



UNIVERSIDAD DE CHILE

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS

Depto. de Ciencias y Tecnología Farmacéutica

HOSPITAL LUIS CALVO MACKENNA

Laboratorio Bioquímica-Central

**ESTUDIO SOBRE LA NECESIDAD DE MONITOREO
TERAPÉUTICO DE DROGAS (TDM) EN PACIENTES
PEDIÁTRICOS TRASPLANTADOS.**

PROF.PATROCINANTE:

QF. Hernán Chávez
Depto. Ciencias y
Tecnología Farmacéutica
Facultad de Ciencias
Químicas y Farmacéuticas

DIRECTOR DE TESIS:

QF. Susana Valdebenito
Laboratorio Bioquímica Central
Hospital Luis Calvo Mackenna

QF. Carolina Salas P.
Laboratorio Bioquímica Central
Hospital Luis Calvo Mackenna

MEMORIA PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL

DE QUÍMICO FARMACÉUTICO

DANIEL ALFONSO NAVEA MONTOYA

Santiago, Diciembre 2008

ÍNDICE

RESUMEN.....	3
SUMMARY.....	4
INTRODUCCIÓN.....	5
OBJETIVO GENERAL	10
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	11
METODOLOGÍA	12
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	16
CONCLUSIÓN.....	31
ANEXOS.....	33
GLOSARIO.....	40
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41

RESUMEN

El tratamiento inmunosupresor está basado en la participación del linfocito T, quien es el que desarrolla el papel de inicio y coordinación de la respuesta inmunitaria responsable del rechazo. El efecto principal de la Ciclosporina es la supresión de la producción de linfoquinas por parte de las células Th¹. Si tomamos en cuenta lo anteriormente expuesto además de la repercusión (pérdida del órgano) debido a niveles plasmáticos subterapéuticos se hace imprescindible la monitorización de las concentraciones plasmáticas para ajustar la posología.

El Monitoreo Terapéutico de Drogas (TDM) realizado por los laboratorios clínicos ha sido fundamental en la individualización de terapia del paciente, maximizando la respuesta terapéutica y minimizando las reacciones adversas. El objeto de este estudio es demostrar la necesidad de realizar TDM de Ciclosporina en los pacientes pediátricos ya que es el inmunosupresor de elección en trasplantes hepáticos y de médula ósea.

En la unidad de Trasplante de médula ósea utilizan niveles basales C₀ mientras que en Trasplante hepático niveles peak C₂. Luego de analizar un período de 6 meses en trasplantados hepáticos y de médula ósea, se encontró un 60,2% y 19,6% de niveles terapéuticos, respectivamente, lo que demuestra la realidad del manejo de la Ciclosporina. Se revisó el llenado de la solicitud de niveles plasmáticos permitiendo hacer ciertos ajustes a ésta, además de sugerencias al proceso de medición para acercarse a lo que exigen parámetros internacionales para realizar TDM.

SUMMARY

Study about the necessity of Therapeutic Drug Monitoring (TDM) in transplanted pediatric patients.

The immunosuppressive treatment is based on T cells which develop the role of initiation and coordination of the immune response, responsible for the rejection. The main effect of Cyclosporine is the suppression of the production of linfoquines by T cells. If we take in to account what has been exposed above, besides the impact (loss of tissue) because of sub therapeutic plasmatic levels, it is essential the monitoring of plasmatic concentrations to adjust the dosage.

Therapeutic Drug Monitoring (TDM) performed by clinical laboratories has been fundamental in the individualization of the patient's therapy, maximizing the therapeutic response and minimizing adverse reactions. The purpose of this study is to demonstrate the need for TDM of Cyclosporine in pediatrics patients because it is the choice immunosuppressant in liver and bone marrow transplantation.

In the Bone Marrow Transplantation Unit basal levels C0 are used, while in Hepatic Transplantation Unit they use peak levels C2. After analyzing a period of 6 months in hepatic and bone marrow transplanted patients, therapeutic levels of 60,2% and 19,6% respectively were found, which demonstrate the reality of Cyclosporin . The filling of the request of plasmatic levels was checked allowing certain adjustments, besides suggestions for the measurement process in order to get closer to the requirements of international standards for conducting TDM.

INTRODUCCIÓN

El procedimiento de trasplante consiste en sustituir un órgano irremediablemente enfermo que compromete la vida del individuo (receptor), por un órgano de una persona sana (donante). El receptor debe reunir una serie de características de compatibilidad con el órgano donante a fin de evitar el rechazo del mismo.

La donación de órganos sólidos en Chile venía en tasa creciente hasta que alcanzó el peak en el año 2000 en que se obtuvo una tasa de 9,9 donantes cadáver efectivos por millón de habitantes, los años posteriores se han mantenido tasas menores alrededor de entre 8-9, sólo la excepción la marcó el año 2006 donde hubo una tasa de 10 donantes cadáver efectivos por millón de habitantes. Además se observa una diferencia notable en la tasa de donantes de la Región Metropolitana (12,6) y la de Regiones (5,1) en el año 2007², lo que demuestra falta de recursos económicos para apoyar el procuramiento de órganos, limitaciones en la infraestructura de los hospitales públicos, insuficiencia de recursos humanos, déficit de difusión y educación; hacen que la tasa de injertos esté estancada en nuestro país³.

La introducción de la Ciclosporina como agente inmunosupresor mejoró los resultados de todos los tipos de trasplantes de órganos. No es de sorprender que sea dificultoso mantener los niveles sanguíneos de Ciclosporina, puesto que es una droga altamente lipofílica, su metabolismo es hepático y su absorción es dependiente de la bilis. La nefrotoxicidad es uno de los principales efectos adversos de la terapia con

Ciclosporina, ésta puede producir complicaciones agudas o a largo plazo, induciendo falla renal en aproximadamente el 20% de los pacientes trasplantados⁴. Desde este punto en adelante cuando se refiera al término Ciclosporina en realidad se estará aludiendo a Neoral® puesto que es la marca comercial utilizada en el Hospital Luis Calvo Mackenna. La incapacidad de definir una dosis óptima (máxima eficacia/mínima toxicidad) ha sido un problema relacionado al monitoreo de Ciclosporina. La formulación original de Ciclosporina presentaba una gran variabilidad intra e inter paciente y una baja biodisponibilidad, con la introducción de una formulación en microemulsión (Neoral®) se ha logrado reducir en parte este problema. Debido a la gran variabilidad señalada anteriormente, una misma dosis puede alcanzar niveles muy diferentes; por otra parte está el hecho que una baja concentración trae asociado el riesgo de rechazo del órgano y una dosis alta se asocia a toxicidad; esto justifica la necesidad de Individualizar Dosis ajustándolas de acuerdo a las características del paciente.

La medición de los niveles plasmáticos es una práctica que ha llevado a bastante estudio, aún existe discusión sobre qué nivel sería el más útil. El estudio pionero de Levy y col. demostró que la mejor correlación con el Área Bajo la Curva (AUC) se lograba con la C_2 (Anexo N°1). Algunos estudios han demostrado que el nivel C_2 se correlaciona mejor con una mayor inhibición de los linfocitos T productores de IL-2 y una mayor inhibición de la Calcineurina, lo que explica su efecto inmunosupresor^{5,6} (Anexo N°2). Otro de los estudios a favor del uso de C_2 es relacionado a una ventaja analítica de C_2 puesto que hay una menor relación metabolitos / Ciclosporina que en C_0 y no habrían tantas diferencias entre los distintos métodos analíticos⁷. Es muy importante destacar que los estudios mencionados anteriormente han sido realizados

en trasplantes de órganos sólidos, principalmente en riñón e hígado por lo que no se pueden aplicar directamente a la infusión de precursores hematopoyéticos, en este tipo de órganos sólo se ha estudiado la aplicación de metodología basada en el monitoreo en C_0 ⁸ o en C_6 , más específicamente en la Unidad de Trasplante de Médula Ósea se utilizan los valores de C_0 basándose en el Protocolo de Inmunosupresión del Hospital Pediátrico St. Jude de Estados Unidos.

El primer trasplante hepático en el mundo se realizó en 1963 en Denver, Estados Unidos; no obstante hasta la década de los 70 los resultados aún eran malos, sin embargo, a partir del inicio del uso de la Ciclosporina estos resultados mejoraron de manera evidente⁹ y permitió que el trasplante hepático llegue a ser el tratamiento de elección para muchos pacientes con enfermedades hepáticas terminales^{10 11}. La inmunosupresión clásica en este tipo de trasplante es un esquema triasociado de Ciclosporina-Azatioprina-Esteroides, que también es la inmunosupresión de elección utilizada en la Unidad de Transplante Hepático del Hospital Luis Calvo Mackenna.

Por otro lado, el aumento progresivo del trasplante de médula ósea como tratamiento de enfermedades hematológicas, oncológicas y hereditarias es la culminación de más de cuatro décadas de investigación. Los intentos iniciales en los años 50 de transplantar células vivas de un individuo a otro fueron mirados con gran escepticismo, considerándose que la barrera inmunológica frente a tejidos ajenos no podría ser sobrepasada¹². De acuerdo a la procedencia de las células hematopoyéticas (trasplante) se pueden definir tres tipos de trasplantes: Autólogo (donante y receptor es la misma persona), Alogénico (donante y receptor son diferentes personas, sólo con

semejanzas de histocompatibilidad) y Singénico (donante y receptor son individuos genéticamente idénticos).

En el trasplante de médula ósea se produce una reacción de rechazo bidireccional, por una parte la promovida por el receptor hacia su injerto y por otro lado, la de rechazo inversa, promovida por el injerto hacia su receptor ésta última es conocida como Enfermedad Injerto Contra Huésped (EICH).

Aunque el TMO no es un trasplante de órganos propiamente tal, ya que consiste en la infusión de precursores hematopoyéticos (IPH), de todas formas es necesario aplicar una terapia inmunosupresora a modo de evitar el rechazo.

En el año 2002 se reunieron en Australia un panel de expertos para establecer las guías para el monitoreo de Ciclosporina preocupados por la gran variabilidad de métodos y técnicas utilizadas en el mundo, trataron de establecer ciertos criterios que uniformaran el monitoreo terapéutico de Ciclosporina¹³.

