al peso. La influencia de la edad sobre el volumen aparente de distribución no es tan evidente para los fármacos lipofílicos, los que se distribuyen principalmente en el tejido (109). Por lo tanto la edad, el sexo, la raza, la función renal y la función hepática de los pacientes deben tenerse en cuenta para evitar malinterpretaciones del monitoreo terapéutico de fármacos(44).

Por todo lo dicho, para controlar la variabilidad, se realiza el monitoreo terapéutico de los ICN. El monitoreo terapéutico de fármacos (TDM) es una especialidad clínica multidisciplinaria que tiene como objetivo optimizar el cuidado del paciente individualizando el ajuste de dosis de un

fármaco (111). Se basa en la medición de las concentraciones del fármaco en fluidos biológicos para evaluar la correlación con la situación clínica del paciente y para ajustar la dosis o el intervalo posológico. El desafío más importante asociado con el uso clínico de ICN es lograr el equilibrio entre la eficacia y la toxicidad, y controlar la influencia de la medicación concomitante(112).

Se realiza monitoreo terapéutico de rutina de inhibidores calcineurínicos dadas las siguientes condiciones de dichos fármacos:

- 1) Existen grandes diferencias inter-individuales e intra-individuales en la farmacocinética de ICN.
- 2) Las concentraciones terapéuticas y tóxicas de los ICN son cercanas entre sí (estrecha ventana terapéutica).
- 3) Existe una asociación entre la concentración del ICN y el efecto farmacológico o el evento adverso. La baja exposición a ciclosporina se ha asociado con el rechazo agudo y/o crónico (14,15), mientras que la alta exposición sistémica a la ciclosporina se asocia con efectos adversos graves como hipertensión, diabetes mellitus post trasplante, dislipidemia, hipoperfusión renal intermitente, toxicidad aguda reversible como la fibrosis tubulointersticial irreversible (113-115). En el caso de tacrolimus, existe controversia respecto de si las concentraciones sanguíneas bajas pueden estar relacionadas con el desarrollo de rechazo de órganos en adultos, según se ha reportado en la literatura(116-120). Sin embargo la asociación entre concentraciones sanguíneas altas de tacrolimus y toxicidad es significativo, en particular nefrotoxicidad, el evento adverso más estudiado(99, 119-124).

- 4) Existen interacciones farmacológicas. Los pacientes trasplantados a menudo reciben tratamiento con múltiples fármacos. Los inhibidores de CYP3A tienen el potencial de disminuir el *clearance* de la ciclosporina. El diltiazem y la ciclosporina son ambos sustratos de CYP3A y la glicoproteína-P y el diltiazem es también un inhibidor de CYP3A y de la glicoproteína-P. Así, la administración de diltiazem concomitante a ciclosporina podría resultar en una disminución del metabolismo hepático e intestinal de la ciclosporina y un aumento de la biodisponibilidad de ciclosporina(125-127). Además, se demostró un *clearance* aparente menor de ciclosporina en casos de administración concomitante con azoles porque dichos antifúngicos son inhibidores del CYP3A4 y del metabolismo de ciclosporina(128). Respecto a tacrolimus, diversos fármacos que inhiben la actividad de la enzima CYP3A, incluyendo azoles, metilprednisolona y bloqueantes de los canales de calcio, pueden aumentar la exposición sistémica al ICN. Los fármacos que inducen la actividad de la enzima CYP3A, incluidos los antiepilépticos, pueden disminuir la exposición sistémica de tacrolimus(129, 130). También existen interacciones con alimentos como por ejemplo el jugo de pomelo y los inhibidores calcineurínicos (64, 65). Las interacciones farmacológicas entre los fármacos inmunosupresores, por ejemplo, la combinación de los glucocorticoides con ICN y micofenolato mofetilo o sódico, y la combinación de ICN con inhibidores de mTOR también conduce a nuevos rangos terapéuticos y nuevos riesgos en la seguridad y eficacia del tratamiento inmunosupresor(131).
- 5) Se requiere el monitoreo de la adherencia(132). El rechazo agudo asociado con la falta de adherencia a la medicación es una de las principales causas de pérdida de injertos en pacientes pediátricos con trasplante renal. Diversas herramientas pueden ayudar a

identificar la no adherencia, incluyendo el autoinforme, dispositivos electrónicos de monitoreo conectados a la tapa del medidor de medicamentos (MEMS) y el monitoreo del uso de medicamentos con recuentos de píldoras y recetas(133, 134).

- 6) Especialmente el monitoreo terapéutico es fundamental en la sustitución de marcas comerciales con medicamentos similares, ya que se pueden presentar distintos perfiles farmacocinéticos.

Además de lo comentado, se espera que en el futuro cercano se puedan incluir otros marcadores de inmunosupresión distintos a las concentraciones sanguíneas de fármacos como son los biomarcadores(44). Recientemente, se han identificado una serie de biomarcadores prometedores para determinar la reactividad del paciente contra el injerto, y que ayudan a evaluar el riesgo de rechazo y respuesta individual al fármaco, o que se correlacionan con la disfunción del injerto y el resultado clínico, con el fin de personalizar la inmunosupresión. Actualmente existen tres tipos de biomarcadores: (1) los asociados al riesgo de rechazo (alorreactividad/tolerancia), (2) los que reflejan la respuesta individual a los inmunosupresores y (3) los asociados con la disfunción del injerto. Los biomarcadores pueden usarse en combinación con TDM para lograr mejores resultados y mejorar la sobrevida a largo plazo del injerto(135).

En el monitoreo terapéutico de rutina de ciclosporina, se obtienen muestras de sangre para cuantificación de la concentración luego de 2 horas de la administración de ciclosporina (C2). Este tiempo de toma de muestra se correlaciona con el momento de máxima inhibición de la calcineurina(136). En el monitoreo terapéutico de rutina de tacrolimus, se obtienen muestras de sangre para cuantificación de la concentración previa a la administración de tacrolimus o bien denominada, concentración del fármaco alcanzada en el valle (C0) (137). Dicha correlación entre

las concentraciones sanguíneas C0 de tacrolimus y el ABC correspondiente ha sido descripta como moderada ($r^2 = 0,75$), en receptores pediátricos de trasplante renal en el período inicial post trasplante (138, 139). Por ello, en la mayoría de los centros de trasplante, se utiliza C0 para el monitoreo terapéutico de tacrolimus(137).

Por su parte otros estudios durante el período post-trasplante temprano de pacientes trasplantados renales en tratamiento con ciclosporina confirmaron que el ABC_{0-4} es más predictivo de rechazo que ABC_{0-12} y que C2 es el mejor correlato de punto único de ABC_{0-4} , con una correlación (r^2) de 0,83 a 0,85 (140, 141). Por lo tanto se utiliza C2 para el monitoreo terapéutico de ciclosporina, por ser el punto que mejor correlaciona con la evolución clínica del paciente en la predicción de rechazo.

Existen una gran cantidad de publicaciones con rangos terapéuticos de ICN recomendados, sin embargo cada centro consensua sus propios niveles(124, 142, 143). Particularmente en el HPJPG, las concentraciones de los inhibidores calcineurínicos se cuantifican en sangre entera por inmunología automática de quimioluminiscencia microparticulada (Architect®, Abbott, Chicago, Estados Unidos).

Los niveles de ciclosporina C2 definidos como objetivos para los pacientes trasplantados renales son de 1200-1500 ng/ml en los primeros tres meses post trasplante, 1000-1200 ng/ml desde el 3 al 6 mes post trasplante, 800 a 1000 ng/ml desde los 6 a 9 meses y 500-700 ng/ml desde los 9 a más de 12 meses post trasplante.

En aquellos pacientes trasplantados hepáticos en tratamiento con tacrolimus sin actividad infecciosa (carga viral menor a 4000 copias/ug DNA) y buena funcionalidad renal los niveles sanguíneos iniciales deseados son de 7 a 10 ng/ml durante el primer mes post trasplante, y luego 5-8 ng/ml hasta cumplido el año post trasplante. Por otro lado, aquellos pacientes con carga viral

superior a 4000 copias/ug DNA en dos muestras consecutivas o con evidencias clínicas de infección por EBV, se procede a una rápida reducción de la inmunosupresión buscando niveles de tacrolimus entre 4-6 ng/ml(144).

Sin embargo, el mejor parámetro farmacocinético de estimación de la exposición al fármaco es el área bajo la curva de concentración versus tiempo (ABC) por ser el que mejor identifica a los pacientes en situación de riesgo de pérdida del injerto o rechazo agudo (44, 102). Este parámetro farmacocinético es un mejor marcador de la exposición sistémica global a tacrolimus, pero es difícil de obtener usando un enfoque farmacocinético clásico debido a razones éticas en la obtención de múltiples muestras sanguíneas, especialmente en poblaciones pediátricas(96, 145-148). En el caso de ser factible la obtención de un perfil sanguíneo completo, se recurre al uso de estrategias de muestreo limitado para poder evaluar el ABC utilizando un número limitado de muestras, lo suficientemente informativas de la farmacocinética del fármaco (96). Asimismo, se utiliza en conjunto el análisis de los datos por un enfoque Bayesiano basándose en los datos farmacocinéticos del paciente, las características farmacocinéticas de una población típica similar al paciente, la variabilidad de los parámetros farmacocinéticos en la población estudiada y del método analítico de cuantificación de las muestras(149, 150).

El seguimiento estrecho del paciente se realiza utilizando las variables fisiológicas y fisiopatológicas del grupo de pacientes en estudio. Sin embargo existe una variabilidad adicional dada por la introducción de medicamentos similares de tacrolimus o ciclosporina, ya que la farmacotecnia de las formulaciones son asimismo variables que influyen sobre la farmacocinética de los fármacos.

INTERCAMBIO DE MEDICAMENTOS INMUNOSUPRESORES SIMILARES

La sustitución de medicamentos similares tiene el potencial de generar grandes ahorros de costos sobre todo en países en desarrollo y, por lo tanto, es un componente esencial para mantener una atención integral y equitativa dentro de los sistemas de salud pública, donde los recursos limitados deben estar distribuidos equitativamente(151-153). Para ciertas clases de medicamentos, los estudios de biodisponibilidad no muestran diferencias en los resultados entre los medicamentos similares y los innovadores, por lo que la sustitución de medicamentos no es una preocupación. La sustitución de fármacos de estrecho margen terapéutico como son los inhibidores calcineurínicos, es controvertida y aún objeto de debate científico entre miembros de las sociedades de trasplante del mundo (154-159).

En 2006, la OMS amplió la definición e indicó que los productos multi-fuentes son equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden ser equivalentes terapéuticos o no. Los productos farmacéuticos multi-fuentes que son equivalentes terapéuticos son intercambiables(160). La OMS llamó la atención sobre el hecho de que el significado del término “producto genérico” varía en diferentes jurisdicciones, por lo que ha evitado su uso a favor del término “multi-fuentes”. En Argentina se utiliza el término “medicamento similar” al producto que demuestra bioequivalencia con el innovador. La bioequivalencia se define como la ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y la medida en que el ingrediente activo o la fracción activa de equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas se hace disponible en el sitio de acción farmacológico cuando se administran en la misma dosis molar bajo condiciones similares en un estudio diseñado apropiadamente(161). Contiene sustancias terapéuticamente activas como base de su formulación, así como formas farmacéuticas, vías de

administración, posología, indicaciones, contraindicaciones, precauciones, advertencias, reacciones adversas, pruebas de disolución y otros datos correlativos semejantes al producto registrado en el país, pudiendo diferir en características tales como tamaño y forma, excipientes, período de vida útil y envase primario.

La introducción de medicamentos similares se centra en la caducidad de patentes de ciertos productos innovadores como los que contienen ciclosporina y tacrolimus. En Argentina, el sistema de salud incluye cobertura privada y pública. Alrededor del 20% de los pacientes de trasplante de órganos sólidos reciben fármacos inmunosupresores de su seguro privado, mientras que el 80% está cubierto por el gobierno nacional (Disposición Nacional 1071-1007)(162, 163). El Programa Nacional de Procuración de Órganos en Argentina provee gratuitamente a los pacientes que lo requieran los medicamentos inmunosupresores que ganan la licitación pública cada año. Este programa se encuentra bajo la órbita de la autoridad regulatoria sanitaria de Argentina la cual requiere que las compañías farmacéuticas que solicitan el registro de ciertos productos incluyendo los que contienen fármacos inmunosupresores, demuestren su calidad tanto *in vitro* (perfiles de disolución), como *in vivo* (estudios de bioequivalencia) (164-166).

Estos estudios farmacocinéticos, al realizarse sólo en voluntarios sanos, generan inquietudes en el equipo de salud médico acerca de la eficacia esperada y el patrón de eventos adversos e incluso la farmacocinética en la población(154, 155, 167). Específicamente, ha surgido un debate intenso acerca de la biodisponibilidad de las distintas marcas comerciales en pacientes(165, 166, 168-174). Si bien pueden estar reportados los perfiles de seguridad y eficacia de los productos innovadores, pueden aparecer nuevos perfiles de seguridad debido al cambio de excipientes y por lo tanto de las características farmacotécnicas. También pueden producirse interacciones fármaco-fármaco y fármaco-alimento cuando el producto similar se introduce en el mercado

exponiendo una gran cantidad de pacientes al medicamento. La *performance* de las nuevas formulaciones introducidas en el mercado en la población pediátrica también puede verse modificada, dado que se produce un nuevo estado estacionario. Por eso es fundamental realizar una estrecha vigilancia, de manera de garantizar una exposición adecuada cada vez que se sustituye la marca comercial entre el medicamento innovador y el similar.

En los estudios de bioequivalencia, los voluntarios sanos reciben una única dosis para el cálculo de la concentración máxima media (Cmax) y el área media bajo la curva (ABC). Las agencias internacionales de referencia discrepan en los criterios de autorización de nuevos medicamentos similares. La *Food and Drug Administration* (FDA) requiere que el intervalo de confianza del 90% del cociente entre las medias geométricas del similar y del innovador se encuentre comprendido entre 80 y 125% para el ABC y Cmax. Por otro lado, la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) recomendó un margen de aceptación para dicho intervalo de confianza entre 90 y 111% para ciertos medicamentos de dosis crítica, de los cuales el tacrolimus es un ejemplo (175, 176).

Existen distintas publicaciones de posición y guías de recomendación principalmente de sociedades científicas de trasplante que proponen las acciones a realizar en el caso de la sustitución de marcas de fármacos inmunosupresores en pacientes trasplantados (154, 155, 177).

En líneas generales, se recomienda el monitoreo cercano de los pacientes sujetos a sustitución entre marcas comerciales para asegurar que la exposición sistémica del inmunosupresor se mantenga acorde a las concentraciones sanguíneas pre-conversión en las cuales se ha estabilizado al paciente (154, 155). Además se refuerzan las actitudes y acciones que deben ser tomadas en cuenta por el equipo de atención de salud para el bienestar del paciente. Específicamente en este contexto, son muy recomendables los estudios farmacocinéticos para el

control clínico de rutina(145, 154, 155). Hasta el momento de la escritura de la presente tesis doctoral, los reportes publicados provienen exclusivamente de pacientes adultos y es limitada la información disponible en pediatría (148, 151, 154, 168-170, 174, 178, 179). A pesar de las opiniones encontradas, es fundamental generar evidencia científica acerca del impacto de la introducción de medicamentos similares en la terapéutica de rutina de los pacientes del HPJPG más allá de situaciones supuestas.

En Argentina y en la región Latinoamericana son muy limitados los reportes de seguridad de la conversión de medicamentos similares de inhibidores calcineurínicos, considerando la estrecha ventana terapéutica, la gran variabilidad inter-individual en la farmacocinética y farmacodinamia de los fármacos inmunosupresores, la vulnerabilidad de la población a quien va dirigida la terapéutica y en particular en la población pediátrica trasplantada(154, 155). Más aún, este tipo de reportes es escaso a nivel mundial. Por ello, sería de utilidad desarrollar un sistema de farmacovigilancia intensiva de ICN en dicha población reuniendo información acerca de la seguridad y eficacia así como datos sobre la exposición sistémica de los ICN. Por todo lo anterior, se concluye que es fundamental generar un sistema de farmacovigilancia en el ámbito de uno de los principales centros hospitalarios de trasplante pediátrico como se expone en el **capítulo 2**.

Además, el desarrollo de dichos eventos de interés se ve afectado por muchos factores relacionados a la medicación, a variables demográficas, clínicas pre y post trasplante, antropométricas, genéticas y bioquímicas, incluso las variables relacionadas con el medicamento (innovador o genérico), son todos factores inter-relacionados (99, 116, 180-184). Por lo tanto,

resulta interesante evaluar el impacto de estas variables sobre la seguridad y eficacia del tratamiento con tacrolimus (**capítulo 3**).

Por último resulta interesante evaluar conjuntamente la relación entre la eficacia clínica y seguridad al realizar el intercambio de formulaciones de un mismo fármaco (ciclosporina o tacrolimus) de diferentes marcas comerciales siguiendo recomendaciones internacionales (**capítulo 4**)(154, 155). Se destaca la participación activa de los farmacéuticos clínicos quienes juegan un rol especial en el monitoreo terapéutico de rutina con el fin de individualizar y optimizar los regímenes terapéuticos en una variedad de situaciones clínicas en base a su conocimiento sobre la farmacología y específicamente sobre la farmacocinética.

1.6 HIPÓTESIS GENERAL

El monitoreo intensivo de inhibidores calcineurínicos mediante farmacovigilancia intensiva y farmacocinética en la rutina clínica posterior al trasplante renal y hepático en pediatría permitiría conocer los perfiles de seguridad y eficacia de dichos fármacos inmunosupresores en la población vulnerable en estudio.

1.7 OBJETIVO GENERAL

Esta tesis tiene como objetivo general estudiar la seguridad y eficacia del uso de inhibidores calcineurínicos y caracterizar la farmacocinética en determinadas situaciones clínicas en la población pediátrica trasplantada renal y hepática.

CAPITULO 2 SEGURIDAD Y EFICACIA DEL TRATAMIENTO CON INHIBIDORES CALCINEURÍNICOS EN TRASPLANTE RENAL Y HEPÁTICO PEDIÁTRICO

2.1 INTRODUCCIÓN

A pesar del desarrollo en las técnicas quirúrgicas en trasplante renal y hepático pediátrico lo cual ha permitido aumentar la tasa de sobrevida, es necesario mejorar la calidad de vida del paciente a largo plazo (63). El tratamiento farmacológico inmunosupresor se fundamenta en evitar el rechazo agudo y crónico pero asimismo es fundamental controlar la aparición de eventos adversos para favorecer la aceptación por el paciente del tratamiento y fundamentalmente mejorar la calidad de vida. Para lograr esta situación y que sea adecuada individualmente en cada paciente, es que el monitoreo terapéutico cobra importancia fundamental en la rutina post-trasplante (185-187).

Como se detalló en el **capítulo 1**, se reportaron una serie de eventos adversos graves y prevalentes por el uso de inhibidores calcineurínicos (ICN) que causan una importante morbi-mortalidad de la población pediátrica. Más aun, ésta población es particularmente vulnerable debido a los cambios en el metabolismo y en los requerimientos de dosis que afectan la farmacocinética y farmacodinamia (eficacia y seguridad) de los medicamentos administrados(44, 109). Incluso los niños más pequeños tienen características que dificultan la administración oral y requieren adaptación del esquema inmunosupresor. Por ello, es de fundamental importancia registrar la incidencia de las reacciones adversas y estudiar la causalidad y severidad en la población pediátrica(129, 188-192). En Argentina y en la región Latinoamericana son muy

limitados los reportes de seguridad del tratamiento inmunosupresor con inhibidores de calcineurina en el trasplante pediátrico de órgano sólido. Por ello, sería de utilidad en el tratamiento inmunosupresor del trasplantado pediátrico contar con la información acerca de la seguridad y eficacia así como datos sobre la exposición sistémica de los ICN.

Por otro lado, es importante definir la vía de administración según las formas farmacéuticas disponibles en el mercado y la situación clínica del paciente (por ej., si puede deglutir). El tacrolimus administrado por vía oral presenta una absorción baja y la biodisponibilidad se reduce aún más tras el trasplante, debido a la insuficiencia gastrointestinal, la oclusión intestinal, esofagectomía/gastrectomía, posibles problemas de motilidad digestiva, shock séptico y alteración pulmonar(193) (como se describió en el **capítulo 1**). Los niños muy pequeños sometidos a trasplante hepático secundario a atresia de vías biliares, tienen dificultades en el post quirúrgico para deglutir las cápsulas debido a su corta edad, ventilación mecánica y/o sedoanalgesia. En estas situaciones, la administración intravenosa (IV) de inmunosupresores podría ser necesaria para prevenir el fracaso del tratamiento. Sin embargo, raramente se utiliza la vía IV para la administración de tacrolimus debido a sus eventos adversos graves como anafilaxia y neurotoxicidad. Además, la administración IV es más costosa que otras vías de administración [7, 8]. En el contexto clínico de éstos pacientes que no pueden deglutir y necesitan recibir el inmunosupresor, una vía de administración válida es la sublingual (SL). Esta vía de administración se incluyó entre las prácticas clínicas en HPJPG a partir del año 2014 basado en reportes previos que comentan el uso con éxito de la vía sublingual para la administración de tacrolimus en pacientes adultos con trasplante de pulmón(194, 195). Sin embargo, hasta el momento no se han reportado estudios acerca de la seguridad y eficacia de la

administración sublingual de tacrolimus en pacientes pediátricos con dificultad para deglutir las cápsulas de tacrolimus debido a su edad, ventilación mecánica y/o sedoanalgesia(196).

2.2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis: El desarrollo e implementación de un programa de vigilancia intensiva de inhibidores calcineurínicos, permitiría caracterizar la seguridad del uso de dichos inmunosupresores en la rutina clínica post trasplante de pacientes pediátricos trasplantados renales y hepáticos

En este contexto, los objetivos específicos del presente capítulo fueron:

1. Desarrollar e implementar un sistema de farmacovigilancia intensiva de ciclosporina y tacrolimus en pacientes pediátricos trasplantados renales y hepáticos, complementario al sistema de farmacovigilancia del HPJPG.
2. Evaluar los resultados de seguridad de ciclosporina en pacientes trasplantados renales en el HPJPG en el periodo 2010-2012, obtenidos mediante farmacovigilancia intensiva.
3. Evaluar los resultados de seguridad de tacrolimus en pacientes trasplantados hepáticos en el HPJPG en el periodo 2010-2012, obtenidos mediante farmacovigilancia intensiva.
4. Evaluar la relación entre los resultados de seguridad de ciclosporina y tacrolimus y las concentraciones sanguíneas del inmunosupresor.
5. En una sub-población de pacientes con trasplante hepático secundario a atresia de vías biliares, analizar los parámetros clínicos, bioquímicos, de exposición sistémica y de seguridad de la administración sublingual de tacrolimus durante el post trasplante inmediato.

2.3 MATERIALES Y MÉTODOS

Las evaluaciones realizadas en el presente capítulo se enmarcaron dentro de los protocolos de investigación #670, #889 y #970, presentados y aprobados por el Comité Revisor de Investigación del HPJPG y dan origen a este capítulo de tesis. Una copia de los protocolos y los consentimientos informados se adjunta en el **Apéndice**.

La implementación del sistema de farmacovigilancia intensiva se llevó a cabo según lo descrito en el **capítulo 1**.

2.3 A) ESTUDIO DE SEGURIDAD DE CICLOSPORINA Y TACROLIMUS: CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los pacientes incluidos presentaron los siguientes criterios de inclusión:

- Pacientes menores de 17 años
- Pacientes que recibieron un primer trasplante renal o hepático entre los años 2010 y 2012 en el HPJPG
- Pacientes que sobrevivieron al menos un mes post trasplante.
- Pacientes cuyas historias clínicas estuvieran disponibles en el archivo del HPJPG.
- Asimismo, se incluyeron aquellos pacientes que se trasplantaron fuera del periodo 2010-2012, y que por presentar complicaciones, fueron presentados en los ateneos que realiza semanalmente el servicio de Trasplante hepático y renal para tratar las complicaciones que presenta cualquier paciente, ya sea ingresado o ambulatorio.

Se excluyeron:

- Pacientes con trasplante hepatorenal.
- Pacientes que no presentaran una adherencia aceptable.

El seguimiento de los pacientes se realizó durante dos años posterior al trasplante excepto en aquellos casos en los que por diferentes motivos se interrumpió el tratamiento con el inmunosupresor incluyendo: mayoría de edad y derivación a otro centro de salud, mudanza del paciente a otro distrito, eventos adversos y suspensión del inhibidor calcineurínico, cambio a otro fármaco inmunosupresor.

Los esquemas de tratamiento con inmunosupresores que recibieron los pacientes, son los descritos en el **capítulo 1** para todos los pacientes con trasplante renal y hepático del HPJPG.

2.3 B) ESTUDIO DE LA SEGURIDAD Y EFICACIA DE LA ADMINISTRACIÓN SUBLINGUAL DE TACROLIMUS: CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Se incluyeron:

- Pacientes trasplantados en 2014-2015 con diagnóstico de atresia de vías biliares.
- Pacientes hospitalizados en la UCI (Unidad de Cuidados Intensivos) desde el post trasplante inmediato hasta el egreso a una sala de cuidados intermedios.
- Pacientes cuya vía enteral se encuentra impedida debido a la ventilación mecánica, sedoanalgesia y/o dificultades para deglutir la cápsula comercial que contiene tacrolimus.

Se excluyeron:

- Pacientes con retrasplante.
- Pacientes con sobrevida menor a 20 días post trasplante.

TÉCNICA DE ADMINISTRACIÓN SUBLINGUAL

La técnica de administración sublingual se realiza de rutina por el servicio de enfermería según se describe a continuación:

- 1) Se recambian guantes.
- 2) Se higieniza la cavidad bucal con clorhexidina 0,12%, suspensión.
- 3) Se realiza un enjuague de la cavidad bucal con agua y luego se aspiraran líquidos y secreciones de la misma.
- 4) Posteriormente, se abre la capsula y se controla que todo el contenido se encuentre dentro de la cobertura.
- 5) Se coloca el polvo debajo de la lengua del paciente, verificando que todo el contenido de la capsula no se desborde de la cavidad bucal.
- 6) Se cierra la boca del paciente, y se espera por lo menos 1 hora hasta que se absorba.
- 7) En el caso que se pierda parte del contenido de la capsula por derrame, se administra una nueva dosis. Asimismo, si luego de 1 hora no se absorbe por vía sublingual, se administra una nueva dosis.

2.3 C) VARIABLES OPERATIVAS

Para la implementación del sistema de farmacovigilancia intensiva se llevaron registros confiables de datos y luego se generaron planillas de cálculo en Excel reuniendo información de distintas fuentes y completando las siguientes covariables: fecha de nacimiento, fecha de trasplante, fecha del evento adverso, diagnóstico, peso del paciente, sexo, tipo de donante, concentraciones sanguíneas previas y durante el evento adverso, dosis de ICN, inmunosupresores del esquema terapéutico, tratamiento de inducción, clasificación del evento adverso por causalidad y severidad. En todos los casos, se consensuaron las variables operativas con el equipo médico, a los fines de asegurar clínicamente la validez de los registros, como se describió en el **capítulo 1**, descripción operativa de eventos adversos.

En el monitoreo terapéutico de rutina de tacrolimus se obtuvieron muestras de sangre previo a la administración de tacrolimus (C0) o 2 horas posteriores a la administración de ciclosporina (C2) como se describe en el **capítulo 1**.

Los eventos adversos se evaluaron según las definiciones detalladas en el **capítulo 1**.

La incidencia de los eventos adversos se evaluó en función del tiempo post trasplante. Así, los periodos analizados fueron 0-3, 3-6, 6-12 y 12-24 o más de 24 meses posteriores al trasplante renal o hepático.

RELACIÓN ENTRE CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS DE ICN Y EVENTOS ADVERSOS

En aquellos pacientes en los que estuvo disponible la información, se describió la exposición al ICN mediante las concentraciones sanguíneas, las concentraciones normalizadas por la dosis y el coeficiente de variación porcentual del cociente entre la concentración sanguínea y la dosis (CV%) en diferentes periodos post trasplante: 0-3, 3-6, 6-12 y 12->24 meses post trasplante (197). Se evaluó la relación entre la incidencia de los eventos adversos y la edad o bien la exposición sistémica al ICN obtenidas durante los 7 a 10 días previos al evento adverso y se compararon con respecto a los niveles registrados durante los 10-60 días previos al evento adverso.

VARIABLES OPERATIVAS DEL ESTUDIO DE LA ADMINISTRACIÓN SUBLINGUAL DE TACROLIMUS

Para el estudio de la seguridad y eficacia de la administración sublingual de tacrolimus se registraron las características demográficas de la población en estudio, tratamiento inmunosupresor, tipo de donante y de injerto, y variables de laboratorio incluyendo creatinina sérica y uremia. Se estudiaron los episodios de rechazo agudo confirmados por biopsia y los eventos adversos a tacrolimus según lo descrito en el **capítulo 1**.

También se registraron las dosis de tacrolimus administradas por vía sublingual, concentraciones sanguíneas alcanzadas en el valle (C₀) y concentraciones sanguíneas normalizadas por la dosis (C₀/Dosis) del ICN. Asimismo, se evaluó la variabilidad en la exposición a tacrolimus en las

primeras dos semanas post trasplante, a través del número de ajustes de dosis necesarios para alcanzar el nivel de C0 de tacrolimus óptimo según definición clínica de 7-8 ng/ml(198). Además, se midió la variabilidad a través del tiempo (días) que requirió el paciente para alcanzar dicho valor de C0 objetivo. Por último se midió la variabilidad a través del coeficiente de variación porcentual de las concentraciones sanguíneas de tacrolimus obtenidas en el valle (C0 CV%).

Asimismo, se registraron las complicaciones quirúrgicas graves, que incluyeron las re-operaciones post trasplante y las intervenciones quirúrgicas, según la definición de Clavien y col (199).

En esta población de pacientes fue importante evaluar, a diferencia de las poblaciones descritas en otras secciones de la presente tesis doctoral, las interacciones farmacológicas ya descritas específicamente como interacciones en la farmacocinética de tacrolimus (**capítulo 1**) incluyendo las interacciones con azoles, macrólidos y esteroides.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el estudio de los eventos adversos en pacientes trasplantados renales y hepáticos, se realizó un análisis estadístico descriptivo de las variables continuas, utilizando medidas de tendencia central (mediana) y de dispersión (rangos).

La comparación estadística entre tasas de incidencia de eventos adversos en distintos subgrupos de pacientes (agrupados por ejemplo, por edad) se realizó mediante el test de comparación de proporciones, asumiendo un valor de $p < 0,05$ para significancia estadística(200).

La comparación de C₀/dosis de tacrolimus entre los diferentes intervalos post trasplante se llevó a cabo utilizando el ANOVA no paramétrico Kruskal-Wallis y la prueba de comparaciones múltiples de Dunn (200).

La media de los valores de C₀ fue registrada antes y durante cada evento adverso de nefrotoxicidad e hipomagnesemia para tacrolimus y para hipertensión y nefrotoxicidad para ciclosporina. Se utilizó el test de Wilcoxon para muestras pareadas para el análisis estadístico(200).

La comparación de las concentraciones sanguíneas de tacrolimus administrado por vía sublingual en ausencia y presencia de fármacos que interactúan con la farmacocinética de tacrolimus se evaluó mediante la prueba de muestras pareadas de Wilcoxon (200).

2.4 RESULTADOS

2.4 A) RESULTADOS DEL PROGRAMA DE FARMACOVIGILANCIA

El primer objetivo se centró en desarrollar y establecer adecuadamente el programa de vigilancia intensiva de inhibidores calcineurínicos en la población pediátrica trasplantada renal y hepática del HPJPG. El resultado de las actividades desarrolladas permitió establecer dicho programa a través del análisis retrospectivo de historias clínicas y el seguimiento prospectivo de los pacientes presentados en los ateneos semanales de los servicios de trasplante. Asimismo, se generaron vías de comunicación con miembros del equipo de salud multidisciplinario, incluyendo médicos y farmacéuticos de las salas de internación de trasplante hepático y renal, que alertaban ante la presencia de un nuevo episodio de evento adverso a inmunosupresores, tanto en pacientes internados como ambulatorios, a través de llamados a la Unidad de Farmacocinética Clínica. Posteriormente, se estudió y se realizó el seguimiento de cada caso individualmente hasta poder confirmar el evento adverso, completando con datos de bibliografía e incluso, discutiendo en ateneos. Una vez confirmado el episodio, y con la clasificación por causalidad y severidad, se confeccionó la ficha amarilla para cada evento adverso para informar al Sistema Nacional de Farmacovigilancia de ANMAT.

2.4 B) FARMACOVIGILANCIA INTENSIVA DE CICLOSPORINA EN TRASPLANTE RENAL

En el presente estudio se analizaron 25 pacientes pediátricos con trasplante renal. Las características demográficas de la población en estudio se encuentran descritas en la **Tabla 2**. Las niñas comprendieron el 48% de los trasplantes renales evaluados. El tiempo de seguimiento de los pacientes trasplantados renales fue de (mediana, rango) 24,7 meses (9,1-102,1). El seguimiento de los pacientes trasplantados renales fue menor a dos años en cuatro pacientes por los siguientes motivos: nefrotoxicidad a ciclosporina y rotación del inmunosupresor (n=1), falta de disponibilidad de historias clínicas (n=1), mudanza a otro distrito (n=1) y por PTLD que requirió el cambio a otro inmunosupresor (n=1). Ningún paciente falleció durante el periodo de seguimiento.

TABLA 2. CARACTERÍSTICAS DE LA POBLACIÓN TRASPLANTADA RENAL

Pacientes trasplantados Renales	
Total de sujetos analizados	25
Edad (años)	9,8 (3,4-17,9) ^a
Sexo (niñas)	12 (48%)
Peso (kg)	23,1 (14,8-50,0) ^a
Tiempo de seguimiento (meses)	24,7 (9,1-102,1) ^a
Tipo de donante	
Fallecido	22 (88%)
Vivo relacionado	3 (12%)
Diagnóstico	
malformaciones de riñón y vía urinaria	7 (28%)
Síndrome urémico hemolítico	5 (20%)
otras glomerulopatías	7 (28%)
glomerulosclerosis focal y segmentaria	1 (4%)
causa desconocida	5 (20%)
Terapia inmunosupresora (n=25)	
Ciclosporina	25 (100%)
Basiliximab	3 (12%)
Timoglobulina	21 (84%)
Meprednisona	25 (100%)
Micofenolato sódico	21 (84%)
Azatioprina	3 (12%)

^aLos datos se encuentran expresados como mediana (rango).

Respecto de la incidencia de eventos adversos a ciclosporina fue de 39 eventos en 25 pacientes. En total, el 72% (18/25) de los pacientes presentaron al menos un evento adverso durante el período de seguimiento.

En la **Tabla 3** se describe la incidencia de eventos adversos para ciclosporina en pacientes con trasplante renal en función del tiempo post trasplante.

TABLA 3. EVENTOS ADVERSOS A CICLOSPORINA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TRASPLANTE RENAL

Evento adverso	Ciclosporina en trasplante renal n=(25)				Incidencia Total
	Tiempo de tratamiento post trasplante (meses)				
	0-3	3-6	6-12	12- >24	
Hipertensión	3 (12%)	5 (20%)	4 (16%)	2 (8%)	56%
Hipomagnesemia	2 (8%)	-	1 (4%)	1 (4%)	16%
Hipertrofia gingival	1 (4%)	2 (8%)	1 (4%)	4 (16%)	32%
Hirsutismo	3 (12%)	1 (4%)	2 (8%)	1 (4%)	28%
Nefrotoxicidad	4 (16%)	-	1 (4%)	-	20%
PTLD	-	-	-	1 (4%)	4%
Tiempo de seguimiento (meses)	24,7 (9,1-102,1)				

Abreviaturas: PTLD: enfermedad linfoproliferativa post trasplante; n: número de pacientes. Entre paréntesis se expresa la incidencia del evento.

