



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA
EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
UNIDAD DURANGO

**Farmacocinética Poblacional de Ciclosporina en el Período
Temprano del Postrasplante Renal en Receptores Pediátricos**

TESIS QUE PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS
EN BIOMEDICINA

PRESENTA

JESUS DAVID URBINA ALVAREZ

DIRECTOR

DR. EN C. ISMAEL A. LARES ASEF

CODIRECTOR

M. EN C. ALEJANDRO TORRES CASTORENA

VICTORIA DE DE DURANGO, DGO., JUNIO 2010



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Durango, Dgo. siendo las 12:00 horas del día 14 del mes de Junio del 2010 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-IPN DGO para examinar la tesis titulada:

"Farmacocinética poblacional de ciclosporina en el período temprano del postransplante renal en receptores pediátricos."

Presentada por el alumno:

URBINA
Apellido paterno

ÁLVAREZ
Apellido materno

JESÚS DAVID
Nombre(s)

Con registro:

A	0	8	0	0	5	3
---	---	---	---	---	---	---

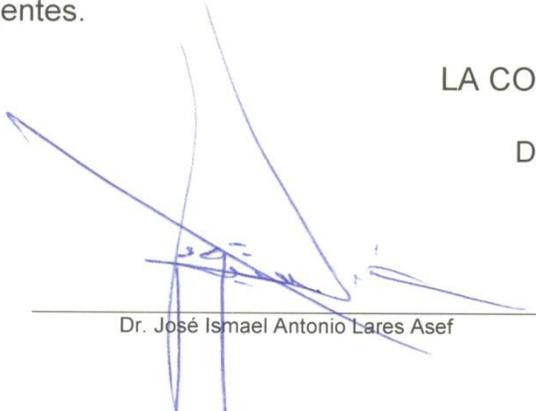
aspirante de:

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA

Después de intercambiar opiniones los miembros de la Comisión manifestaron **APROBAR LA TESIS**, en virtud de que satisface los requisitos señalados por las disposiciones reglamentarias vigentes.

LA COMISIÓN REVISORA

Directores de tesis


Dr. José Ismael Antonio Lares Asef

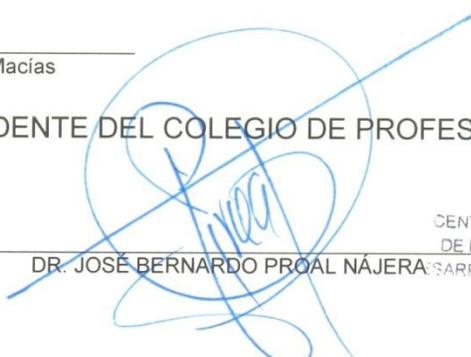

Dr. Alejandro Torres Castonera


Dr. Ignacio Villanueva Fierro


Dr. Carlos Galaviz Hernández


Dra. Martha Guadalupe Sosa Macías

PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES


DR. JOSÉ BERNARDO PROAL NÁJERA



CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
CIUDAD DURANGO
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARIA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

México, D.F. a 19 de Junio del 2009

El Colegio de Profesores de Estudios de Posgrado e Investigación de CIIDIR-IPN en su sesión Unidad Durango ordinaria No. 5 celebrada el día 12 del mes de Mayo conoció la solicitud presentada por el(la) alumno(a):

URBINA
Apellido paterno

ÁLVAREZ
Apellido materno

JESÚS DAVID
Nombre (s)

Con registro:

A	0	8	0	0	5	3
---	---	---	---	---	---	---

Aspirante de: Maestría en Ciencias en Biomedicina

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:
"Farmacocinética Poblacional de Ciclosporina en el Período Temprano del Postransplante Renal en Receptores Pediátricos"

De manera general el tema abarcará los siguientes aspectos:

2.- Se designa como Director de Tesis al C. Profesor:
Dr. Ismael Lares Asef, Dr. Alejandro Torres

3.- El trabajo de investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:
CIIDIR IPN UNIDAD DURANGO

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente hasta la aceptación de la tesis por la Comisión Revisora correspondiente:

El Director de Tesis

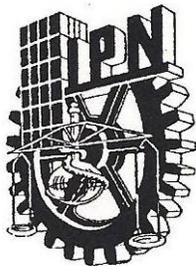
Dr. Ismael Lares Asef
El Aspirante

Dr. Alejandro Torres

El Presidente del Colegio

Jesus David Urbina Alvarez

CENTRO INTERDISCIPLINARIO
DE INVESTIGACION PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL
C.I.I.D.I.R.
UNIDAD DURANGO
I.P.N.