El Monitoreo Terapéutico de Drogas (TDM) fue definido en el año 1997 por la Asociación Internacional de Monitoreo Terapéutico de Drogas y Toxicología Clínica (IATDM-CT) como: *“Determinación de un parámetro realizada en un laboratorio, el cual con una interpretación adecuada, influirá directamente en los procesos de prescripción”*. Comúnmente la medición del xenobiótico (o compuesto endógeno usado como terapia de reemplazo) es determinada en una matriz biológica¹⁴.

Bajo los términos anteriormente señalados, cabe señalar que en Chile no se realiza Monitoreo Terapéutico de ninguna droga, esta práctica lleva más de 20 años en el resto del mundo, incluyendo países pioneros como Estados Unidos, España y

Turquía por mencionar algunos. La realidad chilena es que sólo se hacen las determinaciones de niveles plasmáticos y no se hace una interpretación posterior considerando los factores tales como: terapia concomitante para ver las posibles interacciones, esquema terapéutico de la droga, características del paciente. Basado en lo que se ha mencionado anteriormente, en esta tesis se plantea la necesidad de realizar TDM de Ciclosporina en pacientes pediátricos trasplantados hepáticos y de médula ósea.

4. OBJETIVO GENERAL

Demostrar la necesidad de hacer Monitoreo Terapéutico de Drogas en el Hospital Luis Calvo Mackenna. El estudio está planteado basándose solamente en un inmunosupresor que es la Ciclosporina, específicamente la presentación farmacéutica de microemulsión (Neoral®).

5. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 5.1. Establecer la realidad del uso de Ciclosporina en pacientes pediátricos trasplantados de médula e hígado, además de la información disponible de países más desarrollados en este sentido, se planteará la necesidad de implementar el TDM de esta droga en Chile.

- 5.2. Conocer el manejo de la CsA en estos pacientes en cuanto a niveles obtenidos, cambios de dosis, suspensión del tratamiento, combinación de terapias.

- 5.3. Analizar eficacia del tratamiento inmunosupresor de Ciclosporina, analizando si los niveles plasmáticos obtenidos están dentro de los rangos establecidos como terapéuticos según los protocolos del Hospital.

- 5.4. Conocer que parámetros son necesarios en la orden de solicitud de niveles plasmáticos y qué parámetros que no están son necesarios de incorporar.

6. METODOLOGÍA

Procesamiento Niveles Plasmáticos de Ciclosporina

La determinación de niveles plasmáticos de Ciclosporina es realizada en la Sección Fármacos del Laboratorio Central Bioquímica del Hospital Luis Calvo Mackenna. La técnica utilizada para el análisis es inmunoensayo por inmunofluorescencia polarizada (FPIA) en el autoanalizador *TDx analyzer (Abbott Diagnostics)*. Esta técnica está basada en una metodología de inmunoensayo competitivo. Esta técnica se fundamenta en la competencia entre el antígeno marcado con Fluoresceína (fármaco trazador) y el antígeno del paciente (fármaco a determinar) para ocupar los sitios de unión a las moléculas de anticuerpo (reactivo). Cuando se produce el enlace entre las moléculas la relación antígeno/trazador determina la cantidad de complejo anticuerpo-trazador formado, responsable de la polarización resultante. A medida que la muestra del paciente contenga mayor cantidad de antígeno (fármaco), éste desplazará al trazador de su unión con el anticuerpo y se obtendrá una menor concentración del complejo anticuerpo-trazador que ocasionará una menor polarización. Por el contrario, cuando existe una baja concentración del antígeno en la muestra la concentración del complejo anticuerpo-trazador será mayor y su polarización será más elevada¹⁵. Los valores de polarización obtenidos se transforman en concentraciones de Ciclosporina mediante una curva de calibración propia de la técnica analítica.

Procesamiento de la Muestra

1. Agregar sangre total en tubo tapa lila (anticoagulante EDTA)
2. Agitar la muestra al menos 2 minutos, junto con una muestra control
3. Con las muestras en movimiento tomar una alícuota de 150 uL y llevarlo a un tubo eppendorf
4. Agregar 50 uL de reactivo solubilizante Ciclosporina y 300 uL de reactivo precipitante Ciclosporina
5. Homogeneizar las muestra en vortex (mínimo 10 segundos)
6. Centrifugar las muestras a 10.900 rpm por 7 minutos
7. Traspasar el sobrenadante obtenido a cada cubeta de reacción y ordenarlas en el carrusel forma correlativa
8. Ubicar el carrusel al interior del equipo junto al reactivo de Ciclosporina

Período del Estudio

En este estudio retrospectivo se consideró un período de tiempo entre Enero y Junio del año 2007

Criterios de Inclusión

Todas las solicitudes de niveles plasmáticos de Ciclosporina provenientes de pacientes pediátricos trasplantados de hígado y médula, de los servicios de Gastroenterología y Trasplante de médula ósea respectivamente.

Criterios de Exclusión

- Todas las solicitudes de niveles plasmáticos de Ciclosporina provenientes de otros servicios clínicos del Hospital Luis Calvo Mackenna.
- Todas las solicitudes de niveles plasmáticos de Ciclosporina provenientes de otros hospitales y Clínicas
- Las solicitudes de niveles plasmáticos provenientes de trasplantados de riñón fueron excluidas ya que el nuevo protocolo sólo la considera en casos excepcionales, por lo que los pacientes que aún están con Ciclosporina en su mayoría son aquellos que llevan algunos años con inmunosupresión.

Recolección y Análisis de datos

1. Se recolectaron todos los datos contenidos en la orden de solicitud de niveles plasmáticos de Ciclosporina (Anexo N°3)
2. Clasificación de los datos según parámetros incluidos en la orden de solicitud: Vía de administración, Nivel solicitado (Basal o Peak), Motivo de la solicitud, Información del Fármaco (Fecha y Hora de última dosis y toma de muestra).
3. Se analizaron los valores de Ciclosporina obtenidos, según el protocolo interno de ambos trasplantes, médula e hígado, se estableció una concentración terapéutica para ambos tipos de trasplantes, debido a que en médula ósea utilizan por lo general una concentración C_0 (Basal) y en hígado utilizan C_2 (Peak). Las concentraciones terapéuticas se muestran en la Tabla N°1.

4. Seguimiento de los casos con niveles plasmáticos que no estaban dentro del rango terapéutico y se analizó en qué cantidad de ellos se realizaba un ajuste de dosis posterior.
5. Con el objeto de conocer las interferencias con otros fármacos y las diferencias de niveles alcanzados con una misma dosis en un mismo paciente, se realizó un análisis retrospectivo de aquellos pacientes con TMO seleccionados según criterio inicial y de los cuales fue posible obtener datos tanto clínicos, farmacológicos almacenados a partir del día de trasplante (fechas, dosis administradas, niveles obtenidos y la vía de administración utilizada)
6. Revisión de consensos internacionales acerca del TDM de Ciclosporina, entre éstos se encuentran el Consenso de Australasia y el Consenso Europeo, con el fin de contar con el criterio de expertos acerca del tema y analizar la realidad del Hospital Luis Calvo Mackenna.

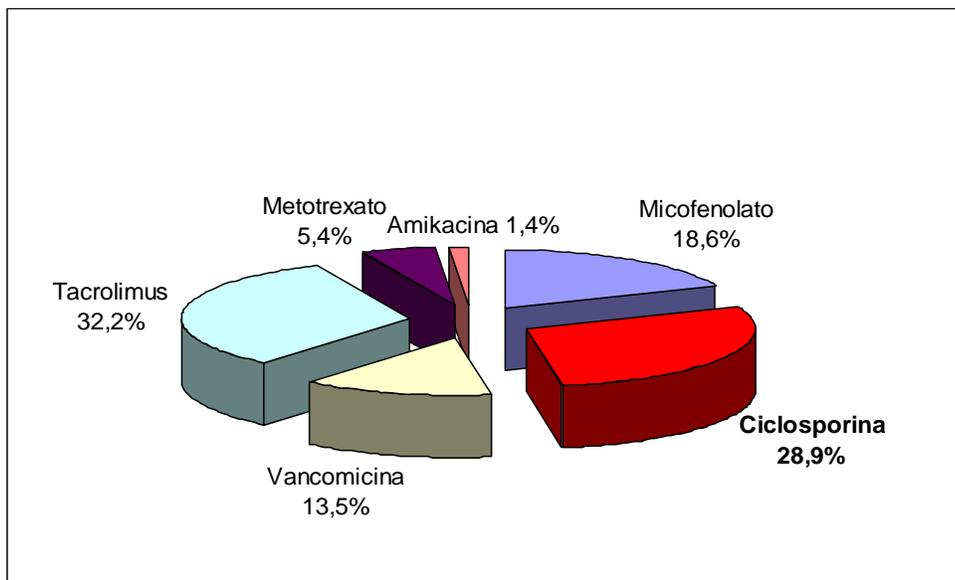
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En este trabajo se evaluó un período de estudio de 6 meses, entre Enero y Junio de 2007. Los pacientes que se incluyeron fueron los pertenecientes a los Servicios de Gastroenterología y Trasplante de Médula Ósea del Hospital Luis Calvo Mackenna que se encontraban recibiendo Ciclosporina (Neoral®) como parte de su terapia inmunosupresora. No se pretende con este estudio comparar los resultados obtenidos en ambos tipos de trasplante puesto que a diferencia del trasplante hepático (órgano sólido), en médula ósea se presenta una situación compleja ya que para la infusión de precursores hematopoyéticos entran en juego factores genéticos muy difíciles de controlar, presencia de patología oncológica o no oncológica (inmunodeficiencias) lo que lleva al uso de quimioterapia y/o radioterapia previo a la infusión. Por otra parte, se presenta el hecho de que en trasplante de hígado la inmunosupresión es de por vida y en médula ósea ésta es por un tiempo mucho menor incluso algunos meses.