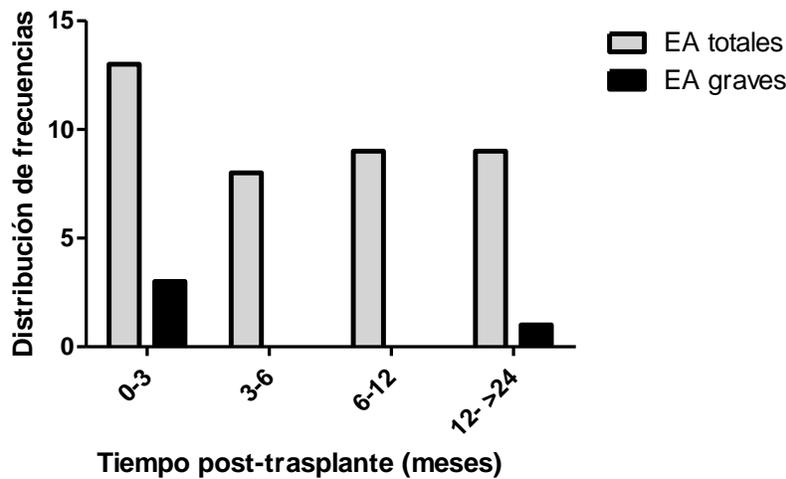
En la asignación de causalidad por algoritmo de Naranjo, el 90% de los eventos adversos a ciclosporina fueron agrupados como probables y el 10% como definitivos.

Por otro lado, de acuerdo a la severidad de los eventos adversos registrados, el 69% de los eventos adversos a ciclosporina han sido clasificados como moderados o graves.

La distribución de eventos adversos a ciclosporina en pacientes trasplantados renales se observa en la **Figura 1**. También se observa la discriminación de los eventos adversos graves en cada

periodo post trasplante, que incluyeron enfermedad linfoproliferativa post trasplante (PTLD) en el segundo año de seguimiento (n=1) y nefrotoxicidad en el primer trimestre (n=3).

FIGURA 1. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE EVENTOS ADVERSOS A CICLOSPORINA EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA TRASPLANTADA RENAL.



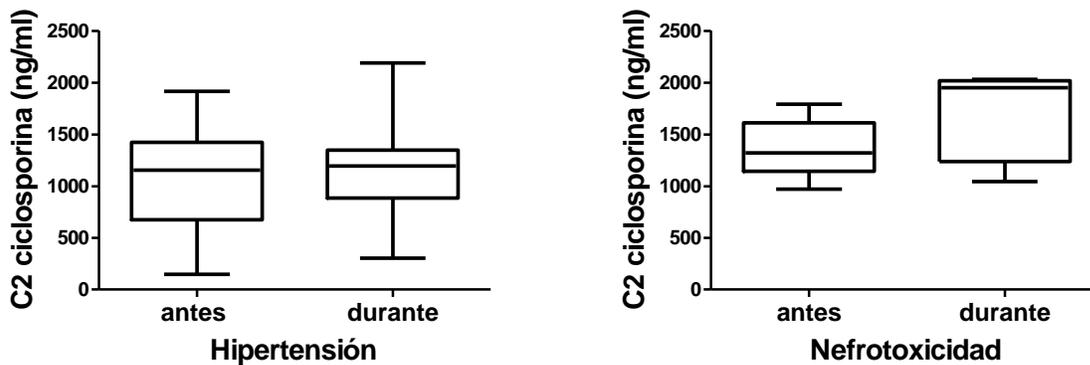
EA: Eventos adversos

Específicamente, con respecto a la incidencia de PTLD como evento adverso grave, se observó sólo un caso en los 25 pacientes trasplantados renales luego de más de 12 meses de tratamiento con el ICN y a una edad de 11,8 años.

En la población pediátrica trasplantada renal en tratamiento con ciclosporina se analizaron los eventos adversos más frecuentes entre los registrados mediante el sistema de farmacovigilancia intensiva: nefrotoxicidad (n=5) e hipertensión (n=14). Los valores de C2 previo y durante el desarrollo de hipertensión y nefrotoxicidad se registraron, no observándose una diferencia estadísticamente significativa entre la media de ambos valores ($p>0,05$) (**Figura 2**). Sin embargo se observa una leve tendencia hacia concentraciones sanguíneas más altas durante el desarrollo

del evento adverso. Los valores de C2 (mediana, rango) antes y durante el desarrollo de hipertensión fueron 1153 ng/ml (146-1916) y 1196 ng/ml (304-2191), respectivamente ($p>0,05$). En cuanto a los valores de C2 (mediana, rango) antes y durante el desarrollo de nefrotoxicidad los valores fueron 1321 ng/ml (972-1790) y 1952 ng/ml (1042-2033), respectivamente ($p>0,05$).

FIGURA 2. EXPOSICIÓN A CICLOSPORINA PREVIO Y DURANTE LA HIPERTENSIÓN Y NEFROTOXICIDAD



En el análisis de la relación entre el desarrollo de eventos adversos y la edad de los pacientes se observó que aquellos pacientes que desarrollaron al menos un evento adverso tenían 10,1 años (3,4-17,9), mientras que los que no desarrollaron ningún evento adverso tuvieron 9,5 años (3,5-17,9), no observándose una diferencia estadísticamente significativa entre ambos grupos ($p>0,05$).

2.4 C) FARMACOVIGILANCIA INTENSIVA DE TACROLIMUS EN TRASPLANTE HEPÁTICO

En el marco del trabajo de tesis doctoral, se analizaron 72 pacientes pediátricos con trasplante hepático. Las características demográficas de la población en estudio se encuentran descriptas en la **Tabla 4**. Las niñas comprendieron el 63% de los trasplantes hepáticos. El tiempo de seguimiento de los trasplantados hepáticos fue de (mediana, rango) 23,8 meses (1,1-31,5). El seguimiento de los pacientes fue menor a dos años en 14 pacientes por distintos motivos incluyendo: derivación a otro centro de salud o traslado a otro distrito (n=2), óbitos (n=5), enfermedad linfoproliferativa post trasplante (PTLD) que requirió el cambio de inmunosupresor (n=1), rechazo crónico y cambio del inmunosupresor (n=1), suspensión del tratamiento por infección con Epstein Barr Virus (n=3) o por la falta de disponibilidad de historias clínicas (n=2). Las causas de óbito de los 5 pacientes descriptos fueron: infección por CMV (n=2) y sepsis junto a replicación viral de CMV y/o EBV (n=3).

Tabla 4. Características de la población trasplantada hepática

Pacientes trasplantados Hepáticos	Valor
Total de sujetos analizados	72
Edad (años)	2,1 (0,5-17,6) ^a
Sexo (niñas/niños)	45/27 (63% / 37%)
Peso (kg)	13,1 (6,0-84,5) ^a
Tiempo de seguimiento (meses)	23,8 (1,1-31,5) ^a
Tipo de donante	
Fallecido	53 (74%)
Vivo relacionado	19 (26%)
Tipo de injerto	
Completo	26 (36%)
Variante técnica	46 (64%)
Diagnóstico	
Atresia de vías biliares	29 (40,3%)
Falla hepática fulminante	14 (19,4%)
Cirrosis colestática ^b	7 (9,7%)
Cirrosis hepática: autoinmune y criptogénica	12 (16,6%)
Malignidades ^c	7 (9,7%)
Enfermedades metabólicas: Falla hepática metabólica	3 (4,2%)
Terapia inmunosupresora (n=72)	
Basiliximab	52 (72%)
Tacrolimus	72 (100%)
Meprednisona (1,25-3,75 mg/kg/d)	39 (54%)
Micofenolato sódico (20-40mg/kg/d)	34 (47%)
Azatioprina	6 (8%)
Sirolimus	5 (7%)

^aLos datos se expresan como mediana (rango).

^bIncluye Síndrome de Alagille, fibrosis hepática congénita, colangitis esclerosante.

^c Incluye hepatoblastoma y carcinoma hepatocelular.

En el grupo de pacientes analizados, se observaron 69 eventos en 72 pacientes. El 64% (46 pacientes de un total de 72) de los pacientes experimentaron al menos un evento adverso durante el periodo de seguimiento.

En la **Tabla 5** se presenta la incidencia de eventos adversos para tacrolimus en pacientes con trasplante hepático en función del tiempo post trasplante.

TABLA 5. EVENTOS ADVERSOS A TACROLIMUS EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TRASPLANTE HEPÁTICO.

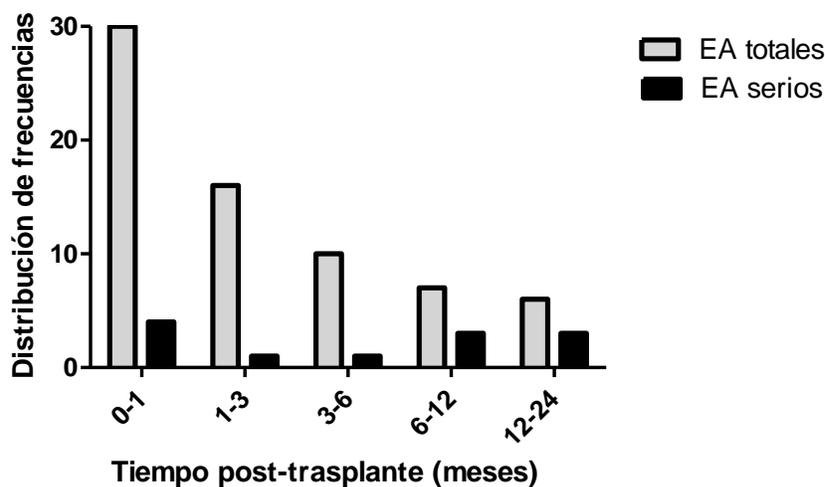
Evento adverso	Tiempo post trasplante (meses)				Incidencia total
	0-3	3-6	6-12	12- >24	
Hipomagnesemia	28 (38,9%)	3 (4,2%)	3 (4,2%)	1 (1,4%)	48,6%
Nefrotoxicidad	11 (15,3%)	2 (2,8%)	1 (1,4%)	2 (2,8%)	22,2%
Hipertensión	3 (4,2%)	1 (1,4%)	-	-	5,6%
Temblor	2 (2,8%)	-	1 (1,4%)	1 (1,4%)	5,6%
Pancreatitis	1 (1,4%)	-	-	-	1,4%
PTLD	-	1 (1,4%)	1 (1,4%)	2 (2,8%)	5,6%
Anemia	-	1 (1,4%)	-	-	1,4%
Hiperglucemia	1 (1,4%)	1 (1,4%)	-	-	2,8%
Colestasis	-	-	1 (1,4%)	-	1,4%
Alopecia	-	1 (1,4%)	-	-	1,4%
Tiempo de seguimiento (meses)	23,8 (1,1-31,5)				

Abreviaturas: igual a Tabla 4. Total de pacientes analizados: 72.

En la asignación de causalidad por algoritmo de Naranjo, el 11% de los eventos adversos a tacrolimus fueron posibles, 80% fueron probables y 9% fueron definitivos, mientras que el 43,5% de los eventos adversos se clasificaron moderados o graves.

Los eventos adversos graves a tacrolimus fueron frecuentes en el primer trimestre post trasplante, incluyendo nefrotoxicidad (n=2), hipomagnesemia (n=1) y temblor (n=1). En el periodo 3-6 meses post trasplante se observó un evento adverso grave (nefrotoxicidad). En el periodo de 6-12 y 12- >24 meses post trasplante, la incidencia fue de 3 eventos adversos graves en cada uno de los periodos, incluyendo (número de casos) PTLD (n=3), hipomagnesemia (n=2) y colestasis (n=1). Además, en el análisis de la distribución de los eventos adversos, se observó una frecuencia decreciente a medida que aumentó el tiempo postoperatorio (**Figura 3**).

FIGURA 3. DISTRIBUCIÓN DE FRECUENCIAS DE EVENTOS ADVERSOS A TACROLIMUS EN LA POBLACIÓN PEDIÁTRICA TRASPLANTADA HEPÁTICA



EA: Eventos adversos

En total, 4 pacientes tratados con tacrolimus desarrollaron PTLD. La mediana (rango) de tiempo de presentación de PTLD fue de 13,5 meses (4.9-19.4) post trasplante y la edad mediana (rango) de dichos pacientes fue de 1,4 años (0,8-1,6).

La mediana (rango) de las concentraciones sanguíneas de tacrolimus normalizadas por la dosis (C0/Dosis) y los niveles de C0 fueron significativamente distintos al comparar entre periodos de tiempo post trasplante ($p < 0,0001$). Específicamente, los valores de C0/Dosis obtenidos en el período 0-3 meses post trasplante fueron significativamente diferentes a los periodos 6-12 y 12->24 meses ($p < 0,05$). Sin embargo, los valores de C0/Dosis no mostraron diferencias significativas entre los periodos 0-3 y 3-6 meses post trasplante ($p > 0,05$). Por otro lado, los valores de C0 del periodo 0-3 meses post trasplante fueron significativamente diferentes al resto de los periodos ($p < 0,05$). Finalmente, el coeficiente de variación porcentual (CV%) no mostró diferencias estadísticamente significativas entre los periodos en estudio ($p > 0,05$). En la **Tabla 6** se observan los valores de C0, C0/Dosis para cada periodo así como el coeficiente de variación porcentual (CV%).

TABLA 6. EXPOSICIÓN SISTEMICA A TACROLIMUS Y VARIABILIDAD EN FUNCIÓN DEL PERIODO POST TRASPLANTE.

Periodo post trasplante (meses)	C0 (ng/mL)	C0/Dosis (ng/mL)/(mg/kg)	CV% de C0/Dosis (%)
0-3	6,3(1,0-30,9) ^a	84,9 (4,0-8204,0) ^c	33,3 (2,2-117,1)
3-6	6,1(1,0-21,8) ^a	115,2 (11,3-6026) ^b	31,2 (1,7-115,7)
6-12	5,7(1,0-35,8) ^b	120,3 (17,3-3073) ^b	32,4 (1,3-124,9)
12- >24	5,0(1,0-19,2)	149,6 (10,0-11093)	32,3 (3,0-118,5)

Los datos se expresan como mediana (rango)

Abreviaturas: C0: concentración sanguínea de tacrolimus; CV: coeficiente de variación porcentual; Dosis: dosis de tacrolimus corregida por el peso corporal.

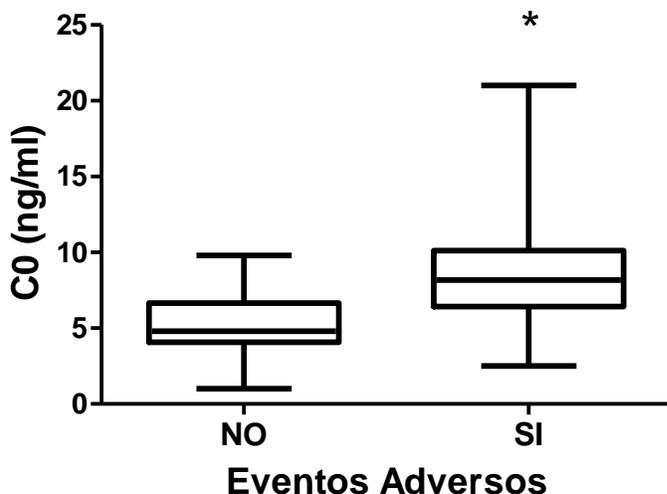
^a p<0,05, respecto de los periodos 6-12 y 12->24.

^b p<0,05 respecto del periodo 12->24 meses.

^c p<0,05, respecto de los periodos 3-6, 6-12 y 12->24.

Es interesante mencionar que los pacientes que desarrollaron al menos un evento adverso a tacrolimus mostraron un valor de C0/Dosis mayor que aquellos pacientes que no desarrollaron ningún evento adverso. Específicamente, los valores en mediana (rango) de C0 fueron de 8,2ng/ml (2,5-21,0) y 4,8ng/ml (1,0-9,8), respectivamente (p<0,0001). (**Figura 4**).

FIGURA 4. CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS DE TACROLIMUS EN PACIENTES QUE DESARROLLAN O NO EVENTOS ADVERSOS

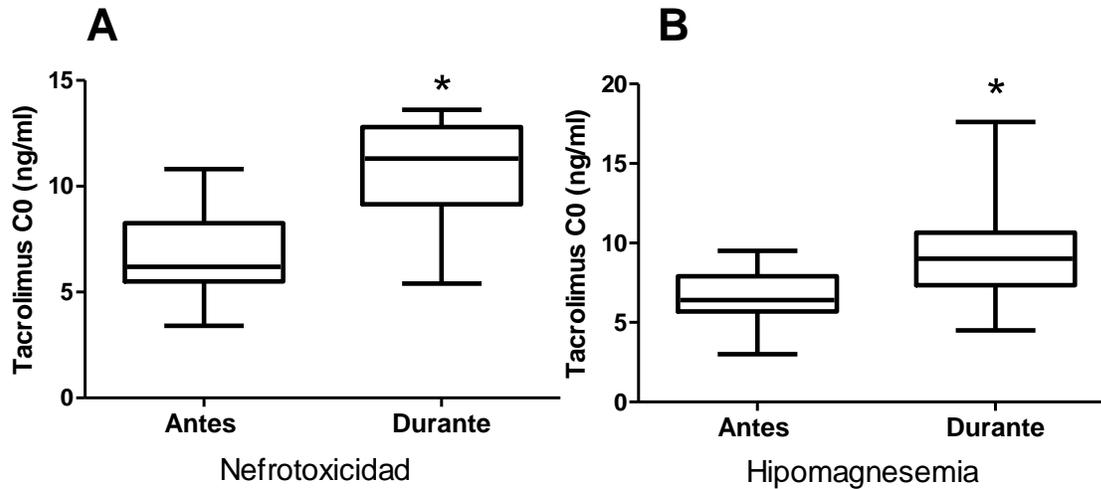


C0: concentración sanguínea en el valle previo a la toma del tacrolimus

Por otro lado, aquellos pacientes libres de eventos adversos a tacrolimus fueron aquellos de más corta edad. Así, la edad mediana (rango) de los pacientes que presentaron un evento adverso a tacrolimus y los que no lo desarrollaron fue de 3,3 años (0,6-17,6) y 1,3 años (0,5-14,6), respectivamente ($p < 0,05$).

Además, se evaluó la relación entre los eventos adversos más frecuentes obtenidos mediante farmacovigilancia intensiva (nefrotoxicidad, $n=13$ e hipomagnesemia, $n=21$) luego de 30 días post trasplante y la exposición a tacrolimus mediante C0. Se observó una diferencia estadísticamente significativa entre la media del valor de C0 antes y durante el periodo de desarrollo de nefrotoxicidad e hipomagnesemia ($p < 0,05$), representado en la **Figura 5 A y B**.

FIGURA 5. EXPOSICIÓN A TACROLIMUS PREVIO Y DURANTE LA NEFROTOXICIDAD E HIPOMAGNESEMIA.



* $p < 0,05$

2.4 D) RESULTADOS DEL ESTUDIO DE LA EFICACIA Y SEGURIDAD A TACROLIMUS SUBLINGUAL EN TRASPLANTE HEPÁTICO

En total, se incluyeron 22 pacientes pediátricos trasplantados hepáticos con dificultad para deglutir las cápsulas de tacrolimus debido a la edad, por estar sujetos a ventilación mecánica y/o sedoanalgesia. Todos los pacientes se encontraron internados en la unidad de cuidados intensivos del HPJPG. Los datos demográficos de la población en estudio se describen en la **Tabla 7**.

TABLA 7. CARACTERISTICAS DEMOGRAFICAS Y BIOQUÍMICAS DE PACIENTES CON TRASPLANTE HEPÁTICO LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN SUBLINGUAL DE TACROLIMUS

Parámetro	Mediana (rango)
Niños/Niñas	9/13
Edad (años)	0,9 (0,6-6,3) ^a
Peso (kg)	7,2 (5,2-20,0) ^a
Tiempo de seguimiento (días)	22 (6-68) ^a
Ventilación mecánica (días)	10,5 (2-36) ^a
Tratamiento inmunosupresor	Número de pacientes
Basiliximab	21
Tacrolimus	22
Esteroides	5
Azatioprina	1
Terapia únicamente con tacrolimus	17
Parámetro de laboratorio	Mediana (rango)
Creatinina sérica (mg/dL) ^a	0,3 (0,2-0,6)
Uremia (mg/dL) ^a	30,2 (17,3-90,3)
Tipo de donante	Número de pacientes
Fallecido	12
Hígado completo	5
Split	7
Donante vivo relacionado	10

^aDatos de todos los pacientes, obtenidos durante el periodo de seguimiento.

La dosis de tacrolimus (mediana, rango) administrada fue de 0,11 mg/kg (0,02-0,31) la que derivó en una exposición sistémica mediana (rango) de 6,4ng/mL (2,0-23,2) como se detalla en

la **Tabla 8**. El número de ajustes de dosis fue de 7 (5-11) durante las primeras semanas posterior al trasplante.

TABLA 8. EXPOSICIÓN A TACROLIMUS SUBLINGUAL

Observación	Mediana (rango)
Numero de concentraciones sanguíneas evaluadas	17 (3-58)
Concentración sanguínea de tacrolimus (ng/mL)	6,4 (2,0-23,2)
Variabilidad en la exposición a tacrolimus en las primeras dos semanas	
Numero de ajustes de dosis	7 (5-11)
Número de C0 evaluados	11 (9-12)
Tiempo en lograr el nivel terapéutico de FK (días) ^a	3 (1-8)
Tacrolimus C0 CV%	49,8 (27,7-89,3)

^a Tiempo necesario para alcanzar la concentración sanguínea terapéutica aceptada de 7-8 ng/ml.

La dosis (mediana, rango) de tacrolimus fue de 0.11 mg/kg (0.02-0.31)

Abreviaturas: C0: concentración sanguínea de tacrolimus en el valle o previo a la toma del medicamento; CV%: Coeficiente de variación porcentual (%); FK: tacrolimus.

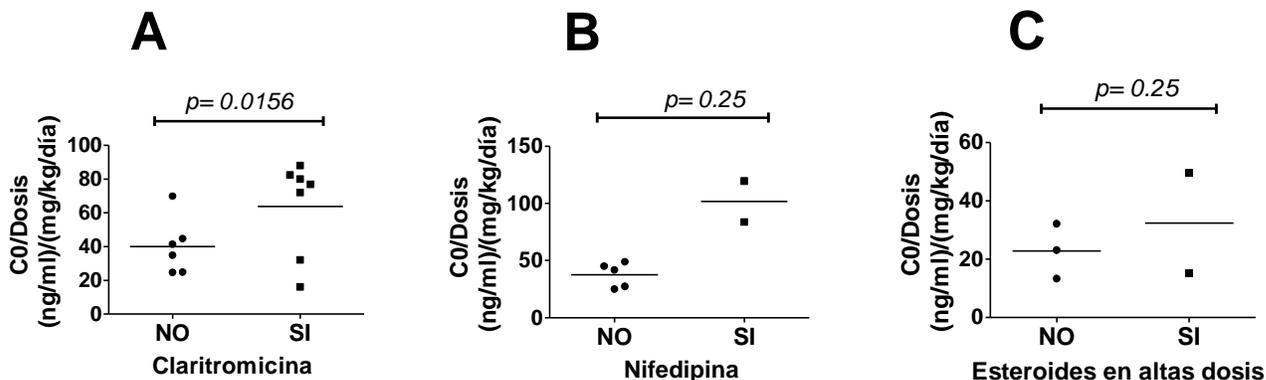
Con respecto a la eficacia definida según la aparición de rechazo agudo, tres pacientes (13,6%) experimentaron episodios de rechazo de los cuales uno ocurrió en el contexto de concentraciones sanguíneas bajas de tacrolimus correspondiente a C0 (mediana, rango) de 3,8 ng/ml (1,0-6,7). Este episodio ocurrió en el contexto de una infección y complicación quirúrgica graves que en conjunto justificaron las bajas dosis de tacrolimus recibidas.

Por otro lado se registró la seguridad del tratamiento con tacrolimus administrado por vía sublingual según el desarrollo de eventos adversos. Tres pacientes (13,6%) experimentaron eventos adversos a tacrolimus incluyendo neurotoxicidad (n=1), nefrotoxicidad (n=1) e

hipomagnesemia (n=1). La nefrotoxicidad ocurrió en el contexto de concentraciones sanguíneas altas de tacrolimus de 14,2ng/mL y el evento de hipomagnesemia ocurrió después de registrarse un valor de C0 de 23,2ng/mL producto de una interacción farmacológica entre la nifedipina y el tacrolimus administrados concomitantemente.

Tres pacientes tratados con tacrolimus por vía sublingual (13,6%) presentaron una interacción farmacológica las cuales se describen a continuación. Paciente A: interacción de tacrolimus con claritromicina; paciente B interacción con nifedipina y Paciente C interacción con altas dosis de esteroides administrados para el tratamiento de rechazo agudo. La interacción fue confirmada por el cambio en las concentraciones normalizadas por la dosis (C0/Dosis) que aumentó en presencia del fármaco interactuante. Específicamente, la mediana (rango) de la C0/Dosis antes y durante la administración concomitante de claritromicina en el paciente A fue de 38,1ng/mL (24,6-69,9) y 76,8ng/mL (16,0-88,0), respectivamente ($p < 0,05$, **Figura 6.A**). Los pacientes B y C mostraron un aumento en la mediana de la C0/Dosis antes y durante la interacción con nifedipina o esteroides, respectivamente, sin significación estadística ($p > 0,05$, **Figura 6.B y C**). Ningún paciente recibió más de un fármaco interactuante simultáneamente.

FIGURA 6. EXPOSICIÓN A TACROLIMUS EN PRESENCIA DE INTERACCIONES FARMACOLÓGICAS Y ADMINISTRACIÓN SUBLINGUAL DE TACROLIMUS.



Abreviaturas: Paciente A: administración concomitante de claritromicina; Paciente B: administración concomitante de nifedipina; Paciente C: administración concomitante de esteroides en altas dosis.

Finalmente, las complicaciones quirúrgicas severas según la definición de Clavien y col.(199) así como los episodios infecciosos virales y bacterianos, y se describen en la **Tabla 9**. Dos pacientes fallecieron debido a complicaciones quirúrgicas sin episodios de rechazo agudo o eventos adversos luego de 20 días post trasplante pero durante el período de estudio.

TABLA 9. COMPLICACIONES QUIRÚRGICAS SEVERAS E INFECCIOSAS EN LA POBLACIÓN TRATADA CON TACROLIMUS POR VÍA SUBLINGUAL.

Pacientes trasplantados hepáticos (n=22)	Número de pacientes
Complicaciones quirúrgicas severas ^a	8
Infecciones	
Infecciones Virales	
Citomegalovirus	11
Epstein Barr Virus	3
Infecciones bacterianas	12

^aLas complicaciones quirúrgicas severas incluyen re-operaciones e intervenciones quirúrgicas.

2.5 DISCUSIÓN

2.5 A) PROGRAMA DE FARMACOVIGILANCIA INTENSIVA

Los resultados presentados en este capítulo son los primeros que describen el tipo y la incidencia de eventos adversos a inhibidores calcineurínicos en una población pediátrica trasplantada renal y hepática en el principal centro de trasplante pediátrico de la Argentina y de la región. La lectura retrospectiva de historias clínicas en el programa de farmacovigilancia intensiva, así como el análisis prospectivo implementado en el HPJPG, han sido los ejes de las evaluaciones realizadas.

Los principales desafíos que enfrenta actualmente el trasplante incluyen el de mejorar la calidad de vida del paciente a largo plazo optimizando el grado de inmunosupresión tal de mantener la eficacia pero previniendo la aparición de los eventos adversos asociados(63). Para ello, el conocimiento de la farmacología de los medicamentos inmunosupresores, con énfasis en la seguridad de su tratamiento, es fundamental.

En el estudio realizado se observó una probabilidad alta de que el tratamiento inmunosupresor se encuentre causalmente asociado a la aparición de eventos adversos. El 100% y 89% del total de reacciones adversas a ciclosporina y a tacrolimus, respectivamente, fue causalmente asociado al uso de los ICN. Este resultado destaca la importancia del seguimiento farmacoterapéutico intensivo de los pacientes trasplantados para optimizar su tratamiento inmunosupresor(129, 201). Dentro de las reacciones adversas a ciclosporina frecuentemente reportadas en niños con trasplante renal se encuentran los eventos como hiperplasia gingival (33,3%) e hirsutismo (20,7%)(192). En correspondencia, los resultados presentados en esta tesis mostraron una

incidencia del 32% y 28% de hiperplasia gingival e hirsutismo, respectivamente. A pesar de que dichos eventos adversos pueden considerarse de menor relevancia respecto de otros como PTLD, estos eventos no deben dejar de ser evaluados ni subestimados ya que durante la adolescencia pueden conducir a la falta de adherencia al tratamiento, y por lo tanto, a la pérdida del injerto. La incidencia de hiperplasia gingival e hirsutismo reportada en pediatría es mayor que la reportada en adultos, la cual es de 4% y 16%, respectivamente (64). Esto una vez más, confirma la necesidad de realizar estudios de seguridad de fármacos específicamente en pediatría y no extrapolar datos descriptos en poblaciones adultas, ya que podrían subestimarse factores que tienen un alto impacto en la eficacia del tratamiento inmunosupresor en la población pediátrica a diferencia de la adulta.

Los resultados expuestos en el presente capítulo muestran que la incidencia de hipertensión en niños tratados con ciclosporina en trasplante renal fue del 56%. Esto se encuentra en relación a lo reportado en literatura para trasplante renal (65%) en pacientes pediátricos luego de 2 años del trasplante(202, 203). En correspondencia, la incidencia de nefrotoxicidad secundaria a ciclosporina en trasplante renal fue del 20%, correspondiente con el 25% de incidencia reportada por McDiarmid y col. en una población de pacientes pediátricos con trasplante hepático en tratamiento con este inmunosupresor(204). Si bien no se observó una diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones sanguíneas antes y durante el desarrollo de nefrotoxicidad en los pacientes con trasplante renal del HPJPG analizados en la presente tesis, puede apreciarse una tendencia en los pacientes que desarrollan evento adverso a tener concentraciones sanguíneas de ciclosporina más altas durante el desarrollo de toxicidad. Esta tendencia se corresponde con los reportes existentes en la literatura (142). Asimismo no se pudo observar una diferencia significativa en los pacientes que presentaron eventos adversos respecto de aquellos

que no desarrollaron eventos adversos según la edad. Probablemente el tamaño muestral sea muy reducido y sea necesario ampliar la población en estudio para observar una mayor diferencia.

Si bien la ciclosporina causó una revolución en el tratamiento inmunosupresor del trasplante al aumentar significativamente la sobrevida del paciente y del injerto, la introducción de tacrolimus en el tratamiento del trasplante produjo reducciones significativas en la incidencia y severidad de rechazo, con un perfil específico de eventos adversos que influye sobre la sobrevida a largo plazo del paciente y del injerto (63). En la población pediátrica analizada la incidencia de hipomagnesemia secundaria a tacrolimus fue del 48,6%, lo que representa el 50,7% de todos los eventos adversos registrados. Estos valores son comparables con la incidencia de hipomagnesemia de 57,1% reportada por Staatz y col. en una población australiana pediátrica trasplantada hepática(142), compuesta por 35 pacientes.

La nefrotoxicidad inducida por ICN se encuentra asociada al uso prolongado de ciclosporina y tacrolimus y ha sido observada en todos los tipos de trasplante. La nefrotoxicidad secundaria a inhibidores calcineurínicos es de gran interés en pacientes pediátricos con trasplante hepático que presentan una sobrevida post trasplante alta. En la población analizada en este capítulo, la nefrotoxicidad secundaria a tacrolimus fue del 22,2%, porcentaje comparable con datos reportados en una población pediátrica trasplantada hepática europea (192) de características comparables a la aquí analizada.

En cuanto a la incidencia de hipertensión asociada al tratamiento con tacrolimus, se observó que sólo fue del 5,6%. De manera similar, Kelly y col. reportaron una incidencia del 7% en receptores caucásicos pediátricos con trasplante hepático(192). En cuanto a la neurotoxicidad, los autores reportaron una incidencia del 9,5% mientras que en éste capítulo se describió únicamente la incidencia de temblor del 6%. Cabe mencionar que la definición de neurotoxicidad

incluye mialgias, temblor, fatiga así como convulsiones(205). Sin embargo, en el presente estudio no se observaron otros eventos de neurotoxicidad, lo que puede deberse a un sub-registro en historias clínicas.

La enfermedad linfoproliferativa post trasplante es la malignidad post trasplante más frecuente y se asocia a óbito del paciente relacionado a enfermedades oncológicas, con una mortalidad del 60% (206-208). En los pacientes menores de 2 años trasplantados hepáticos en tratamiento con tacrolimus, la incidencia de PTLD fue de 5,6% (4/72), correspondiente con lo reportado en pacientes pediátricos con sobrevida de 10 años post trasplante hepático(20). El tiempo de presentación de PTLD fue de 13,5 meses (4,9-19,4) post trasplante, correspondiente con lo descrito por otros autores en una población norteamericana pediátrica con trasplante hepático (209). Cabe destacar que la PTLD es un evento multi-causal con diversos factores de riesgo(210), y que ocurre más frecuentemente como consecuencia del esquema inmunosupresor, el cual consiste generalmente en la administración de fármacos de inducción, tacrolimus/ciclosporina, meprednisona, azatioprina y/o micofenolato mofetil o sódico. Es importante analizar otros factores de riesgo como otros fármacos inmunosupresores o la serología de Epstein Barr Virus al momento del trasplante, y no adjudicar la causalidad exclusivamente al tacrolimus o ciclosporina. En el análisis desarrollado en la presente tesis doctoral, desafortunadamente, dada la baja incidencia de PTLD, no fue posible evaluar en un análisis multivariado el efecto de distintas variables sobre el desarrollo de este evento adverso.

La relación entre la exposición sistémica al inhibidor calcineurínico y el desarrollo de eventos adversos es una de las causas que agrega valor al monitoreo terapéutico en la prevención de toxicidad a fármacos(116, 123, 211). Se pudo evidenciar una incidencia decreciente de eventos adversos a tacrolimus con el tiempo post trasplante. A diferencia del C0, la mediana de C0/Dosis

no presentó una tendencia de reducción con el tiempo post-trasplante (**Tabla 6**), y no existió una diferencia estadísticamente significativa en los valores de CV% entre los distintos periodos post trasplante. Por lo tanto, este resultado se puede relacionar con concentraciones sanguíneas de tacrolimus (C0) decrecientes como se observa en la **Tabla 6**.

Un factor de riesgo para el desarrollo de eventos adversos, pérdida del injerto y rechazo agudo tardío es la gran variabilidad intra-individual de la farmacocinética del ICN (212). A pesar del monitoreo y los ajustes de dosis de tacrolimus, hubo una variabilidad importante en las concentraciones sanguíneas de tacrolimus normalizadas por la dosis presentadas en el capítulo como CV%. Estos resultados se encuentran en correspondencia con la variabilidad informada por otros autores en trasplante de órgano sólido pediátrico, que describieron un CV% (mediana, rango) en las C0 de 30,1% (8,6–77,6) (212). Además de las complicaciones propias del post trasplante, como son las complicaciones quirúrgicas, biliares y vasculares así como la complejidad de los esquemas inmunosupresores, una alta variabilidad, expresada como CV% podría jugar un rol importante en el desarrollo de eventos adversos, lo cual se analiza en detalle en el **capítulo 3** de ésta tesis. Nuevamente, se destaca el rol del monitoreo terapéutico en el manejo de la variabilidad de fármacos de estrecho margen terapéutico, ya que de no realizarse, la variabilidad hubiera sido considerablemente mayor.

En el grupo de pacientes trasplantados hepáticos tratados con tacrolimus se observó una diferencia estadísticamente significativa en la edad (mediana, rango) de los pacientes que presentaron eventos adversos, cuya edad fue de 3,3 años (0,6-17,6), respecto de aquellos que no desarrollaron eventos adversos, cuya edad fue de 1,3 años (0,5-14,6). Este resultado se corresponde con una menor incidencia de eventos adversos en las poblaciones de niños más jóvenes tal como informa el programa de la Organización Mundial de la Salud (55, 213). Cabe

tener en cuenta que también se observó una diferencia significativa en las concentraciones sanguíneas de tacrolimus normalizadas por la dosis en los niños más jóvenes respecto de los más grandes, de manera que esto pudo haber contribuido también a la menor incidencia de eventos adversos a tacrolimus.

Por último, los resultados presentados acerca de la incidencia de nefrotoxicidad y la hipomagnesemia se encuentran relacionados a las concentraciones sanguíneas de tacrolimus C0, en correspondencia con los reportes existentes en la literatura (116, 214, 215). Nuevamente, esto fortalece el rol del monitoreo terapéutico en la individualización de la terapia inmunosupresora y el manejo de la terapia con tacrolimus(142).