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA CESIÓN DE DERECHOS

En la Ciudad de **DURANGO, DGO.**, el día **10** del mes **JUNIO** del año **2010**, el (la) que suscribe **JESÚS DAVID URBINA ÁLVAREZ** alumno (a) del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN BIOMEDICINA** con número de registro **A080053**, adscrito a **CIIDIR IPN UNIDAD DURANGO**, manifiesta que es autor (a) intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del **DR. JOSÉ ISMAEL ANTONIO LARES ASEF** y del **DR. ALEJANDRO TORRES CASTORENA** y cede los derechos del trabajo intitulado **FARMACOCINÉTICA POBLACIONAL DE CICLOSPORINA EN EL PERÍODO TEMPRANO DEL POSTRANSPLANTE RENAL EN RECEPTORES PEDIÁTRICOS**, al Instituto Politécnico Nacional para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expreso del autor y/o director del trabajo. Este puede ser obtenido escribiendo a la siguiente dirección **bruss_23@hotmail.com**. Si el permiso se otorga, el usuario deberá dar el agradecimiento correspondiente y citar la fuente del mismo.


JESÚS DAVID URBINA ÁLVAREZ

Nombre y firma

EL PRESENTE ESTUDIO SE REALIZÓ EN LAS INSTALACIONES DE LA UNIDAD DURANGO DEL CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL, BAJO LA DIRECCIÓN DEL DR. EN C. ISMAEL A. LARES ASEF Y CODIRECTOR M. EN C. ALEJANDRO TORRES CASTORENA. EL PROYECTO FUE DESARROLLADO EN COLABORACIÓN, CON EL APOYO DEL SERVICIO DE NEFROLOGIA Y LA UNIDAD DE TRASPLANTE RENAL DEL INSTITUTO NACIONAL DE PEDIATRÍA AL PERMITIR EL ACCESO A LAS BASES DE DATOS Y EXPEDIENTES CLÍNICOS DE SUS PACIENTES.

Índice

Glosario	I
Símbolos y abreviaturas	II
Relación de tablas	III
Relación de figuras	IV
Resumen	V
Abstract	VI
Introducción	1
I Antecedentes	3
1.1.1 Introducción	3
2.1.1 Historia del trasplante renal	3
2.1.2 Trasplante renal en pediatría	4
2.2.1 Avances en Fármacos Inmunosupresores	4
2.3.1 Ciclosporina	5
2.3.2. Propiedades físicas y químicas	6
2.3.3. Farmacodinamia de la molécula de CsA	6
2.3.4. Farmacocinética	7
2.3.5. Monitoreo de CsA	8
II Justificación	10
III Pregunta de investigación	11
IV Hipótesis	11
V Objetivos	12
VI Material y métodos	13
VII Resultados	16
VIII Discusión	27
IX Conclusiones	33
X Recomendaciones	34
XI Bibliografía	35
Agradecimientos	40
Anexos	41

Glosario

Aceptación:	estado clínico de funcionalidad del órgano trasplantado
Ciclosporina A (CsA):	medicamento inmunosupresor
Concentración subterapéutica:	concentración del fármaco en plasma por abajo del intervalo terapéutico.
Concentración terapéutica:	concentración del fármaco en plasma dentro del intervalo terapéutico.
Concentración tóxica:	concentración del fármaco en suero por arriba del intervalo terapéutico.
Parámetros farmacocinéticos:	datos que describen el comportamiento del fármaco en el organismo.
Rechazo:	Estado clínico con pérdida de la funcionalidad del órgano trasplantado
Trasplante renal (TR):	tratamiento de de elección para insuficiencia renal terminal
WINNONLIN:	Software para farmacocinética, que incluye el programa de estimación no lineal

ACRONIMOS, SIMBOLOS Y ABREVIATURAS

Alph-HL:	vida media de alfa
AUC:	área bajo la curva
Beta-HL:	vida media de beta
CL/F:	depuración
Cmax:	concentración máxima
Cmin:	concentración mínima
CsA:	ciclosporina A.
h:	hora
IL-2:	interleucina 2
K01-HL:	constante de absorción
K10-HL:	constante de eliminación
mg:	miligramos
ml:	mililitro
ng:	nanogramos
TH:	linfocitos T <i>helper</i>
Tmax:	tiempo al que se alcanza la concentración máxima
TR:	trasplante renal
Vd:	volumen de distribución

Relación de tablas

- Tabla 1- Características biológicas de los pacientes pediátricos con aceptación o rechazo de trasplante renal.
- Tabla 2- Contraste de las diferencias entre niñas y niños de acuerdo a la aceptación o rechazo de trasplante renal así como por características clínicas
- Tabla 3- Distribución de frecuencias de 731 concentraciones plasmáticas de CsA obtenidas en los primeros 59 días postrasplante renal en pacientes pediátricos con aceptación y rechazo del trasplante.
- Tabla 4- Distribución de frecuencias de 794 concentraciones plasmáticas de CsA obtenidas de los 60 a los 180 días postrasplante renal en pacientes pediátricos con aceptación y rechazo del trasplante.
- Tabla 5- Distribución de frecuencias de 432 concentraciones plasmáticas de CsA obtenidas a partir de los 181 días postrasplante renal en pacientes pediátricos con aceptación y rechazo del trasplante.
- Tabla 6.- Parámetros farmacocinéticos estimados con el software WINNONLIN