Del total de determinaciones de niveles plasmáticos de fármacos que se realizaron en el Laboratorio Central durante este período, un 28,9% corresponden a Ciclosporina, sólo superado por un 32,2% de Tacrolimus (Gráfico N°1), provenientes en su mayoría de Trasplante Renal. Aunque este último ha aumentado su uso gracias a un buen poder terapéutico¹⁶, no ha superado a Ciclosporina en inmunosupresión de inicio¹⁷. En el Trasplante de Médula Ósea el inmunosupresor de elección en el Hospital Luis Calvo Mackenna es la Ciclosporina acompañada de Corticosteroides (Metilprednisolona)¹⁸ y sólo en casos seleccionados, cuando la Ciclosporina comienza a ser ineficaz se puede utilizar Mofetil Micofenolato o Sirolimus, pero su uso es limitado puesto que no se

encuentran disponibles en forma intravenosa y su administración vía oral es limitada porque la Enfermedad Injerto Contra Huésped (EICH) afecta gravemente el tracto gastrointestinal. Por otra parte, un estudio hecho en trasplante hepático¹⁹ señala que los resultados en cuanto a la prevención del rechazo son comparables, 26% y 24% para Ciclosporina y Tacrolimus respectivamente, y al comparar la incidencia de efectos adversos se obtuvo para diabetes (7% v/s 14%) y para diarrea (14% v/s 29%) en los grupos con Ciclosporina y Tacrolimus respectivamente, concluyendo que el monitoreo utilizando C_2 es equivalente a la inmunosupresión con Tacrolimus, y superior en términos de algunos efectos adversos, en trasplantes hepáticos.

Gráfico N°1: Distribución de los niveles plasmáticos medidos durante el período de estudio según tipo de fármaco (Tomando en cuenta el pool de determinación de niveles plasmáticos de fármacos realizadas por el Laboratorio Central-Bioquímica)



De un total de 1337 determinaciones, se realizaron 385 determinaciones de niveles de Ciclosporina (n = 1337).

Según la **Tabla N°1** se pueden ver concentraciones blanco de Ciclosporina para trasplante de hígado y médula. Se observa que existe una diferencia notable al comparar los niveles plasmáticos en ambos servicios, lo cual se explica por el hecho de que en la Unidad de Trasplante Hepático del Hospital Luis Calvo Mackenna utilizan principalmente concentraciones peak de Ciclosporina, o sea, **C₂** (la muestra se toma a las 2 horas luego de la administración oral), y en la Unidad de Trasplante de Médula Ósea utilizan valores basales **C₀** (la muestra se toma justo antes de la administración de la dosis siguiente) (Anexo N°4).

Tabla N°1: Concentraciones blanco obtenidas de protocolos de Trasplante de médula ósea e hígado del Hospital Luis Calvo Mackenna.

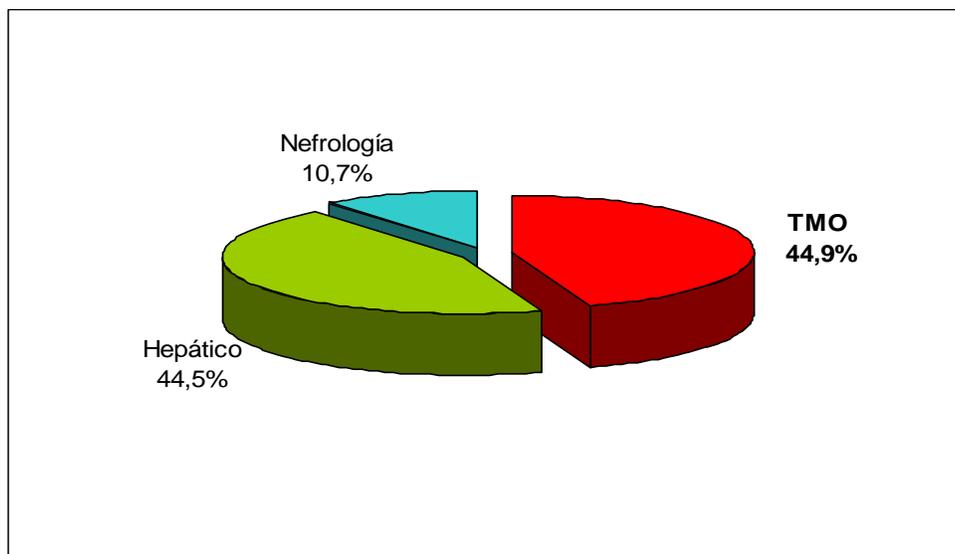
	Tiempo Post- Trasplante	Nivel
Médula	Día 0 – Día +21 (*)	C₀ : 250 - 300 ng/mL
	Día +21 en adelante	C₀ : 150 - 300 ng/mL
	Desde día +60 se evalúa Retirar la Ciclosporina.	
Hígado	0 - 3 meses	C₂ : 1000 - 1100 ng/ mL
	3 - 6 meses	C₂ : 800 - 1000 ng/mL
	6 meses en adelante (**)	C₂ : 600 - 800 ng/mL

(*) Día 0 corresponde al día del trasplante.

(**) El tratamiento inmunosupresor en este tipo de trasplante se continúa por varios años e incluso durante toda la vida.

El 90% del uso de la Ciclosporina en el Hospital Luis Calvo Mackenna proviene de los trasplantes de médula e hígado (Gráfico N°2), ya que es usada como inmunosupresor de elección en este tipo de trasplantes, no obstante, durante el período de estudio también hubo pacientes trasplantados de riñón que se encontraban usando Ciclosporina²⁰.

Gráfico N°2: Clasificación según procedencia de las solicitudes de determinación de niveles plasmáticos de Ciclosporina, según los servicios (Trasplante Médula Ósea, Nefrología y Gastroenterología) (n = 385)



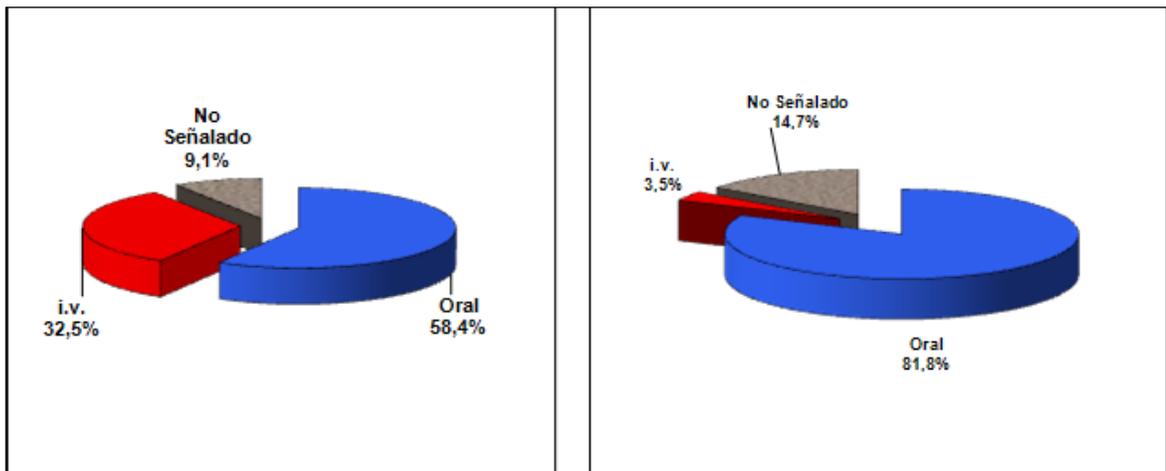
Para los otros casos, en ambos tipos de trasplantes, médula e hígado, la principal vía de administración de mantención es la oral con un 58,4% y 81,8% respectivamente (Gráfico N°3), esta vía de administración ha resultado muy importante para la terapia de los niños trasplantados por presentar mayor comodidad para el paciente (administración de los inmunosupresores en su hogar), pero no habría sido posible el uso masivo de ésta si no se hubiesen desarrollado formas farmacéuticas en

microemulsión lipídica , la que ha logrado mejorar la absorción²¹ y reducir la variabilidad^{22, 23}(Anexo N° 5).

Gráfico N°3: Clasificación según la vía de administración de la Ciclosporina.

a) Trasplante Médula Ósea (n = 150)

b) Trasplante Hepático (n = 143)

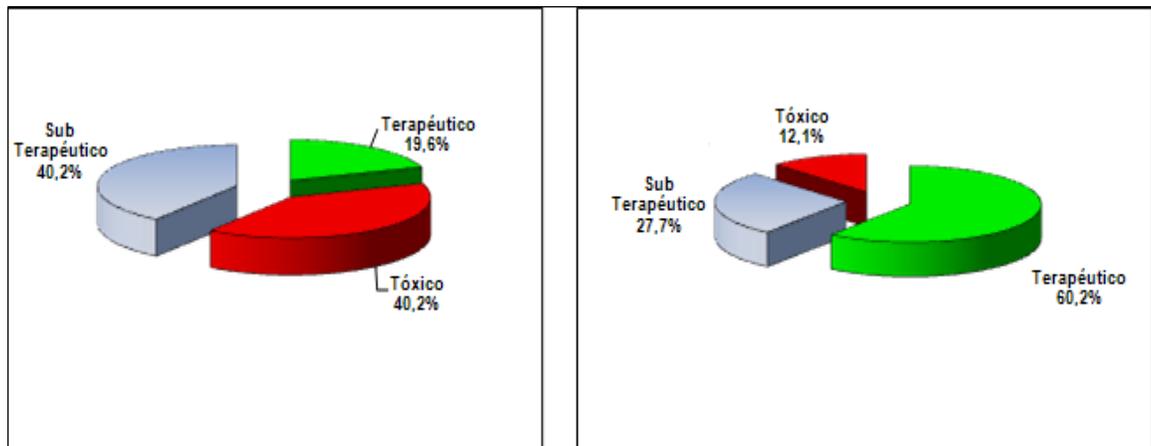


Según los protocolos de trasplantes vigentes en el Hospital Luis Calvo Mackenna, se establecieron las concentraciones terapéuticas (Tabla N°1) y se encontró que en TMO un 19,6% de los casos estaba dentro del rango terapéutico, un 40,2% subterapéutico y un 40,2% sobre el nivel terapéutico. Mientras que en Trasplante Hepático el 60,2% de los casos estuvieron dentro del rango terapéutico, el 27,7% subterapéutico y 12,1% sobre el nivel terapéutico (Gráfico N°4).

Gráfico N°4: Representación de niveles terapéuticos luego de administración oral en trasplante hepático y de médula ósea.

a) Trasplante Médula Ósea (n = 83)

b) Trasplante Hepático (n = 117)



Es necesario recalcar que el concepto de concentración terapéutica para este estudio sólo se basó en los protocolos de trasplante (material de referencia para el manejo del trasplante en cada unidad), no obstante, en la práctica estos valores pueden variar según el tipo de paciente, administración concomitante de otros fármacos que pudieran tener algún tipo de interacción con la Ciclosporina, además de características clínicas del paciente. Posteriormente se seleccionaron los casos que no eran niveles terapéuticos, o sea, bajo y sobre este rango, y se estudió qué sucedía con su dosis en el control siguiente; se encontró que el 60% de los casos en Médula y 42,6% en Hepático, ajustaron la dosis anterior que producía niveles fuera del rango terapéutico, el resto de los casos mantenía la misma dosis anterior (Gráfico N°5). Lo anterior a pesar que el principal motivo para solicitar una determinación del nivel de Ciclosporina es el Ajuste de Dosis, 82,5% en TMO y 85,3% en Trasplante Hepático (Gráfico N°6).