Con el objetivo de reducir el riesgo de toxicidad a tacrolimus en trasplante hepático pediátrico, se ha sugerido evitar altas concentraciones sanguíneas y reducirlas en los primeros meses post trasplante(216). Sin embargo, en el presente análisis la naturaleza de los eventos adversos hallados parece ser inevitable a pesar del estrecho seguimiento de las concentraciones sanguíneas. No obstante, se considera valioso el registro de eventos adversos y las distintas variables del tratamiento inmunosupresor así como posibles variables relacionadas a la evolución del paciente, dado que su conocimiento y descripción pueden aportar mayor información en un estudio multivariado como el que se presenta en el **capítulo 3**.

2.5 B) TACROLIMUS SUBLINGUAL EN PACIENTES TRASPLANTADOS HEPÁTICOS

Los resultados obtenidos y discutidos en la presente tesis doctoral luego de la administración por vía sublingual en pacientes con trasplante de hígado pediátrico internados en la Unidad de

Cuidados Intensivo, muestran niveles sanguíneos terapéuticamente activos de tacrolimus. A pesar de que la dosis descrita aquí por vía sublingual fue inferior a la utilizada para la administración oral descrita en una población pediátrica con trasplante renal(217), los niveles de C0 de tacrolimus fueron comparables entre ambas vías de administración. La principal razón de esto es que los fármacos lipofílicos se absorben en la circulación venosa sublingual que llega directamente a la circulación cardiovascular y desde allí, a la circulación sistémica pasando por alto el metabolismo gastrointestinal y de primer paso hepático lo que sí ocurre en la administración oral(218, 219).

Los perfiles de eficacia y seguridad del tacrolimus administrado por vía sublingual en el post trasplante temprano pediátrico de hígado son comparables con los resultados publicados para la administración oral así como el número de ajustes de dosis es comparable con lo descrito en literatura con una mediana (rango) de 6 ajustes de dosis (1–11) en los primeros 14 días post trasplante en una población pediátrica trasplantada hepática (104, 142, 220).

Es importante señalar que a través del análisis realizado, se identificó el desarrollo de interacciones medicamentosas entre tacrolimus y los fármacos comúnmente utilizados en la terapia post trasplante. A pesar de que el tacrolimus administrado por vía sublingual es una alternativa en circunstancias donde la vía oral no es posible existen interacciones sistémicas con la concomitante administración de claritromicina, nifedipina y/o altas dosis de esteroides (65).y esto una vez más pone en evidencia la utilidad del monitoreo terapéutico de tacrolimus.

..

CAPITULO 3 ANALISIS MULTIVARIADO PARA IDENTIFICAR VARIABLES PREDICTORAS DEL RECHAZO CELULAR AGUDO Y EVENTOS ADVERSOS SECUNDARIOS A TACROLIMUS EN EL TRASPLANTE HEPATICO

3.1 INTRODUCCIÓN

Como se describió en el **capítulo 2**, el registro activo y pasivo utilizando el sistema de farmacovigilancia intensiva desarrollado permitió obtener información acerca de la seguridad en el tratamiento de tacrolimus de una cohorte de pacientes pediátricos trasplantados hepáticos.

Dichas complicaciones relacionadas con la inmunosupresión, además de las complicaciones quirúrgicas, vasculares, biliares, van en detrimento de la calidad de vida del paciente(21, 102, 221-224). Sin embargo la causa más común de disfunción tardía del injerto en la población pediátrica es el rechazo agudo y el crónico (225). El rechazo celular agudo del injerto es una complicación frecuente (226, 227) y aproximadamente el 60% de los pacientes pediátricos con trasplante de hígado presentan al menos un episodio de rechazo agudo(228). El tratamiento inicial del rechazo agudo involucra el uso de esteroides habiéndose reportado una tasa de respuesta del 75% a esta terapia en pacientes pediátricos trasplantados hepáticos, y por ello, continua siendo el pilar en el tratamiento junto con el aumento en la inmunosupresión basal(228).

Dado que tacrolimus es una droga de estrecho margen terapéutico, la alta variabilidad intra-individual genera fluctuaciones en C0 tal que la inmunosupresión insuficiente puede resultar en mayor tasa de rechazo agudo, deterioro de la función del injerto o incluso, pérdida del órgano

trasplantado(116, 118). La variabilidad intra-individual en la farmacocinética de tacrolimus puede ser causada por múltiples factores incluyendo la falta de adherencia, parámetros farmacocinéticos, o una combinación de ambos(229-233). En este sentido, Prytula y col., mostró que los pacientes pediátricos trasplantados renales con rechazo agudo tardío presentaron un mayor coeficiente de variación porcentual en las concentraciones sanguíneas de tacrolimus C0 ($p < 0,05$)(212).

La relación entre rechazo agudo y/o pérdida del injerto con variables predictoras, ha sido materia de estudio de muchos trabajos. Según lo publicado en la literatura, se observó el efecto de la expresión de CYP3A5 tanto en receptores como en donantes(181, 182), sobre los requerimientos de tacrolimus y la pérdida del injerto(180).

Otro factor asociado al riesgo de rechazo es la inmunosupresión con anticuerpos antagonistas del receptor de interleukina-2. Ganschow y col. evaluaron el uso de basiliximab en pacientes pediátricos trasplantados hepáticos en comparación con un grupo control sin terapia de inducción. La incidencia de rechazo agudo fue significativamente menor en el grupo con inducción (11,5% vs. 61%)(234). También el uso de injertos de donantes fallecidos o incluso, las variantes técnicas que se han desarrollado para contrarrestar la escasez de órganos se han asociado con la sobrevida del injerto. A pesar de que la población caucásica ha sido más estudiada, existen muy pocos datos en la región Latinoamericana sobre la sobrevida libre de rechazo a corto y mediano plazo y el efecto de factores clínicos y demográficos sobre su desarrollo (20, 104, 235). Por lo tanto sería importante estudiar el comportamiento de dichos factores en una población del HPJPG.

Contrariamente a lo mencionado, la inmunosupresión en exceso puede aumentar los riesgos de infecciones, malignidades y eventos adversos(44). En cuanto a la nefrotoxicidad, neurotoxicidad

y diarrea secundaria a tacrolimus, se ha relacionado significativamente estos eventos adversos con las concentraciones sanguíneas del inmunosupresor durante el desarrollo de la toxicidad (142). También se reportaron las relaciones entre los polimorfismos genéticos en las enzimas metabolizadoras CYP3A4/CYP3A5 o en proteínas de extrusión ATP-dependientes como la glicoproteína-P, y el desarrollo de nefrotoxicidad en pacientes adultos con trasplante hepático(180). Sin embargo, hasta el momento no se han encontrado reportes sobre seguridad y la asociación con variables predictoras en la población pediátrica trasplantada hepática aquí analizada.

3.2 HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

Hipótesis: El estudio de un grupo amplio de variables peri-trasplante, incluyendo variables demográficas, farmacológicas, quirúrgicas, genéticas, permitiría identificar aquellos factores de riesgo o de protección en el desarrollo de rechazo agudo y/o eventos adversos del tratamiento inmunosupresor con tacrolimus en una cohorte de pacientes pediátricos trasplantados hepáticos del HPJPG.

Por todo lo comentado los objetivos del presente capítulo del trabajo de tesis doctoral fueron:

- Identificar las variables vinculadas al **rechazo agudo** en una población pediátrica con trasplante hepático cuantificando su nivel de asociación mediante la construcción de un modelo de regresión logística multivariado y mediante un modelo de regresión de Cox evaluar la sobrevida libre de rechazo agudo en función de las variables consideradas o predictoras.
- Identificar las variables vinculadas a **eventos adversos** en trasplante pediátrico hepático cuantificando su nivel de asociación mediante la construcción de un modelo de regresión logística multivariado y un modelo de regresión de Cox que permita evaluar la sobrevida libre de eventos adversos en función de las variables consideradas o predictoras.

3.3 MÉTODOS

Se analizaron los datos en base a un estudio retrospectivo descriptivo observacional de una cohorte de pacientes receptores de un primer trasplante hepático entre los años 2010-2012. Todos los pacientes incluidos en el estudio fueron trasplantados en el HPJPG y recibieron tacrolimus como parte de un protocolo inmunosupresor implementado en el año 2010, descrito en el **capítulo 1**.

Las historias clínicas fueron evaluadas exhaustivamente de manera retrospectiva, así como los datos de laboratorio y registros de enfermería. El tiempo de seguimiento de los pacientes incluidos en el presente análisis fue de dos años desde el trasplante.

3.3 A) CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Los criterios de inclusión y exclusión son los descritos para la población trasplantada hepática entre los años 2010-2012 que se estudió en el **capítulo 2**.

3.3 B) DEFINICIÓN DE VARIABLES OPERATIVAS

Para la construcción de los modelos se registraron las siguientes variables:

Variables dependientes: Se evaluaron los eventos adversos observados en la población y los rechazos agudos.

Eventos adversos: se evaluaron los eventos adversos a tacrolimus de aparición más frecuente y grave según lo descrito en la población en estudio, como se definió en el **capítulo 2**: hipomagnesemia, nefrotoxicidad, temblor, pancreatitis, enfermedad linfoproliferativa post trasplante, alopecia, anemia, colestasis, hiperglucemia, hipertensión arterial(64). La incidencia de un evento adverso se calculó como la relación entre el número de casos de una reacción adversa y el número de pacientes expuestos a tacrolimus.

Episodios de rechazo celular agudo: se definió rechazo celular agudo (RA) según lo descrito en el **capítulo 1** (236, 237). La incidencia de rechazo agudo se calculó como la relación entre el número de casos de rechazo agudo y el número de pacientes expuestos al tratamiento con tacrolimus.

Variables independientes: se incluyeron en el análisis las siguientes variables

Variables demográficas: peso corporal, sexo, edad, nacionalidad, diagnóstico.

Variables bioquímicas: magnesemia, hemoglobina, hematocrito, creatinina sérica, uremia, bilirrubina total y directa, alanina transaminasa (ALT), aspartato transaminasa (AST), fosfatasa alcalina (FAL), Gamma-glutamil transpeptidasa (GGT), albumina.

Variables genéticas: Se utilizaron ensayos de discriminación alélica para genotipificar polimorfismos del CYP3A5 en donantes y receptores(238). Los resultados se presentan como el efecto de los que expresan (la variable toma valor 1) versus los que no expresan (la variable toma valor 0) la proteína CYP3A5, sea referido al polimorfismo del receptor del trasplante o injerto (CYP-R expresor vs. no expresor) o del paciente donante (CYP-D expresor vs. no expresor). Se describió la técnica utilizada a continuación en esta sección.

Variables clínicas: sepsis, motivo de internación, tratamiento ambulatorio, óbito, desarrollo de infección por CMV, infección por EBV.

Variables relacionadas al trasplante: tipo de donante, tipo de injerto, número de días post trasplante en el que se registra cada valor de C0 y eventos clínicos de interés.

Variables inherentes al tratamiento farmacológico: además de los parámetros previamente mencionados, se incluyeron en el presente análisis los parámetros que se describen a continuación:

- Dosis diaria de tacrolimus (mg/kg); C0 (mg/L); C0/D (mg/L)/(mg/kg); según la definición en el **capítulo 2**
- C01: media de las concentraciones sanguíneas de tacrolimus en el valle, previo a la aparición de un evento de interés, sea rechazo o evento adverso. El periodo de registro de C0s que se utilizaron para promediar fue de (mediana, rango) 10 días (4-300) previo a la aparición del evento.
- C02: media de las concentraciones sanguíneas de tacrolimus en el valle durante el periodo previo e inmediatamente anterior al periodo de registro de C01. El periodo de registro de C0s que se utilizaron para promediar fue de (mediana, rango) 10 días (10-300) previo al periodo de C01.
- Fármacos inmunosupresores concomitantes a tacrolimus (IS): se registró el uso de fármacos inmunosupresores concomitantes al uso de tacrolimus incluyendo micofenolato sódico o mofetil, azatioprina y/o sirolimus.
- Administración concomitante de esteroides: se registró el uso de esteroides en una variable independiente a la anterior para evaluar su impacto individual.

- Administración de fármacos concomitantes a tacrolimus que presenten interacción farmacológica registrada: se registró la presencia de fármacos interactuantes como por ejemplo azoles, macrólidos, bloqueantes de canales de calcio y anticonvulsivantes(64).
- Tratamiento de inducción: utilización o no de basiliximab.

Variabilidad de las concentraciones sanguíneas C0 de tacrolimus: la variabilidad en los niveles sanguíneos se calculó utilizando las variables descriptas a continuación.

- **Tortuosidad:** definida como la relación entre las longitudes de las curvas que unen los puntos del diagrama de dispersión de concentraciones sanguíneas vs. tiempo y la línea recta que une la observación inicial y final obtenida de los valores de C0 registrados en el período de estudio.
- **Tortcateg:** se utilizó el valor expresado como mediana de la tortuosidad (tortuosidad=1,10), como punto de corte para categorizar a la población. La variable tomó el valor de 1 en los pacientes con tortuosidad mayor o igual a 1,10 y tomó el valor de 0 en los pacientes con tortuosidad menor a 1,10.
- **Coefficiente de variación porcentual (CV%):** calculada como el cociente entre el promedio de los C01 y su desvío estándar.
- **Diferencia absoluta:** calculado como la diferencia absoluta entre los valores de C01 y C02 para cada paciente.

Las variables se clasificaron según su naturaleza cualitativa o cuantitativa según:

Variables cualitativas nominales dicotómicas o binarias: rechazo agudo (si/no), evento adverso(si/no), y específicamente hipomagnesemia (si/no) y nefrotoxicidad (si/no), sexo (f/m),

CYP-R (expresor vs. no expresor), CYP-D (expresor vs. no expresor), sepsis (si/no), óbito (si/no), infección por CMV (si/no), infección por EBV (si/no), tipo de donante (fallecido vs. vivo relacionado), tipo de injerto (completo vs. variante técnica), uso de otros inmunosupresores (si/no), uso de esteroides (si/no), fármacos que interactúan con tacrolimus (si/no), inducción con basiliximab (si/no), tortuosidad >1,10 (si/no).

Variables cualitativas nominales categóricas: diagnóstico, motivo de internación.

Variables cuantitativas continuas: peso corporal, edad, variables bioquímicas (magneemia, hemoglobina, hematocrito, creatinina sérica, uremia, bilirrubina total y directa, alanina transaminasa o ALT, aspartato transaminasa o AST, fosfatasa alcalina o FAL, Gamma-glutamyl transpeptidasa o GGT, albumina), número de días post trasplante en el que se registra cada valor de C0 o eventos clínicos de interés, dosis diaria de tacrolimus (mg), dosis diaria de tacrolimus corregida por el peso corporal del paciente (mg/kg), valores de C0 y de C0/D, C01, C02, tortuosidad, CV%, diferencia absoluta entre C01 y C02 para cada paciente.

Genotipificación

Las genotipificaciones de CYP3A5 (CYP3A5*1/*3 o *3/*3) fueron realizadas en biopsias de hígado tanto del donante como del receptor. El ADN del donante se obtuvo a partir de biopsias o piezas quirúrgicas hepáticas del archivo del Servicio de Patología del HPJPG, fijadas en formol-buffer, embebidas en parafina y mediante cortes histológicos de 10 micrones de espesor. La extracción del ADN fue llevada a cabo utilizando los kits comerciales QIAamp DNA Blood y

QIAamp DNA FFPE Tissue Kit siguiendo las instrucciones del fabricante y obteniendo entre 20 a 100ng de DNA en cada caso. El polimorfismo de CYP3A5*3 (rs776746) fue detectado por PCR y directamente secuenciado.

Los pacientes receptores de un trasplante y portadores de las variantes CYP3A5*1/*1 y CYP3A5*1/*3 fueron denominados “receptores expresores” (CYP-R expresores), mientras aquellos portadores del genotipo CYP3A5*3/*3 fueron llamados “receptores no expresores” (CYP-R no expresores). Los injertos de donantes cuyas variantes fueron CYP3A5*1/*1 y CYP3A5*1/*3 fueron denominados “donantes expresores” (CYP-D expresores), mientras aquellos con genotipo CYP3A5*3/*3 fueron llamados “donantes no expresores” (CYP-D no expresores)

3.3 C) MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA

Se construyó un modelo de regresión logística binaria para describir la relación entre la variable dependiente dicotómica (rechazo agudo o eventos adversos) y los factores de riesgo (por ejemplo: C0, polimorfismo del CYP3A5, edad del receptor).

Desde el punto de vista teórico el modelo de regresión logística forma parte de una familia de modelos llamada “**Modelos lineales generalizados**”.

El valor esperado de la variable objetivo “Y” se expresa como E(Y). En regresión lineal, la media de la variable respuesta (E(Y)= μ), se modela mediante una combinación lineal de las variables predictoras y los coeficientes se denominan $\beta_0, \beta_1, \beta_k$. Esto puede expresarse según:

Ecuación 1

$$E(Y/x_1, \dots, x_k) = \mu(Y | x_1, \dots, x_k) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k$$

Donde $E(Y/x_1, \dots)$ es el valor esperado de la variable objetivo, “Y”, y es una función de ciertas variables explicativas; X_i es la variable i predictora; y los β_i son los coeficientes de la combinación lineal

Dado que el valor esperado de la variable de interés “Y” puede tomar cualquier valor entre menos infinito y más infinito, no resulta óptimo para la predicción de una probabilidad. La probabilidad se expresa como un valor comprendido entre 0 y 1. Por lo tanto, se construye una función de enlace o “link” $g(\mu)$ que transforma al valor obtenido por la combinación lineal, en un valor entre 0 y 1. Entre los muchos “link” propuestos, se utiliza el “logit” que se define como el logaritmo del cociente entre la probabilidad y su complemento, es decir “1-probabilidad”.

En el **modelo de regresión logística**, la media $p = E(Y)$ de una variable respuesta con distribución Binomial(1, p) se transforma mediante el enlace denominado “**transformación logística**” según:

Ecuación 2

$$g(p) = \ln\left(\frac{p}{1-p}\right)$$

Donde g es la función “link” o función de enlace; p la probabilidad del suceso y $1-p$ es el complemento; β_i , los coeficientes de la combinación lineal y x_i las variables predictoras o explicativas del modelo.

Si la variable respuesta Y tiene distribución $Bi(1, p)$ el parámetro p es al mismo tiempo la media de la variable Y y la probabilidad de que Y tome el valor 1. Es decir, se puede expresar según:

Ecuación 3

$$E(Y) = P(Y=1) = p$$

Así el modelo resulta de la forma:

Ecuación 4

$$\ln\left(\frac{p(Y = 1 | x_1, \dots, x_k)}{1 - p(Y = 1 | x_1, \dots, x_k)}\right) = \beta_0 + \beta_1 x_1 + \dots + \beta_k x_k$$

Una de las características de la regresión logística es la relación que los coeficientes del modelo logístico guardan con un parámetro de cuantificación de riesgo conocido en la literatura como "*odds ratio*" (aunque puede tener traducción al castellano, como razón de chances, se renuncia a ello para evitar confusión ya que siempre se utiliza la terminología inglesa). El *odds* asociado a un suceso es el cociente entre la probabilidad de que ocurra frente a la probabilidad de que no ocurra:

Ecuación 5

$$odds = \left(\frac{p}{1-p}\right)$$

Siendo p la probabilidad del suceso.

Si en la ecuación de regresión existe un factor dicotómico, como puede ser si el paciente recibe esteroides o no, el coeficiente b (que corresponde al estimador beta de la combinación lineal correspondiente a esa variable) de la ecuación para ese factor está directamente relacionado con el *odds ratio* (**OR**) de recibir esteroides respecto de no recibirlos.

Ecuación 6:

$$odds = \exp(b)$$

Es decir que $\exp(b)$ es una medida que cuantifica el riesgo que representa poseer el factor correspondiente respecto a no poseerlo, suponiendo que el resto de variables del modelo permanecen constantes.

Cuando la variable es numérica, por ejemplo la edad del paciente, el *odds ratio* es una medida que cuantifica el cambio en el riesgo del evento de interés desde la situación inicial (X_1) a la situación final (X_2), lo cual se puede expresar según la **ecuación 7**:

Ecuación 7

$$odds = e^{[b \cdot X_2 - X_1]}$$

El riesgo de rechazo en función de una variable (por ejemplo la edad) al pasar de un valor a otro de la misma, es proporcional al cambio. Esto significa por ejemplo, que el cambio en el riesgo, con el modelo logístico, es el mismo cuando se varía de 4 a 5 años de edad que cuando se varía de 8 a 9 años.

Cuando el coeficiente b de la variable es positivo se obtiene un *odds ratio* mayor que 1 y se interpreta a la variable predictora como un factor de riesgo. Por el contrario, si b es negativo el *odds ratio* será menor que 1 y se interpreta como un factor de protección.

En resumen, el *odds* asociado a un suceso es el cociente entre la probabilidad de que ocurra el evento de interés frente a la probabilidad de que el mismo no ocurra, suponiendo que el resto de variables del modelo permanecen constantes.

Para evaluar la adecuación de cada uno de los modelos univariados se utilizaron diversos criterios tales como:

- el test de Hosmer Lemeshow y el valor de la verosimilitud (bondad de ajuste),
- test de Wald (significación de los coeficientes)

- el área bajo la curva ROC (capacidad de predicción del modelo).

Curvas ROC: Receiver operating characteristic curve (ROC)

La capacidad discriminativa de un test diagnóstico se refiere a su habilidad para distinguir pacientes sanos de los enfermos. Para ello, el parámetro a estimar es el área bajo la curva ROC (ABC), medida única e independiente de la prevalencia del evento de interés en estudio. El ABC refleja qué tan bueno es el test para discriminar pacientes con y sin el evento de interés a lo largo de todo el rango de puntos de corte posibles. Un test diagnóstico se considera no-discriminativo si la curva ROC coincide con la línea de no-discriminación, o sea un valor de $ABC = 0,50$. A medida que el ABC de un test diagnóstico se acerca al valor 1,00 (test diagnóstico perfecto), mayor será su capacidad discriminativa.

El punto de corte de una escala continua que determina la mayor sensibilidad y especificidad es el índice de Youden, aquel calculado según la fórmula (sensibilidad + especificidad - 1). Gráficamente, éste corresponde al punto de la curva ROC más cercano al ángulo superior-izquierdo del gráfico (punto 0,1), es decir, más cercano al punto del gráfico a sensibilidad 100% y especificidad 100% (239). Sin embargo, dicho punto de corte no necesariamente determina la sensibilidad ni la especificidad más alta que podría alcanzar el test (generalmente la mayor sensibilidad es determinada por un punto de corte, mientras que la mayor especificidad es determinada por otro).

Una vez identificadas las variables relacionadas con el evento de interés, se construyó un modelo multivariado. Las variables que se consideraron adecuadas y fueron incluidas en el modelo multivariado fueron aquellas que:

- Presentaron un p valor menor a 0,2 en el análisis univariado y mostraron independencia entre sí
- Presentaron plausibilidad biológica y fueron coherentes con la clínica del paciente.

3.3 D) MODELO DE REGRESIÓN DE COX

Otra aproximación utilizada en la presente tesis doctoral, fue la de utilizar modelos de regresión de Cox para estimar el tiempo de sobrevida libre de rechazo agudo o libre de eventos adversos, en función de las variables clínicas, bioquímicas, pre y post trasplante consideradas.

En líneas generales se utiliza la regresión de Cox (*proportional hazards model* o modelos de riesgos proporcionales), cuando la variable dependiente se relaciona con la sobrevida de los individuos y se desee averiguar simultáneamente el efecto independiente de una serie de factores sobre esta sobrevida (240, 241). Sólo la regresión de Cox permite afirmar que una sobrevida libre de rechazo más ventajosa puede ser atribuida a un determinado factor (ejemplo, administrar tratamiento de inducción con basiliximab o libre del mismo) porque, por ejemplo, comprueba que a igualdad de las demás variables en estudio (edad, sexo, tipo de injerto, etc.), los pacientes que fueron tratados con tratamiento de inducción, sobrevivieron libres de rechazo más tiempo en cualquier punto posible dentro del seguimiento que ha existido en el estudio.

Para la construcción de modelos por regresión de Cox, se calculó la razón de riesgo(o *hazard ratio*) y su intervalo de confianza. La razón de riesgo es una estimación de la proporción de la tasa de riesgo en el grupo expuesto a un factor frente al grupo de control. La tasa de riesgo es la probabilidad de que si el evento en evaluación no ha ocurrido, ocurrirá en el siguiente intervalo de tiempo, y se divide por la longitud de ese intervalo. En la construcción del modelo el intervalo

de tiempo resulta despreciable, de modo que en efecto la tasa de riesgo representa una tasa instantánea. Es decir, se define el riesgo como la probabilidad instantánea de que ocurra el evento en un tiempo dado, o es la probabilidad de que un individuo bajo observación, experimente el evento en un periodo alrededor de un punto central.

Una hipótesis de regresión de riesgos proporcionales es que la razón de riesgo *hazard ratio* es constante en el tiempo. Por lo tanto, en un ensayo clínico en el que la aparición de rechazo agudo es el punto final, la razón de riesgo indica la probabilidad relativa de rechazo agudo en los pacientes expuestos a una variable frente a pacientes sin exposición a dicha variable en cualquier momento dado(242).Entonces la siguiente **ecuación 8** expresa el riesgo de rechazo en función de las variables explicativas como una función exponencial de las variables por el riesgo base.

Ecuación 8

$$\lambda(t; X_1; \dots, X_n) = \lambda_0(t) e^{\sum_{i=1}^n \beta_i X_i}$$

Siendo:

$\lambda(t; X_i)$: Riesgo al tiempo t del evento, considerando los valores observados de las variables explicativas.

$\lambda_0(t)$: El riesgo base, que constituye el riesgo cuando todas las variables explicativas son nulas y es la única parte de la ecuación que depende del tiempo;

X_i : las variables predictoras o explicativas consideradas en el modelo.

Aplicando en la **ecuación 9** se obtiene la ecuación de la regresión de Cox es la siguiente

Ecuación 9

$$\ln\lambda(t) = a + b_1x_1 + b_2x_2 + \dots + b_px_p$$

Donde $\lambda(t)$ es el riesgo de que ocurra un evento de rechazo en el instante “t”.

El *odds ratio* calculado por regresión logística se diferencia del riesgo en que el primero expresa la rapidez con la cual rechaza (rechazos por unidad de tiempo), mientras que el *hazard ratio* o riesgo, sólo es una proporción y no tiene en cuenta más que el número de sujetos inicialmente a riesgo de rechazar. El *hazard ratio* es una tasa instantánea, que conceptualmente corresponde a una duración de tiempo infinitesimal.

Se demuestra que para un factor pronóstico dicotómico x_i (por ejemplo, uso de basiliximab como inducción) cuyo valor sea 1 para los expuestos a ese factor y 0 para los no expuestos, el *hazard ratio* será:

Ecuación 10

$$\text{HazardRatio}_i = \text{antilog}(b_i) = e^{\beta_i}$$

Las cantidades $\text{HazardRatio}_i = e^{\beta_i}$ se denominan *Hazard ratios*. Esta medida de asociación aunque se expresa por algunos como un riesgo relativo y se interpreta como tal (razón de proporciones) es en realidad una hazard ratio. Los coeficientes β_i positivos, o equivalentemente, HazardRatio_i superiores a 1 indican que el riesgo aumenta a medida que el valor de X_i lo hace. Es decir que un $\text{HazardRatio}_i > 1$ indica que se está frente a una variable con asociación positiva con el evento y negativa a la sobrevida.

Si interesa el aumento de riesgo correspondiente a un periodo de k meses, el *hazard ratio* se estima puntualmente como $e^{k\beta_i}$. Cuando se emplea el modelo de regresión de Cox, se asume que la razón de riesgo es constante a lo largo del tiempo.

Específicamente en el análisis realizado en la presente tesis doctoral, para la construcción de los modelos de regresión de Cox se consideraron simultáneamente diferentes variables como potencialmente asociadas a la tasa de sobrevida así como sus interacciones.

Una vez identificadas las variables relacionadas con el evento de interés, se construyó un modelo multivariado. Las variables que se consideraron adecuadas y se incluyeron en el modelo multivariado fueron aquellas que:

- Presentaron un p valor menor a 0,2 en el análisis univariado
- Presentaron plausibilidad biológica y fueron coherentes con la clínica del paciente

Se verificó el criterio de proporcionalidad de los modelos finales mediante el método de residuos Martingala.

Por otro lado, las tasas de sobrevida libre de rechazo se calcularon utilizando el método de Kaplan-Meier, considerando el tiempo al primer evento.

3.4 RESULTADOS

En total se estudiaron 72 pacientes (63% niñas) con una mediana (rango) de edad y peso de 2,1 años (0,5-17,6) y 13,1 kg (6,0-84,5), respectivamente. Las características demográficas de la población incluida en el presente análisis se detallan en la **Tabla 4** del **capítulo 2**.

Con respecto al uso de esteroides, el 54,2% de los pacientes recibieron meprednisona en la terapia de mantenimiento. En la clínica, no fue posible reducir o minimizar la inmunosupresión hasta ser indetectable, tal como se define en el concepto de tolerancia o casi tolerancia, en ninguno de los pacientes estudiados.

Asimismo, el 72,2% de los pacientes analizados recibió tratamiento de inducción con basiliximab.

En la **Tabla 10** se presentan los eventos clínicos de interés. Además de los eventos adversos descritos en el **capítulo 2**, se muestran las frecuencias de aparición de rechazo agudo y óbitos.

TABLA 10. DISTRIBUCIÓN DE LOS EVENTOS DE INTERÉS (N=72)

Rechazos agudos totales: 91 eventos en 47 pacientes	
Clasificación de los rechazos	Casos (incidencia)
Leves	39 (54,2%)
Moderados	36 (50,0%)
Severos	10 (13,9%)
Crónicos	3 (4,2%)
Corticorresistentes	4 (5,6%)
Eventos adversos totales	
Distribución de los eventos adversos	
Casos (incidencia)	
Hipomagnesemia	35 (48,6%)
Nefrotoxicidad	16 (22,2%)
Hipertensión arterial	4 (5,6%)
Temblor	4 (5,6%)
Enfermedad linfoproliferativa post trasplante	4 (5,6%)
Otras (alopecia, hiperglucemia, anemia, hepatotoxicidad)	6 (8,3%)
Óbitos	5 (6,9%)

Abreviaturas: EA: evento adverso

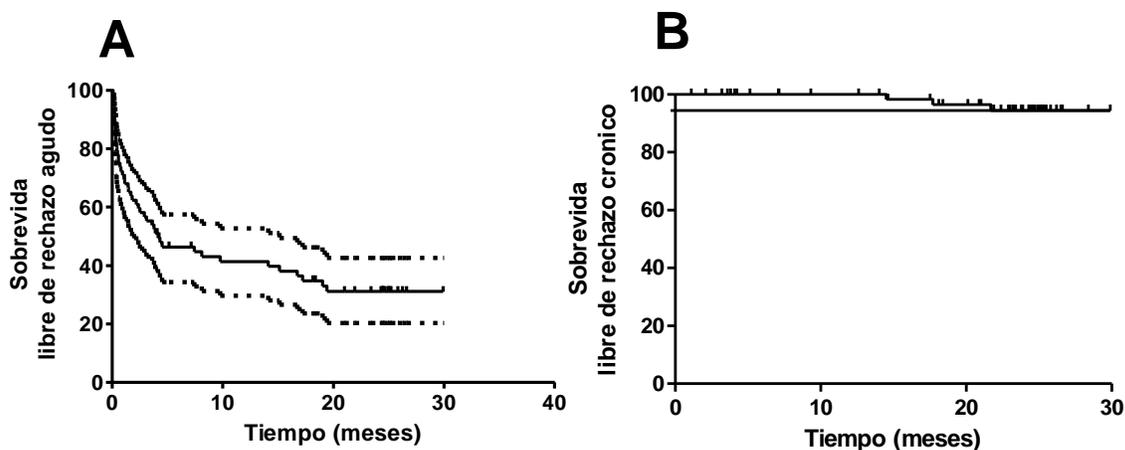
3.4.0 CURVAS DE SOBREVIDA

Con respecto a los resultados de sobrevida libre de rechazo agudo, sobrevida libre de rechazo crónico y sobrevida del paciente se construyeron las respectivas curvas de Kaplan-Meier.

SOBREVIDA LIBRE DE RECHAZO AGUDO Y CRÓNICO

En total 47 (65%) pacientes presentaron al menos un episodio de rechazo. La sobrevida libre de rechazo agudo de la población analizada a los 12 meses post trasplante fue de 41,0 % (IC: 30,1%-53,1%) tal como se muestra en la **Figura 7 A**. Se registraron tres casos en los que se confirmó la aparición de rechazo crónico (4,2%). La sobrevida libre de rechazo crónico a los 24 meses fue de 94,5% (IC, 83,8%-98,2%), como se muestra en la **Figura 7 B**.

Figura 7. Sobrevida libre de rechazo agudo y crónico



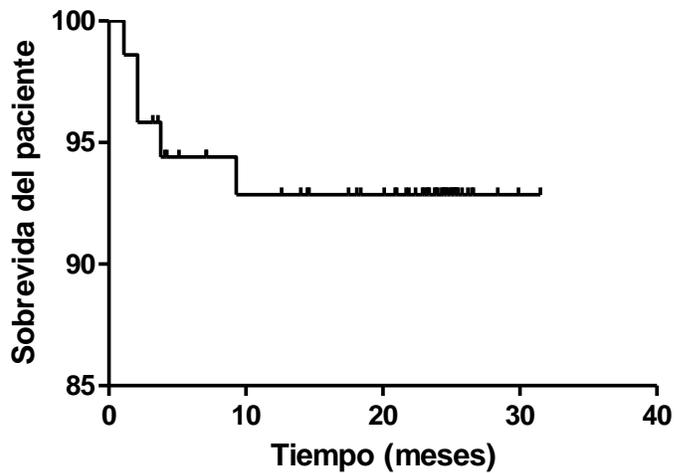
La línea punteada representa los intervalos de confianza 95%.

SOBREVIDA GLOBAL

La sobrevida global a los 24 meses post trasplante fue de 92,9% (IC: 83,7%-97,0%), como se muestra en la **Figura 8**. Cinco pacientes fallecieron durante el periodo de seguimiento (6,9%).

Las causas de óbito fueron las siguientes: dos pacientes presentaron infección por CMV y 3 pacientes presentaron sepsis junto a replicación viral de CMV y/o EBV.

Figura 8. Sobrevida global del paciente



3.4 1 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES PREDICTORAS DEL RECHAZO AGUDO

3.4.1.A) MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA

En total, 47 pacientes presentaron al menos un evento de rechazo agudo como primer evento, en el tiempo de seguimiento. Se realizó el análisis de regresión logística binaria univariado para cada una de las siguientes variables, cuya significación se expone en la **Tabla 11.**

TABLA 11. ANÁLISIS UNIVARIADO DE LAS VARIABLES ASOCIADAS AL RECHAZO AGUDO

VARIABLE	Odds Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,302 (1,012-1,676)	0,001 *
C02	1,518 (1,112-2,070)	0,008 *
C01 - C02	1,840 (1,079-3,137)	0,025 *
CV%	1,007 (0,978-1'038)	0,619
CYP-R expresor	1,304 (0,402-4,229)	0,658
CYP-D expresor	1,125 (0,297-4,258)	0,862
Edad	0,987 (0,902-1,080)	0,776
Esteroides	0,342 (0,120-0,972)	0,044 *
Inducción	1,231 (0,428-3,537)	0,700
Infección por EBV	0,295 (0,074-1,166)	0,082 *
Infección por CMV	2,359 (0,461-12,075)	0,303
Inmunosupresores concomitantes	0,768 (0,195-3,024)	0,706
Peso	0,994 (0,969-1,020)	0,649
Tipo de donante	0,649 (0,221-1,908)	0,432
Tipo de injerto	1,676 (0,617-4,556)	0,311
Tortuosidad	1,056 (0,207-5,373)	0,948

* p< 0,05

Abreviaturas: C01: concentración sanguínea de tacrolimus en mediana 10 días antes del rechazo agudo; C02: concentración sanguínea de tacrolimus en mediana 10 días antes del periodo de cálculo de C01; |C01 - C02|: diferencia absoluta entra C01 y C02. CYP-R: pacientes receptores de un trasplante que expresan la enzima CYP3A5; CYP-D: pacientes que reciben injerto de un donante que expresa la enzima CYP3A5; CMV: Citomegalovirus; CV%: coeficiente de variación porcentual de los C0 obtenidos en el periodo de cálculo de C01; EBV: Epstein Barr Virus; IC: intervalo de confianza.