Gráfico N°5: Clasificación según Ajuste o No Ajuste de Dosis posterior, en los casos en que los niveles están fuera del rango terapéutico.

a) Trasplante Médula Ósea (n = 45) b) Trasplante Hepático (n = 46)

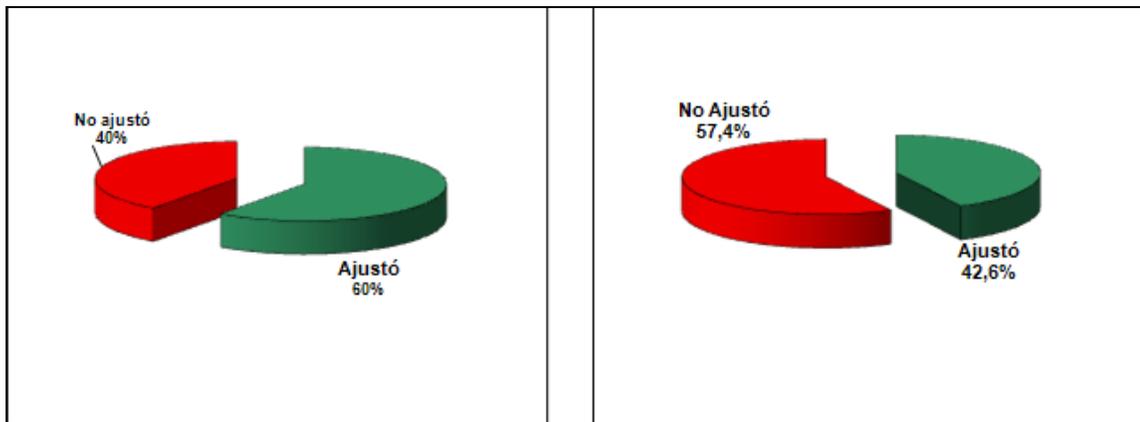
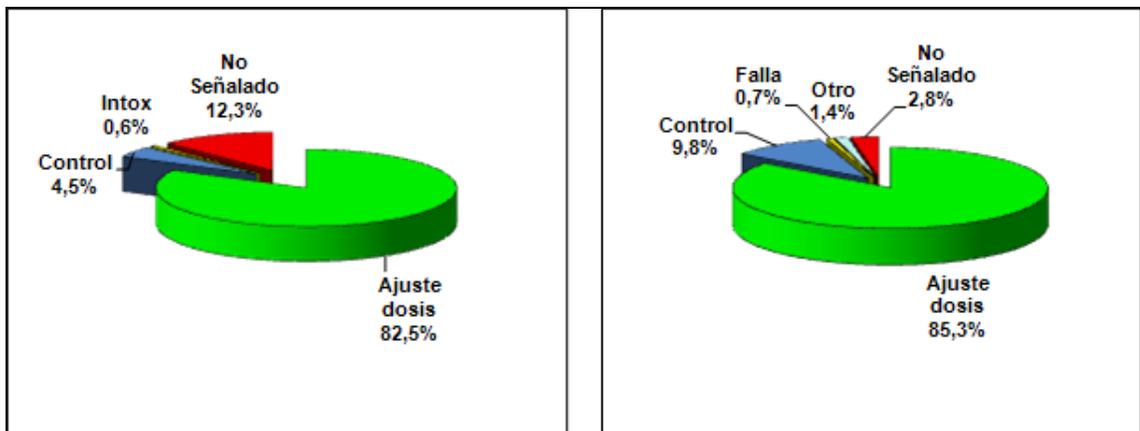


Gráfico N°6: Clasificación según motivo de la solicitud

a) Trasplante Médula Ósea (n = 150) b) Trasplante Hepático (n = 143)



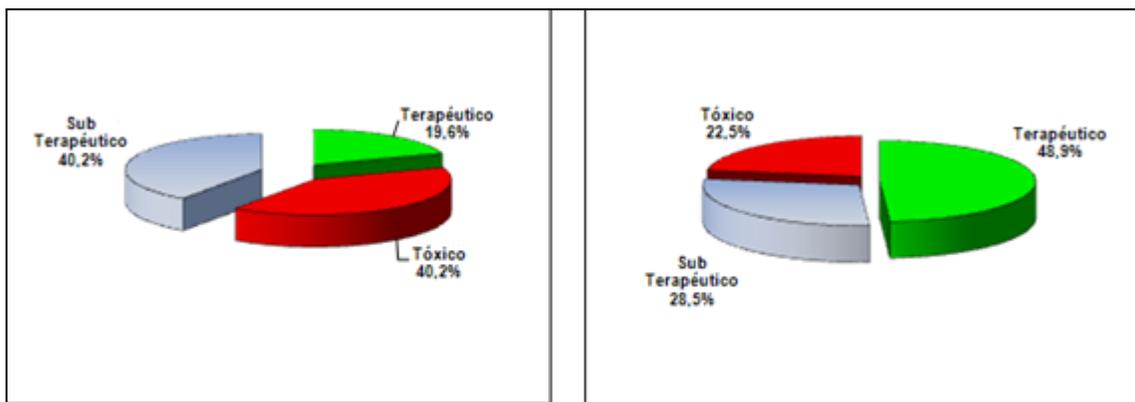
Un punto adicional a mencionar es que según el Gráfico N°7, se ve que se logró un porcentaje mayor de niveles terapéuticos en trasplantados de médula ósea, cuando la administración es intravenosa comparado con la vía oral, lo que concuerda con el hecho de que en una administración intravenosa hay un 100% de biodisponibilidad

comparado a la biodisponibilidad variable de las formas farmacéuticas orales de Ciclosporina.

Gráfico N°7: Representación de niveles terapéuticos en trasplante de médula ósea para administración oral e intravenosa.

a) Administración Oral (n = 83)

b) Administración Intravenosa (n = 49)

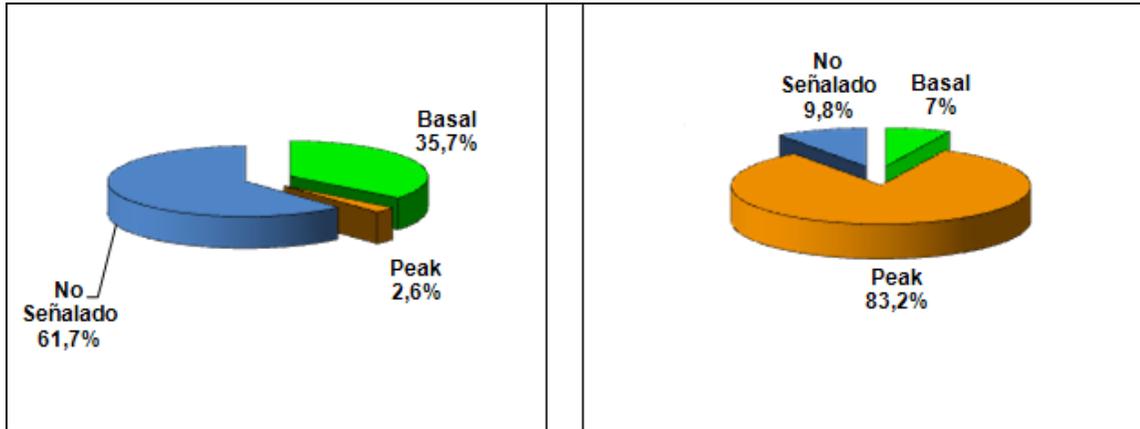


Al revisar las órdenes de Solicitud de Niveles Plasmáticos (Anexo N°3) de Ciclosporina se pudo ver que en Trasplante de Médula Ósea el principal nivel solicitado es el Basal C_0 con un 35,7% en cambio en Trasplante Hepático se requirió un 83,2% de niveles Peak C_2 (Gráfico N°8), sin embargo, estos porcentajes no reflejan toda la realidad ya que en aquellas provenientes de Trasplante de Médula Ósea se encontró que en un 61,7% de los casos no se señaló en la orden el nivel solicitado, lo que a la hora hacer un TDM podría ser un factor que lleve a errores de interpretación.

Gráfico N°8: Clasificación según Nivel Solicitado.

a) Trasplante Médula Ósea (n = 150)

b) Trasplante Hepático (n = 143)

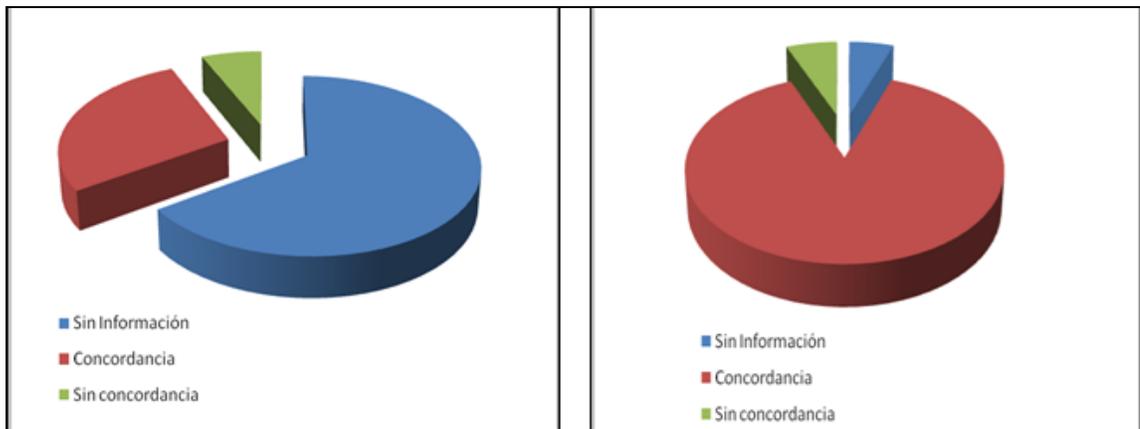


Otro dato recolectado de la Solicitud de Niveles Plasmáticos, es la referida al Horario de Administración de la Última Dosis y el Horario de la Toma de Muestra, se analizó si había concordancia entre ambos parámetros y se encontró que en el 6,2% en Trasplante Hepático y 6,5% en Trasplante de Médula no había concordancia, además en los casos de Trasplante de Médula hubo un 65,4% de los casos en que no existía información disponible para determinar si había concordancia o no (Gráfico N°9).