Las variables que resultaron significativas en el análisis univariado, considerando un nivel de significancia de 0,2 fueron evaluadas en la construcción del modelo multivariado. En función de la satisfacción de los criterios de selección descriptos anteriormente se seleccionó el siguiente modelo final por regresión logística construido con la variable $|C01 - C02|$, que estimó la probabilidad de rechazo agudo (RA). El modelo final es el que se describe en la **ecuación 11**:

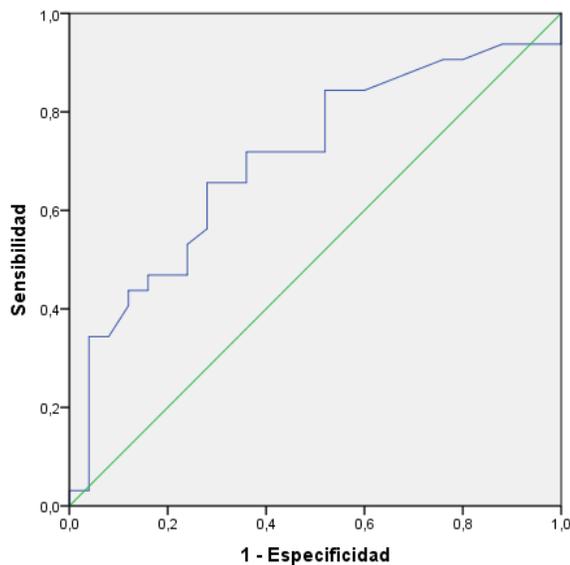
Ecuación11

$$\text{Log} \left(\frac{P(RA_i)}{1 - P(RA_i)} \right) = -0.593 + 0.610 * |C01 - C02|_i + \varepsilon_i$$

para cada individuo i.

Así, según la aproximación de regresión logística, la aparición de rechazo agudo se relaciona con la diferencia absoluta entre los valores de C0 de tacrolimus en dos periodos consecutivos y anteriores al evento de rechazo.

FIGURA 9. CURVA ROC PARA EL MODELO QUE RELACIONA EL RECHAZO AGUDO Y LA DIFERENCIA ABSOLUTA ENTRE LOS VALORES DE C01 Y C02 COMO VARIABLE PREDICTORA.



En la **Figura 9** se muestra la curva ROC para la variable predictora del modelo de regresión logística binaria de rechazo agudo. El ABC fue de 0,70 (95%IC, 0,57-0,84), lo cual representa una capacidad aceptable de discriminación entre pacientes con y sin episodios de rechazo agudo. Asimismo, el valor de corte en la curva ROC fue de 1,13 siendo el valor de la curva con mayor especificidad y sensibilidad en la discriminación de pacientes que rechazan.

3.4.1.B) MODELO DE REGRESION DE COX

Otra aproximación utilizada en la presente tesis doctoral para analizar la asociación de la sobrevida libre de rechazo agudo y las variables comentadas anteriormente, fue la construcción de un modelo de regresión de Cox. Los resultados obtenidos en el análisis univariado se presentan en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Análisis univariado de Cox de factores de riesgo para rechazo agudo

VARIABLE	Hazard Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,100 (0,985-1,230)	0,089 *
C02	1,262 (1,079-1,477)	0,005 *
CYP-R expresor	1,139 (0,593-2,185)	0,698
CYP-D expresor	1,090 (0,586-2,028)	0,787
CV%	1,006 (0,990-1,023)	0,459
Edad	0,984 (0,931-1,039)	0,551
Esteroides	0,551 (0,310-0,979)	0,042 *
Inducción	1,071 (0,565-2,032)	0,833
Infección por EBV	0,328 (0,117-0,917)	0,014 *
Infección por CMV	1,490 (0,689-3,221)	0,332
Inmunosupresores concomitantes	0,856 (0,363-2,020)	0,717
Peso	0,994 (0,978-1,010)	0,441
Tortuosidad	1,796 (0,766-4,211)	0,236
Tortcateg ^a	1,841 (1,028-3,298)	0,039 *

* p<0,05

^a Tortcateg: definida como la tortuosidad mayor al valor expresado como mediana

Abreviaturas: Al igual que Tabla 11

Las variables estadísticamente significativas en el análisis univariado de Cox resultaron: C01, C02, uso de esteroides, infección por EBV y alta tortuosidad en los valores de C0.

Según los criterios de construcción del modelo multivariado comentados en la sección 3.2.C), se obtuvo el modelo final por regresión de Cox incluyendo las variables “esteroides” y “tortcateg” según la **ecuación 12**:

Ecuación 12

$$\lambda_t(\text{esteroides}; \text{tortcateg}) = \lambda_0(t) e^{-0.578 * \text{esteroides} + 0.59 * \text{tortcateg}}$$

Es decir, aquellas variables que se asociaron con la sobrevida libre de rechazo agudo fueron la administración concomitante de esteroides y la variabilidad en los niveles de C0 de tacrolimus, representada por la variable “tortcateg” definida como la tortuosidad mayor a 1,10, siendo este valor el de la mediana de tortuosidad. En el primer caso, la administración concomitante de esteroides resulta ser un factor de protección de rechazo agudo, lo cual es esperable en la clínica y compatible con su uso como parte de los esquemas terapéuticos de inmunosupresores. En el segundo caso, una tortuosidad mayor a 1,10 muestra que la variabilidad en las concentraciones sanguíneas aumenta el riesgo de tener un episodio de rechazo celular agudo. Estos resultados son acordes a lo esperado ya que las fluctuaciones en los niveles de C0 llevarían a alcanzar concentraciones de tacrolimus fuera del margen terapéutico aumentando el riesgo de rechazo agudo.

El coeficiente β_i de la variable “esteroides” mostró un valor negativo lo cual equivale a un *hazard ratio* inferior a 1. Tal como se detalla en la **Tabla 13**, los pacientes que recibieron esteroides presentaron una sobrevida libre de rechazo agudo aumentada en un 44% respecto de aquellos pacientes que no recibieron esteroides en la terapéutica post trasplante. Por el contrario, el coeficiente β_i fue positivo para la variable “tortcateg”. Los pacientes con tortuosidad mayor a 1,10 tienen un riesgo aumentado del 80% de experimentar un rechazo agudo respecto de los pacientes con tortuosidad menor a 1,10.

TABLA 13. MODELO MULTIVARIADO FINAL OBTENIDO POR REGRESIÓN DE COX DE IDENTIFICACION DE FACTORES ASOCIADOS ARIESGO DE RECHAZO AGUDO

Variable	Hazard Ratio (95%IC)	Valor de p
Esteroides	0,56 (0,31-0,99)	0,049 *
Tortcateg^a	1,80 (1,01-3,22)	0,046 *

* p<0.05

^aTortuosidad mayor al valor mediana de tortuosidad

Abreviaturas: IC: intervalo de confianza

En resumen, se puede describir la aparición y sobrevida libre de rechazo agudo en función de sus variables predictoras según la metodología de regresión logística y regresión de Cox en la siguiente **Tabla 14:**

TABLA 14. RESUMEN DE VARIABLES PREDICTORAS DE RECHAZO AGUDO SEGÚN DOS MODELOS DE REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA Y DE COX.

Modelo final según regresión logística binaria	Odds Ratio	95% IC
$Log\left(\frac{P(RA_i)}{1 - P(RA_i)}\right) = -0.593 + 0.610 * C01 - C02 _i + \varepsilon_i$	C01 - C02 :1,84	1,08-3,14
Modelo final según regresión de Cox	Hazard Ratio	95% IC
$\lambda(t) = \lambda_0(t)e^{-0.578*esteroides+0.59*tortcateg}$	Esteroides: 0,56 Tortcateg: 1,80	0,31-0,99 1,01-3,22

En resumen, según el modelo de regresión de Cox, el uso de esteroides es un factor de protección de rechazo agudo. Cabe destacar, que con ambos métodos de regresión, se obtuvo que la

variabilidad de las concentraciones sanguíneas de tacrolimus es un factor de riesgo de rechazo agudo. Así, tanto la diferencia absoluta de las C01 y C02, como la variable “tortcateg” indican que fluctuaciones importantes en las concentraciones sanguíneas de C0 son predictoras del rechazo agudo.

3.4.2 ANALISIS DE LAS VARIABLES PREDICTORAS DE EVENTOS ADVERSOS

3.4.2 A) MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA

En base a los datos recolectados y descritos en el **capítulo 2**, se construyeron modelos de regresión logística binaria para estimar la probabilidad de aparición al primer evento adverso según se describió en la población en estudio, en función de variables predictoras.

El análisis univariado por una aproximación de regresión logística identificó las variables significativas según se detalla en la **Tabla 15**.

TABLA 15. ANÁLISIS UNIVARIADO POR REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA DE ASOCIACION ENTRE EVENTOS ADVERSOS Y VARIABLES EXPLICATIVAS

VARIABLE	Odds Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,580 (1,218-2,048)	0,001 *
C02	1,332 (1,015-1,748)	0,039 *
CV%	1,025 (0,996-1,054)	0,090 *
CYP-D expresor	0,762 (0,240-2,415)	0,762
CYP-R expresor	2,695 (0,808-8,987)	0,107 *
Edad	1,065 (0,967-1,172)	0,203
Esteroides	1,333 (0,504-3,525)	0,562
Inducción	2,250 (0,783-6,468)	0,132 *
Inmunosupresores concomitantes	0,594 (0,207-1,704)	0,332
Peso	1,017 (0,987-1,048)	0,272
Tortcateg	2,080 (0,779-5,552)	0,144 *
Tortuosidad	0,907 (0,190-4,339)	0,903

* p<0,05

^aTortcateg: tortuosidad mayor al valor expresado como mediana

Abreviaturas igual a Tabla 11.

Las variables estadísticamente significativas en el análisis univariado fueron: C01, C02, CV%, edad, uso de inducción y “tortcateg”.

Luego, según los criterios de construcción del modelo multivariado descrito en la **sección 3.3.c)** se seleccionó el siguiente modelo final de regresión logística. Este modelo estima la probabilidad de desarrollar eventos adversos con la variable C01 como única variable predictora (**ecuación 13**).

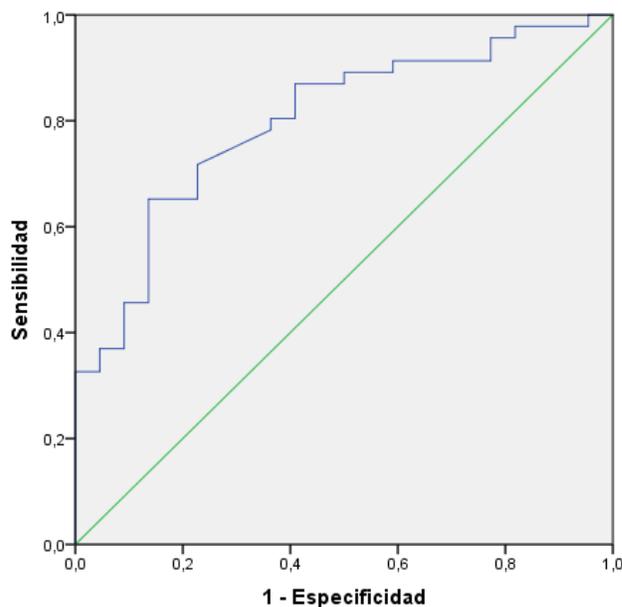
Ecuación 13

$$\text{Log} \left(\frac{P(\text{eventos adversos}_i)}{1 - P(\text{eventos adversos}_i)} \right) = -2.312 + 0.457 * C01_i + \varepsilon_i$$

Empleando el modelo de regresión logística binaria, se puede concluir que por cada 1 ng/ml de aumento en la C01, la probabilidad de desarrollar un evento adverso aumenta un 58%.

El área bajo la curva ROC fue de 0,80 (95% IC 0,69-0,91) como se observa en la **Figura 10**, indica que la variable C01 discrimina aceptablemente los pacientes con y sin desarrollo de eventos adversos.

FIGURA 10. CURVA ROC PARA ESTIMACIÓN DE EVENTOS ADVERSOS
CONSIDERANDO LA VARIABLE PREDICTORA EL C01



El punto de corte en la variable C01 que presenta mejor predicción y discriminación de los pacientes con y sin eventos adversos es 7,5 ng/ml.

3.4.2 B) MODELO DE REGRESION DE COX

En cuanto a la evaluación de la sobrevida libre de eventos adversos, las variables predictoras evaluadas se encuentran descriptas en la **Tabla 16**.

TABLA 16. ANÁLISIS UNIVARIADO DE COX DE LOS FACTORES DE RIESGO PARA PRESENTAR EVENTOS ADVERSOS

VARIABLE	Hazard Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,231 (1,116-1,359)	3,59e-05 *
C02	1,161 (1,039-1,298)	0,014 *
CV%	1,022 (1,006-1,038)	0,010 *
CYP-D expresor	0,875 (0,443-1,729)	0,698
CYP-R expresor	2,030 (1,035-3,984)	0,043 *
Edad	1,042 (0,990-1,096)	0,124 *
Esteroides	1,402 (0,774-2,540)	0,260
Inmunosupresores concomitantes	0,621 (0,315-1,224)	0,153 *
Peso	1,013 (0,997-1,029)	0,138 *
Tortcateg ^a	1,494 (0,829-2,693)	0,179 *
Tortuosidad	1,506 (0,475-4,773)	0,513

* p< 0,05.

^aTortcateg: tortuosidad mayor al valor expresado como mediana.

Abreviaturas: al igual que Tabla 11.

Las variables estadísticamente significativas en el análisis univariado de Cox resultaron: C01, C02, CV%, CYP-R expresor, edad, uso de inmunosupresores concomitantes, peso y “tortcateg” definida como tortuosidad en los valores de C0 mayor al valor de la mediana (1,10).

Según los criterios de construcción del modelo multivariado más adecuado, se seleccionó un modelo final por regresión de Cox incluyendo las variables “C01” y “CYP-R”, y que se presenta en la **ecuación 14**:

Ecuación 14

$$\lambda_t = \lambda_0(t)e^{0.715 \cdot CYP-R + 0.22 \cdot C01}$$

La sobrevida libre de evento adverso resultó ser inversamente proporcional al aumento del valor de C01. El aumento de cada 1 ng/ml en el valor de C01 indica que la sobrevida libre de un evento adverso se reduce en un 25%. Además, según la ecuación descrita, el riesgo de desarrollar un evento adverso aumenta en el caso de pacientes CYP-R expresores y éstos pacientes poseen un riesgo aumentado del 105% de experimentar un evento adverso respecto de los pacientes CYP-R no expresores.

Así, en la **Tabla 17** se observa el *hazard ratio* y su intervalo de confianza del modelo final para factores de riesgo de eventos adversos por regresión de Cox.

TABLA 17. ANÁLISIS MULTIVARIADO POR REGRESIÓN DE COX PARA FACTORES DE RIESGO DE EVENTOS ADVERSOS.

Factor de Riesgo	Hazard Ratio (95%IC)	Valor de p
CYP-R expresor	2,05 (1,03-4,06)	0,041 *
C01	1,25 (1,12-1,39)	<0,0001 *

* p< 0,05.

Abreviaturas: C01: concentración sanguínea de tacrolimus en mediana 10 días antes de un evento adverso; CYP-R expresor: receptores de un trasplante que expresan la enzima CYP3A5;IC: intervalo de confianza.

En resumen se puede describir la aparición de eventos adversos en función de sus variables predictoras según la metodología de regresión logística y regresión de Cox tal como se expresa en la **Tabla 18**.

TABLA 18.RESUMEN DE VARIABLES PREDICTORAS DE EVENTOS ADVERSOS SEGÚN DOS MODELOS DE REGRESION LOGÍSTICA Y DE COX.

	Variables predictoras de eventos adversos	OR/HR	IC 95%
Regresión Logística	$\text{Log} \left(\frac{P(\text{eventos adversos}_i)}{1 - P(\text{eventos adversos}_i)} \right) = -2.312 + 0.457 * C0_i + \varepsilon_i$	C01: 1,58	1,22-2,05
Regresión de Cox	$\lambda_t = \lambda_0(t) e^{0.715 * CYP-R + 0.22 * C01}$	CYP-R: 2,05 C01: 1,25	1,03-4,06 1,12-1,39

El análisis realizado mediante la regresión de Cox mostró que si el paciente receptor del órgano es expresor del CYP3A5, esto resulta en un factor de riesgo para el desarrollo de eventos adversos a tacrolimus. Otra variable importante en el análisis de Cox fue la concentración

sanguínea de tacrolimus que demostró que aumenta la chance de desarrollar un evento adverso un 25% con cada 1 ng/ml que se incrementa en C01.

Dada la alta frecuencia de aparición de hipomagnesemia y nefrotoxicidad en los eventos adversos secundarios a tacrolimus, como se describió en el **capítulo 2**, se analizaron sus variables predictoras mediante modelos de regresión logística binaria y de Cox que se desarrollan a continuación.

3.4.3 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES PREDICTORAS DE HIPOMAGNESEMIA

3.4.3 A) MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA CON VARIABLE RESPUESTA

HIPOMAGNESEMIA

El análisis univariado por regresión logística binaria para estimar la probabilidad de desarrollo de hipomagnesemia derivó en los resultados presentados en la **Tabla 19**. En total, 32 pacientes presentaron al menos un evento de hipomagnesemia durante el tiempo de seguimiento.

TABLA 19. ANÁLISIS UNIVARIADO DE HIPOMAGNESEMIA POR REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA.

VARIABLE	Odds Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,473 (1,175-1,847)	0,001 *
C02	1,396 (1,065-1,829)	0,016 *
CV%	1,020 (0,996-1,044)	0,097 *
CYP-R expresor	2,556 (0,841-7,761)	0,098 *
CYP-D expresor	1,294 (0,429-3,901)	0,647
Edad	1,014 (0,930-1,106)	0,749
Esteroides	1,909 (0,733-4,972)	0,186 *
Inmunosupresores concomitantes	0,309 (0,098-0,974)	0,045 *
Peso	1,002 (0,976-1,028)	0,887
Tortuosidad	0,289 (0,027-3,046)	0,302
Tortcateg ^a	1,253 (0,494-3,179)	0,635

* p<0,05

^aTortuosidad mayor al valor expresado como mediana

Abreviaturas: según lo descrito en la Tabla 11.

Según los datos de la **Tabla 19**, y los supuestos de significancia detallados anteriormente, las variables que resultaron significativamente asociadas a hipomagnesemia fueron: C01, C02, CV%, CYP-R, uso concomitante de inmunosupresores (IS) y esteroides.

En la construcción del modelo multivariado, basado en las variables significativas y en los criterios establecidos se seleccionó el siguiente modelo final para hipomagnesemia por regresión logística construido con las variables CYP-R, C01 y IS (**ecuación 15**).

Ecuación 15

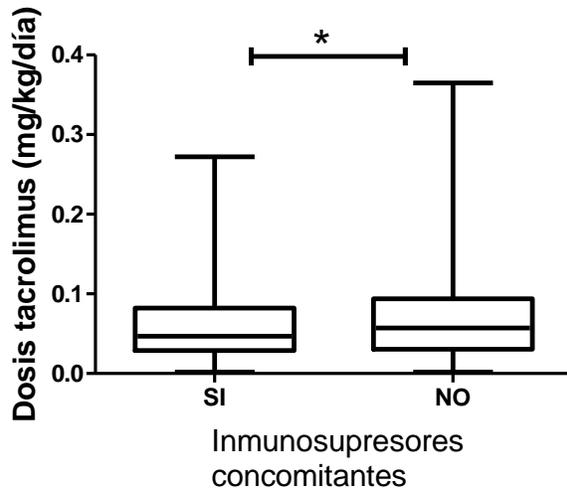
$$\text{Log} \left(\frac{P(\text{hipomagnesemia}_i)}{1 - P(\text{hipomagnesemia}_i)} \right) = -3.963 + 0.591 * C01_i - 1.611 * IS_i + 1.288 * CYP - R + \varepsilon_i$$

Siendo i el subíndice correspondiente al individuo.

Este modelo final presentó los siguientes *odds ratio* e intervalos de confianza: para la variable “C01”, OR=1,81 (95%IC: 1,29-2,54), para la variable “Inmunosupresores concomitantes” OR=0,20 (95%IC: 0.04-1,08) y para la variable “CYP-R”, OR=3,62 (95%IC: 0,84-15,71).

Del modelo se desprende el uso de inmunosupresores concomitantes a tacrolimus es un factor de protección ante el desarrollo de hipomagnesemia por tacrolimus. Esto puede explicarse dado que la administración de fármacos inmunosupresores concomitantes permite reducir las dosis de tacrolimus respecto de aquellos pacientes que no reciben este tipo de medicación como se demuestra en la **Figura 11** ($p < 0,05$).

FIGURA 11. DOSIS DE TACROLIMUS EN PACIENTES QUE RECIBEN O LIBRES DE INMUNOSUPRESIÓN CONCOMITANTE.



*p<0,05

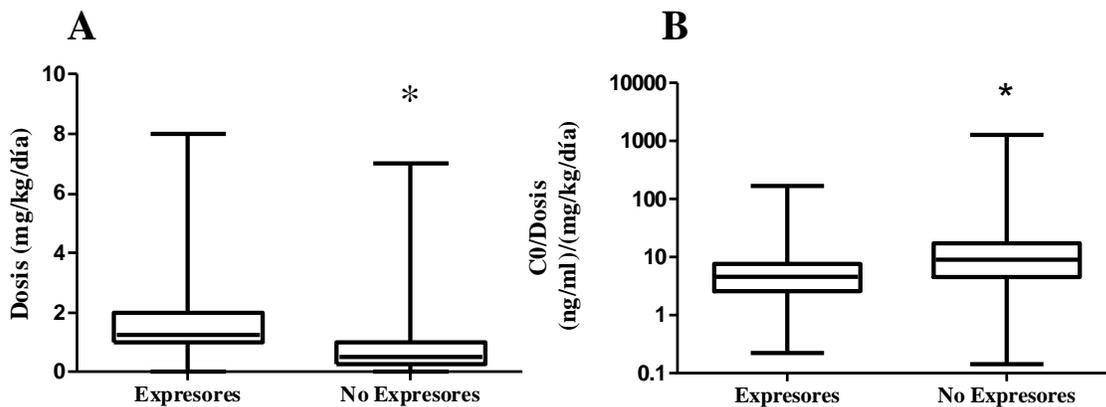
El valor mediana (rango) de la dosis de tacrolimus recibida por el grupo tratado con otros inmunosupresores concomitantes fue de 0,047 mg/kg (0,002-0,272), mientras que la dosis de tacrolimus que recibió el grupo de pacientes sin tratamiento inmunosupresor concomitante fue de 0,057 mg/kg (0,002-0,365) (p<0,05).

Por el contrario, según el modelo de la **ecuación 15** la expresión del CYP3A5 en el receptor es un factor de riesgo para el desarrollo de hipomagnesemia.

En las **Figuras 12 A y B** se graficaron las dosis de tacrolimus normalizadas por peso corporal y la concentración sanguínea normalizada por la dosis de tacrolimus, respectivamente, comparando pacientes expresores y no expresores del CYP3A5 (p<0,05). Se evidencia que las dosis recibidas por los pacientes expresores del CYP3A5 son mayores que las dosis que reciben los no expresores ya que requieren mayores dosis para lograr concentraciones sanguíneas adecuadas.

En cuanto a las concentraciones sanguíneas de tacrolimus normalizadas por la dosis, éstas fueron menores en los pacientes expresores del CYP3A5, lo cual es lógico por la capacidad metabolizadora de la enzima con disminución de la exposición sistémica del fármaco.

FIGURA 12. DOSIS DIARIA DE TACROLIMUS NORMALIZADA POR PESO CORPORAL (A) Y CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS DE TACROLIMUS NORMALIZADAS POR LA DOSIS (B) EN PACIENTES EXPRESORES Y NO EXPRESORES DE CYP3A5



* $p < 0,05$.

Abreviaturas: C0: concentración sanguínea de tacrolimus 12 horas posterior a la administración del medicamento.

La mediana (rango) de la dosis de tacrolimus de los receptores expresores del CYP3A5 fue de 0,062 mg/kg (0,003-0,294), mientras que la dosis de los no expresores fue de 0,046 mg/kg (0,002-0,333) ($p < 0,05$).

El valor mediana (rango) de la concentración sanguínea de tacrolimus normalizada por la dosis en los receptores expresores del CYP3A5 fue de 93,4 (ng/ml)/(mg/kg) (7,7-2520,0), mientras que el valor en los no expresores fue de 120,0 (ng/ml)/(mg/kg) (4,0-11090) ($p < 0,05$).

3.4.3 B) MODELO DE REGRESION DE COX

En cuanto al análisis de la relación entre la sobrevida libre de hipomagnesemia y las variables explicatorias evaluadas se observaron los resultados del análisis univariado en la **Tabla 20**.

TABLA 20. ANÁLISIS UNIVARIADO DE COX DE LOS FACTORES DE RIESGO DE HIPOMAGNESEMIA

VARIABLES	Hazard Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,092 (1,030-1,157)	0,003 *
C02	1,249 (1,059-1,473)	0,008 *
CYP-R expresor	2,288 (1,025-5,108)	0,046 *
CYP-D expresor	1,262 (0,557-2,859)	0,582
Edad	1,015 (0,954-1,079)	0,646
Esteroides	1,785 (0,858-3,710)	0,112 *
Inmunosupresores concomitantes	0,390 (0,150-1,013)	0,032 *
Peso	1,004 (0,985-1,023)	0,713
Tortuosidad	0,490 (0,076-3,162)	0,384
Tortcateg ^a	1,183 (0,589-2,376)	0,636

* $p < 0,05$

^aTortuosidad $> 1,10$: tortuosidad mayor al valor expresado como mediana

Abreviaturas: al igual que Tabla 11.

Las variables significativamente asociadas a hipomagnesemia en el análisis univariado fueron: C01, C02, CYP-R expresor, IS y esteroides.

Acorde a los criterios de construcción del modelo multivariado de regresión de Cox, se seleccionó como modelo final el que incluye a las variables C01 y CYP-R como explicativas. El mismo se presenta en la **ecuación 16**.

Ecuación 16

$$\lambda_t = \lambda_0(t)e^{0.115 \cdot C01 + 1.062 \cdot CYP-R}$$

En la **ecuación 16** se observa que los coeficientes de la parte lineal del modelo resultaron positivos para la variable C01 y CYP-R e iguales a 0,115 y 1,062, respectivamente. Esto equivale a un HR_i superior a 1 lo cual indica que el riesgo de desarrollar un evento de hipomagnesemia aumenta a medida que el valor de C01 lo hace y en la medida que el CYP-R sea expresor. Como se indica en la **Tabla 21**, el aumento unitario en el valor de C0 determina que la probabilidad de sufrir hipomagnesemia aumenta un 12%. Además, los pacientes que expresan CYP3A5 tienen un riesgo aumentado del 189% de experimentar hipomagnesemia en comparación con los no expresores.

TABLA 21. CONSTRUCCIÓN DE MODELOS POR REGRESIÓN DE COX PARA FACTORES DE RIESGO DE HIPOMAGNESEMIA.

Factor de Riesgo	Hazard Ratios (95%IC)	Valor de p
C01	1,12 (1,05-1,20)	0,001 *
CYP-R	2,89 (1,22-6,85)	0,016 *

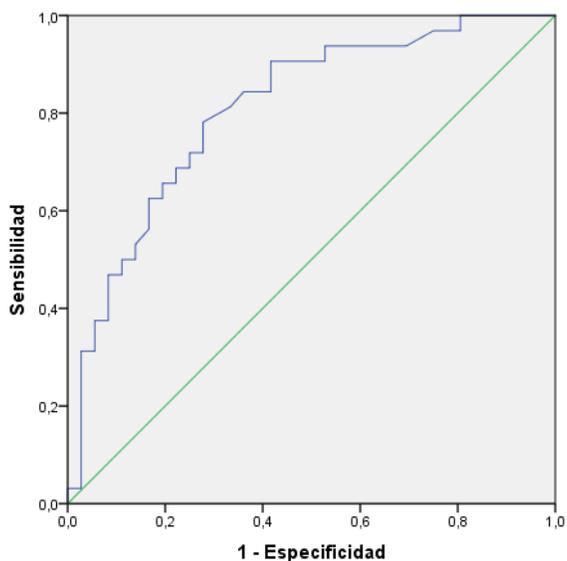
* < 0,05

Abreviaturas: como se describió en **Tabla 11**.

Por lo tanto los expresores del CYP3A5 presentan mayores requerimientos de dosis de tacrolimus y presentan un mayor riesgo de hipomagnesemia.

Se construyó una curva ROC con la variable predictora C01 para el desarrollo de hipomagnesemia. La curva ROC se muestra en la siguiente **Figura 13**.

FIGURA 13. CURVA ROC PARA PREDICCIÓN DE HIPOMAGNESEMIA CON VARIABLE PREDICTORA C01.



En la **Figura 13**, la curva ROC para el desarrollo de hipomagnesemia con la única variable predictora el C01 tiene un área bajo la curva de 0,809 (IC95% 0,706-0,912) lo que indica una discriminación aceptable entre los que desarrollan y no desarrollan hipomagnesemia. El punto de corte en la variable C01 para desarrollar hipomagnesemia es de 6,5 ng/ml, según la curva ROC.

Entonces en resumen se puede describir el desarrollo de hipomagnesemia y la sobrevida libre de este evento adverso en función de sus variables predictoras según la metodología de regresión logística y regresión de Cox, respectivamente en la **Tabla 22**.

TABLA 22. RESUMEN DE VARIABLES PREDICTORAS DE HIPOMAGNESEMIA SEGÚN DOS MODELOS DE REGRESION LOGISTICA BINARIA Y DE COX

Modelo por regresión logística binaria	Odds Ratio (95%IC)
$\text{Log} \left(\frac{P(\text{hipomagnesemia}_i)}{1 - P(\text{hipomagnesemia}_i)} \right) = -3.963 + 0.591 * C01_i - 1.611 * IS_i + 1.288 * CYP - R + \varepsilon_i$	C01: 1,81 (1,29-2,54) IS: 0,20 (0,04-1,08) CYP-R: 3,62 (0,84-15,71)
Modelo por regresión de Cox	Hazard Ratio(95%IC)
$\lambda_t = \lambda_0(t) e^{0.115 * C01 + 1.062 * CYP - R}$	C01: 1,25 (1,12-1,39) CYP-R: 2,05 (1,03-4,06)

En ambos modelos se evidencia que la hipomagnesemia se desarrolla con mayor probabilidad en pacientes receptores de un trasplante que expresen la enzima que metaboliza el tacrolimus (CYP3A5). Asimismo, las concentraciones sanguíneas del fármaco también se asocian a hipomagnesemia. Mediante regresión logística, la utilización de otros inmunosupresores además de tacrolimus representa un factor de protección al desarrollo de hipomagnesemia.

Como se comentó previamente en los modelos desarrollados para estudiar la asociación entre la aparición de un evento adverso y en particular hipomagnesemia, los pacientes expresores del CYP3A5 tienen un riesgo aumentado de presentar un evento adverso respecto de los pacientes

que no expresan dicha enzima. Además, las concentraciones sanguíneas de tacrolimus se encuentran significativamente asociadas al desarrollo de eventos adversos e hipomagnesemia.

3.4.4 ANÁLISIS DE LAS VARIABLES PREDICTORAS DE NEFROTOXICIDAD

3.4.4 A) MODELO DE REGRESIÓN LOGÍSTICA CON VARIABLE RESPUESTA

NEFROTOXICIDAD

Por último se analizó por regresión logística binaria la probabilidad de aparición de nefrotoxicidad. En total, 15 pacientes experimentaron al menos un evento de nefrotoxicidad durante el periodo de seguimiento. Se construyeron modelos univariados por regresión logística binaria para estimar la probabilidad de aparición de nefrotoxicidad utilizando las variables predictoras descritas anteriormente en este capítulo.

TABLA 23. ANÁLISIS UNIVARIADO DE NEFROTOXICIDAD POR REGRESIÓN LOGÍSTICA BINARIA

VARIABLES	Odds Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,936 (1,371-2,733)	<0,0001 *
C02	1,622 (1,139-2,311)	0,007 *
CV%	1,002 (0,973-1,031)	0,910
CYP-R expresor	0,794 (0,207-3,048)	0,737
CYP-D expresor	0,477 (0,116-1,968)	0,306
Edad	1,073 (0,970-1,188)	0,171 *
Esteroides	0,906 (0,290-2,832)	0,866
Inducción	7,000 (0,855-57,287)	0,070 *
Inmunosupresores concomitantes	1,444 (0,446-4,674)	0,539
Peso	1,016 (0,987-1,046)	0,292
Tortcateg ^a	1,184 (0,379-3,699)	0,772
Tortuosidad	2,176 (0,435-10,876)	0,344

* p<0,05

^aTortuosidad >1,10: tortuosidad mayor al valor expresado como mediana

Abreviaturas: al igual que Tabla 11.

Para el desarrollo del modelo multivariado, se optó por la variable C02 respecto de la variable C01 ya que el porcentaje de predicción fue mayor con la variable C02 de 79,4% vs. 89,5%.

El modelo final para nefrotoxicidad por regresión logística binaria se desarrolla en la **ecuación**

17 junto a sus coeficientes:

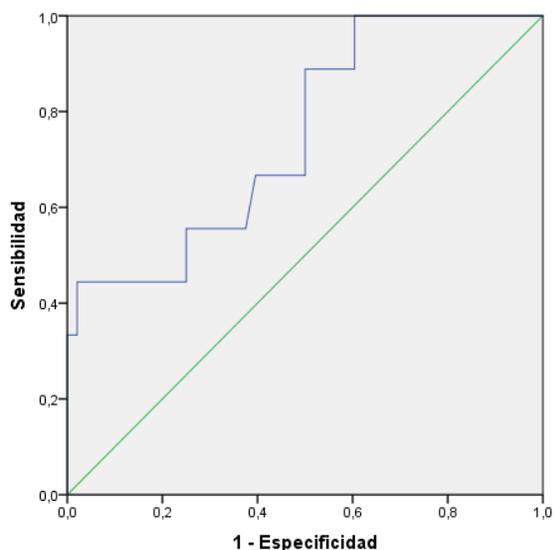
Ecuación 17

$$\text{Log} \left(\frac{P(\text{nefrotoxicidad}_i)}{1 - P(\text{nefrotoxicidad}_i)} \right) = -4.926 + 0.484 * C02_i + \varepsilon_i$$

i = subíndice correspondiente al individuo.

El modelo final de la **ecuación 16** se seleccionó con los criterios establecidos y la curva ROC de la predicción de nefrotoxicidad con variable C02 se aprecia en la siguiente **Figura 14**.

FIGURA 14. CURVA ROC PARA ESTIMACIÓN DE NEFROTOXICIDAD CON VARIABLE PREDICTORA C02



Se construyó la curva ROC utilizando la variable C02 para discriminar entre aquellos pacientes que desarrollan de los que no desarrollan nefrotoxicidad. El área bajo la curva fue de 0,75 (95%IC: 0,58-0,92), lo que resulta un valor aceptable de predicción.

El punto de mayor sensibilidad y especificidad de la curva ROC corresponde a una concentración sanguínea (C02) de 9 ng/ml.

3.4.4 B) MODELO DE REGRESION DE COX

Se realizó por último el análisis por regresión de Cox para estimar la sobrevida libre de nefrotoxicidad utilizando un conjunto de variables predictoras cuyo impacto sobre la duración de sobrevida libre de éste evento adverso se desea estimar y comparar.

En primer lugar, el análisis univariado mostró los resultados descritos en la **Tabla 24**.

TABLA 24. ANÁLISIS UNIVARIADO DE COX DE LOS FACTORES DE RIESGO PARA PRESENTAR NEFROTOXICIDAD

VARIABLES	Hazard Ratio (IC 95%)	Significación estadística
C01	1,356 (1,170-1,573)	0,0001 *
C02	1,382 (1,149-1,662)	0,002 *
CYP-R expresor	0,572 (1,157-2,084)	0,376
CYP-D expresor	0,917 (0,268-3,134)	0,889
Edad	1,068 (0,977-1,169)	0,156 *
Esteroides	0,889 (0,321-2,464)	0,821
Inmunosupresores concomitantes	1,154 (0,405-3,288)	0,790
Peso	1,014 (0,989-1,039)	0,297
Tortuosidad	4,302 (1,132-16,360)	0,032 *
Tortcateg ^a	1,298 (0,467-3,607)	0,617

* p< 0,05

^aTortuosidad >1,10: tortuosidad mayor al valor expresado como mediana

Abreviaturas: Al igual que Tabla 11.

En el análisis multivariado, según los criterios de construcción del modelo más adecuado, se seleccionó un modelo final por regresión de Cox incluyendo la variable C01, que se presenta en la **ecuación 18** con sus coeficientes:

Ecuación 18

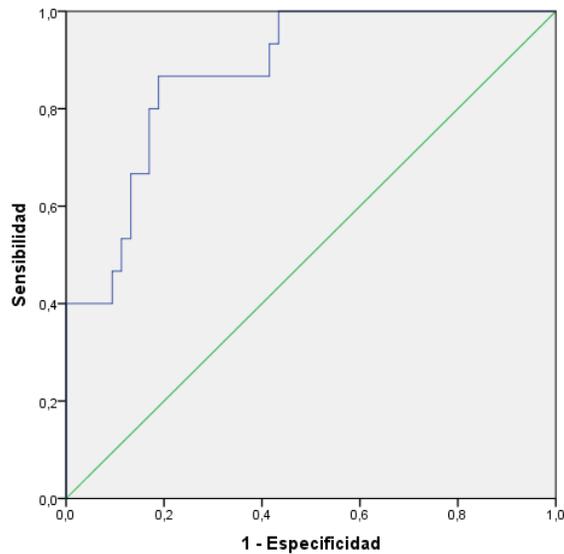
$$\lambda_t = \lambda_0(t)e^{0.305 \cdot C01}$$

El coeficiente β es positivo para C01 lo que equivale a una razón de riesgos superior a 1 o bien, indica que el riesgo aumenta a medida que aumenta el valor de C01. Es decir que C01 tiene una asociación positiva con la incidencia de nefrotoxicidad o bien negativa con la sobrevida libre de nefrotoxicidad.

Así, se observa el *hazard ratio* del modelo final para la regresión de Cox descrito en la **ecuación 18** es 1,36 (95% IC 1,17-1,57) ($p < 0,001$). En la población de trasplantados pediátricos en estudio, un aumento unitario en el valor de C0 indica que la probabilidad de sufrir nefrotoxicidad aumenta un 36%.

En la **Figura 15** se observa la curva ROC para detección de nefrotoxicidad con la variable predictora C01, la cual tiene un área bajo la curva de 0,88 (IC95% 0,79-0,97).

FIGURA 15. CURVA ROC PARA LA VARIABLE C01 COMO PREDICTORA DE NEFROTOXICIDAD



La variable C01 logró discriminar los pacientes que desarrollaron nefrotoxicidad de los que no, con un área bajo la curva muy aceptable. La concentración de tacrolimus en el valle de 6,75ng/ml es el valor de C01 a partir del cual la discriminación tiene máxima sensibilidad y especificidad.

En resumen, los modelos desarrollados en el presente capítulo acerca de las variables predictoras de rechazo y de la sobrevida libre de rechazo, así como también los factores de riesgo para eventos adversos, incluyendo hipomagnesemia y nefrotoxicidad, y variables explicatorias de la sobrevida libre de eventos adversos, se detallan en la **Tabla 25**.

TABLA 25. VARIABLES SIGNIFICATIVAS PARA CADA EVENTO CLÍNICO ANALIZADO SEGÚN REGRESION LOGISTICA Y MODELOS DE COX.

Método	Regresión Logística	Odds Ratio (95% IC)
RECHAZO AGUDO	$\text{Log} \left(\frac{P(RA_i)}{1 - P(RA_i)} \right) = -0.593 + 0.610 * C01 - C02 _i + \varepsilon_i$	C01 - C02 : 1,84 (1,08-3,14)
	Regresión de Cox	Hazard Ratio(95% IC)
	$\lambda_t = \lambda_0(t)e^{-0.578 * \text{esteroides} + 0.59 * \text{tortcateg}}$	Esteroides:0,56 (0,31-0,99) Tortcateg: 1,80 (1,01-3,22)
EVENTOS ADVERSOS	Regresión Logística	Odds Ratio (95% IC)
	$\text{Log} \left(\frac{P(\text{eventos adversos}_i)}{1 - P(\text{eventos adversos}_i)} \right) = -2.312 + 0.457 * C01_i + \varepsilon_i$	C01: 1,58 (1,22-2,05)
	Regresión de Cox	Hazard Ratio (95%IC)
	$\lambda_t = \lambda_0(t)e^{0.715 * \text{CYP-R} + 0.22 * \text{C01}}$	CYP-R:2,05 (1,03-4,06) C01: 1,25 (1,12-1,39)
HIPOMAGNESEMIA	Regresión Logística	Odds Ratio (95%IC)
	$\text{Log} \left(\frac{P(\text{hipomagnesemia}_i)}{1 - P(\text{hipomagnesemia}_i)} \right) = -3.963 + 0.591 * C01_i - 1.611$	C01:1,81 (1,29-2,54) IS: 0,20 (0,04-1,08) CYP-R:3,62 (0,84-15,71)
	Regresión de Cox	Hazard Ratio(95% IC)
	$\lambda_t = \lambda_0(t)e^{0.115 * \text{C01} + 1.062 * \text{CYP-R}}$	C01: 1,25 (1,12-1,39) CYP-R: 2,05 (1,03-4,06)
NEFROTOXICIDAD	Regresión Logística	Odds Ratio(95% IC)
	$\text{Log} \left(\frac{P(\text{nefrototoxicidad}_i)}{1 - P(\text{nefrototoxicidad}_i)} \right) = -4.926 + 0.484 * C02_i + \varepsilon_i$	C02: 1,62 (1,14-2,31)
	Regresión de Cox	Hazard Ratio(95% IC)
	$\lambda_t = \lambda_0(t)e^{0.305 * \text{C01}}$	C01: 1,36 (1,17-1,57)

Abreviaturas según tabla 11.

En base a todo lo expuesto en la presente sección, se puede interpretar que el desarrollo de rechazo agudo se relaciona con la variabilidad en la exposición sistémica a tacrolimus cuantificada en el presente análisis mediante la diferencia absoluta entre C01 y C02 o la tortuosidad. Además, el uso de esteroides es un factor de protección en el desarrollo de rechazo según el modelo de regresión de Cox, prolongando la supervivencia libre de rechazo.

La expresión del CYP3A5 en pacientes receptores de trasplante hepático fue identificada como un factor de riesgo en el desarrollo de eventos adversos. Asimismo, la concentración sanguínea media de tacrolimus en los 10 días previos al evento (C01) resultó un factor de riesgo para el desarrollo de toxicidad. A partir de un valor de 7,5 ng/ml existe mayor probabilidad de aparición de eventos adversos.

Al discriminar la hipomagnesemia de los demás eventos adversos a tacrolimus, se obtuvo que la concentración sanguínea de tacrolimus (C01) y la expresión del CYP3A5 son factores de riesgo para la aparición de este evento adverso.

Finalmente, en ambos modelos desarrollados de variables asociadas a la aparición de nefrotoxicidad, las concentraciones sanguíneas de tacrolimus previo al evento adverso, al menos 10 días previos al evento. En definitiva, para el desarrollo de un evento adverso a tacrolimus, sea hipomagnesemia o nefrotoxicidad, una concentración media de tacrolimus mayor a 6,5 ng/ml al menos 10 días previos, predice el desarrollo de estos eventos.

3.5 DISCUSIÓN

En el presente análisis se identificaron por primera vez las variables que se asocian con el desarrollo de episodios de rechazo agudo y aquellas asociadas con la aparición de eventos adversos en una cohorte importante de pacientes pediátricos con trasplante hepático en Latinoamérica. La información obtenida sobre los factores de riesgo y de protección descriptos para el desarrollo de los mencionados eventos de interés es importante en el diseño de programas efectivos para el manejo de la seguridad y eficacia del tacrolimus, y así contribuir a mejorar el tratamiento de los pacientes posterior al trasplante hepático en el HPJPG.

Se trabajó con un total de 91 episodios de rechazo agudo desarrollados en 47 pacientes de un total de 72 pacientes (65,3%) durante el tiempo de seguimiento evaluado. Este porcentaje se relaciona con el 59% informado por otros autores(20). El tratamiento del rechazo agudo condujo a administrar esteroides y a ajustar las dosis de tacrolimus como se describió en el **capítulo 1**, lo que impidió progresar hacia la fase de tolerancia. Sin embargo, los datos obtenidos acerca de la sobrevida libre de rechazo agudo al año de seguimiento (41,4%), son comparables a los informados por Ng et al. en una población pediátrica trasplantada hepática(243).

La sobrevida global observada en la población del HPJPG fue del 92,9% lo cual es comparable al 84,9% reportado por Ng y col. Sin embargo cabe destacar que la población en el presente estudio excluyó a los pacientes con sobrevida global menor a 1 mes.

3.5 A) VARIABLES RELACIONADAS CON RECHAZO AGUDO

Las fluctuaciones en las concentraciones sanguíneas de tacrolimus en el tiempo pueden resultar tanto en excesiva como en insuficiente inmunosupresión (229-232). El coeficiente de variación porcentual aquí descripto para todo el seguimiento (32%) es comparable a la variabilidad intraindividual previamente descrita en receptores de trasplante adultos con trasplante de órgano sólido (99, 244, 245) y en una población pediátrica con trasplante de hígado (246).

En el presente capítulo se observó una asociación positiva significativa entre la variabilidad en C0 y el rechazo. En éste análisis, la variabilidad es un factor de riesgo para el desarrollo de rechazo agudo, ya sea expresado como el valor absoluto de la diferencia entre C01 y C02 en el modelo de regresión logística binaria, o como tortuosidad en el modelo de regresión de Cox, junto con el factor protector de los esteroides en el esquema inmunosupresor.

Los datos hallados en literatura para las poblaciones pediátricas y adultas trasplantadas hepáticas son comparables a los resultados de éste capítulo. Así, en el estudio realizado por Pollock-Barziv y col. en pacientes pediátricos trasplantados de órgano sólido, se describió la asociación entre el mayor desvío estándar en los valores de C0 de tacrolimus y el aumento en el riesgo de rechazo agudo y falla del injerto(247). Por su parte Prytula y col. informaron que los pacientes con rechazo agudo tardío mostraban mayor CV% de los niveles de C0 respecto de los pacientes sin rechazo agudo en una población pediátrica trasplantada renal. En una población adulta con trasplante renal se observó la asociación entre la variabilidad en C0 con la incidencia de rechazo agudo durante los primeros 6 meses post trasplante (248). En dicho estudio, el análisis multivariado mostró que la reducción por cada unidad de C0 se asoció con un 7,2% de incremento en el riesgo de rechazo agudo en los primeros 6 meses. Por su parte, Ruth Sapir-Pichhadze y col. estudiaron la asociación entre el desvío estándar en los niveles de C0 y la

incidencia de rechazo tardío, glomerulopatía y pérdida de injerto en pacientes con trasplante renal. Se observó que el riesgo de presentar alguno de los eventos adversos fue 27% mayor por cada unidad de incremento en el desvío estándar de C0. Los autores también describieron distintos puntos de corte para la variabilidad, siendo que un desvío estándar en las concentraciones sanguíneas de tacrolimus de 1,5 o más, se asoció con el incremento del 33% en el riesgo de desarrollar rechazo tardío, glomerulopatía o pérdida de injerto.

La biodisponibilidad de tacrolimus presenta una alta variabilidad entre individuos, lo cual en parte se debe a polimorfismos en los genes que codifican las enzimas metabolizadoras del citocromo P450 (182). Respecto al rol del polimorfismo del CYP3A5 y la eficacia, Debette-Gratien y col. describieron una asociación significativa entre pérdida del injerto y el genotipo expresor del CYP3A5 del receptor (HR 2,53, $P < 0,05$) en una población adulta con trasplante hepático (180). Sin embargo, y en consistencia con los resultados aquí presentados, los autores no observaron una asociación entre variables genéticas y rechazo agudo. Por lo tanto sería de gran interés estudiar el impacto en una población más numerosa y ampliar el análisis genético al polimorfismo del ABCB1, ya que está descrito que la variación en la disposición de tacrolimus de los receptores de hígado pediátricos parece relacionada con el genotipo ABCB1 como se mencionó en el **capítulo 1**.

La inmunosupresión con anticuerpos antagonistas del receptor de interleukina-2 es aceptada en adultos y el primer uso en trasplante de órgano sólido pediátrico ha dado resultados remarcables(234). En la presente tesis doctoral no fue posible demostrar un efecto protector significativo del basiliximab frente al desarrollo de rechazo agudo. Previamente, Ganschow y col. evaluaron el uso de basiliximab en 26 pacientes pediátricos trasplantados hepáticos y contrastaron con los resultados obtenidos en 26 pacientes que no lo recibieron (234). La

incidencia de rechazo agudo fue significativamente menor en el grupo con inducción (11% vs. 61%). Sin embargo, el esquema inmunosupresor consistió en la administración de ciclosporina y esteroides de mantenimiento mientras que en el esquema provisto a los pacientes del HPJPG se utilizó tacrolimus y por lo tanto, no son perfectamente comparables los resultados entre estudios. Por otro lado Asensio y col. realizaron un análisis retrospectivo en 34 pacientes pediátricos con trasplante hepático, de los cuales 13 recibieron una única dosis de basiliximab, 21 pacientes estuvieron libres de inducción mientras que en todos los pacientes el esquema inmunosupresor se completaba con tacrolimus y esteroides de mantenimiento. La tasa de rechazo agudo se redujo de 63% a 30% en los pacientes que recibieron inducción y este efecto se observó incluso en aquellos pacientes cuyos niveles de tacrolimus eran bajos. Sin embargo la sobrevida del injerto al año fue similar en ambos grupos(249). En la población adulta trasplantada hepática tratada con basiliximab, los resultados son controversiales. Se reportó un aumento en la incidencia de rechazo agudo en pacientes tratados con basiliximab como parte de un esquema inmunosupresor con reducción de esteroides (250), o incluso una incidencia similar de rechazo agudo temprano (a los 3 meses post trasplante) en pacientes que recibieron basiliximab ($p>0,05$) en un esquema que incluyó tacrolimus y esteroides (251). Por lo contrario, Nguyen y col. reportaron que el único factor protector de rechazo agudo es la utilización de terapia de inducción en una población adulta trasplantada hepática, y cuyo esquema inmunosupresor consistió en tacrolimus, ácido micofenólico y esteroides para todos los pacientes (184). Esta diferencia en el esquema inmunosupresor y el mayor tamaño muestral descrito por Nguyen y col. pueden ser las causas de las diferencias entre sus resultados y los expuestos en este capítulo de tesis. Una vez más se puede observar que la experiencia en adultos no se puede extrapolar a la población pediátrica. A pesar de que los resultados aquí presentados con basiliximab no son concluyentes, permiten a los

médicos terapeutas y de trasplante postergar la introducción de tacrolimus hasta normalizar la función renal y/o resolver complicaciones quirúrgicas, biliares y vasculares ofreciendo una protección inmunosupresora que en el presente estudio no fue posible demostrar.

La escasez de órganos se ha transformado en un problema que desencadenó el desarrollo de técnicas quirúrgicas innovadoras como el “split” o división de hígado y el uso de donantes vivos para intentar aliviar este problema y expandir la oferta de donantes. El uso de los mencionados hígados parciales se tradujo en complicaciones vasculares y biliares (184). En los resultados de esta tesis, el tipo de donante (fallecido vs. vivo relacionado) o el tipo de injerto (completo vs. variante técnica) no resultaron ser variables independientes significativas en la sobrevida libre de rechazo agudo. En comparación, Nguyen y col. describieron la falta de asociación entre la aparición de rechazo agudo y el tipo de donante fallecido al igual que en la presente tesis. Tampoco el tipo de injerto tiene un impacto sobre el riesgo de rechazo al igual que lo reportado por Nguyen y col. en una población adulta trasplantada hepática. Por lo tanto, se considera que ciertas variables relacionadas con el tipo de injerto no son significativas en la sobrevida del injerto. Sería interesante evaluar el impacto de dichas variables en una población con mayor tamaño muestral para concluir si los factores relacionados al tipo de injerto no son significativos en la sobrevida del órgano.

Con respecto a la relación entre rechazo agudo y edad, otros autores, tampoco lograron describir una asociación estadísticamente significativa (212).

En definitiva, las variables significativas relacionadas con la incidencia de rechazo agudo en el presente análisis es la variabilidad en las concentraciones sanguíneas de tacrolimus, expresado como la diferencia absoluta en las concentraciones en mediana 10 días antes del evento y las concentraciones en mediana 20 días antes del evento, así como una tortuosidad en los valores de

concentración sanguínea de tacrolimus mayor a 1,10. La tortuosidad es un concepto novedoso para evaluar la variabilidad en C0 y se es definida como la relación entre las longitudes de las curvas que unen los puntos del diagrama de dispersión de concentraciones sanguíneas vs. tiempo y la línea recta que une la observación inicial y final obtenida de los valores de C0 registrados en el período de estudio. El uso de inmunosupresores, es una variable de protección estadísticamente significativa para el desarrollo de rechazo agudo.

3.5 B) VARIABLES RELACIONADAS CON EL DESARROLLO DE EVENTOS ADVERSOS

En la presente tesis se evaluó la asociación positiva entre la expresión de CYP3A5 y la incidencia de eventos adversos a tacrolimus y en particular, hipomagnesemia. Dado que los expresores de CYP3A5 presentan un mayor aclaramiento intestinal del fármaco y una reducción de la biodisponibilidad de tacrolimus, se requieren dosis más altas de tacrolimus para alcanzar concentraciones sanguíneas aceptables. Esto se pudo confirmar en el gráfico de las dosis diarias totales recibidas por todos los pacientes expresores del CYP3A5 y además se observa en la **Figura 12** que los niveles de C0 normalizados por las dosis recibidas (C0/dosis), son menores en los pacientes expresores de la enzima. Otros autores evaluaron la influencia del polimorfismo del CYP3A5 en los requerimientos de dosis de tacrolimus de pacientes adultos trasplantados renales (252). En el estudio realizado por Debette-Gratien y col. en una población adulta trasplantada hepática, los valores de C0 normalizados por la dosis fueron significativamente menores en pacientes expresores del CYP3A5 (sea del donante o del receptor) respecto de los pacientes no expresores. Es decir, el polimorfismo del CYP3A5 afecta significativamente la exposición

sanguínea de tacrolimus(180). Este estudio y otros (181, 182, 252) demuestra que la expresión del CYP3A5 en receptores influye significativamente en los requerimientos de dosis de tacrolimus al igual que lo observado en la presente tesis doctoral.

Al analizar la presencia de eventos adversos además de la de hipomagnesemia mediante el modelo de regresión de Cox, el modelo multivariado final incluye la expresión del CYP3A5 en receptores como factor de riesgo para el desarrollo de un evento adverso cualquiera y/o de hipomagnesemia. Entonces se puede concluir *a priori* que la genotipificación del polimorfismo del CYP3A5 podría contribuir a identificar a los pacientes en riesgo de desarrollar eventos adversos y de esta forma, alertar a los médicos de trasplante respecto de la mayor susceptibilidad de dichos pacientes.

Existe evidencia sustancial de que la proteína ABCB1 expresada en distintas porciones renales y, en menor medida, la enzima CYP3A5, están implicadas en la patogénesis de la nefrotoxicidad inducida por ICN. Además, el polimorfismo genético en ABCB1 y CYP3A5 explica algunas de las diferencias interindividuales en la susceptibilidad a los efectos nefrotóxicos de ICN(69). El estudio publicado por Hawwa y col. mostró una mayor incidencia de nefrotoxicidad (reducción del 30% en la tasa de filtración glomerular) entre los pacientes con ciertos alelos de la variante ABCB1 a los 6 meses post trasplante hepático pediátrico (253). Por lo contrario, Debette-Gratien y col. no encontraron una asociación significativa entre nefrotoxicidad y la expresión del CYP3A5 (180). Asimismo, el polimorfismo genético del CYP3A5 no estuvo asociado con la nefrotoxicidad secundaria a tacrolimus en una población adulta con trasplante renal, según describieron Quteineh y col (252). Sin embargo, los autores informaron un mayor requerimiento de dosis de tacrolimus en los pacientes con el genotipo CYP3A5*1/*1 (expresores), en comparación con los CYP3A5*3/*3 (no expresores) a 1, 6 y 12 meses post trasplante ($p < 0,001$).

En el presente capítulo de tesis, únicamente las concentraciones sanguíneas de tacrolimus se encuentran relacionadas con el desarrollo de nefrotoxicidad en la población en estudio. En cuanto a la relación entre la variabilidad en las C0 y el desarrollo de nefrotoxicidad, al igual que el trabajo de Prytula, no se observó una asociación estadísticamente significativa(212). Por lo tanto sería interesante estudiar el efecto de las variantes en la expresión de ABCB1 en la población pediátrica del HPJPG, ya que las diferencias reportadas pueden estar relacionadas con la expresión de dichos polimorfismos. Sin embargo los requerimientos de dosis de tacrolimus y sus mayores concentraciones sanguíneas alcanzadas parecen estar directamente relacionados con la incidencia de nefrotoxicidad. Por lo tanto, los mayores requerimientos de dosis secundarios a polimorfismos genéticos en enzimas metabólicas, pueden explicar la relación entre mayores concentraciones sanguíneas y el desarrollo de nefrotoxicidad.

El tacrolimus se utiliza como inhibidor calcineurínico de primera elección en los esquemas inmunosupresores, siendo conocida su relación entre la exposición sistémica y la evolución clínica (145). De este modo, se observa que el desarrollo de eventos adversos, nefrotoxicidad e hipomagnesemia descritas en este capítulo, están relacionados con las concentraciones de tacrolimus, según lo informado también por otros autores(116, 214, 215). Tanto en los modelos de regresión logística binaria para eventos adversos, hipomagnesemia y nefrotoxicidad como para los modelos de regresión de Cox se describió como variable independiente significativa a la concentración C0 antes de un evento adverso, lo que refuerza el rol del monitoreo terapéutico de fármacos en la individualización de la terapia inmunosupresora y el manejo de la terapia con tacrolimus.

Se puede concluir que para el desarrollo de un evento adverso a tacrolimus, sea hipomagnesemia o nefrotoxicidad, una concentración media de tacrolimus igual o mayor 6,5 ng/ml predice el

desarrollo de estos eventos. Al igual que Staatz y col., concluimos que una concentración C0 de tacrolimus de 6 ng/ml es recomendable para evitar su toxicidad(142).

En resumen, el presente es el primer estudio que aborda el análisis multivariado de seguridad y eficacia del tratamiento inmunosupresor con tacrolimus en la población pediátrica trasplantada hepática. Hasta el momento, los resultados aquí presentados forman parte del reporte con mayor número de pacientes evaluados en Argentina y en Latinoamérica. Además se evaluó la sobrevida libre de rechazo agudo, crónico y del paciente y se construyeron modelos para explicar el desarrollo de rechazo agudo y eventos adversos mediante variables predictoras. Sería interesante continuar con el análisis en diferentes poblaciones y con nuevas covariables predictivas de eventos de interés. Asimismo, sería importante validar en una nueva cohorte de pacientes trasplantados los modelos de regresión construidos.

Siendo que tacrolimus se mantendrá como el agente inmunosupresor de elección, la optimización del tratamiento con éste inhibidor calcineurínico es de gran importancia (197). Los principales retos a los que se enfrenta el presente equipo de salud de trasplante pediátrico son mejorar la calidad de vida de los pacientes a mediano y largo plazo, optimizar el manejo de la inmunosupresión y prevenir eventos adversos cuando sea posible. Para ello, el acceso a modelos validados que permitan predecir el desarrollo de eventos adversos o rechazo, es una opción atractiva para la optimización del tratamiento inmunosupresor.

CAPITULO 4 FARMACOCINÉTICA, SEGURIDAD Y EFICACIA DEL INTERCAMBIO DE MEDICAMENTOS SIMILARES

4.1 INTRODUCCIÓN

Dadas las características farmacocinéticas y farmacológicas en cuanto a eficacia variable y alta frecuencia de aparición de eventos adversos de los inhibidores calcineurínicos, el monitoreo terapéutico es fundamental en la rutina clínica del paciente trasplantado. Esta práctica, aunque controvertida incluso actualmente, contribuye a disminuir la probabilidad de rechazo y controlar la aparición de eventos adversos(99, 145, 185, 187, 254).

Más aun, el monitoreo terapéutico es recomendado especialmente en pacientes pediátricos con trasplante. El niño experimenta cambios fisiológicos durante su crecimiento incluyendo la maduración del sistema gastrointestinal y por ende se observan cambios temporales en la absorción y el metabolismo de fármacos lo cual repercute en la eficacia y seguridad(109, 255). Por ello, es muy importante estudiar y caracterizar las fuentes de variabilidad en la exposición del fármaco y perfil de eventos adversos(63, 256, 257)para así ajustar el esquema terapéutico individual del paciente pediátrico y más aún durante el desarrollo de una nueva formulación o comercialización de un medicamento similar(155, 177).

Desde 1996, la OMS recomendó utilizar el término “producto multi-fuente” para referirse a los medicamentos competidores como se describió en el **capítulo 1** (258)

Los medicamentos similares de inmunosupresores están ampliamente distribuidos en el mercado porque representan una estrategia de reducción de costos, especialmente en países en desarrollo (258-260). Incluso, en Estados Unidos de Norteamérica los medicamentos similares de

tacrolimus han ganado mercado extensamente (148). En Argentina, la introducción del medicamento similar de ciclosporina (Sigmasporin®, Bioprofarma) fue en el año 2011 mientras que el medicamento similar de tacrolimus (Sandoz®) se introdujo en 2013. Hasta el momento, sólo existe un medicamento similar de cada inhibidor de calcineurina en el mercado local.

La consolidación del mercado de similares ha generado controversia en profesionales de la salud como se expuso en el capítulo 1 y ha desencadenado distintas publicaciones de posición y guías de recomendaciones para realizar adecuadamente la sustitución de marcas de fármacos inmunosupresores en pacientes trasplantados y lograr asegurar que la exposición sistémica del inmunosupresor se mantenga acorde a las concentraciones sanguíneas pre-conversión en las cuales se ha estabilizado al paciente(154, 155, 177). A pesar de ser una población particularmente vulnerable, es escasa la información disponible en pediatría y no existen reportes en la población pediátrica trasplantada renal y hepática en Latinoamérica, especialmente expuesta a la sustitución de marcas comerciales similares(148, 151, 168-170, 174, 178, 179).

4.2 HIPÓTESIS Y OBJETIVO

Hipótesis: La evaluación de la exposición sistémica de ICN durante la sustitución de marcas comerciales permitiría asegurar la eficacia y seguridad de la interconversión entre medicamentos inmunosupresores innovadores y similares en pacientes con trasplante renal y hepático pediátricos..

Por ello, el objetivo de éste capítulo de tesis fue:

Evaluar la dosis, exposición sanguínea, seguridad y eficacia durante la interconversión entre marcas comerciales (innovador *versus* similar) de tacrolimus y ciclosporina en una población pediátrica trasplantada y en etapa de mantenimiento

4.3 MÉTODOS

El desarrollo e implementación de los presentes estudios fueron aprobados por el Comité de Ética Institucional del HPJPG (Protocolo #670, **Apéndice**). Se adhirió a los protocolos establecidos por el centro sanitario (Formulario 1418F62) para acceder a los datos de las historias clínicas a los fines de poder realizar este tipo de publicación con finalidad de investigación/divulgación para la comunidad científica.

4.3 A) SUSTITUCIÓN DEL MEDICAMENTO INNOVADOR AL SIMILAR DE TACROLIMUS.

Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión y exclusión de los pacientes sujetos a estudio fueron aquellos que se detallan en la **Tabla 26**.

El presente fue un estudio retrospectivo, observacional, realizado entre los meses de abril y agosto de 2013. En dicho periodo, el área de Farmacia del HPJPG comenzó a dispensar el medicamento similar de tacrolimus (tacrolimus capsulas Laboratorio Sandoz®) acorde a la provisión del Programa Nacional implementado por el INCUCAI. Los pacientes incluidos, internados o ambulatorios, que recibían una dosis estable del medicamento innovador (Prograf®, Astellas) fueron sujetos a intercambio al medicamento similar bajo supervisión médica y de enfermería. Durante el periodo de conversión, el Área de Farmacia dispuso de registros internos

confiables sobre la marca comercial que recibían individualmente los pacientes y la fecha asociada.

TABLA 26. CRITERIOS DE INCLUSIÓN Y EXCLUSIÓN

Criterios de inclusión
<ul style="list-style-type: none">✓ Edad: menor a 17 años.✓ Tiempo posterior al trasplante mayor a 2 meses.✓ Recibir dosis estable de tacrolimus al menos un mes previo al intercambio.✓ Los periodos analizados con un medicamento u otro deben ser consecutivos en el tiempo.✓ Paciente adherente.✓ Ambulatorio o internado
Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none">✓ Fecha inexacta de la conversión entre medicamentos.✓ Intercambio al medicamento original antes de los 10 días posteriores a la conversión.✓ Concentraciones erráticas de tacrolimus en el valle por posible inconsistencia en los tiempos de toma de muestra.✓ Falta de disponibilidad de valores bioquímicos de laboratorio.✓ Rechazo celular agudo✓ Sepsis severa u otras situaciones de inestabilidad clínica/patológica

Tratamiento

El régimen de inmunosupresión con tacrolimus consistió en la administración de éste inhibidor calcineurínico como fármaco único o en combinación con esteroides (entre 0,06 y 1,0 mg/kg/día), micofenolato mofetilo o sirolimus acorde a consensos internos de los servicios del

hospital, las cuales se corresponden con guías internacionales según se describió en el **capítulo 1** (31, 257). En pacientes trasplantados de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) se utilizó metotrexato en periodos cortos del régimen de intensificación (10 mg/m², durante 4 días).

El intercambio entre marcas se realizó administrando la misma dosis de mantenimiento al convertir al producto similar. De ser requerido, la dosis del medicamento similar se ajustó según el criterio del médico para mantener la concentración valle (C0) de tacrolimus dentro del margen terapéutico establecido en consensos internacionales(261). Específicamente, en pacientes trasplantados hepáticos la ventana terapéutica se consideró que es entre 5 y 8ng/ml(198), en pacientes con trasplante renal entre 5 y 7ng/ml(137, 261), en pacientes con trasplante cardíaco entre 8 y 12ng/ml luego de 3- 6 meses posterior al trasplante o entre 5 y 10 ng/ml para pacientes con más de 6 meses posterior al trasplante(31). En pacientes con trasplante de células progenitoras hematopoyéticas (CPH) las concentraciones C0 objetivo fueron entre 5 y 15 ng/ml.

Variables clínicas

Se obtuvieron de los registros de las historias clínicas los siguientes parámetros demográficos y de laboratorio previo y posterior al intercambio entre medicamentos de tacrolimus: peso corporal, dosis diaria y la concentración sanguínea de tacrolimus en el valle (C0). La función hepática se analizó según concentraciones sanguíneas de las enzimas fosfatasa alcalina (FAL), gamma glutamiltranspeptidasa (GGT), aspartato aminotransferasa (AST) y alaninoaminotransferasa (ALT). La función renal fue evaluada según las concentraciones de creatinina sérica y uremia. Asimismo se registraron los valores de hematocrito y albumina para evaluar posibles efectos sobre la fracción libre de tacrolimus(262).

Asimismo, se evaluó la seguridad del tratamiento durante el periodo de seguimiento incluyendo el registro de los eventos adversos más frecuentes y graves acorde a los reportes previos en la población analizada, que incluyen: hipertensión, nefrotoxicidad, neurotoxicidad, enfermedad linfoproliferativa posterior al trasplante, hipomagnesemia e hiperglucemia (99, 257). La eficacia se evaluó según la aparición de episodios de rechazo agudo, pérdida del injerto u óbito del paciente. Los rechazos se confirmaron por biopsia y se clasificaron según literatura internacional. En particular, el rechazo de pacientes con trasplante hepático y renal se confirmó por diagnóstico de biopsia y se registró según la clasificación de Banff (257). El rechazo agudo y la enfermedad injerto *versus* huésped se diagnosticaron utilizando criterios clínicos y según biopsia, y se clasificó según el consenso del *National Institutes of Health* (30) para pacientes con trasplante CPH. Los rechazos para pacientes trasplantados cardíacos se analizaron según el consenso de la Sociedad Internacional de Trasplante Cardíaco (31, 32).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó utilizando el test de muestras pareadas de Wilcoxon (200).

Se calculó la mediana de los valores de concentración sanguínea de tacrolimus en el valle normalizados por la dosis [CND: (ng/ml)/(mg/kg)] y la dosis corregida por el peso corporal (mg/kg) previo y posterior al intercambio entre medicamentos innovador y similar de tacrolimus. Posteriormente se calculó el cociente individual entre la mediana de la CND del tratamiento con el medicamento innovador y del similar. Se consideró una tolerancia de hasta el 25% en el desvío del valor unitario para dicho cociente, siendo que los medicamentos en estudio son bioequivalentes. Esta hipótesis se basó en que la variabilidad intra-individual de los parámetros

farmacocinéticos del tacrolimus previamente reportados fue entre 14 y 44% por lo que el valor de 25% se consideró como valor de referencia de variabilidad esperada (99, 245). Luego se calculó la mediana (rango) de los parámetros de laboratorio para cada periodo de estudio y se compararon según los valores normales reportados en literatura para pacientes pediátricos(263).

4.3 B) SUSTITUCIÓN A CICLOSPORINA SIMILAR.

Criterios de inclusión y exclusión

Los criterios de inclusión y exclusión se describen en la **Tabla 27**. Brevemente, se incluyeron aquellos pacientes ambulatorios trasplantados renales con más de 6 meses posterior al trasplante, estabilizados con el medicamento innovador de ciclosporina (Neoral®, Novartis) y en los que se programase el intercambio al medicamento similar (Sigmasporin® Bioprofarma) según la provisión de inmunosupresores de la cobertura social de cada paciente.

Se excluyeron del estudio a aquellos pacientes que presentaran rechazo agudo del injerto al momento de la sustitución o sepsis severa.

Tabla 27. Criterios de inclusión y exclusión

Criterios de inclusión
<ul style="list-style-type: none">✓ Edad: menor a 17 años.✓ Pacientes trasplantados entre 2005-2010✓ Tiempo posterior al trasplante mayor a 6 meses.✓ En tratamiento ambulatorio✓ Recibir dosis estable de ciclosporina al menos un mes previo al intercambio.✓ Paciente adherente.
Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none">✓ Intercambio al medicamento original antes de los 10 días posteriores a la conversión.✓ Concentraciones erráticas de ciclosporina (C2) por posible inconsistencia en los tiempos de toma de muestra.✓ Falta de disponibilidad de valores bioquímicos de laboratorio.✓ Rechazo celular agudo✓ Sepsis severa.

Tratamiento

El régimen de inmunosupresión con ciclosporina consistió en la administración de éste inhibidor calcineurínico como fármaco único o en combinación con micofenolato mofetil, esteroides y/o azatioprina. Los pacientes recibieron ciclosporina a dosis de mantenimiento de 8 mg/kg/día administrada cada doce horas. Asimismo, el protocolo de inmunosupresión incluye el uso de anticuerpos policlonales, como inmunoglobulina de conejo antitimocitos humanos (timoglobulina).

Ambos medicamentos en estudio fueron cápsulas y contenían ciclosporina en microemulsión. El intercambio entre marcas se realizó administrando la misma dosis de mantenimiento al convertir al producto similar. De ser requerido, la dosis del medicamento similar se ajustó según el criterio del médico para mantener la concentración C₂ (2 horas posteriores a la administración) de ciclosporina dentro del margen terapéutico establecido por el consenso interno del Departamento de Nefrología en el HPJPG y por consensos internacionales según se describió en el **capítulo 1** (124, 264).