Gráfico N°9: Concordancia entre nivel solicitado con el horario de la última dosis y la toma de muestra.

a) Trasplante Médula Ósea (n = 150)

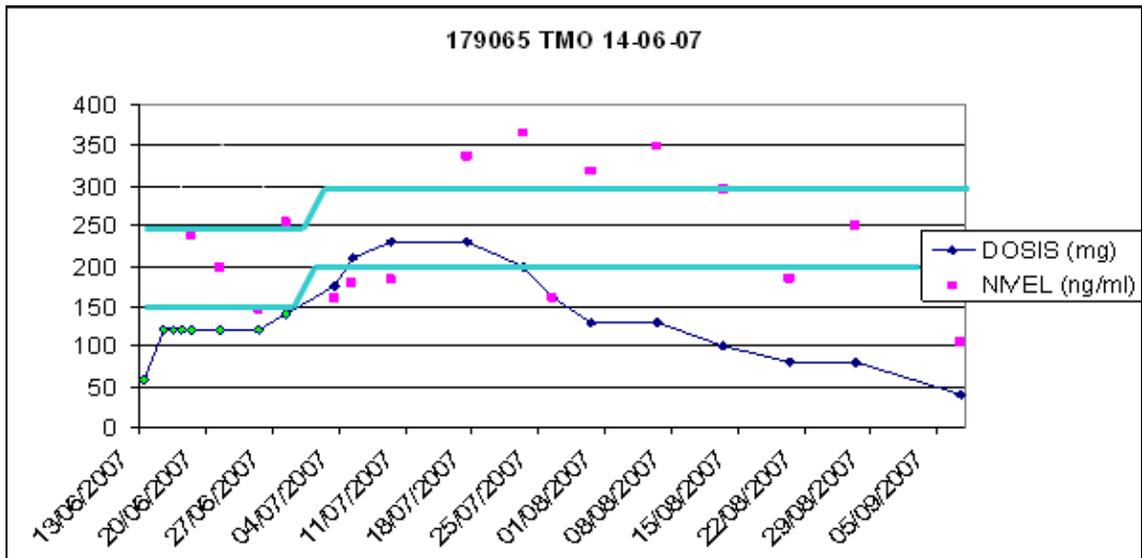
b) Trasplante Hepático (n = 143)



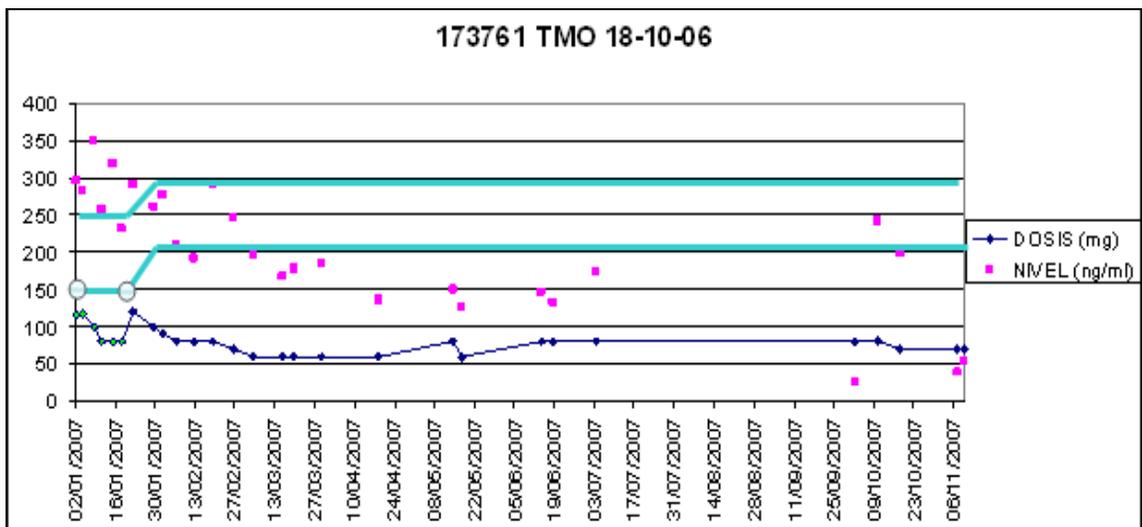
En el seguimiento que se hizo a algunos pacientes (Gráficos N°10), se pueden ver las oscilaciones en los niveles, incluso para una misma dosis y paciente. Además se señalan algunas interacciones con otros fármacos como Cotrimoxazol (gráfico 10-c) y Fenitoína (Gráfico 10-d) los que disminuyen los niveles de Ciclosporina, es necesario destacar que en el protocolo de Trasplante de Médula Ósea están incluidos algunos fármacos para la profilaxis de ciertas enfermedades (micosis) que tienen una fuerte interacción con Ciclosporina, además de los Corticoides.

Gráfico N°10: Seguimiento de pacientes trasplantados de médula ósea, a partir del día del trasplante. Línea celeste indica el nivel plasmático esperado, los puntos rosados muestran los niveles plasmáticos obtenidos en ng/mL , los puntos azules corresponden a la dosis cada 12 horas expresada en mg.

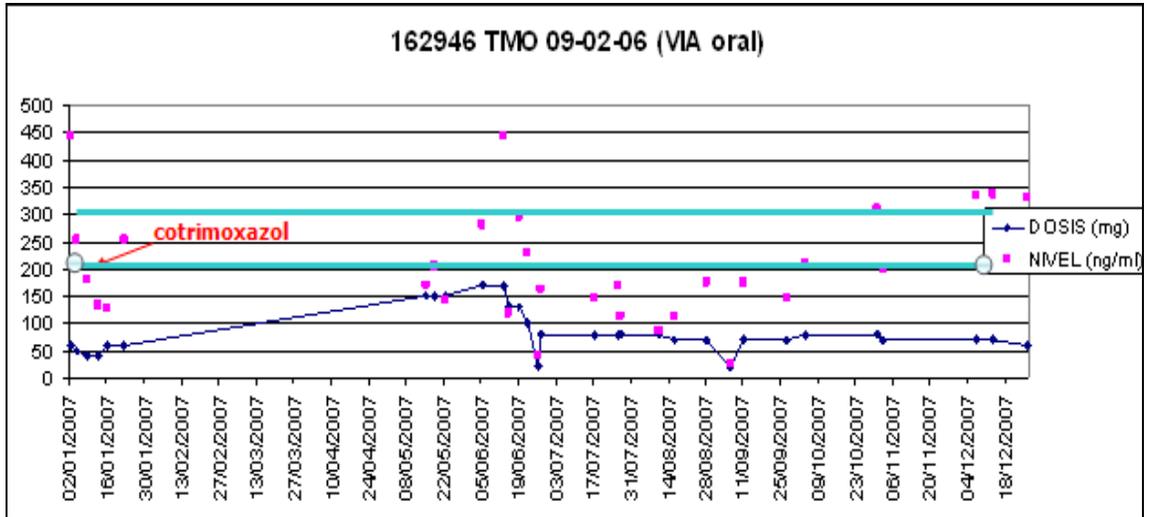
10 a)



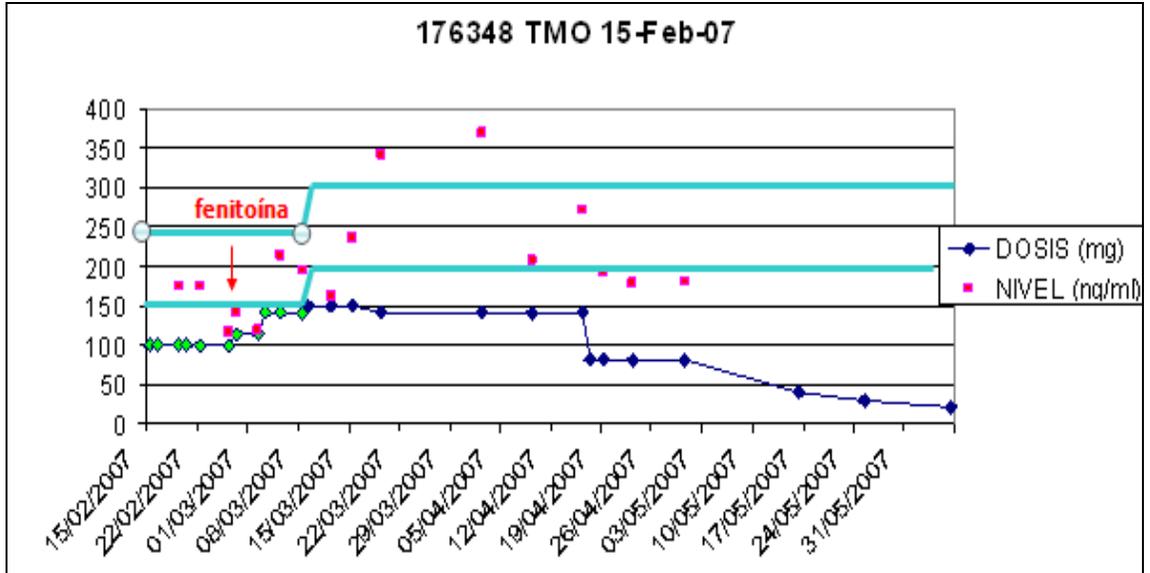
10 b)



10 c)



10 d)



Puede observarse en los cuatro gráficos anteriores la gran variabilidad de niveles obtenidos con una misma dosis, lo que confirma que la Ciclosporina tiene una farmacocinética muy variable, además en algunos de ellos se ha destacado con color rojo algún fármaco concomitante (cotrimoxazol, fenitoína) que podría interactuar con la

Ciclosporina y sería el responsable del nivel más bajo o más alto de lo esperado. En el gráfico 10-a) la vía oral empieza el 04/07/2007 a partir de este punto puede verse que sólo un nivel entró al rango esperado. En el gráfico 10-b) la vía oral comienza el 30/01/2007 y se observa que luego de un par de niveles terapéuticos al cabo de un mes los niveles empiezan a ser sub-terapéuticos y las dosis no aumentaron lo suficiente para alcanzar niveles terapéuticos. En el gráfico 10-c) la ficha clínica del paciente señalaba que el 15/01/2007 comenzó a recibir Cotrimoxazol y casi al mismo tiempo el nivel plasmático de Ciclosporina disminuye bastante lo que obligó a aumentar la dosis de Ciclosporina, de todas maneras se puede ver que durante el resto de la terapia el paciente obtuvo niveles plasmáticos de Ciclosporina muy oscilantes y la mayoría de ellos subterapéuticos lo que implica un gran riesgo para su salud. Y por último en el gráfico 10-d) se observa casi lo mismo que en el anterior a diferencia de que hay una posible interacción con Fenitoína.