Variables clínicas

La evaluación farmacocinética se llevó a cabo en pacientes ambulatorios y por considerar la necesidad de monitoreo intensivo del paciente, se consensó con el médico la obtención de muestras sanguíneas adicionales para la obtención de un perfil sanguíneo completo de cada paciente en el estado estacionario de cada medicamento similar e innovador. Durante el tratamiento con el medicamento innovador, se citó al paciente para obtener muestras de sangre a partir de un catéter periférico (Abbocath # 22) antes (C₀) y luego de 1, 2, y 3 h de la administración de ciclosporina en estado de ayuno. La concentración sanguínea después de 2 h (C₂) se obtuvo como parte del seguimiento clínico de rutina de los niveles sanguíneos de ciclosporina de todos los pacientes que se reciben un trasplante renal en HPJPG. Los niveles C₀, C₁ y C₃ se obtuvieron para calcular el área bajo la curva de concentración en función del tiempo de 0 a 12 hs posteriores a la administración de la ciclosporina (ABC₀₋₁₂) según lo que sugiere Irtan y col.(96), quienes desarrollaron un modelo de farmacocinética poblacional de ciclosporina para utilizarlo junto con los datos individuales de los pacientes empleando un método de

pronóstico bayesiano al cálculo de las ABC_{0-12} y una estrategia de muestreo limitado con el fin de reducir el número requerido de muestras por paciente, lo cual es específicamente útil en pacientes pediátricos. El grupo de trabajo de la Universidad de Limoges desarrolló un modelo farmacocinético poblacional (utilizando el programa NONMEM) de ciclosporina a partir de datos obtenidos en pacientes pediátricos trasplantados renales del Hospital Robert Debré, Paris, Francia. Dicho grupo identificó los factores individuales que influyen la variabilidad de la farmacocinética de ciclosporina. Además, determinaron la mejor estrategia de muestreo limitado (LLS: por sus siglas en inglés, Limited Simple Strategy) para la obtención de la menor cantidad de muestras sanguíneas. La mejor LSS fue determinada basada en su capacidad de estimar el ABC_{0-12} y fue validada en una cohorte independiente de 20 pacientes. El análisis PK poblacional identificó el peso corporal y el tiempo transcurrido desde el trasplante como factores individuales que influyen el volumen de distribución central aparente y el clearance aparente, respectivamente. Los autores propusieron que los puntos de toma de muestras óptimos eran previo a la toma del medicamento (C_0), luego de una hora y de 3 horas (C_1 y C_3 , respectivamente), lo cual permitiría obtener una predicción aceptable del ABC_{0-12} y una buena exactitud y precisión (raíz error cuadrático medio= 10,9%).

Luego de finalizada la extracción de muestras, los pacientes fueron intercambiados al medicamento similar a partir de la segunda dosis del día. Después de 3 días de recibir el medicamento similar, los pacientes fueron nuevamente citados para una evaluación clínica de rutina y la obtención de una muestra sanguínea C_2 como control de la sustitución. Entre 7 y 10 días de haberse realizado la conversión entre marcas, los pacientes regresaron al hospital para realizarse un control clínico y el segundo estudio farmacocinético. Este tiempo se consideró según el tiempo necesario para alcanzar el estado estacionario con el medicamento similar.

Considerando la vida media de ciclosporina reportada en 8,4 horas (263), y que para alcanzar el estado estacionario deben transcurrir entre 5 y 7 veces la vida media del fármaco, se consideró que dicho estado se alcanzaba luego de al menos 7 días de toma del medicamento similar.

Asimismo, se registraron parámetros de eficacia (ausencia/presencia de rechazo agudo y pérdida del injerto) y los parámetros de laboratorio incluyendo la creatinina sérica como un sustituto de la función renal, la cual se registró antes y después de la conversión durante todo el tiempo de seguimiento. También se registró e informó luego de 4 meses, como indicador de deterioro renal de aparición tardía. Además, se registraron los eventos adversos 3 meses previo y posterior al intercambio, teniendo en cuenta cada medicamento de ciclosporina evaluado. Se evaluaron los eventos adversos a ciclosporina más frecuentes y graves (59) según la disposición de buenas prácticas de farmacovigilancia y monitoreo de fármacos (265, 266). Los eventos adversos confirmados con el consenso médico fueron registrados y notificados a la autoridad sanitaria nacional ANMAT.

Análisis estadístico

Se realizó un análisis estadístico exploratorio utilizando el test de Wilcoxon para muestras pareadas ($p < 0,05$) para evaluar las diferencias en los parámetros farmacocinéticos del medicamento innovador y del similar (200). Por último, se compararon las concentraciones sanguíneas de C₂ normalizadas por la dosis y la creatinina sérica a los 0,25; 0,5; 1; 2; 3; 4 y 5 meses antes de la conversión con los valores correspondientes después de comenzar con el producto similar por medio del test de Wilcoxon para muestras pareadas.

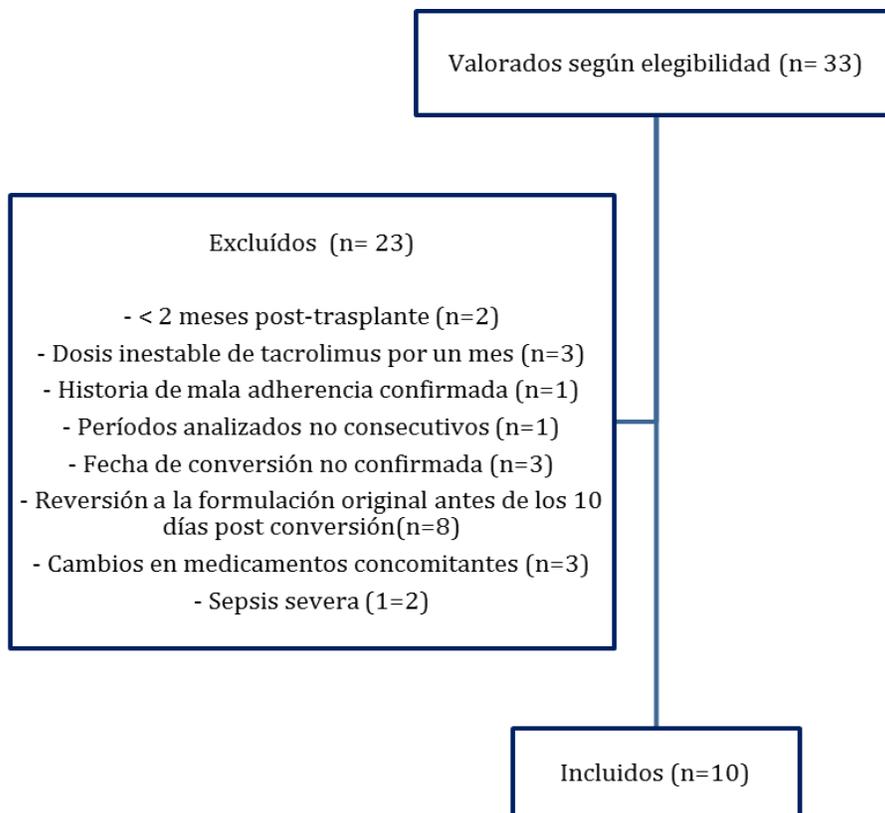
En el trabajo realizado en la presente tesis se utilizó el servicio web brindado por el Hospital Universitario de Limoges (<https://pharmaco.chu-limoges.fr/>), el cual requiere un registro especial para acceder, para el ajuste de dosis de ciclosporina en pacientes pediátricos que han sido sometidos a trasplante renal, para el cálculo de las ABC y Cmax en base a un número limitado de muestras obtenidas en los tiempos predefinidos: C0, C1 y C3, además de la concentración sanguínea C2, cuantificada de rutina.

4.4 RESULTADOS

4.4 A) SUSTITUCIÓN DE MEDICAMENTOS INNOVADOR A SIMILAR CONTENIENDO TACROLIMUS

Durante los meses entre abril y agosto de 2013 se identificaron 33 pacientes pediátricos trasplantados en HPJPG que intercambiaron marcas de medicamentos que contienen tacrolimus. Sin embargo, por criterios de inclusión, se incluyeron 10 pacientes para el presente análisis, tal como se describe en la **Figura 16**.

Figura 16. Pacientes analizados y excluidos.



La mediana (rango) de edad y peso corporal fueron respectivamente 11,9 años (0,8-15,8) y 47,4kg (7,3-77,0). Se incluyeron en el análisis igual cantidad de niños que de niñas y el tiempo mediana (rango) con el medicamento innovador fue de 32 días (10-140) mientras que el seguimiento luego de la conversión al medicamento similar fue de 28 días (10-86).

Los pacientes estudiados correspondieron a trasplantados hepáticos (n=4;40%), renales (n=2;20%), CPH (n=2; 20%) y cardíacos (n=2; 20%) (**Tabla 28**).

Tabla 28.Características demográficas de la población incluida

Pacientes (n=10)	Mediana (rango)
Edad al trasplante (años)	11,9 (0,8-15,8)
Tiempo posterior al trasplante (meses)	8,8 (2,0-42,8)
Niñas/niños	5/5
Peso (kg)	47,4 (7,3-77,0)
Días en tratamiento con el medicamento similar	28 (10-86)
Días en tratamiento con el medicamento innovador	32 (10-140)
Esquema de inmunosupresión	Número de pacientes
Tacrolimus	10
Esteroides (0,06-1,00 mg/kg/día)	8
Micofenolato mofetilo (20-40 mg/kg/día)	3
Sirolimus (2mg/día)	1
Tipo de trasplante	
Renal (n=2)	
Insuficiencia Renal Crónica Terminalde etiología desconocida	1
Glomerulosclerosis focal y segmentaria	1
Hepático (n=4)	
Atresia biliar	2
Fibrosis hepática congénita	1
Carcinoma hepatocelular	1
Células progenitoras hematopoyéticas (n=2)	
Síndrome mielodisplásico	2
Cardíaco (n=2)	
Miocardopatía dilatada	2
Fármacos concomitantes	
Difenhidramina VO	2
Sulfametoxazol-trimetoprima VO	2
Valganciclovir VO	2
Aciclovir VO	1
Oxibutinina VO	1
Omeprazol VO	10
Acidoaminocaproico IV	1
CeftriaxonaIV ^a	1
Terbinafina tópica	1

Abreviaturas VO: vía oral, IV: vía intravenosa.

^aAdministrado por sospecha de infección respiratoria.

La mediana (rango) de la dosis administrada por día corregida por el peso corporal luego de recibir el medicamento innovador fue de 0,07mg/kg (0,02-0,46) mientras que la misma fue de 0,07mg/kg (0,02-0,57) al recibir el medicamento similar ($p>0,05$). Asimismo, se agrega que no se requirieron ajustes de dosis posterior a la conversión al medicamento similar en ningún caso analizado. Más aun, durante el periodo de estudio con el medicamento similar no se modificó el tratamiento con fármacos concomitantes excepto en el paciente #9 que recibió ácido aminocaproico para el tratamiento de hemoptisis y el paciente #2 que recibió aciclovir para tratar un herpes zoster cutáneo, los cuales no presentan interacciones farmacológicas con tacrolimus.

La mediana (rango) del número de datos de concentraciones sanguíneas normalizadas por la dosis (CND) obtenidos por paciente en el tiempo de seguimiento para el medicamento innovador y el similar fue de 3 (2-13) y de 5 (1-8), respectivamente ($p>0,05$). Incluso, la mediana de las CND calculada individualmente para cada paciente no mostró diferencias estadísticamente significativas al comparar entre marcas comerciales ($p>0,05$) tal como se detalla en la **Tabla 29**.

En la **Figura 17** se representa el cociente entre la concentración sanguínea normalizada por la dosis del medicamento innovador y del similar. En dicha figura puede observarse que los valores individuales de los cocientes del CND estuvieron comprendidos entre 0,75 y 1,25 para el 80% de los pacientes analizados. El paciente #8 mostró un cociente de 0,72, muy cercano al valor de 0,75 previamente establecido en base a los reportes previos de variabilidad intra-individual en la farmacocinética de tacrolimus. Contrariamente, el paciente #9 mostró un cociente de 1,5 lo cual indicaría que el C0 medio alcanzado posterior a la administración del innovador es mayor al del similar para igual dosis.

TABLA 29. CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS DE TACROLIMUS NORMALIZADAS POR LA DOSIS LUEGO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL MEDICAMENTO INNOVADOR Y SIMILAR.

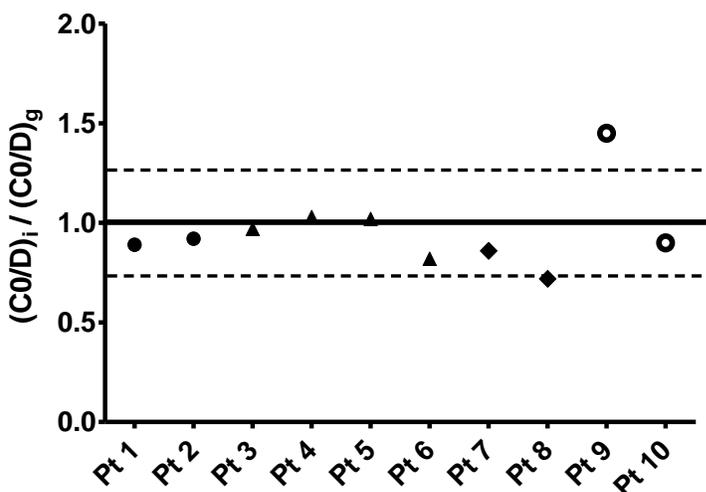
Paciente	Dosis I (mg/kg)	Dosis G (mg/kg)	CND I [ng/ml/(mg/kg)]	CND G [ng/ml/(mg/kg)]	Cociente (CND-I/CND-G)
1	0,07	0,07	100,7 (82,7-115,7)	113,6 (108,5-118,8)	0,89
2	0,12	0,12	55,7 (50,6-60,8)	60,8 (49,6-68,8)	0,92
3	0,05	0,05	93,8 (73,4-116,3)	97,1 (94,5-111,8)	0,97
4	0,07	0,07	52,1 (38,3-65,9)	50,6 (44,5-76,7)	1,03
5	0,46	0,57	13,8 (9,7-27,5)	13,5 (8,2-15,1)	1,02
6	0,23	0,20	27,7 (18,6-34,1)	33,6 (28,8-41,2)	0,82
7	0,07	0,07	124,6 (86,4-139,2)	145,7 (89,3-169,4)	0,86
8	0,02	0,02	518,4 (413,5-764,9)	723,5 (433,2-846,0)	0,72
9	0,07	0,07	100,4 (100,1-100,8)	69,4 (68,8-70,1)	1,45
10	0,11	0,13	48,2 (44,2-52,3)	53,5 ^a	0,90
Mediana	0,07(0,02-0,46)	0,07(0,02-0,57)	74,8 (13,8-518,4)	65,1 (13,5-723,5)	0,91 (0,72-1,45)

Los datos se muestran como medianas (rango) de las concentraciones sanguíneas de tacrolimus normalizadas por la dosis por kilogramos de peso para el medicamento innovador y el similar.

^aSólo una concentración valle fue obtenida en ese periodo de evaluación.

Abreviaturas: CND: concentración sanguínea de tacrolimus normalizada por la dosis ó C0/dosis, I: medicamento innovador, G: medicamento similar.

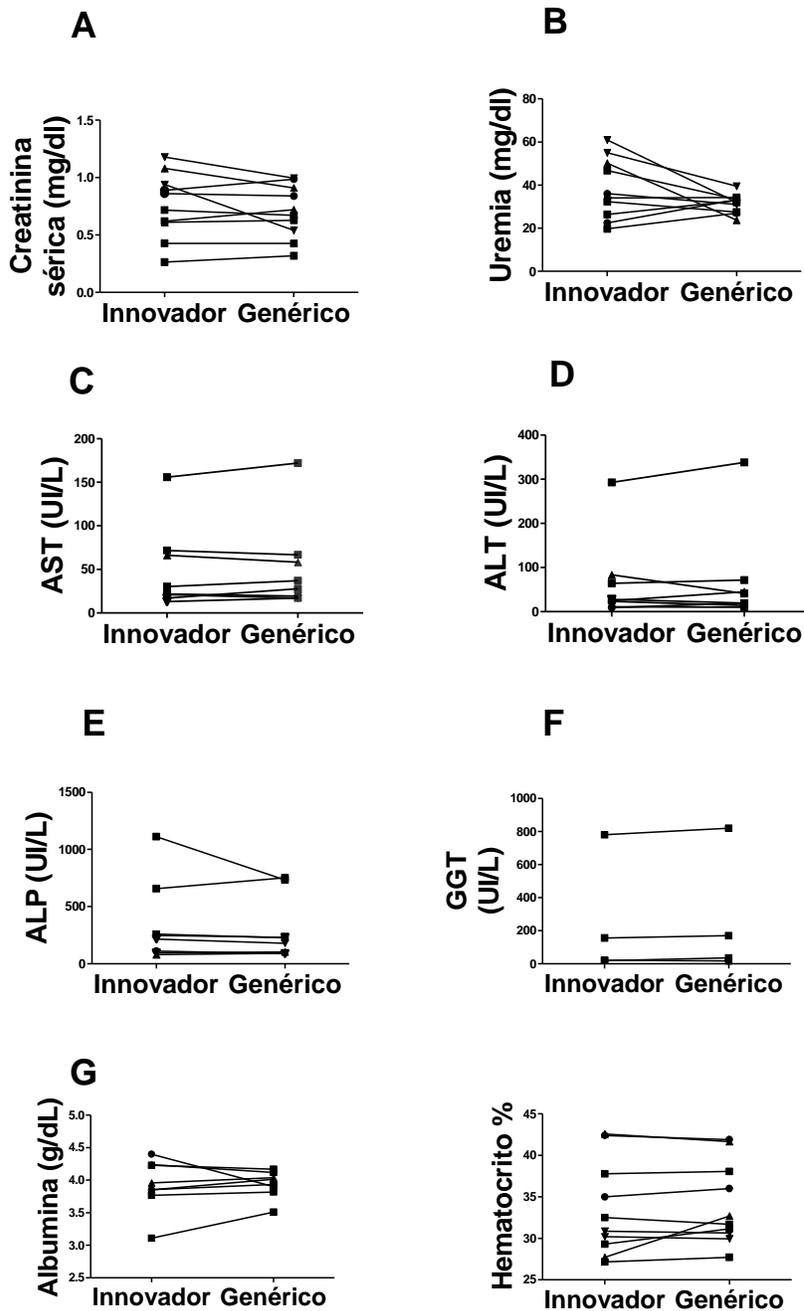
FIGURA 17. COCIENTE DE LAS CONCENTRACIONES SANGUÍNEAS INDIVIDUALES NORMALIZADAS POR LA DOSIS ENTRE EL MEDICAMENTO INNOVADOR Y EL SIMILAR.



Abreviaturas: PT: número de paciente; C0: concentración sanguínea de tacrolimus valle o previa a la administración del medicamento; D: dosis de tacrolimus por peso corporal (kg); i: innovador; g: similar. Los símbolos representan ●: pacientes con trasplante renal; ▲: pacientes con trasplante hepático; ◆: pacientes con trasplante de células madre hematopoyéticas; ○: pacientes con trasplante cardíaco. La línea punteada representa el umbral del 25% en la variación considerada para el cociente entre CND.

Los parámetros de laboratorio evaluados, que incluyeron la creatinina sérica, uremia, AST, ALT, GGT y FAL, no mostraron diferencias significativas al comparar valores obtenidos previo y posterior al intercambio de marcas comerciales ($p > 0,05$; **Figuras 18A, 18B, 18C, 18D y 18E**). Tampoco se observó un cambio significativo en los valores del hematocrito y la albumina en sangre al comparar entre ambos periodos de seguimiento (**Figura 18F y 18G**; $p > 0,05$). Sólo los pacientes #5 y #3 mostraron valores elevados de las enzimas hepáticas pero esto sucedió en ambos periodos de estudio. Por último, no se registraron eventos adversos graves frecuentes o esperados durante el periodo inmediato previo o posterior al intercambio de marcas, así como tampoco hubo episodios de rechazo agudo, pérdida del injerto o fallecimiento.

FIGURA 18. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE LABORATORIO INDIVIDUALES PREVIA Y POSTERIOR AL INTERCAMBIO ENTRE MARCAS COMERCIALES DE TACROLIMUS.



Abreviaturas: AST: Aspartatoaminotransferasa; ALT: Alaninaaminotransferasa; ALP: Alcalino fosfatasa; GGT: Gamma glutamiltranspeptidasa. ● Pacientes trasplantados renales; ■ Pacientes trasplantados hepáticos; ▲ Pacientes con trasplante de células progenitoras hematopoyéticas; ▼ Pacientes con trasplante cardíaco.

4.4 B) SUSTITUCIÓN A MEDICAMENTO DE CICLOSPORINA SIMILAR.

En total 12 pacientes, siete niñas y 5 niños trasplantados renales, estables en terapia de mantenimiento, fueron incluidos en el presente estudio. Sin embargo los padres o tutores de dos pacientes rechazaron su participación en el estudio farmacocinético con la marca similar y fueron excluidos del estudio. Además, las muestras sanguíneas de un paciente no fueron identificadas correctamente en el estudio farmacocinético correspondiente al medicamento innovador de manera que no pudieron incluirse esos resultados en el análisis. Por lo tanto, se dispuso de los resultados de los parámetros farmacocinéticos de 9 pacientes en este estudio mientras que se dispuso de los datos de seguridad y eficacia en los 12 pacientes identificados inicialmente.

La edad mediana (rango) al momento del trasplante y la mediana (rango) de edad a la primer evaluación farmacocinética fue de 8,3 años (3,4-14,0) y 10,7 años (6,5-17,7), respectivamente.

En la **Tabla 30** se describen otras características demográficas de los pacientes además de la medicación inmunosupresora concomitante y otros fármacos.

De los 9 pacientes que fueron evaluados antes y después de la conversión, 8 (88,9%) recibieron ciclosporina en combinación con micofenolato sódico o micofenolato mofetil (un paciente) y meprednisona mientras el paciente restante (11,1%) recibió ciclosporina junto con azatioprina y esteroides.

TABLA 30. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES Y DATOS DEMOGRÁFICOS AL INICIO DEL TRATAMIENTO)

Características	Mediana (rango)
Edad al trasplante (años)	8.3 (3.4–14.0)
Edad al estudio PK (años)	10.7 (6.5–17.7)
Peso(kg)	26 (17–70)
Altura (cm)	122 (101–155)
Dosis (mg/kg)	1.9 (1.2–4.4)
	Número de pacientes
Sexo	niñas: 8 niños: 4
Tipo de donante	fallecido (n=12)
Pacientes incluidos en el estudio de farmacocinética	(n=9)
Medicación inmunosupresora concomitante ^a (número de pacientes en tratamiento)	Ácido micofenólico (n=8) Esteroides (n=9) ^b Azatioprina (n=1)
Medicación concomitante por otras patologías ^a (número de pacientes en tratamiento)	Enalapril (n=6); Ac. Fólico (n=9) Vitamina D (n=1); Hierro (n=7) Carvedilol (n=1); Losartan (n=1) Ceftriaxona ^c (n=1); Valganciclovir ^d (n=1) Clobazam ^e (n=1)

^aNinguna de los fármacos detallados presentó interacciones farmacológicas con ciclosporina

^b Meprednisona

^cAdministración de ceftriaxona para el tratamiento de infección del tracto urinario

^a Administración de valganciclovir para el tratamiento de Citomegalovirus;

^eAdministración de clobazam para tratamiento de epilepsia.

Los parámetros farmacocinéticos individuales obtenidos en ambos medicamentos de ciclosporina se detallan en la **Tabla 31**. El ABC individual se informó sin normalización por la dosis ya que los pacientes recibieron la misma dosis del innovador y el producto similar.

Además, se detalla en la **Tabla 32** un resumen de los parámetros farmacocinéticos calculados para ambos productos en estudio para la población en evaluación.

TABLA 31. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS INDIVIDUALES DE CICLOSPORINA DEL MEDICAMENTO INNOVADOR Y EL SIMILAR.

Paciente ID	Parámetros Farmacocinéticos								
	ABC	ABC	Diferencia	C2	C2	Diferencia	Cmax	Cmax	Diferencia
	Innovador (mg*h/L)	Similar (mg*h/L)	% en ABC	Innovador (ng/ml)	Similar (ng/ml)	% en C2	Innovador (ng/ml)	Similar (ng/ml)	% en Cmax
1	1.87	1.26	31.5	535	590	12.2	542	556	4.4
2	3.49	3.66	0.7	602	612	3.7	1,168	1,251	1.4
3	2.17	1.4	35.5	429	304	29.1	455	371	18.5
4	3.8	4.47	16	922	1,152	23.2	1,099	1,458	30.8
5	3.47	3.18	6.6	737	810	12	1,160	822	27.8
6	2.11	2.89	37.4	354	926	162.5	396	902	128.5
7	2.93	2.6	10.6	773	835	8.8	798	814	2.8
8	2.24	1.86	17.5	423	366	14	1,075	935	13.5
9	3.42	1.48	56.7	831	261	68.6	1,137	629	44.7

Abreviaturas

ID: número de identificación; ABC: área bajo la curva de concentración sanguínea versus tiempo, C2: concentración sanguínea de ciclosporina luego de 2h de administrado el fármaco

Es de destacar que no fue necesario ajustar la dosis de ciclosporina después de la conversión a la marca comercial similar. A pesar de las variaciones intra-individuales en el ABC, C2 y la Cmax, no se observaron diferencias estadísticamente significativas al comparar los parámetros farmacocinéticos entre los productos evaluados ($p > 0,05$).

TABLA 32. PARÁMETROS FARMACOCINÉTICOS DE CICLOSPORINA EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON TRASPLANTE RENAL CON INTERCONVERSION ENTRE MARCAS COMERCIALES

Parámetro Farmacocinético	Medicamento Innovador	Medicamento Similar	Diferencia %
ABC (mg*h/L)	2,9 (1,9-3,8)	2,6 (1,3-4,5) ^a	17,4 (0,7-56,7)
ABC/D (mg*h/L)/(mg/kg)	1,15 (0,72-2,99)	1,05 (0,54-2,22) ^a	
C2 (mg/L)	602,0 (354,0-922,0)	612,0 (261,0-1152,0) ^a	14,0 (3,7-162,5)
C2/D (mg/L)/(mg/kg)	265,5 (120,8-725,7)	317,1 (116,7-564,6) ^a	
Cmax (mg/L)	1075,0 (396,0-1168,0)	822,0 (371,0-1458,0)	18,5 (1,4-128,5)
Cmax/D (mg/L)/(mg/kg)	332,4 (135,2-992,9)	414,1 (142,5-572,9)	

Los datos se expresan como mediana (rango)

Abreviaturas: ABC: Área bajo la curva entre 0 y 12 h calculados por análisis Bayesiano, D: dosis corregida por peso, C2: concentración de ciclosporina 2 h después de la dosificación, Cmax: concentración máxima en sangre calculado por análisis Bayesiano.

$p > 0,05$ al comparar parámetros farmacocinéticos entre medicamentos.

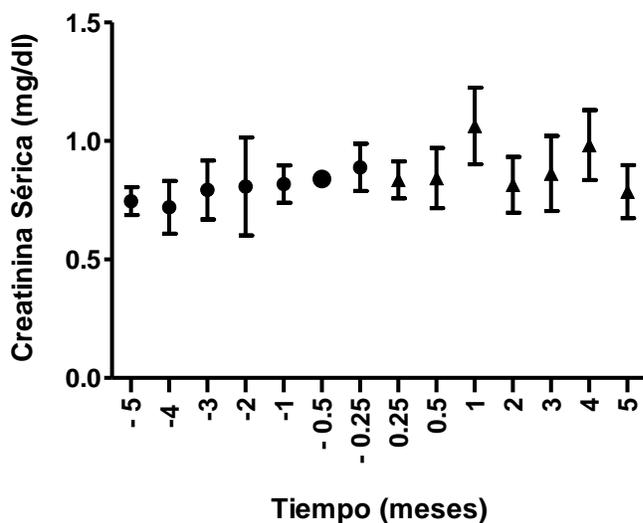
Asimismo, se observó una variación considerable en los niveles de C2 entre los pacientes. Esta variación puede atribuirse a condiciones patológicas específicas (un paciente tenía una infección del tracto urinario, dos pacientes tenían una historia previa de rechazo agudo y un paciente presentó alteraciones en su adherencia). En la población estudiada, el porcentaje de variación del ABC varió entre 0.7 y 56.7% mientras que el C2 al realizar la sustitución, tuvo una variación

entre 3.7 y 162.5%. Sin embargo, un paciente mostró una gran variabilidad en el ABC (paciente # 9), siendo el ABC con el medicamento similar, considerablemente menor que con el innovador. Esto se atribuye a un problema de coagulación de la muestra del medicamento similar, motivo por el cual se registraron las concentraciones sanguíneas C₂ del monitoreo de rutina posteriores a la curva de exposición, constatándose niveles aceptables de ciclosporina, con una buena respuesta clínica.

Del total de pacientes incluidos en el estudio farmacocinético (n=9) la mediana (rango) del cambio porcentual de ABC y C_{máx} cuando la sustitución se llevó a cabo fue de 17,3% (4,9-56,7) y 11,9% (5,4-68,6), respectivamente. No se observó diferencia estadísticamente significativa en distintos intervalos de tiempo al comparar los C₂ normalizados por la dosis para ambos productos de ciclosporina (p>0,05).

En cuanto a los parámetros clínicos de evaluación de la función renal a través de la creatinina sérica, no se observó diferencia entre los valores antes y después del intercambio al medicamento similar durante el tiempo de seguimiento de 3 meses (0,25-24). La mediana (rango) de los valores de creatinina antes y después de la conversión fueron 0,85mg/dl (0,55 a 1,34) y 0,85mg/dl (0,58 a 1,2), respectivamente. Además, 4 meses después de la conversión al medicamento similar, la mediana (rango) de la creatinina sérica fue de 0,79mg/dl (0,58 a 1,37), demostrando que no hubo cambios significativos en el tiempo (p>0,05). Asimismo, como se muestra en la **Figura 19**, para todos los pacientes, la creatinina sérica se mantiene en valores normales luego de la sustitución al medicamento similar.

FIGURA 19. EVOLUCIÓN DE LOS VALORES DE CREATININA SÉRICA PREVIO Y POSTERIOR A LA SUSTITUCIÓN DEL MEDICAMENTO SIMILAR DE CICLOSPORINA



A pesar de que el tiempo de seguimiento fue breve, se registraron los eventos adversos (número de casos) en aquellos pacientes que aún se encontraban recibiendo el medicamento similar a los 5 meses después de la conversión: hipertensión (n=1), hirsutismo (n=1), e hiperplasia gingival (n=1). Se observaron también eventos adversos (número de casos) durante los 5 meses anteriores a la sustitución y en el marco del medicamento innovador: hirsutismo (n=1) e hipertensión (n=1). En cuanto a la eficacia al tratamiento inmunosupresor con el inhibidor de calcineurina, no se registraron episodios de rechazo o pérdida del injerto durante el tratamiento con ambos productos en un periodo de 5 meses antes y después de la conversión de marcas.

4.5 DISCUSIÓN

Los estudios realizados en pacientes pediátricos trasplantados en terapia inmunosupresora de mantenimiento en el marco de la presente tesis doctoral, mostraron que el intercambio entre medicamentos innovadores y similares de productos conteniendo tacrolimus o ciclosporina disponibles en el mercado local, se realizaron satisfactoriamente en el marco del monitoreo terapéutico individual desarrollado por el equipo clínico de un hospital pediátrico en Argentina. Se logró proporcionar información científica de interés dada la escasez de reportes sobre la monitorización terapéutica de pacientes con trasplante pediátrico sometidos a intercambio entre dos medicamentos de inhibidores calcineurínicos disponibles para comercialización actualmente en Argentina.

La exposición a tacrolimus en marcas comerciales innovadoras y similares y ciclosporina fue evaluada en una población trasplantada pediátrica. En el análisis, no se observaron diferencias significativas en los valores de dosis de tacrolimus, de C_0 y de C_0 normalizados por la dosis, al comparar el tratamiento con el medicamento innovador y el similar. Asimismo, no se observaron diferencias significativas en los parámetros farmacocinéticos de la exposición a ciclosporina (C_{max} , C_2 , ABC) ni fueron necesarios ajustes de dosis después de la conversión a la marca comparada.

Los resultados aquí presentados son similares a los reportados en el único estudio realizado en pacientes pediátricos sujetos a trasplante cardíaco(148). En dicho estudio se evaluó retrospectivamente las concentraciones C_0 de tacrolimus previo y posterior al intercambio de marcas comerciales. Se incluyeron en el análisis 12 pacientes que fueron convertidos de la marca innovadora a la similar y 31 pacientes que sólo recibieron tacrolimus de la marca innovadora

como grupo control. En la primera cohorte, los autores reportaron una disminución del 14% en el C0 (equivalente a 1,15 ng/ml) al intercambiar por el medicamento similar sin modificar la dosis de tacrolimus (148). La implicancia clínica de una modificación del 14% en el valor del C0 sea probablemente baja. Incluso, los autores reportaron que luego de un año de realizado el intercambio de marcas, el 24% de los pacientes sujetos a intercambio y el 18% de los pacientes del grupo control, mostraron eventos de rechazo siendo ambos porcentajes similares. Tanto los parámetros de seguridad y eficacia como la exposición sistémica a tacrolimus en la situación de intercambio entre marcas comerciales, debe ser estudiada en una cohorte de pacientes más numerosa. Por otro lado, es importante evaluar y presentar los resultados no sólo de la población sino, la modificación individual del C0 durante el intercambio de marcas la cual puede verse enmascarada por el análisis poblacional expresado como los valores medios. En el estudio de éste capítulo de tesis, sólo un paciente (#9) mostró una diferencia mayor al 25% en el C0 normalizado por la dosis luego de intercambiar al similar y esto refuerza el concepto de la necesidad de monitoreo terapéutico principalmente en situaciones que puedan derivar en exposición inadecuada de fármaco.

La experiencia reportada en pacientes adultos con trasplante de órgano sólido sujetos a intercambio de marcas comerciales de medicamentos conteniendo tacrolimus, es en ciertos aspectos, controvertida. En el estudio retrospectivo reportado por Spence et al., se detalló la experiencia obtenida de la evaluación retrospectiva de 234 pacientes adultos en terapia inmunosupresora de mantenimiento con trasplante renal, hepático y cardíaco sujetos a intercambio entre marcas comerciales de medicamentos conteniendo tacrolimus(151). Los autores reportaron la falta de diferencias significativas en los valores de C0 de tacrolimus luego de realizar la interconversión del medicamento innovador a la misma marca de medicamento

similar que se utilizó en el presente estudio(151). Es importante destacar que el 15% de los pacientes requirió ajuste de dosis y esto se logró realizando el monitoreo terapéutico del fármaco. En cuanto a la seguridad y eficacia del intercambio, no se registraron óbitos o rechazos agudos por sustitución entre marcas comerciales. En línea con dichos hallazgos, McDevitt-Potter et al., reportaron su experiencia en 70 pacientes adultos con trasplante renal, hepático y multiorgánico sujetos a un estudio prospectivo de evaluación de modificación de dosis, exposición sistémica al fármaco y costos en la situación de interconversión entre marcas comerciales de tacrolimus(178). Los autores no evidenciaron cambios significativos en los C0 de tacrolimus al intercambiar al similar de la marca Sandoz así como tampoco en la dosis diaria de tacrolimus(178). Sin embargo, en el 21% de los pacientes sujetos a intercambio se debió ajustar la dosis a los requerimientos individuales luego del intercambio de marcas mientras que sólo fue necesario dicho ajuste en el 7% de los pacientes asignados al grupo control (quienes sólo recibieron medicamento innovador) siendo estadísticamente significativa la diferencia en los porcentajes. Nuevamente, se pone en evidencia la importancia del monitoreo terapéutico del tacrolimus en el manejo del paciente trasplantado. Por el contrario, los estudios reportados por Momper et al. y de Marfo et al., realizados en pacientes adultos trasplantados renales y/o hepáticos, mostraron en ambos casos una diferencia significativa en los valores de C0 de tacrolimus al comparar los valores previo y posterior al intercambio de marcas(169, 170). Específicamente, en el estudio de intercambio de marcas reportado por Momper et al., los investigadores describieron una disminución del 16% y 12% en el valor de C0 de tacrolimus normalizado por la dosis en pacientes adultos con trasplante hepático y renal, respectivamente. Incluso, en un subgrupo de pacientes con trasplante hepático y renal que recibieron la misma dosis previamente y posterior al intercambio, mostraron una disminución media en el C0 de tacrolimus de 1,98ng/ml y

0,87ng/ml, respectivamente. Sin embargo, éste cambio en la exposición sanguínea del fármaco inmunosupresor no mostró una relevancia clínica en cuanto a seguridad y eficacia al igual que lo descrito previamente en el caso de pacientes pediátricos. En correspondencia, el estudio retrospectivo realizado por Marfo et al. puso en evidencia una diferencia de 0,8ng/ml en los niveles de C0 de tacrolimus antes y después del intercambio al medicamento similar, en comparación con el valor de 0,9ng/ml observado en el grupo control(170). Del mismo modo, a pesar de describirse dichas diferencias en el valor de C0, no se detectó una diferencia perceptible en la eficacia y seguridad de tacrolimus similar en comparación con el producto de marca innovadora. En conjunto, los reportes previos principalmente en adultos muestran diferentes tipos de conclusiones. Sin embargo todos los autores enfatizan la necesidad de realizar monitoreo terapéutico del inmunosupresor en pacientes sujetos a interconversión entre marcas comerciales, para así abordar un esquema racional de sustitución entre marcas y asegurar la eficacia y seguridad individualmente.