La Ciclosporina se ha definido como una droga de dosis crítica^{24, 25}, o sea, pequeños cambios en la dosis o concentración resultan en cambios clínicos significativos en eficacia o toxicidad, se suma a esto el hecho de su biodisponibilidad dependiente de la formulación y su estrecho margen terapéutico. Estos hechos representan la base para establecer la necesidad de realizar el Monitoreo Terapéutico de Ciclosporina.

El Monitoreo Terapéutico de Ciclosporina ha sido establecido como parte del tratamiento de rutina de pacientes trasplantados²⁶ y estudiado ampliamente en el mundo, incluso dando lugar a consensos internacionales acerca del tema, dentro de

éstos destacan el Consenso Internacional de Australasia y el Consenso Europeo. El Consenso de Australasia, luego de la opinión de expertos en el tema, definió una serie de aspectos relevantes o estrategias a seguir para el Monitoreo Terapéutico de Ciclosporina (Tabla N°3, Anexo), además se definió el nivel de cumplimiento de las condiciones por parte del Laboratorio Central del Hospital Luis Calvo Mackenna como: Total, Parcial o No Cumplimiento; además de observaciones en caso que lo amerite. Se detallan a continuación los aspectos que no cumplen con las recomendaciones del Consenso o las cumplen parcialmente:

- Inmunoensayo con baja interferencia con metabolitos: el método FPIA utilizado en el Laboratorio Central, considera que la interferencia por reactividad cruzada con metabolitos es baja²⁷, el valor informado de Ciclosporina considera esto. Las interferencias en los valores C_0 son mayores que con los niveles C_2 , ya que hay una mayor relación metabolitos/Ciclosporina²⁸. A raíz de esto último se podría añadir al informe del nivel plasmático la magnitud de esta diferencia como una desviación estándar para valores C_0 y C_2 .
- Son inapropiadas las concentraciones blanco de C_2 definitivas, en varios tipos de órganos y tiempo post-trasplante: el Consenso estipula que se deben utilizar rangos de concentración variables según el tiempo post-trasplante y además para cada tipo de trasplante, no obstante, en el caso del Laboratorio Central sólo informa dos rangos de concentración de Ciclosporina, uno para C_0 y otro para C_2 no especificando a qué tipo de trasplante corresponde. Sería conveniente agregar al informe los valores para los tres tipos de trasplantes que utilizan este inmunosupresor, además del tiempo post-trasplante en cada caso.

- El laboratorio debe asegurarse que las muestras de C_2 fueron recolectadas correctamente: En el caso del Hospital Luis Calvo Mackenna las muestras son tomadas en la Unidad de Toma de Muestras o en otros casos en el mismo control médico. En este caso sería necesario unir criterios de modo de centralizar en un 100% la toma de muestras para asegurarse que serán tomadas exactamente a las 2 horas ya que se ha establecido que hay un rango de ± 10 min. para minimizar los errores²⁹.
- Técnicas de Dilución: la técnica utilizada en el Laboratorio Central trabaja con sangre completa, no es necesario hacer diluciones, lo que disminuye la variabilidad que agrega este proceso. No obstante, este punto si lo cumple el Laboratorio Central ya que en algunos casos en que el médico necesita saber la concentración exacta de un nivel más alto que el límite superior (1500 ng/mL) se utiliza el protocolo de dilución, el resto de los casos se informan como niveles >1500 ng/mL.
- Los laboratorios deberían suscribirse a Pruebas de Eficiencia Internacionales: el Laboratorio Central sólo realiza controles internos y externos (BioRad).
- Información en la Solicitud de análisis de drogas: en la Solicitud utilizada en el Hospital Luis Calvo Mackenna (Anexo N°6), se considera el esquema de dosificación de Ciclosporina, Hora de la última muestra y recolección de muestra. Pero no se incluye la duración de la terapia ni tampoco la administración de otras drogas lo que permite considerar algunas interferencias.

8. CONCLUSIÓN

Luego de este estudio se pudo confirmar que la Ciclosporina es el inmunosupresor de elección en pacientes pediátricos trasplantados de médula e hígado en el Hospital Luis Calvo Mackenna, y que juega un rol muy importante en la prevención del rechazo.

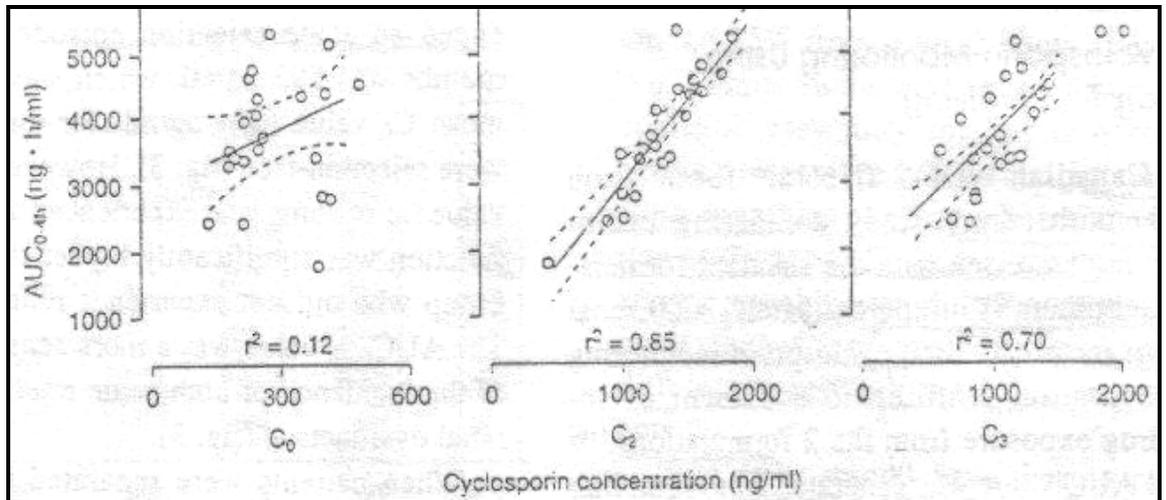
Existen diferencias en el manejo la Ciclosporina en ambos tipos de trasplantes, ya que a pesar de que diversos estudios demuestran la utilidad de usar las concentraciones C_2 para Ciclosporina, en la Unidad de Trasplante de Médula Ósea utilizan valores C_0 , esto se explica ya que los estudios que demuestran la utilidad de C_2 (Tabla N°2) han sido hechos en trasplantes de órganos sólidos como riñón e hígado, y hasta el momento no estaría demostrada la utilidad de C_2 en trasplante de médula. En el estudio se vio que el trasplante hepático tenía un 60,2% de niveles plasmáticos en concentración terapéutica, mientras que en trasplante de médula ósea presentaban un 19,6%. Por otra parte, luego de analizar el total de casos de los cuales no se logró un nivel terapéutico, el 60% y el 42,6% de los casos en médula e hígado respectivamente, no realizaron ajustes de dosis posterior.

En cuanto al llenado de la Solicitud de Niveles plasmáticos se encontraron algunos parámetros insuficientes, como por ejemplo en Trasplante de Médula Ósea el 65,4% de los casos no indicó qué nivel está solicitando lo que podría llevar a errores de interpretación, demostrable puesto que un 2.4% de los casos sin información eran niveles peak, y el resto basales.

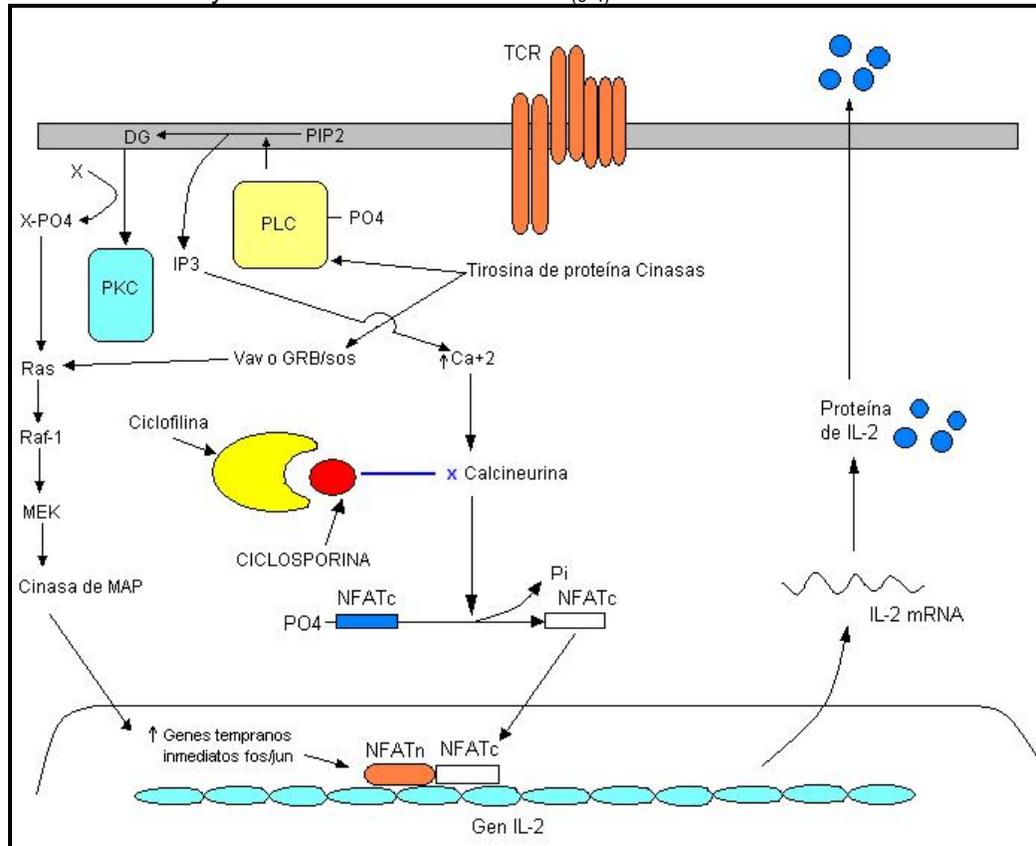
Es necesario hacer ciertos ajustes al proceso de medición de Ciclosporina para acercarse a lo que exigen los estándares internacionales, lo que está resumido en la Tabla N°3, algunos ajustes propuestos son: modificar la Solicitud de Niveles Plasmáticos (Anexo N°6) la que se destina exclusivamente para Ciclosporina y se le incorporó el tratamiento farmacológico concomitante, el que es de mucha importancia para considerar interacciones y poder hacer ajustes con menores posibilidades de error; centralizar la toma de muestra en un 100%, informar las concentraciones blanco para cada tipo de trasplante y tiempo post-trasplante, y por último el Laboratorio Central debería suscribirse a pruebas de eficiencia internacional para el manejo de Ciclosporina.