El análisis de los resultados obtenidos demuestra que no fue necesario modificar la dosis de tacrolimus para mantener las concentraciones sanguíneas dentro de los márgenes terapéuticos. Por otro lado, se observó en la población trasplantada evaluada, la similitud en los C0 corregidos por la dosis previa y posterior al intercambio entre marcas comerciales. Incluso, 8 de los 10 pacientes analizados mostraron un cociente entre las concentraciones normalizadas por la dosis de tacrolimus innovador y similar dentro del rango [0,75-1,25] correspondiente con la variabilidad intra-individual esperada en la farmacocinética reportada para tacrolimus(245). Si bien es deseable que los cocientes entre dichas concentraciones normalizadas para el medicamento innovador y similar sean cercanos al valor unitario, la variabilidad intra-individual en la farmacocinética del fármaco repercute en dicho cociente. Esta variabilidad debe tenerse en

cuenta para no asignar erróneamente cambios en la exposición sistémica a una marca comercial cuando el fármaco *per se* varía en la exposición sistémica en un mismo paciente evaluado a repetición. Por ello, asumimos una variabilidad en los cocientes de las concentraciones normalizadas de hasta 25% como un valor esperable y aceptable según reportes previos (245, 261) (**Tabla 31**). Cabe señalar que un paciente mostró una variación mayor al 25% (#9) en dicho cociente, habiendo desarrollado un episodio de hemoptisis que se prolongó durante el intercambio al medicamento similar. Así, la existencia de un cambio hemodinámico en éste paciente secundario al evento clínico puede haber influido en la variabilidad farmacocinética del tacrolimus.

En el caso de la interconversión de productos que contienen ciclosporina, en el 78 % de los pacientes pediátricos trasplantados renales evaluados, el porcentaje de cambio en los parámetros farmacocinéticos de la exposición, se encontró dentro del 30%. Este porcentaje se corresponde con la variabilidad de la farmacocinética del fármaco previamente descrita por otros autores(124, 267). Curiosamente, en cuatro pacientes se observó una diferencia de más del 40% entre C_{max} y C_2 . Un paciente mostró una diferencia notable entre C_2 y C_{max} al cambiar de un medicamento al otro, como se muestra en la **Tabla 31** (paciente # 6). La hipótesis de esta diferencia entre C_{max} y C_2 puede atribuirse a un error de muestreo o de procesamiento ya que las concentraciones en sangre de ciclosporina después de 1 y 2 h son casi los mismos cuando se considera el producto innovador.

Los resultados obtenidos en el monitoreo de ciclosporina se encuentran en correspondencia con lo reportado en literatura. Hace aproximadamente diez años, se publicó el consenso internacional CONCERT (por sus siglas en inglés “Consensus on Neoral C(2): Expert Review in Transplantation”) el que propuso las recomendaciones para el monitoreo sanguíneo de

ciclosporina en trasplante renal y hepático(264). Allí mismo se define al C2 como el punto en el tiempo que mejor se correlaciona con la exposición sistémica de ciclosporina hasta 4 h después de la dosificación (ABC_{0-4}) y éste coincide con el tiempo de inhibición máximo de la calcineurina(124, 145). A partir de entonces, diferentes autores recomendaron el ajuste de C2 según un margen terapéutico para ciclosporina basado en el periodo posterior al trasplante y tipo de injerto entre otras variables. Sin embargo, el grupo CONCERT también señaló que podría haber pacientes que absorben lentamente, en los cuales no coincida el C2 y valor de Cmax en comparación con el resto de la población y estos pacientes pueden no ser detectados con un único punto de concentración en sangre. Esta observación está de acuerdo con los hallazgos aquí informados que muestran que para algunos pacientes el monitoreo de C2 puede no reflejar la máxima concentración y la máxima inhibición de la calcineurina y, por tanto, basado en C2 en lugar de la Cmax o ABC se puede sobreexponer al paciente. Además, se analizó el porcentaje de cambio en el ABC y C2 cuando se realiza la sustitución de marcas comerciales de ciclosporina y no se observan diferencias estadísticamente significativas en los parámetros farmacocinéticos de ciclosporina con ambos productos comerciales, lo cual se relaciona con la variabilidad farmacocinética intra-individual descrita por otros autores (124, 267).

Los productos farmacéuticos del presente estudio son equivalentes farmacéuticos, contienen la misma cantidad del mismo principio activo en la misma forma de dosificación, y son bioequivalentes. Por ello, era esperable observar una similitud en la exposición sistémica al tacrolimus y a ciclosporina entre medicamentos evaluados en el presente estudio. Incluso, el medicamento similar de tacrolimus que recibieron los pacientes en estudio mostró una farmacocinética similar al medicamento innovador, en cuanto a la comparación del área bajo la

curva concentración *versus* tiempo, Cmax y C0, demostrada en estudios previos en pacientes adultos trasplantados renales(174).

Como subrogantes de la funcionalidad hepática y renal se evaluaron parámetros bioquímicos obtenidos de rutina como parte de la evaluación de seguridad. Específicamente, los valores de las enzimas hepáticas así como la creatinina sérica, no sufrieron alteraciones posterior a la conversión a tacrolimus similar ($p>0,05$). Puntualmente, dos pacientes trasplantados hepáticos (pacientes #3 y #5, **Figura 18**) presentaron elevación sostenida y estable de ALP, GGT, AST Y ALT debido a una infección por CMV y drenaje de la vía biliar, respectivamente. Además, la albúmina plasmática y el hematocrito se midieron ya que influyen en la farmacocinética de tacrolimus. El tacrolimus se une ~99 % a las proteínas del plasma y los eritrocitos. Así, un valor bajo de albuminemia o del hematocrito representa una mayor fracción libre de tacrolimus disponible para ser distribuido, metabolizado y eliminado. Estos factores, que pueden influir en la farmacocinética de tacrolimus durante la conversión, podrían representar una variable confusora en la evaluación de la exposición a tacrolimus(99). No obstante, en la población en estudio, los valores de hematocrito y albúmina no se modificaron por la conversión entre marcas ($p>0,05$). Cabe destacar que los resultados aquí presentados son correspondientes con aquellos reportados previamente en pacientes pediátricos y adultos trasplantados cardíacos, renales, hepáticos y multiorgánico, en los cuales no se evidenciaron diferencias significativas en los parámetros de laboratorio(148, 151, 169, 170).En pacientes trasplantados renales se evaluó la creatinina sérica como marcador de funcionalidad renal, no observándose diferencias significativas luego de una semana de realizada la conversión, así como tampoco luego de 4 meses, evidenciando ausencia de deterioro renal posterior al intercambio a lo largo del tiempo.

En base a los resultados presentados en éste capítulo de tesis, se evaluaron los eventos adversos más comunes y graves en la población pediátrica que recibió tacrolimus. Durante el período de seguimiento del estudio de tacrolimus, no se observaron eventos adversos, pérdida del injerto, episodios de rechazo agudo u óbitos. Por ello, se consideró que el intercambio entre marcas comerciales de tacrolimus resultó seguro para los pacientes evaluados a pesar de que se enfatizó que los resultados obtenidos deben ser validados en una cohorte externa con mayor número de pacientes. Asimismo no se observaron eventos de rechazo, pérdida del injerto o fallecimiento durante el periodo de seguimiento de la conversión a ciclosporina similar. Sin embargo, durante el seguimiento de medicamentos de ciclosporina de ambas marcas comerciales se observaron y registraron eventos adversos. Aunque el seguimiento de los pacientes en este estudio fue corto [mediana 3 meses (0,25–24)], no hay diferencias significativas en cuanto a la incidencia y el tipo de eventos adversos registrados en el período cercano a la conversión.

Los estudios realizados en el marco de la tesis doctoral muestran ciertas limitaciones. El análisis exploratorio fue basado en un diseño retrospectivo y descriptivo. Además, los análisis se realizaron sobre muestras de tamaño pequeño. En contraposición con poblaciones reportadas con trasplantes de un solo tipo, el presente estudio incluye trasplantes pediátricos de hígado, corazón, riñón y de células progenitoras hematopoyéticas (CPH). Cada paciente fue su propio control y se demostró que el monitoreo terapéutico es una herramienta útil y necesaria. En segundo lugar, en el estudio de monitoreo de tacrolimus se utilizaron los valores de C₀ para evaluar la exposición a tacrolimus aunque el mejor parámetro de exposición es el área bajo la curva de concentración sanguínea vs. tiempo⁽¹⁴⁵⁾ (ABC), el cual explícitamente no se utilizó debido a la viabilidad limitada en la rutina clínica de los pacientes trasplantados pediátricos. No obstante, las ABC objetivo para la optimización de la exposición a tacrolimus no se han acordado en el consenso

publicado para pacientes trasplantados a pesar de que debería ser el foco de investigaciones futuras(137). Por lo tanto, la mayoría de los centros de trasplante están utilizando actualmente las concentraciones sanguíneas mínimas (C0) para guiar el régimen de dosificación de tacrolimus en el monitoreo terapéutico de rutina. Además, es bastante difícil de justificar la determinación de las ABC en la práctica clínica diaria por razones prácticas y financieras, principalmente en pacientes pediátricos. Igualmente cabe señalar que existe una correlación lineal entre el área bajo la curva y la concentración C0 de tacrolimus, incluso reportada para el medicamento similar utilizado en el presente estudio(268). Finalmente, el tiempo de seguimiento de los pacientes convertidos al medicamento similar fue escaso. Por lo tanto, más estudios en grupos más numerosos y con un seguimiento a largo plazo podrían describir datos adicionales de eventos adversos y rechazo agudo, lo que puede tardar meses en manifestarse clínicamente en el marco de inmunosupresión sub-terapéutica.

La iniciativa de monitoreo terapéutico de inmunosupresores en trasplante pediátrico fue concebida en el Departamento de Farmacia del HPJPG y llevado a cabo por un equipo multidisciplinario que incluye a los farmacéuticos clínicos, médicos especialistas en trasplantes, farmacólogos y bioquímicos. Por lo tanto, el monitoreo terapéutico de ciclosporina y tacrolimus se aplicó con éxito en pacientes pediátricos con trasplante sometidos a la conversión entre los productos comerciales de acuerdo con las recomendaciones internacionales para estos fármacos (154, 155). Los informes presentados son los primeros que proporcionan datos sólidos sobre la monitorización terapéutica de ciclosporina y tacrolimus en pacientes pediátricos trasplantados sometidos a la conversión entre los productos comerciales en Latinoamérica. Por lo cual, representa un antecedente para futuros estudios de vigilancia intensiva en centros clínicos en Argentina y la región dada la necesidad de un seguimiento terapéutico, incluyendo el de los

parámetros farmacocinéticos y farmacodinámicos (eficacia y seguridad), después del lanzamiento de nuevos productos farmacéuticos o los similares en el mercado. Esto sería particularmente importante en poblaciones especiales, incluyendo niños con trasplantes de órganos sólidos que se someten a continuos cambios fisiológicos.

DISCUSION FINAL

El éxito del trasplante pediátrico no sólo se cuantifica a través de la sobrevida del paciente y del injerto. Una población cada vez más grande de pacientes trasplantados requiere del compromiso de los integrantes del equipo de salud y más aún, de políticas de salud pública, para mejorar la sobrevida a largo plazo y su calidad de vida, el crecimiento y el desarrollo académico, el empleo, la autonomía, así como la posibilidad de tolerancia, la reducción de riesgos de infecciones y la prevención de la pérdida del órgano. En este contexto, el estudio del perfil de seguridad y eficacia y la optimización del uso de inhibidores calcineurínicos por vías de administración convencionales o alternativas de acuerdo a los requerimientos de sub-poblaciones especiales, tiene una gran importancia en la adherencia y cumplimiento de las pautas terapéuticas, lo que impacta en una adecuada transición de la niñez a la adultez en pacientes trasplantados.

En la presente tesis se desarrolló e implementó un sistema de farmacovigilancia intensiva de ciclosporina y tacrolimus en pacientes trasplantados renales y hepáticos en el HPJPG durante el periodo 2010-2012. Se describió la incidencia de eventos adversos a inhibidores calcineurínicos y se analizaron los riesgos del tratamiento con dichos fármacos para mejorar e individualizar el tratamiento inmunosupresor del paciente. Asimismo, se registró la tasa de rechazo agudo. Luego de la identificación de los eventos adversos y del registro de los episodios de rechazo en la población trasplantada hepática, se identificaron los factores de riesgo y de protección vinculados a su desarrollo mediante un análisis multivariado.

Los resultados presentados en ésta tesis doctoral fueron obtenidos en una gran cohorte de pacientes pediátricos latinoamericanos con trasplante de órgano sólido. Cabe destacar que hasta

el momento, los resultados aquí presentados forman parte del reporte con mayor número de pacientes evaluados en Argentina y en Latinoamérica. Así como resulta inadecuado extrapolar datos de poblaciones adultas a pediatría, también es importante conocer la *performance* de inhibidores calcineurínicos y describir el perfil de eventos adversos y su incidencia en la población pediátrica local, lo cual puede diferir del comportamiento en poblaciones caucásicas.

El desarrollo e implementación de un programa de farmacovigilancia intensiva permitió incrementar notablemente el número de reportes de eventos adversos a inhibidores calcineurínicos en los registros locales del HPJPG, efector periférico del Sistema Nacional de Farmacovigilancia de ANMAT y describir el tipo y la incidencia de eventos adversos a inhibidores calcineurínicos en una población pediátrica trasplantada renal y hepática en el principal centro de trasplante pediátrico de la Argentina. La incidencia descrita se encuentra en correspondencia con los reportes realizados por otros autores en otras partes del mundo. Sin embargo, ciertos eventos adversos como son la hiperplasia gingival y el hirsutismo con el uso de ciclosporina, presentan una frecuencia de aparición muy distinta a las reportadas en poblaciones adultas. Los eventos adversos más frecuentes o graves a inhibidores calcineurínicos, como son la hipertensión, nefrotoxicidad, hipomagnesemia y PTLD, se encuentran en relación a lo reportado en literatura para poblaciones pediátricas.

En una sub-población de pacientes trasplantados hepáticos con diagnóstico de atresia de vías biliares (AVB) en el periodo post trasplante inmediato durante el cual los pacientes se encuentran con ventilación mecánica y sedo analgesia, dada la imposibilidad de recibir tacrolimus en cápsulas por vía oral por la ausencia de deglución, se evaluaron los resultados clínicos, parámetros de eficacia y seguridad de la administración sublingual de tacrolimus. La exposición a tacrolimus obtenida en el grupo de pacientes analizados fue comparable a la obtenida por

administración de tacrolimus por vía oral en otra población de características similares a la evaluada. Asimismo, la incidencia de eventos adversos, las interacciones farmacológicas y la tasa de rechazo agudo fueron similares entre vías de administración. Dada la factibilidad del uso de la vía sublingual, la seguridad y eficacia demostrada y los niveles sanguíneos obtenidos dentro de la ventana terapéutica, se acepta que la vía en evaluación es segura y eficaz para el tratamiento de la subpoblación evaluada. Sería importante caracterizar en un estudio prospectivo el perfil sanguíneo completo de tacrolimus luego de la administración sublingual en una población pediátrica trasplantada hepática con ventilación mecánica, sedoanalgesia e imposibilidad de deglutir las capsulas de tacrolimus, tal de evaluar la exposición completa al fármaco y caracterizar si realmente el valor de C0 es el parámetro que puede ser utilizado para evaluar dicha exposición al inmunosupresor.

Los eventos adversos a inhibidores calcineurínicos causan una importante morbi-mortalidad de la población pediátrica. La expresión del CYP3A5 del receptor y la concentración sanguínea media de tacrolimus en los 10 días previos al evento (C01), resultaron factores de riesgo para el desarrollo de toxicidad. En conclusión, para el desarrollo de un evento adverso a tacrolimus, sea hipomagnesemia o nefrotoxicidad, una concentración media de tacrolimus mayor a 6,5 ng/ml al menos 10 días previos, predice el desarrollo de estos eventos. Por su parte, la variabilidad en las concentraciones sanguíneas es un factor de riesgo para el desarrollo de rechazo. Las medidas que se puedan tomar para reducir la variabilidad, ya sea mediante la optimización de la adherencia o conociendo los factores que influyan en la variabilidad de C0 pueden favorecer la reducción de las tasas de rechazo. El uso de esteroides resultó ser un factor de protección frente al rechazo y a pesar de ser un resultado esperable, confirma la validez de nuestros datos. Sería interesante estudiar los factores que influyen sobre C0 de manera de evaluar su comportamiento y poder

reducir la variabilidad, los que a su vez impactan sobre el desarrollo de toxicidad y rechazo agudo.

Los factores farmacotécnicos propios de cada formulación influyen en la biodisponibilidad de los fármacos. Dada la estrecha ventana terapéutica de los inhibidores calcineurínicos, este factor debe ser controlado rigurosamente, lo que trae aparejado una gran controversia en cuanto al intercambio de medicamentos innovadores y similares de inmunosupresores. Según recomendaciones internacionales, y ante la introducción de medicamentos similares en el mercado local, se evaluó la exposición sistémica, la seguridad y eficacia durante la interconversión entre marcas comerciales (medicamento innovador *versus* medicamento similar) de tacrolimus y ciclosporina en una población pediátrica trasplantada en etapa de mantenimiento. El monitoreo intensivo realizado en los pacientes expuestos a sustitución con medicamentos similares de inhibidores calcineurínicos en el marco de la presente tesis doctoral, demostró que el intercambio fue seguro ya que se observó una exposición adecuada y comparable, antes y después de la conversión. Además, no se observaron diferencias significativas en términos de exposición sistémica y de dosis con ambos medicamentos innovador y similar. Cabe destacar que la funcionalidad hepática y renal, así como el hematocrito y los valores de albumina, no sufrieron alteraciones luego de la conversión al medicamento similar. Durante el período de seguimiento de los estudios de inhibidores calcineurínicos, no se observó pérdida del injerto, episodios de rechazo agudo u óbitos. Específicamente, en el estudio de tacrolimus no se observaron eventos adversos antes y después de la conversión. Por su parte, a pesar de observarse eventos adversos con ciclosporina antes y después de la sustitución, no hay diferencias significativas en cuanto a la incidencia y el tipo de eventos adversos registrados en el período cercano a la conversión. Por ello, se consideró que el intercambio entre marcas comerciales resultó seguro y no interfiere con

la eficacia del tratamiento inmunosupresor en la población estudiada durante el período de seguimiento. Por todo lo dicho, se destaca el rol del monitoreo terapéutico en pacientes pediátricos trasplantados sujetos a sustitución de marcas comerciales de inmunosupresores para garantizar la seguridad y eficacia del tratamiento farmacológico.

Los resultados presentados en ésta tesis pueden contribuir a describir perfiles de toxicidad y eficacia que no han sido descritos hasta el momento, y colaborar en el diseño de programas efectivos para el manejo del tratamiento inmunosupresor con tacrolimus y ciclosporina. Esto podría contribuir a mejorar los esquemas terapéuticos de los pacientes pediátricos trasplantados, mejorar su sobrevida y la del injerto, y en definitiva, lograr una mejor transición a la adultez permitiéndoles desarrollar sus potencialidades y su inserción social.

GLOSARIO

Bioequivalencia: ausencia de una diferencia significativa en la velocidad y la medida en que el ingrediente activo o la fracción activa de equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas se hace disponible en el sitio de acción farmacológico cuando se administran en la misma dosis molar bajo condiciones similares en un estudio diseñado apropiadamente

Estenosis Biliar: Interrupción total o parcial del pasaje de bilis a la luz intestinal. El diagnóstico se sospecha por la presencia de ictericia, aumento de enzima de colestasis (FAL – Gama GT), vía biliar dilatada en la ecografía y presencia de proliferación ductal en la histología hepática. Se confirma por medio de la colangiografía.

Estenosis de la arteria hepática: Estrechamiento de la luz arterial. El diagnóstico se sospecha por disfunción hepática y/o complicaciones biliares con alteración del eco-Doppler. Se confirma por medio de la arteriografía.

Evento adverso a un medicamento: todo efecto indeseado o nocivo, que aparece en el paciente a las dosis establecidas como normales, para medicamentos utilizados con fines diagnósticos, o terapéuticos

Falla primaria del hígado: Falta de funcionamiento del injerto inmediato a la reperusión, que causa la muerte si no se re trasplanta el paciente. Clínicamente se caracteriza por la falta de producción de bilis, encefalopatía, coagulopatía, falla renal y aumento de las enzimas hepáticas.

Siempre es considerado un diagnóstico de exclusión. Es consecuencia de la necrosis extensa del injerto sin trombosis arterial ni venosa.

Fístula biliar: Derrame biliar hacia la cavidad peritoneal cuyo diagnóstico se confirma por la salida de bilis por el drenaje abdominal, o por la aspiración de bilis de una colección intra-abdominal.

Medicamento similar: según la Disposición ANMAT No. 3185/99, es un producto que contiene sustancias terapéuticamente activas como base de su formulación, así como formas farmacéuticas, vías de administración, posología, indicaciones, contraindicaciones, precauciones, advertencias, reacciones adversas, pruebas de disolución y otros datos correlativos semejantes al producto registrado en el país o países de los Anexos, pudiendo diferir en características tales como tamaño y forma, excipientes, período de vida útil, envase primario.

Oclusión intestinal mecánica: Interrupción de la progresión del contenido intestinal debido a causas obstructivas (bridas post operatoria y tumores entre otras).

Perdida de injerto renal: se define a la falla renal persistente ($FGe < 15 \text{ ml/min/1.73}$) o al retorno a diálisis. Se utilizó la clasificación de Banff para análisis histopatológico a partir de 1997, actualizada al año 2011.

Perforación intestinal: Presencia de un orificio en la pared intestinal que causa peritonitis debido a la extravasación del contenido intestinal a la cavidad peritoneal.

Productos genéricos: el término producto genérico tiene diferentes significados en distintas jurisdicciones. El uso de este término se debe evitar tanto como sea posible, en su lugar se debe utilizar el término producto de fuentes múltiples. Los productos genéricos pueden comercializarse bajo la DCI o bajo un nombre de marca, en formas de dosificación o potencia diferente a la del innovador. Cuando el término producto genérico se usa, este significa un producto farmacéutico que usualmente se intenta intercambiar con el producto innovador, el cual se produce sin licencia de la compañía innovadora y se comercializa después de expirada la patente u otros derechos de exclusividad.

Productos multi-fuente o fuentes múltiples: son productos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas que pueden o no ser equivalentes terapéuticos. Los productos farmacéuticos de fuentes múltiples que son equivalentes terapéuticos son intercambiables.

Reacción adversa a medicamento (RAM): respuesta nociva e inesperada que ocurre con dosis normalmente utilizadas en el hombre para la profilaxis, el diagnóstico o el tratamiento de una enfermedad, o para modificar una función fisiológica. Una reacción adversa medicamentosa, al contrario de un evento adverso, se caracteriza por la sospecha de una relación causal entre la droga y la ocurrencia, por ejemplo, al considerarse posiblemente relacionada al tratamiento por el notificador o un profesional de la salud revisor (UMC, 2011).

Rechazo celular agudo hepático: Lesiones histológicas inmunológicas causadas por una disparidad genética entre el donante y el receptor. Se confirma mediante la histología

Rechazo crónico hepático: Lesiones histológicas que presentan disminución de los conductos hepáticos en más del 50%. Se confirma por biopsia hepática.

Rechazo renal Agudo temprano: definido como aquel que ocurre en los primeros 90 días luego del trasplante renal, y rechazo agudo tardío al diagnosticado luego de los 12 meses post trasplante renal.

Recidiva de Enfermedad renal de Base: se define en un niño con Glomérulo Esclerosis Focal y Segmentaria (GSFS) como causa de insuficiencia renal crónica (IRC), a la aparición de proteinuria masiva ≥ 50 mg/kg/día e hipoalbuminemia (≤ 2.5 g/día) en ausencia de rechazo agudo. En un paciente con Síndrome Hemolítico Atípico (SUHa) como causa de IRC se sospechó recidiva de SUHa al deterioro rápido de función renal (aumento de creatinina sérica $\geq 25\%$ del valor basal), con anemia hemolítica microangiopática, plaquetopenia, y Microangiopatía Trombótica en la biopsia del injerto.

Retardo en la función del injerto (DGF- del Inglés: “*Delayed Graft Function*”): se define así al requerimiento de diálisis durante los siete primeros días post trasplante renal.

Sospecha de Rechazo Agudo (RA) renal: se define en todo paciente con aumento de la creatinina sérica $\geq 25\%$, y/o fiebre (temperatura axilar $\geq 37,5^{\circ}\text{C}$) sin foco clínico, y/o hipertensión arterial *de novo* o empeorada en un niño con hipertensión arterial previa, y/o aumento de consistencia y/o dolor a la palpación del riñón injertado.

Trombosis de arteria hepática: Obstrucción de la luz de la arteria. El diagnóstico se sospecha por disfunción hepática y/o complicaciones biliares. Se confirma por exploración quirúrgica o arteriografía.

Trombosis de la vena porta: Obstrucción de la vena porta acompañado por disfunción hepática cuyo diagnóstico inicial se realiza por eco-Doppler y se confirma por cirugía o arteriografía

Trombosis o Estenosis de las venas suprahepáticas: Se presenta como Síndrome de Budd- Chiari *de novo*. Sospechado por eco-Doppler y confirmado por estudio angiográfico.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ley 24.193. De Trasplante de Órganos y Tejidos –Texto actualizado por Ley 26.066 –, (1993).
2. Hospital de Pediatría Garrahan. Trasplantes [citado 2017 Marzo]. Disponible en: (<http://www.garrahan.gov.ar/trasplantes>).
3. Starzl TE, et al. Homotransplantation of the Liver in Humans. Surg Gynecol Obstet. 1963 Dec;117:659-76.
4. Rolles K, et al. The Cambridge and King's College Hospital experience of liver transplantation, 1968-1983. Hepatology. 1984 Jan-Feb;4(1 Suppl):50S-5S.
5. Starzl TE, et al. Evolution of liver transplantation. Hepatology. 1982 Sep-Oct;2(5):614-36.
6. Starzl TE, et al. Liver transplantation with use of cyclosporin a and prednisone. N Engl J Med. 1981 Jul 30;305(5):266-9.
7. De Santibañez E SJ, et al. Trasplante hepático. Experiencia clínica en el Hospital Italiano de Buenos Aires. Rev Argent Cirugía. 1990;59:1.
8. Williams E, et al. Development of a pediatric liver transplantation program in Argentina. Pediatric surgery international. 1998 Jul;13(5-6):319-22.
9. Cervio G, et al. Trasplante hepático en pediatría. Rev cir infant. 1995;5(1):17-22.
10. Cervio G, et al. Programa de trasplante hepático en el Hospital de Pediatría Juan P. Garrahan: 16 años de experiencia. Med infant. 2009;16(2):90-100.
11. Gross E, et al. [Reduced-size liver transplants in children]. Harefuah. 1994 Apr 15;126(8):429-31, 92.
12. Steinhoff G, et al. Analysis of sequential changes in major histocompatibility complex expression in human liver grafts after transplantation. Transplantation. 1988 Feb;45(2):394-401.
13. Raia S, et al. Liver transplantation from live donors. Lancet. 1989 Aug 26;2(8661):497.
14. Halac E, et al. Split liver transplantation: Report of right and left graft outcomes from a multicenter Argentinean group. Liver Transpl. 2016 Jan;22(1):63-70.
15. Todo S, et al. Primary nonfunction of hepatic allografts with preexisting fatty infiltration. Transplantation. 1989 May;47(5):903-5.
16. Fishbein TM, et al. Use of livers with microvesicular fat safely expands the donor pool. Transplantation. 1997 Jul 27;64(2):248-51.
17. Langnas AN, et al. Hepatic allograft rescue following arterial thrombosis. Role of urgent revascularization. Transplantation. 1991 Jan;51(1):86-90.
18. Ueda M, et al. Portal vein complications in the long-term course after pediatric living donor liver transplantation. Transplant Proc. 2005 Mar;37(2):1138-40.
19. Dip M, et al. Results after the adoption of a MELD/PELD-based liver allocation policy in Argentina. Pediatr Transplant. 2015 Feb;19(1):56-61.
20. Ng VL, et al. Health status of children alive 10 years after pediatric liver transplantation performed in the US and Canada: report of the studies of pediatric liver transplantation experience. J Pediatr. 2012 May;160(5):820-6 e3.
21. Soltys KA, et al. Late graft loss or death in pediatric liver transplantation: an analysis of the SPLIT database. Am J Transplant. 2007 Sep;7(9):2165-71.

22. Kelly DA, et al. Long-term medical management of the pediatric patient after liver transplantation: 2013 practice guideline by the American Association for the Study of Liver Diseases and the American Society of Transplantation. *Liver Transpl.* 2013 Aug;19(8):798-825.
23. Morel P, et al. Long-term quality of life after kidney transplantation in childhood. *Transplantation.* 1991 Jul;52(1):47-53.
24. Krmar RT, et al. Quality of life after kidney transplantation in children. *Transplantation.* 1997 Aug 15;64(3):540-1.
25. Karrfelt HM, et al. Long-term psychosocial outcome after renal transplantation during childhood. *Pediatr Transplant.* 2008 Aug;12(5):557-62.
26. Fine RN. Growth following solid-organ transplantation. *Pediatr Transplant.* 2002 Feb;6(1):47-52.
27. Chaparro A, et al. Trasplante renal 1988-2008. *Med infant.* 2009;16(2):118-25.
28. Monteverde M, et al. Sobrevida de paciente e injerto en niños con trasplante renal: Experiencia del Hospital Garrahan en dos periodos. *Medicina Infantil.* 2016;XXIII(2):108-16.
29. Lucan M, et al. Ten years of cyclosporine use in renal transplantation: a single-center experience with 479 renal transplants. *Transplant Proc.* 2004 Mar;36(2 Suppl):177S-80S.
30. Carpenter PA, et al. Management of acute graft-versus-host disease in children. *Pediatr Clin North Am.* 2010 Feb;57(1):273-95.
31. Costanzo MR, et al. The International Society of Heart and Lung Transplantation Guidelines for the care of heart transplant recipients. *The Journal of heart and lung transplantation : the official publication of the International Society for Heart Transplantation.* 2010 Aug;29(8):914-56.
32. Stewart S, et al. Revision of the 1990 working formulation for the standardization of nomenclature in the diagnosis of heart rejection. *J Heart Lung Transplant.* 2005 Nov;24(11):1710-20.
33. Terminology for hepatic allograft rejection. International Working Party. *Hepatology.* 1995 Aug;22(2):648-54.
34. Racusen LC, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999 Feb;55(2):713-23.
35. Solez K, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant.* 2008 Apr;8(4):753-60.
36. Mengel M, et al. Banff 2011 Meeting report: new concepts in antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2012 Mar;12(3):563-70.
37. Bumgardner GL. Evidence for multiple allograft rejection mechanisms within the same experimental system. *Current Opinion in Organ Transplantation.* 2005;10(1):20-7.
38. Gloor J, et al. The spectrum of antibody-mediated renal allograft injury: implications for treatment. *Am J Transplant.* 2008 Jul;8(7):1367-73.
39. Heeger PS, et al. Taking aim at a moving target: the complexity of immune-mediated organ rejection. *Current Opinion in Organ Transplantation.* 2005;10(1):3-8.
40. Scalea JR, et al. Tacrolimus for the prevention and treatment of rejection of solid organ transplants. *Expert Rev Clin Immunol.* 2016;12(3):333-42.
41. Abbas AK, et al. *Cellular and molecular immunology: Elsevier Health Sciences; 2014.*
42. Miloh T, et al. Immunosuppression in pediatric liver transplant recipients: Unique aspects. *Liver Transpl.* 2017 Feb;23(2):244-56.
43. Hricik DE. Steroid-free immunosuppression in kidney transplantation: an editorial review. *Am J Transplant.* 2002 Jan;2(1):19-24.

44. Weber LT, et al. Therapeutic monitoring of immunosuppressive drugs in pediatric patients: special considerations. *Expert Rev Clin Pharmacol*. 2016 Aug;9(8):1001-3.
45. Starzl TE, et al. Liver transplantation in the ciclosporin era. *Progress in allergy*. 1986;38:366-94.
46. Gjertson DW, et al. The relative effects of FK506 and cyclosporine on short- and long-term kidney graft survival. *Transplantation*. 1995 Dec 27;60(12):1384-8.
47. Mazariegos GV. Tolerogenic immunosuppression in pediatric abdominal transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*. 2006;11(5):537-42.
48. Calne RY. Prope tolerance - The future of organ transplantation from the laboratory to the clinic. *Transplant Immunol*. 2004;13(2):83-6.
49. Neu AM, et al. Tacrolimus vs. cyclosporine A as primary immunosuppression in pediatric renal transplantation: a NAPRTCS study. *Pediatr Transplant*. 2003 Jun;7(3):217-22.
50. Kusne S, et al. Prevention and treatment of cytomegalovirus infection in organ transplant recipients. *Transpl Infect Dis*. 1999 Sep;1(3):187-203.
51. Kotton CN, et al. Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid-organ transplantation. *Transplantation*. 2013 Aug 27;96(4):333-60.
52. Radisic M, et al. Risk factors for *Pneumocystis carinii* pneumonia in kidney transplant recipients: a case-control study. *Transpl Infect Dis*. 2003 Jun;5(2):84-93.
53. La Farmacovigilancia: garantía de seguridad en el uso de los medicamentos. Perspectivas políticas de la OMS sobre medicamentos: Organización Mundial de la Salud; 2004 [citado 2017 Marzo]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/pdf/s6166s/s6166s.pdf>.
54. Glossary of pharmacovigilance terms: Upssala Monitoring Centre; 2017 [citado 2017 April]. Disponible en: <https://www.who-umc.org/global-pharmacovigilance/global-pharmacovigilance/glossary/>.
55. Programme for International Drug Monitoring: Organización Mundial de la Salud; 2017 [citado 2017 Abril]. Disponible en: www.vigiaccess.org.
56. Buenas Prácticas de Farmacovigilancia para las Américas Washington, DC: Organización Mundial de la Salud; 2010 [citado 2017]. Disponible en: <http://apps.who.int/medicinedocs/documents/s18625es/s18625es.pdf>.
57. Sistema Nacional de Farmacovigilancia- Comunicación de eventos adversos de medicamentos Administración Nacional de Medicamentos Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT); 2017 [citado 2017 Abril]. Disponible en: http://sistemas.anmat.gov.ar/aplicaciones_net/applications/fvg_eventos_adversos_nuevo/index.html.
58. Bränd Persson K, et al. The Anatomical Therapeutic Chemical (ATC) classification and its use in the Nordic countries (document WHO/GPE/CAS/C/02.49). Meeting of Heads of WHO Collaborating Centres for the Classification of Diseases. Brisbane (Australia); 2002.
59. Naranjo CA, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol Ther*. 1981 Aug;30(2):239-45.
60. Guideline for Industry Clinical Safety Data Management: Definitions and Standards for Expedited Reporting: Food and Drug Administration; 1995 [citado 2017 Marzo]. Disponible en: <http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm073087.pdf>.
61. Clinical Safety data management: definitions and standards for expedited reporting ICH Harmonised Tripartite Guideline European Medicines Agency; 1995 [citado 2017 Abril]. Disponible en:

http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002749.pdf.