Se hace necesario a futuro realizar más estudios acerca de inmunosupresores como la Ciclosporina en pacientes pediátricos trasplantados, ya que presenta una gran variabilidad, y es necesario mantener niveles óptimos para evitar reacciones de rechazo.

ANEXOS



Anexo N°1: Concentración de Ciclosporina, a las 0, 2 y 3 horas luego de la administración oral y la correlación con el AUC₍₀₋₄₎³⁰.



Anexo N°2: Mecanismo de acción de la Ciclosporina. Adaptado de Goodman&Gilman. "Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica" 11ª Edición, página 1410 .

GOBIERNO DE CHILE
HOSPITAL LUIS CALVO MACKENNA
LABORATORIO CENTRAL-BIOQUIMICA

SOLICITUD MONITOREO
NIVEL PLASMATICO DE FARMACOS

Fecha: _____
Servicio: _____

Nombre: _____ Rut: _____
Fecha Nacimiento: ____/____/____ Peso: _____ N° Ficha: _____ Previsión _____

MOTIVO DE LA SOLICITUD

Ajuste de dosis Posible fracaso terapéutico Posible intoxicación
Control periódico Posible incumplimiento Otro _____

FARMACO SOLICITADO

Amikacina Ciclosporina Metotrexato
Tacrolimus (Fk) Vancomicina Ac Micoferólico

NIVEL Basal (pre dosis) Peak (post dosis)

INFORMACION DEL FARMACO

Dosis: _____ Vía Oral Endovenosa

Fecha/Hora última dosis: _____ / _____

Fecha/Hora toma de muestra: _____ / _____

Fecha y hora inicio/termino tratamiento: _____ / _____ (Solo metotrexato)

Indicar cambios en tratamiento farmacológico: _____

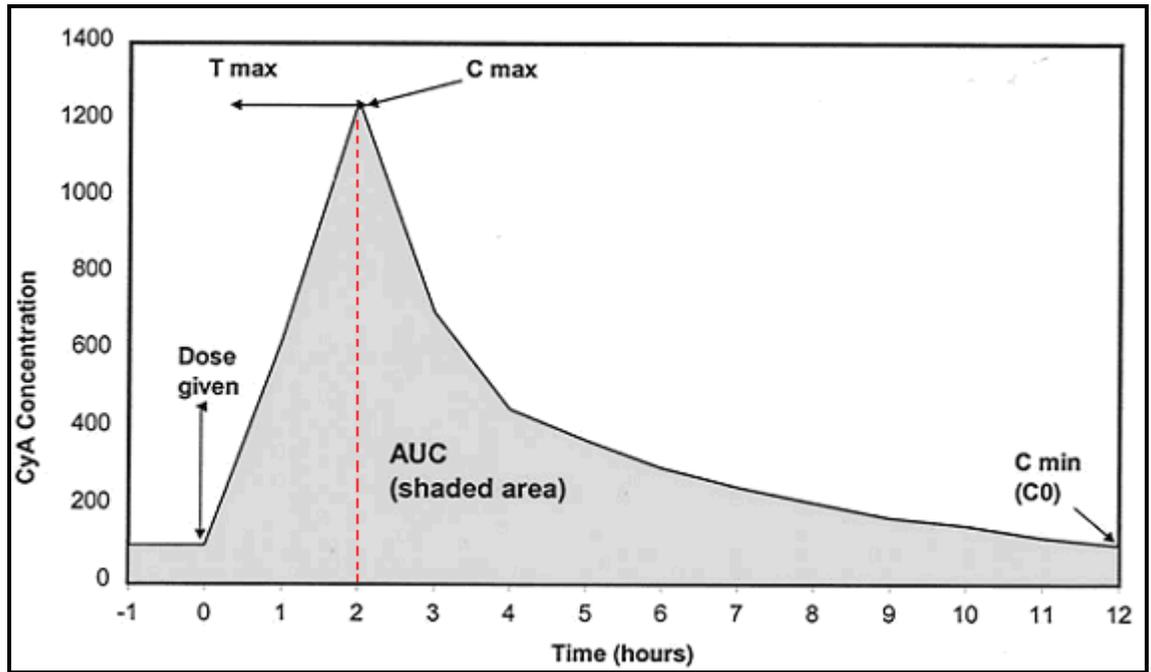
Observaciones: _____

Nombre y firma de médico solicitante: _____

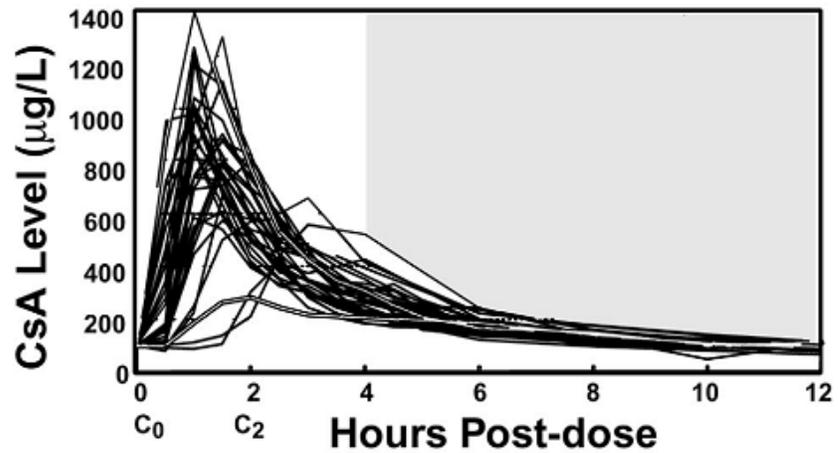
Encargado toma de muestra: _____

*Recoger la muestra en tubo o tapa negra (amikacina, metotrexato y vancomicina) y lila (ciclosporina y tacrolimus)
Respetar el volumen de llenado indicado en el exterior del tubo.*

Anexo N°3: Ficha de Solicitud de Determinación de Niveles Plasmáticos de Fármacos del Hospital Luis Calvo Mackenna.



Anexo N°4: Perfil farmacocinético posterior a una administración oral³¹.



Anexo N°5: Perfil de absorción luego de administración oral de Cyclosporina³².

GOBIERNO DE CHILE
 HOSPITAL LUIS CALVO MACKENNA
 LABORATORIO CENTRAL-BIOQUÍMICA

SOLICITUD NIVEL PLASMÁTICO DE CICLOSPORINA (Neora®)

Fecha: _____
 Servicio: _____

Nombre: _____ Rut: _____
 Fecha Nacimiento: ____/____/____ Peso: _____ N° Ficha: _____ Previsión: _____

MOTIVO DE LA SOLICITUD

Ajuste de dosis	Possible fracaso terapéutico	Possible intoxicación
Control periódico	Possible incumplimiento	Otro _____

NIVEL Basal (pre dosis) Peak (post dosis)

INFORMACION DEL FARMACO

Dosis: _____ Vía Oral Endovenosa

Fecha/Hora última dosis: _____/_____/_____
 Fecha/Hora toma de muestra: _____/_____/_____

Tratamiento Farmacológico Concomitante: _____
 Observaciones: _____

Nombre y firma de médico solicitante: _____
 Encargado toma de muestra: _____

Recoger la muestra en tubos tapa lila (ciclosporina y tacrolimus)
Respetar el volumen de llenado indicado en el exterior del tubo.

Anexo N°6: Ficha propuesta de solicitud de nivel plasmático para Ciclosporina.

TABLAS

Tabla N°1: Incorporada en Resultados y Discusión

Tabla N°2: Beneficios de la elección de C₂³⁰.

Beneficios clínicos del Monitoreo de C₂ de Neoral®	
Comparado con C ₀ , el Monitoreo con C ₂ proporciona:	
	Reducida incidencia de rechazo agudo
	Reducida severidad de episodios de rechazo
	Reducida incidencia de disfunción renal aguda
	Mejoramiento en la función renal en la mantención de pacientes.

Tabla N°3: Comparación entre las recomendaciones del Consenso de Australasia, versus lo que se realiza en el Hospital L. C. Mackenna.