62. Schumock GT, et al. Focusing on the preventability of adverse drug reactions. *Hospital pharmacy*. 1992 Jun;27(6):538.
63. Henry ML. Cyclosporine and tacrolimus (FK506): a comparison of efficacy and safety profiles. *Clin Transplant*. 1999;13(3):209-20.
64. Micromedex-Solutions. Cyclosporine. Truven Health Analytics 2016 [citado 2016 19th December]. Disponible en: <http://www.micromedexsolutions.com>.
65. Micromedex-Solutions. Tacrolimus 2016 [citado 2016]. Disponible en: <http://www.micromedexsolutions.com>.
66. Centro de Información de Medicamentos (CIME): Hospital de Pediatría Prof. J.P. Garrahan; 2017 [citado 2017 Abril]. Disponible en: <http://www.garrahan.gov.ar/cime/cime>.
67. Riva N, et al. [Pharmacovigilance of calcineurin inhibitor in pediatric kidney and liver transplantation]. *Farm Hosp*. 2013 Nov-Dec;37(6):441-9.
68. Calne RY, et al. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. *Lancet*. 1978 Dec 23-30;2(8104-5):1323-7.
69. Hesselink DA, et al. The pharmacogenetics of calcineurin inhibitor-related nephrotoxicity. *Ther Drug Monit*. 2010 Aug;32(4):387-93.
70. English J, et al. Cyclosporine-induced acute renal dysfunction in the rat. Evidence of arteriolar vasoconstriction with preservation of tubular function. *Transplantation*. 1987 Jul;44(1):135-41.
71. Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med*. 1989 Dec 21;321(25):1725-38.
72. Myers BD, et al. Cyclosporine-associated chronic nephropathy. *N Engl J Med*. 1984 Sep 13;311(11):699-705.
73. Isnard Bagnis C, et al. Long-term renal effects of low-dose cyclosporine in uveitis-treated patients: follow-up study. *J Am Soc Nephrol*. 2002 Dec;13(12):2962-8.
74. Bechstein WO. Neurotoxicity of calcineurin inhibitors: impact and clinical management. *Transpl Int*. 2000;13(5):313-26.
75. Andropoulos DB. Pediatric normal laboratory values. *Gregory's Pediatric Anesthesia 5th ed* Oxford, United Kingdom: Blackwell Publishing. 2012.
76. McNally PG, et al. Pathophysiology of cyclosporin A nephrotoxicity: experimental and clinical observations. *Nephrol Dial Transplant*. 1992;7(8):791-804.
77. Morales JM, et al. Influence of cyclosporin, tacrolimus and rapamycin on renal function and arterial hypertension after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant*. 2001;16 Suppl 1:121-4.
78. Falkner B, et al. The fourth report on the diagnosis, evaluation, and treatment of high blood pressure in children and adolescents. *Pediatrics*. 2004;114(2 III):555-76.
79. *Gingival Enlargement: The American Academy of Oral Medicine*; 2017 [citado 2017 Abril]. Disponible en: http://www.aaom.com/index.php?option=com_content&view=article&id=132:gingival-enlargement&catid=22:patient-condition-information&Itemid=120.
80. Harper JI, et al. Dermatological aspects of the use of Cyclosporin A for prophylaxis of graft-versus-host disease. *Br J Dermatol*. 1984 Apr;110(4):469-74.
81. Wysocki GP, et al. Hypertrichosis in patients receiving cyclosporine therapy. *Clinical and experimental dermatology*. 1987 May;12(3):191-6.

82. Yadav DK, et al. Tacrolimus-induced severe cholestasis complicating renal transplantation. *Ren Fail.* 2013;35(5):735-7.
83. Ho M, et al. Epstein-Barr virus infections and DNA hybridization studies in posttransplantation lymphoma and lymphoproliferative lesions: the role of primary infection. *The Journal of infectious diseases.* 1985 Nov;152(5):876-86.
84. Walker RC, et al. Pretransplantation assessment of the risk of lymphoproliferative disorder. *Clin Infect Dis.* 1995 May;20(5):1346-53.
85. Chinnock R, et al. Pediatric Heart Transplant S. A 16-year multi-institutional study of the role of age and EBV status on PTLD incidence among pediatric heart transplant recipients. *Am J Transplant.* 2012 Nov;12(11):3061-8.
86. Crutchlow MF, et al. Transplant-associated hyperglycemia: a new look at an old problem. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007 Mar;2(2):343-55.
87. Hayes W, et al. Hypomagnesemia and increased risk of new-onset diabetes mellitus after transplantation in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol.* 2017 May;32(5):879-84.
88. Ergun I, et al. Endothelial nitric oxide synthase gene intron 4 polymorphism predicts new onset diabetes mellitus after transplantation in kidney allograft recipients treated with cyclosporin A. *Int Urol Nephrol.* 2011 Jun;43(2):543-8.
89. Weir MR, et al. Risk for posttransplant Diabetes mellitus with current immunosuppressive medications. *Am J Kidney Dis.* 1999 Jul;34(1):1-13.
90. Sastry J, et al. Acute pancreatitis due to tacrolimus in a case of allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant.* 2004 Apr;33(8):867-8.
91. Tricot L, et al. Tacrolimus-induced alopecia in female kidney-pancreas transplant recipients. *Transplantation.* 2005 Dec 15;80(11):1546-9.
92. Ushigome H, et al. Two cases of tacrolimus-induced alopecia following kidney transplantation. *Transplant Proc.* 1999 Nov;31(7):2885-6.
93. Product Information: NEORAL(R) oral soft gelatin capsules, oral solution, cyclosporine oral soft gelatin capsules, oral solution. Novartis Pharmaceuticals Corporation (per FDA) East Hanover, NJ2013 [citado 2017 Abril]. Disponible en: https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2013/050715s033,050716s034lbl.pdf.
94. Le Bigot JF, et al. [Pharmacokinetics and metabolism of cyclosporin; drug interactions]. *Nephrologie.* 1987;8(3):135-41.
95. Knops N, et al. From gut to kidney: transporting and metabolizing calcineurin-inhibitors in solid organ transplantation. *Int J Pharm.* 2013 Aug 16;452(1-2):14-35.
96. Irtan S, et al. Population pharmacokinetics and Bayesian estimator of cyclosporine in pediatric renal transplant patients. *Ther Drug Monit.* 2007;29(1):96-102.
97. Staatz CE, et al. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part i. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(3):141-75.
98. Wallemacq PE, et al. Pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in paediatric liver transplant recipients. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet.* 1998 Jul-Sep;23(3):367-70.
99. Staatz CE, et al. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(10):623-53.
100. Staatz CE, et al. Population pharmacokinetics of tacrolimus in adult kidney transplant recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2002 Dec;72(6):660-9.

101. Gerard C, et al. Determination of the most influential sources of variability in tacrolimus trough blood concentrations in adult liver transplant recipients: a bottom-up approach. *AAPS J.* 2014 May;16(3):379-91.
102. Guy-Viterbo V, et al. Population pharmacokinetic analysis of tacrolimus in the first year after pediatric liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013;69(8):1533-42.
103. Oteo I, et al. Tacrolimus pharmacokinetics in the early post-liver transplantation period and clinical applicability via Bayesian prediction. *Eur J Clin Pharmacol.* 2013 Jan;69(1):65-74.
104. De Wildt SN, et al. The interactions of age, genetics, and disease severity on tacrolimus dosing requirements after pediatric kidney and liver transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2011;67(12):1231-41.
105. Hesselink DA, et al. The role of pharmacogenetics in the disposition of and response to tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2014 Feb;53(2):123-39.
106. Hawwa AF, et al. Influence of ABCB1 polymorphisms and haplotypes on tacrolimus nephrotoxicity and dosage requirements in children with liver transplant. *Br J Clin Pharmacol.* 2009 Sep;68(3):413-21.
107. Wallemacq PE, et al. Comparative clinical pharmacokinetics of tacrolimus in paediatric and adult patients. *Clin Pharmacokinet.* 2001;40(4):283-95.
108. Staatz CE, et al. Toward better outcomes with tacrolimus therapy: population pharmacokinetics and individualized dosage prediction in adult liver transplantation. *Liver Transpl.* 2003 Feb;9(2):130-7.
109. Kearns GL, et al. Developmental pharmacology--drug disposition, action, and therapy in infants and children. *N Engl J Med.* 2003 Sep 18;349(12):1157-67.
110. McCarver DG, et al. The ontogeny of human drug-metabolizing enzymes: phase II conjugation enzymes and regulatory mechanisms. *J Pharmacol Exp Ther.* 2002 Feb;300(2):361-6.
111. Seger C, et al. Assuring the Proper Analytical Performance of Measurement Procedures for Immunosuppressive Drug Concentrations in Clinical Practice: Recommendations of the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology Immunosuppressive Drug Scientific Committee. *Ther Drug Monit.* 2016 Apr;38(2):170-89.
112. Han K, et al. Population pharmacokinetics of cyclosporine in transplant recipients. *AAPS J.* 2013 Oct;15(4):901-12.
113. Jorga A, et al. Therapeutic drug monitoring of cyclosporine Review. *TRANSPLANT PROC.* 2004 Mar;36(2 Suppl):396S-403S.
114. Dunn CJ, et al. Cyclosporin: an updated review of the pharmacokinetic properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (neoral)¹ in organ transplantation. *Drugs.* 2001;61(13):1957-2016.
115. Olyaei AJ, et al. Nephrotoxicity of immunosuppressive drugs: new insight and preventive strategies. *Current opinion in critical care.* 2001 Dec;7(6):384-9.
116. Kershner RP, et al. Relationship of FK506 whole blood concentrations and efficacy and toxicity after liver and kidney transplantation. *Transplantation.* 1996 Oct 15;62(7):920-6.
117. Staatz C, et al. Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2001 Sep;16(9):1905-9.
118. Schwartz M, et al. FK 506 in liver transplantation: correlation of whole blood levels with efficacy and toxicity. The US Multicenter FK 506 Dose Optimization. *Transplant Proc.* 1995 Feb;27(1):1107.
119. Takahara S, et al. Monitoring of FK 506 blood levels in kidney transplant recipients. *Transplant Proc.* 1994 Aug;26(4):2106-8.

120. Winkler M, et al. Comparison of plasma vs whole blood as matrix for FK 506 drug level monitoring. *Transplant Proc.* 1995 Feb;27(1):822-5.
121. Przepiorka D, et al. Relationship of tacrolimus whole blood levels to efficacy and safety outcomes after unrelated donor marrow transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant.* 1999;5(2):94-7.
122. Backman L, et al. FK506 trough levels in whole blood and plasma in liver transplant recipients. Correlation with clinical events and side effects. *Transplantation.* 1994 Feb 27;57(4):519-25.
123. Backman L, et al. Whole-blood and plasma levels of FK 506 after liver transplantation: results from the US Multicenter Trial. FK506 Multicenter Study Group. *Transplant Proc.* 1995 Feb;27(1):1124.
124. Schiff J, et al. Therapeutic monitoring of calcineurin inhibitors for the nephrologist. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007 Mar;2(2):374-84.
125. Rowland M, et al. Cyclosporin-phenytoin interaction: re-evaluation using metabolite data. *Br J Clin Pharmacol.* 1987 Sep;24(3):329-34.
126. Hebert MF, et al. Bioavailability of cyclosporine with concomitant rifampin administration is markedly less than predicted by hepatic enzyme induction. *Clin Pharmacol Ther.* 1992 Nov;52(5):453-7.
127. Wu CY, et al. Differentiation of absorption and first-pass gut and hepatic metabolism in humans: studies with cyclosporine. *Clin Pharmacol Ther.* 1995 Nov;58(5):492-7.
128. McLachlan AJ, et al. Effect of metabolic inhibitors on cyclosporine pharmacokinetics using a population approach. *Ther Drug Monit.* 1998 Aug;20(4):390-5.
129. Leroy S, et al. Tacrolimus nephrotoxicity: Beware of the association of diarrhea, drug interaction and pharmacogenetics. *Pediatr Nephrol.* 2010;25(5):965-9.
130. Lalan S, et al. Effect of CYP3A5 genotype, steroids, and azoles on tacrolimus in a pediatric renal transplant population. *Pediatr Nephrol.* 2014 May 30.
131. Schubert M, et al. Pharmacokinetics of sirolimus and tacrolimus in pediatric transplant patients. *Am J Transplant.* 2004 May;4(5):767-73.
132. Hsiao M, et al. Monitoring nonadherence and acute rejection with variation in blood immunosuppressant levels in pediatric renal transplantation. *Transplantation.* 2011 Oct 27;92(8):918-22.
133. Chisholm-Burns MA, et al. Immunosuppressant therapy adherence and graft failure among pediatric renal transplant recipients. *Am J Transplant.* 2009 Nov;9(11):2497-504.
134. Rianthavorn P, et al. Medication non-adherence in the adolescent renal transplant recipient: a clinician's viewpoint. *Pediatr Transplant.* 2005 Jun;9(3):398-407.
135. Brunet M, et al. Barcelona Consensus on Biomarker-Based Immunosuppressive Drugs Management in Solid Organ Transplantation. *Ther Drug Monit.* 2016 Apr;38 Suppl 1:S1-20.
136. Koefoed-Nielsen PB, et al. Comparison of the temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine and tacrolimus in renal transplant patients. *Transplant Proc.* 2005 May;37(4):1736-8.
137. Wallemacq P, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit.* 2009 Apr;31(2):139-52.
138. Kim JS, et al. Effect of age, ethnicity, and glucocorticoid use on tacrolimus pharmacokinetics in pediatric renal transplant patients. *Pediatr Transplant.* 2005 Apr;9(2):162-9.

139. Filler G, et al. Universal approach to pharmacokinetic monitoring of immunosuppressive agents in children. *Pediatr Transplant*. 2002 Oct;6(5):411-8.
140. Canadian Neoral Renal Transplantation Study G. Absorption profiling of cyclosporine microemulsion (neoral) during the first 2 weeks after renal transplantation. *Transplantation*. 2001 Sep 27;72(6):1024-32.
141. International Neoral Renal Transplantation Study G. Cyclosporine microemulsion (Neoral) absorption profiling and sparse-sample predictors during the first 3 months after renal transplantation. *Am J Transplant*. 2002 Feb;2(2):148-56.
142. Staats CE, et al. A pharmacodynamic investigation of tacrolimus in pediatric liver transplantation. *Liver Transpl*. 2004 Apr;10(4):506-12.
143. Rodriguez-Peralvarez M, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors early after liver transplantation prevents recurrence of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*. 2013;59(6):1193-9.
144. Lee TC, et al. Quantitative EBV viral loads and immunosuppression alterations can decrease PTLTD incidence in pediatric liver transplant recipients. *Am J Transplant*. 2005 Sep;5(9):2222-8.
145. Marquet P. Counterpoint: Is pharmacokinetic or pharmacodynamic monitoring of calcineurin inhibition therapy necessary? *Clin Chem*. 2010 May;56(5):736-9.
146. Troncoso P, et al. Abbreviated AUC monitoring of cyclosporine more adequately identified patients at risk for acute rejection during induction of immunosuppressive therapy after kidney transplantation than recommended C2 concentration values. *Transplant Proc*. 2009 Jan-Feb;41(1):127-30.
147. Mahalati K, et al. Approaching the therapeutic window for cyclosporine in kidney transplantation: A prospective study. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(4):828-33.
148. Duong SQ, et al. Transition from brand to generic tacrolimus is associated with a decrease in trough blood concentration in pediatric heart transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2015 Dec;19(8):911-7.
149. Leger F, et al. Maximum a posteriori Bayesian estimation of oral cyclosporin pharmacokinetics in patients with stable renal transplants. *Clin Pharmacokinet*. 2002;41(1):71-80.
150. Premaud A, et al. Population pharmacokinetics of mycophenolic acid in pediatric renal transplant patients using parametric and nonparametric approaches. *Pharmacol Res*. 2011 Mar;63(3):216-24.
151. Spence MM, et al. Evaluation of clinical and safety outcomes associated with conversion from brand-name to generic tacrolimus in transplant recipients enrolled in an integrated health care system. *Pharmacotherapy*. 2012;32(11):981-7.
152. Kaplan WA, et al. The market dynamics of generic medicines in the private sector of 19 low and middle income countries between 2001 and 2011: a descriptive time series analysis. *PLoS One*. 2013;8(9):e74399.
153. Oral tacrolimus products: prescribe and dispense by brand name only, to minimise the risk of inadvertent switching between products, which has been associated with reports of toxicity and graft rejection: Medicines and Healthcare products Regulatory Agency; 2012 [citado 2017 Abril]. Disponible en: <https://www.gov.uk/drug-safety-update/oral-tacrolimus-products-prescribe-and-dispense-by-brand-name-only-to-minimise-the-risk-of-inadvertent-switching-between-products-which-has-been-associated-with-reports-of-toxicity-and-graft-rejection>.

154. van Gelder T, Substitution EACoG. European Society for Organ Transplantation Advisory Committee recommendations on generic substitution of immunosuppressive drugs. *Transpl Int*. 2011 Dec;24(12):1135-41.
155. Harrison JJ, et al. Generic immunosuppression in solid organ transplantation: a Canadian perspective. *Transplantation*. 2012 Apr 15;93(7):657-65.
156. Al Ameri MN, et al. A survey to determine the views of renal transplant patients on generic substitution in the UK. *Transpl Int*. 2011 Aug;24(8):770-9.
157. Banahan BF, et al. A physician survey on generic drugs and substitution of critical dose medications. *Arch Intern Med*. 1997 Oct 13;157(18):2080-8.
158. Figueiras MJ, et al. Assessing lay beliefs about generic medicines: Development of the generic medicines scale. *Psychology, health & medicine*. 2009 May;14(3):311-21.
159. Hakonsen H, et al. Generic substitution: additional challenge for adherence in hypertensive patients? *Current medical research and opinion*. 2009 Oct;25(10):2515-21.
160. Organization WH, Preparations WECoSfP. Fortieth Report. Geneva: WHO; 2006. WHO Technical Report Series.937.
161. Estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia para productos farmacéuticos administrados oralmente - consideraciones generales. Guía para la Industria: Food and Drug Administration; 2000 [citado 2017 Abril]. Disponible en: <https://www.fda.gov/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm201469.htm>.
162. Calabria AA. Analyzing the market for organs donation: evaluation of the introduction of incentives in Argentina. 2011.
163. Sub Programa de subsidios para trasplante y provision de medicación postrasplante.: Centro Único Coordinador de Ablación e Implante Provincia de Buenos Aires (CUCAIBA); 2017. Disponible en: <http://www.cucaiba.gba.gov.ar/subsidios/>.
164. Disposición 5040/2006. Especialidades medicinales: Administración Nacional de Medicamentos, Alimentos y Tecnología Médica (ANMAT); 2006 [citado 2017]. Disponible en: <http://servicios.infoleg.gob.ar/infolegInternet/anexos/115000-119999/119563/norma.htm>.
165. Singh AK, et al. Cyclosporine: A Commentary on Brand versus Generic Formulation Exchange. *J Transplant*. 2011;2011:480642.
166. Cattaneo D, et al. Generic cyclosporine formulations: more open questions than answers. *Transpl Int*. 2005 Apr;18(4):371-8.
167. van Gelder T. What Is the Future of Generics in Transplantation? *Transplantation*. 2015 Nov;99(11):2269-73.
168. Madian AG, et al. Case report: Inability to achieve a therapeutic dose of tacrolimus in a pediatric allogeneic stem cell transplant patient after generic substitution. *BMC Pharmacol Toxicol*. 2014 Dec 03;15:69.
169. Momper JD, et al. The impact of conversion from prograf to generic tacrolimus in liver and kidney transplant recipients with stable graft function. *Am J Transplant*. 2011 Sep;11(9):1861-7.
170. Marfo K, et al. Clinical outcomes after conversion from brand-name tacrolimus (prograf) to a generic formulation in renal transplant recipients: a retrospective cohort study. *P T*. 2013 Aug;38(8):484-8.
171. Spence MM, et al. Evaluation of clinical and safety outcomes associated with conversion from brand-name to generic tacrolimus in transplant recipients enrolled in an integrated health care system. *Pharmacotherapy*. 2012 Nov;32(11):981-7.

172. Latran M. Response to Klintmalm on the use of generic immunosuppression. *Am J Transplant*. 2012 Mar;12(3):791; author reply 4.
173. Petan JA, et al. Physiochemical properties of generic formulations of tacrolimus in Mexico. *Transplant Proc*. 2008 Jun;40(5):1439-42.
174. Alloway RR, et al. A randomized pharmacokinetic study of generic tacrolimus versus reference tacrolimus in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2012 Oct;12(10):2825-31.
175. Guideline on the investigation of bioequivalence: European Medicines Agency (EMA); 2010 [citado 2017 Abril]. Disponible en: http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2010/01/WC500070039.pdf.
176. Taube D, et al. Generic tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Transplant*. 2014 May;28(5):623-32.
177. Uber PA, et al. Generic drug immunosuppression in thoracic transplantation: an ISHLT educational advisory. *J Heart Lung Transplant*. 2009 Jul;28(7):655-60.
178. McDevitt-Potter LM, et al. A multicenter experience with generic tacrolimus conversion. *Transplantation*. 2011 Sep 27;92(6):653-7.
179. Abdunour HA, et al. Comparison of generic tacrolimus and Prograf drug levels in a pediatric kidney transplant program: brief communication. *Pediatr Transplant*. 2010 Dec;14(8):1007-11.
180. Debette-Gratien M, et al. Influence of Donor and Recipient CYP3A4, CYP3A5, and ABCB1 Genotypes on Clinical Outcomes and Nephrotoxicity in Liver Transplant Recipients. *Transplantation*. 2016 Oct;100(10):2129-37.
181. Monostory K, et al. Personalizing initial calcineurin inhibitor dosing by adjusting to donor CYP3A-status in liver transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2015 Dec;80(6):1429-37.
182. Birdwell KA, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) Guidelines for CYP3A5 Genotype and Tacrolimus Dosing. *Clin Pharmacol Ther*. 2015 Jul;98(1):19-24.
183. Andrews LM, et al. Dosing algorithms for initiation of immunosuppressive drugs in solid organ transplant recipients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2015 Jun;11(6):921-36.
184. Nguyen TH, et al. Do graft type or donor source affect acute rejection rates after liver transplant: a multivariate analysis. *Clin Transplant*. 2008 Sep-Oct;22(5):624-9.
185. Nashan B, et al. Clinical validation studies of Neoral C(2) monitoring: a review. *Transplantation*. 2002 May 15;73(9 Suppl):S3-11.
186. Peters DH, et al. Tacrolimus: A review of its pharmacology, and therapeutic potential in hepatic and renal transplantation. *Drugs*. 1993;46(4):746-94.
187. Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med*. 2004 Dec 23;351(26):2715-29.
188. Vincenti F, et al. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation*. 2002 Mar 15;73(5):775-82.
189. Jordan ML, et al. FK506 "rescue" for resistant rejection of renal allografts under primary cyclosporine immunosuppression. *Transplantation*. 1994 Mar 27;57(6):860-5.
190. Tredger JM, et al. Calcineurin inhibitor sparing in paediatric solid organ transplantation: Managing the efficacy/toxicity conundrum. *Drugs*. 2008;68(10):1385-414.
191. Filler G. Calcineurin inhibitors in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Drugs*. 2007;9(3):165-74.

192. Kelly D. Safety and efficacy of tacrolimus in pediatric liver recipients. *Pediatr Transplant*. 2011;15(1):19-24.
193. Collin C, et al. Sublingual tacrolimus as an alternative to intravenous route in patients with thoracic transplant: a retrospective study. *Transplant Proc*. 2010 Dec;42(10):4331-7.
194. Undre NA, et al. Low systemic exposure to tacrolimus correlates with acute rejection. *Transplant Proc*. 1999 Feb-Mar;31(1-2):296-8.
195. Reams BD, et al. Sublingual tacrolimus for immunosuppression in lung transplantation: a potentially important therapeutic option in cystic fibrosis. *American journal of respiratory medicine : drugs, devices, and other interventions*. 2002;1(2):91-8.
196. Goorhuis JF, et al. Buccal vs. nasogastric tube administration of tacrolimus after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2006 Feb;10(1):74-7.
197. Shuker N, et al. Intra-patient variability in tacrolimus exposure: causes, consequences for clinical management. *Transplant Rev (Orlando)*. 2015 Apr;29(2):78-84.
198. Reding R, et al. Steroid-free liver transplantation in children. *Lancet*. 2003 Dec 20;362(9401):2068-70.
199. Clavien PA, et al. The Clavien-Dindo classification of surgical complications: five-year experience. *Annals of surgery*. 2009 Aug;250(2):187-96.
200. GraphPadPrism v 5.01 para Windows, GraphPad Software. San Diego California USA2016.
201. Naesens M, et al. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(2):481-508.
202. Baluarte HJ, et al. Analysis of hypertension in children post renal transplantation--a report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS). *Pediatr Nephrol*. 1994 Oct;8(5):570-3.
203. First MR, et al. Hypertension after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 1994 Feb;4(8 Suppl):S30-6.
204. McDiarmid SV, et al. FK506 (tacrolimus) compared with cyclosporine for primary immunosuppression after pediatric liver transplantation. Results from the U.S. Multicenter Trial. *Transplantation*. 1995 Feb 27;59(4):530-6.
205. Neu AM, et al. Evaluation of neurotoxicity in pediatric renal transplant recipients treated with tacrolimus (FK506). *Clin Transplant*. 1997 Oct;11(5 Pt 1):412-4.
206. Narkewicz MR, et al. Decreasing incidence of symptomatic Epstein-Barr virus disease and posttransplant lymphoproliferative disorder in pediatric liver transplant recipients: report of the studies of pediatric liver transplantation experience. *Liver Transpl*. 2013 Jul;19(7):730-40.
207. Shroff R, et al. The post-transplant lymphoproliferative disorder-a literature review. *Pediatr Nephrol*. 2004 Apr;19(4):369-77.
208. Collins MH, et al. Post-transplant lymphoproliferative disease in children. *Pediatr Transplant*. 2001 Aug;5(4):250-7.
209. Molmenti EP, et al. Post-transplant lymphoproliferative syndrome in the pediatric liver transplant population. *Am J Transplant*. 2001 Nov;1(4):356-9.
210. Fernandez MC, et al. Post-transplant lymphoproliferative disorder after pediatric liver transplantation: characteristics and outcome. *Pediatr Transplant*. 2009 May;13(3):307-10.
211. Randomised trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. European FK506 Multicentre Liver Study Group. *Lancet*. 1994 Aug 13;344(8920):423-8.

212. Prytula AA, et al. Intra-patient variability in tacrolimus trough concentrations and renal function decline in pediatric renal transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2012 Sep;16(6):613-8.
213. Lindquist M. VigiBase, the WHO global ICSR database system: basic facts. *Drug Information Journal*. 2008;42(5):409-19.
214. Bottiger Y, et al. Tacrolimus whole blood concentrations correlate closely to side-effects in renal transplant recipients. *Br J Clin Pharmacol*. 1999 Sep;48(3):445-8.
215. Winkler M, et al. Association of elevated FK 506 plasma levels with nephrotoxicity in liver-grafted patients. *Transplant Proc*. 1991 Dec;23(6):3153-5.
216. Esquivel CO, et al. Suggested guidelines for the use of tacrolimus in pediatric liver transplant patients. *Transplantation*. 1996 Mar 15;61(5):847-8.
217. Montini G, et al. The pharmacokinetics and immunosuppressive response of tacrolimus in paediatric renal transplant recipients. *Pediatr Nephrol*. 2006;21(5):719-24.
218. Doligalski CT, et al. Sublingual Administration of Tacrolimus: Current Trends and Available Evidence. *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy*. 2014;34(11):1209-19.
219. Narang N SJ. Sublingual mucosa as a route for systemic drug delivery. *Int J Pharm Pharm Sci*. 2011.
220. Shepherd RW, et al. Risk factors for rejection and infection in pediatric liver transplantation. *Am J Transplant*. 2008 Feb;8(2):396-403.
221. Webber SA, et al. Late rejection episodes more than 1 year after pediatric heart transplantation: risk factors and outcomes. *J Heart Lung Transplant*. 2003 Aug;22(8):869-75.
222. Benfield MR, et al. Changing trends in pediatric transplantation: 2001 Annual Report of the North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study. *Pediatr Transplant*. 2003 Aug;7(4):321-35.
223. D'Antiga L, et al. Late cellular rejection in paediatric liver transplantation: aetiology and outcome. *Transplantation*. 2002 Jan 15;73(1):80-4.
224. Mazariegos GV, et al. Clinical tolerance following liver transplantation: long term results and future prospects. *Transpl Immunol*. 2007 Feb;17(2):114-9.
225. Spada M, et al. Pediatric liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2009;15(6):648-74.
226. Murphy MS, et al. Risk factors for liver rejection: evidence to suggest enhanced allograft tolerance in infancy. *Archives of disease in childhood*. 1996 Dec;75(6):502-6.
227. Ganschow R, et al. Intensive care management after pediatric liver transplantation: a single-center experience. *Pediatric transplantation*. 2000 Nov;4(4):273-9.
228. Thangarajah D, et al. Management of acute rejection in paediatric liver transplantation. *Paediatric drugs*. 2013 Dec;15(6):459-71.
229. Stuber ML, et al. Evaluating non-adherence to immunosuppressant medications in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2008 May;12(3):284-8.
230. Shemesh E, et al. Improving adherence to medications in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2008 May;12(3):316-23.
231. Shemesh E, et al. Medication adherence in pediatric and adolescent liver transplant recipients. *Pediatrics*. 2004 Apr;113(4):825-32.
232. Venkat VL, et al. An objective measure to identify pediatric liver transplant recipients at risk for late allograft rejection related to non-adherence. *Pediatr Transplant*. 2008 Feb;12(1):67-72.

233. Fine RN, et al. Nonadherence consensus conference summary report. *Am J Transplant*. 2009 Jan;9(1):35-41.
234. Ganschow R, et al. First experience with basiliximab in pediatric liver graft recipients. *Pediatr Transplant*. 2001;5(5):353-8.
235. Bouamar R, et al. Tacrolimus predose concentrations do not predict the risk of acute rejection after renal transplantation: a pooled analysis from three randomized-controlled clinical trials(dagger). *Am J Transplant*. 2013 May;13(5):1253-61.
236. Demetris AJ, et al. 2016 Comprehensive Update of the Banff Working Group on Liver Allograft Pathology: Introduction of Antibody-Mediated Rejection. *Am J Transplant*. 2016 Jun 07.
237. Haas M, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant*. 2014 Feb;14(2):272-83.
238. Buendia JA, et al. Effects of combinational cyp3a5 6986a>g polymorphism in graft liver and native intestine on the pharmacokinetics of tacrolimus in liver transplant patients: A meta-analysis. *Ther Drug Monit*. 2014;36(4):442-7.
239. Cerda J, et al. Uso de curvas ROC en investigación clínica: Aspectos teórico-prácticos. *Revista chilena de infectología*. 2012;29:138-41.
240. Cox DR. Regression models and life-tables. *Breakthroughs in statistics*: Springer; 1992. p. 527-41.
241. Cox DR, et al. *Analysis of survival data*: CRC Press; 1984.
242. Spruance SL, et al. Hazard ratio in clinical trials. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004 Aug;48(8):2787-92.
243. Ng VL, et al. Outcomes of 5-year survivors of pediatric liver transplantation: report on 461 children from a north american multicenter registry. *Pediatrics*. 2008 Dec;122(6):e1128-35.
244. Bessa AB, et al. Prospective Randomized Trial Investigating the Influence of Pharmaceutical Care on the Intra-Individual Variability of Tacrolimus Concentrations Early After Kidney Transplant. *Ther Drug Monit*. 2016 Aug;38(4):447-55.
245. Ihara H, et al. Intra- and interindividual variation in the pharmacokinetics of tacrolimus (FK506) in kidney transplant recipients--importance of trough level as a practical indicator. *Int J Urol*. 1995 Jul;2(3):151-5.
246. Abdel Jalil MH, et al. Population pharmacokinetic and pharmacogenetic analysis of tacrolimus in paediatric liver transplant patients. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;77(1):130-40.
247. Pollock-Barziv SM, et al. Variability in tacrolimus blood levels increases the risk of late rejection and graft loss after solid organ transplantation in older children. *Pediatr Transplant*. 2010 Dec;14(8):968-75.
248. Israni AK, et al. Tacrolimus trough levels after month 3 as a predictor of acute rejection following kidney transplantation: A lesson learned from DeKAF Genomics. *Transplant Int*. 2013;26(10):982-9.
249. Asensio M, et al. Induction with basiliximab reduces acute rejection in pediatric liver transplant patients treated with tacrolimus and steroids. *Transplant Proc*. 2002 Aug;34(5):1970-1.
250. Pageaux GP, et al. Steroid withdrawal at day 14 after liver transplantation: a double-blind, placebo-controlled study. *Liver Transpl*. 2004 Dec;10(12):1454-60.
251. Boillot O, et al. Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus following induction with daclizumab: a large randomized clinical study. *Liver Transpl*. 2005 Jan;11(1):61-7.

252. Quteineh L, et al. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2008 Dec;103(6):546-52.
253. Hawwa AF, et al. Influence of ABCB1 polymorphisms and haplotypes on tacrolimus nephrotoxicity and dosage requirements in children with liver transplant. *Br J Clin Pharmacol*. 2009;68(3):413-21.
254. Larkins N, et al. Tacrolimus therapeutic drug monitoring and pediatric renal transplant graft outcomes. *Pediatric transplantation*. 2014 Dec;18(8):803-9.
255. Sy SKB, et al. A markov chain model to evaluate the effect of CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms on adverse events associated with tacrolimus in pediatric renal transplantation. *AAPS J*. 2013;15(4):1189-99.
256. Margreiter R. Efficacy and safety of tacrolimus compared with ciclosporin microemulsion in renal transplantation: a randomised multicentre study. *LANCET*. 2002 Mar;359(9308):741-6.
257. Riva N, et al. Pharmacovigilance of calcineurin inhibitor in pediatric kidney and liver transplantation. *Farmacia hospitalaria : organo oficial de expresion cientifica de la Sociedad Espanola de Farmacia Hospitalaria*. 2013 Nov-Dec;37(6):441-9.
258. González CPV, et al. Definición de medicamento genérico: ¿ un fin o un medio? Análisis de la regulación en 14 países de la Región de las Américas. 2006.
259. Tobar F. Economía de los medicamentos genéricos en América Latina. *Revista Panamericana de Salud Pública*. 2008;23(1):59-67.
260. Sudhindran S, et al. Cost and efficacy of immunosuppression using generic products following living donor liver transplantation in India. *Indian J Gastroenterol*. 2012;31(1):20-3.
261. Monchaud C, et al. Pharmacokinetic optimization of immunosuppressive therapy in thoracic transplantation: part I. *Clinical pharmacokinetics*. 2009;48(7):419-62.
262. Kim IW, et al. Identification of factors affecting tacrolimus level and 5-year clinical outcome in kidney transplant patients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol*. 2012;111(4):217-23.
263. Taketomo CK, et al. *Manual de prescripción pediátrica y neonatal*: Intersistemas; 2012.
264. Levy G, et al. Consensus on Neoral CERiTG. Patient management by Neoral C(2) monitoring: an international consensus statement. *Transplantation*. 2002 May 15;73(9 Suppl):S12-8.
265. Melander C, et al. Rituximab in severe lupus nephritis: early B-cell depletion affects long-term renal outcome. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009 Mar;4(3):579-87.
266. UMC. Uppsala Monitoring Centre Who Programme for International Drug Monitoring 2016 [citado 2016 September]. Disponible en: <http://www.who-umc.org/DynPage.aspx?id=98080&mn1=7347&mn2=7252&mn3=7322&mn4=7324>.
267. Dunn J, et al. Causes of graft loss beyond two years in the cyclosporine era. *Transplantation*. 1990 Feb;49(2):349-53.
268. Connor A, et al. Generic tacrolimus in renal transplantation: trough blood concentration as a surrogate for drug exposure. *Transplantation*. 2012 Jun 27;93(12):e45-6.

APÉNDICE