CONDICIÓN	CUMPLIMIENTO	OBSERVACIÓN
1.- Materiales y Métodos		
a) Inmunoensayo con baja interferencia con metabolitos	Parcial	Metabolitos considerados
b) Establecer método de análisis para el desarrollo de Concentraciones citadas.	Total	
2.- Muestreo de C₀		
a) Los lab. Deberían indicar si la muestra fue tomada en C ₀ o en otro tiempo (Ej. C ₂)	Total	
b) Las concentraciones blanco deben relacionarse con el tiempo de recolección de muestras para evitar confusión o ajuste inapropiado de dosis.	Total	
c) Las concentraciones blanco desarrolladas utilizando Métodos no específicos, no deberían ser reportadas por los laboratorios que utilicen métodos específicos.	Total	

3.- Muestreo de C₂		
a) Son inapropiadas las concentraciones recomendadas de C ₂ de Ciclosporina blanco definitivas, en varios tipos de órganos y tiempo post-trasplante (considerar inmunoensayo utilizado).	No cumple	No se señala un rango para cada Tipo de trasplante
b) Los laboratorios debería asegurarse que las muestras C ₂ fueron recolectadas correctamente para evitar ajuste de dosis inapropiados.	No cumple	El laboratorio no toma la muestra
c) Los laboratorios deberían tener un equipo para evaluar críticamente la literatura sobre las estrategias de C ₂ y las nuevas propuestas que están disponibles.	Total	
4.- Estrategias de Muestreo Limitado [AUC_(EML)]		
a) La AUC _(EML) debería reservarse para pacientes Con pobres características de absorción.	Total	Se utiliza sólo en casos Justificados
5.- Técnicas de dilución		
a) Los laboratorios deberían adoptar solamente protocolos de dilución validados.	Total	Sólo se diluye en algunos casos. Por lo general no se diluye.
b) Cuando se diluya sangre entera se deberá utilizar anticoagulante EDTA.	Total	
c) Todo el personal del laboratorios debería adoptar el Protocolo de dilución para evitar errores analíticos.	Total	
6.- Control de Calidad y Pruebas de Capacidad		
a) Los laboratorios deberían adoptar controles de calidad Independientes a los que proporciona el fabricante	Total	
b) Los laboratorios deberían suscribirse a Pruebas de Eficiencia Internacionales para Ciclosporina.	No cumple	
7.- Formulaciones Genéricas		
a) Los clínicos que contemplan cambiarse a una formulación genérica debiesen hacerlo con cuidado,	No cumple	No se utiliza formulación Genérica

advirtiendo sobre la biodisponibilidad del producto, además de aumentar la frecuencia de monitoreo.		
b) Las reglas que dirigen las prácticas de monitoreo Basadas en una formulación no debería aplicarse a formulaciones alternativas.	No cumple	No se utiliza formulación Genérica
8.- Interpretación		
a) La solicitud de análisis de drogas requieren especificar información como: esquema de dosificación de Ciclosporina, Duración de la terapia, hora de la última muestra, hora de recolección de muestra, y terapia con otras drogas para asegurar que el resultado es interpretable.	Parcial	No incluye otras drogas administradas ni tampoco el método utilizado
b) Los laboratorios deberían prestar especial interés en que los datos obtenidos sean significativos y clínicamente interpretables.	Total	
c) Los laboratorios deben tener un equipo Clínico-farmacológico y analítico que tengan un alto estándar de conocimiento.	Parcial	Es necesario más personal
9.- Reportes del Laboratorio		
a) <i>Unidad</i> : Reportar la Concentración de Ciclosporina en unidades de masa, por ejemplo ug/mL	Total	
b) <i>Sesgo</i> : Cada reporte debe indicar el método de análisis utilizado y el sesgo promedio para C ₀ comparado con HPLC.	No cumple	
c) <i>Muestra</i> : Debe indicar el tiempo de muestreo en relación a la dosis previa para evitar confusión entre la Interpretación de C ₀ y C ₂ .	Total	
d) <i>Horario</i> : cualquier error observado en horarios en la solicitud de análisis, debería establecerse en el reporte.	Total	Se realizan las observaciones En el reporte
e) <i>Rango Blanco</i> : el reporte debería dar acceso a una apropiada concentración blanco de Ciclosporina	Total	

GLOSARIO

- IATDM-CT: Internacional Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology

- Autólogo: Donante y Receptor son la misma persona. Las células son extraídas del torrente sanguíneo y separadas por aféresis, luego se reinfunden posterior al condicionamiento.

- Alogénico: Donante y Receptor son diferentes personas que pueden estar relacionados o no relacionados (sin parentesco familiar), es en estos casos, que son la mayoría, que juega un rol importante las diferencias de histocompatibilidad entre Donante y Receptor.

- Singénico: Las células hematopoyéticas provienen de un donante gemelo idéntico. Tiene muchas menos probabilidad de diferencias de histocompatibilidad y por lo tanto riesgo de rechazo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

¹ ROITT I., BORSTOFF J., MALE D. **Immunology**, 5ªEd. 2000, Capítulo 27, Págs. 361-363

² Estadísticas de la Corporación Nacional de Trasplante. Disponible en sitio web: www.trasplante.cl

³ HEPP J. **Situación Actual de los Trasplantes en Chile**. XXV Congreso de Medicina Interna, 28-31 Octubre 2003, Hotel Crowne Plaza de Santiago, Santiago de Chile.

⁴ POST J., DOUGLAS D., MULLIGAN D., **Immunosuppression in Liver Transplantation**. Liver Transplantation 2005, Vol 11, N° 11: pp 1307-1314.

⁵ MIDTVEDT, K. **Therapeutic drug monitoring of Cyclosporin**. Transplantation Proceedings 2004, 36 (2); S430-S433.

⁶ LEVY, G. **Monitoring Strategy for Optimising Cyclosporin Immunosuppression from Neoral® Formulation**. BioDrugs 2001: 15 (5); 279-290.

⁷ GARRIDO, M. **Monitorización terapéutica de la Ciclosporina: Estado de la cuestión**. Rev Mex Patol Clin 2004, 51 (4); 200-204.

⁸ BARKHOLT, L. **Cyclosporine A (CsA) 2-h concentrations vary between patients without correlation to graft-versus-host disease after allogenic haematopoietic stem cell transplantation**. Bone Marrow Transplant. 2007; 40(7) . 683-9.

⁹ HERRERO J., PARDO F., QUIROGA J., ROTELLAR F., **Trasplante Hepático**. An.Sist.Sanit.Navar.2006 Vol 29, Supl 2, p 93-104.

¹⁰ URIBE M. **Trasplante Hepático**. XXV Congreso de Medicina Interna, 28-31 Octubre 2003, Hotel Crowne Plaza de Santiago, Santiago de Chile.

¹¹ CALNE, R. **Immunosuppression in Liver Transplantation**. New.Engl.J.Med.2004, Vol 331:1154-1155.

-
- ¹² PALMA J., MOSSO C., **Trasplante de Médula Ósea.** . XXV Congreso de Medicina Interna, 28-31 Octubre 2003, Hotel Crowne Plaza de Santiago, Santiago de Chile.
- ¹³ MORRIS, G. ILETT, K. TETT, S. RAY, J. FULLINFAW, R. COOKE, R. COOK, S. **Cyclosporin Monitoring in Australasia: 2002 Update of Consensus Guidelines.** Ther Drug Monit 2002; 24 (6): 677-688.
- ¹⁴ **5th Internacional Congress of of TDM-CT, November 10-14, 1997, Vancouver, Canadá.** Extraído de sitio web:
<http://www.iatdmct.org/index.php/publisher/articleview/frmArticleID/17/>
- ¹⁵ PORTA, B. PEREZ-RUIXO, J. BERTOLIN, B. JIMENEZ TORRES, V. **Análisis de la Calidad de las Determinaciones de Ciclosporina mediante Inmunofluorescencia Polarizada Indirecta.** Farm Hosp 2000;24 (3):151-158.
- ¹⁶ MEIER-KRIESCHE, H. ; LI, S. ; GRUESSNER, W. ; FLING, J. ; BUSTAMI, R. ; BARR, M. ; LEICHTMAN, A. **Immunosuppression: Evolution in Practice and Trends, 1994-2004 UNOS.** Annual Report of U.S. government, source: OPTN/SRTR, May 1, 2006. American journal of transplantation. 2006, vol. 6 (2), n^o 5 pp. 1111-1131
- ¹⁷ HOGAN, W. **Use of Cyclosporin in Hematopoietic Cell Transplantation.** Transplantation Proceedings 2004, 36(Suppl 2S): 367S-371S.
- ¹⁸ PALMA, J. **Protocolo de Trasplante de Médula Ósea. Unidad de Trasplante de Médula Ósea.** Hospital Luis Calvo Mackenna.
- ¹⁹ LEVY, G. **Results of LIS2T, a multicenter, randomized study comparing cyclosporine microemulsion with C₂ monitoring and Tacrolimus with C₀ monitoring in the novo liver transplantation.** Transplantation 2004; 77: 1632-8.
- ²⁰ DELUCCI, A. RODRÍGUEZ, E. **Protocolo de Trasplante Renal del Hospital Luis Calvo Mackenna.**
- ²¹ GOODMAN, L. GILMAN, A. **Las Bases Farmacológicas de la Terapéutica** 11^a Ed. McGraw-Hill Interamericana pp 1409-10.

-
- ²² PORTA, B. **Individualización posológica de Ciclosporina en pacientes con trasplante renal: propuesta de un modelo farmacocinético de predicción.** Farm Hosp. 1998; 22 (4): 181-187.
- ²³ ZOLEZZI, M. **C-2 Monitoring for Cyclosporin: Considerations for Implementation.** Saudi J Kidney Dis Transplant 2004; 15(2): 119-124.
- ²⁴ POLLARD, S. **Pharmacologic Monitoring and Outcomes of Cyclosporin.** Transplantation Proceedings 2004; 36 (Suppl 2S): 404S-407S.
- ²⁵ MORRIS, R. **Immunosuppressant Drug Monitoring: Is the Laboratory Meeting Clinical Expectations?.** The Annals of Pharmacotherapy 2005; 39: 119-126.
- ²⁶ MORRIS, G. ILETT, K. TETT, S. RAY, J. FULLINFAW, R. COOKE, R. COOK, S. **Cyclosporin Monitoring in Australasia: 2002 Update of Consensus Guidelines.** Ther Drug Monit 2002; 24 (6): 677-688.
- ²⁷ **Manual de Uso de EquipoTDx[®]/TDxFLx[®] Cyclosporine Monoclonal Whole Blood.** Abbott Laboratories, November 2005.
- ²⁸ Garrido, M. **Monitorización terapéutica de la Ciclosporina: Estado de la cuestión.** Rev Mex Patol Clin 2004, 51 (4); 200-204.
- ²⁹ MORRIS, R. **Cyclosporin Monitoring in Australasia: 2002 Update of Consensus Guidelines.** Ther Drug Monit 2002; 24 (6): 677-688.
- ³⁰ LEVY, G. **C₂ Monitoring Strategy for Optimising Immunossuppression from the Neoral[®] Formulation.** BioDrugs 2001: 15(5):279-290.
- ³¹ POLLARD, S. **Pharmacologic Monitoring and Outcomes of Cyclosporine.** Transplantation Proceedings 2004; 36 (Suppl 2S): 404S-407S.
- ³² JOHNSTON, A. **Pharmacokinetic validation of Neoral absorption profiling.** Transplant Proc.2000; 32: 53S.