Relación de figuras

- Figura 1.- Concentraciones terapéuticas, subterapéuticas y tóxicas de Ciclosporina A, en pacientes sin rechazo de trasplante renal, graficado por tiempo de administración: primeros 59 días, de los 60 a los 180 días y 181 y mas días.
- Figura 2.- Concentraciones terapéuticas, subterapéuticas y tóxicas de Ciclosporina A, en pacientes con rechazo de trasplante renal, graficado por tiempo de administración: primeros 59 días, de los 60 a los 180 días y 181 y mas días.
- Figura 3.- Descripción grafica de un modelo bicompartimental con las constantes de paso en los diferentes compartimentos.
- Figura 4.- Estimados iniciales de las concentraciones plasmáticas de CsA en función del tiempo de receptores pediátricos con aceptación de TR.
- Figura 5.- Ajuste de las concentraciones plasmáticas de ciclosporina en función del tiempo, empleando el programa WINNONLIN
- Figura 6.- Curva de concentraciones plasmáticas de ciclosporina en función del tiempo.
- Figura 7.- Comparación de concentraciones de CsA observadas, predichas y observadas/predichas analizadas con WINNONLIN
- Figura 8.- Curva de farmacocinética poblacional de CsA ajustada por mínimos cuadrados por el programa WINNONLIN

Resumen.

Farmacocinética poblacional de ciclosporina en el período temprano del post trasplante renal en receptores pediátricos

La Ciclosporina (CsA) es un agente inmunosupresor, modifica selectivamente la función de los linfocitos T *helper*. **Objetivo:** Establecer diferencias entre las concentraciones plasmáticas de CsA en estado estacionario, en pacientes pediátricos bajo tratamiento con aceptación/rechazo del trasplante renal (TR) y conocer la farmacocinética poblacional de CsA. **Material y métodos:** Estudio ambispectivo, transversal comparativo y de relación. Se incluyeron pacientes entre 3-18 años, pertenecientes al programa de trasplante renal del Instituto Nacional de Pediatría. **Resultados:** Se estudiaron 64 pacientes, 35 con rechazo y 29 con aceptación del TR; con rechazo 13(37.1%) masculinos y 22(62.1%) femeninos vs aceptación masculinos=19(65.5%) y femeninos=10(34.5%), $p=0.023$. Las concentraciones de CsA en los **primeros 59 días** fueron 731: con aceptación:262(81%) subterapéuticas, 55(17%) terapéuticas y 6(2%) tóxicas vs rechazo:309(75%) subterapéuticas, 78(19%) terapéuticas y 21(9%) tóxicas($p=0.04$). **De 60-180 días** fueron 794: con aceptación:233(77%) subterapéuticas, 63(21%) terapéuticas y 5(2%) tóxicas vs rechazo:357(72%) subterapéuticas, 98(20%) terapéutica y 38(8%) tóxicas($p=0.01$). **De >180 días** fueron 432: con aceptación:104(59%) subterapéuticas, 60(34%) terapéutica y 12(7%) tóxicas vs rechazo:138(54%) subterapéuticas, 89(35%) terapéutica y 27(11%) tóxicas($p=0.34$). **Parámetros farmacocinéticos poblacionales** de pacientes con aceptación de TR: $AUC=2587.35(\text{mcg/mL/h})$; $K_{10-HL}=2.09(\text{h})$; $K_{01-HL}=0.973(\text{h})$; $\alpha(\text{h}^{-1})=0.7355$; $\beta=0.0720(\text{h}^{-1})$; $\alpha\text{-HL}=0.94(\text{h})$; $\beta\text{-HL}=9.61(\text{h})$; $A=72270.4(\text{ng/mL})$; $B=126.15(\text{ng/mL})$; $CL/F=0.000773(\text{ng/mL/h})$; $T_{\text{max}}=1.54(\text{h})$; $C_{\text{max}}=344.26(\text{ng/mL})$; correlación observado-predicho=0.99 de la ecuación $C_p=Ae^{\alpha t}+Be^{\beta t}$ **Conclusiones** **1.-**Existen diferencias significativas entre las concentraciones plasmáticas subterapéuticas, terapéuticas y tóxicas de CsA observadas entre niños que aceptaron vs los que rechazaron el TR. **2.-**El comportamiento farmacocinético de las concentraciones de CsA se ajusto a un modelo abierto de dos compartimentos solamente en los pacientes que aceptaron el TR. **3.-**Con base en los datos obtenidos se pudiere individualizar el régimen de tratamiento de CsA, a partir de parámetros farmacocinéticos poblacionales.

Palabras clave: farmacocinética poblacional, ciclosporina, trasplante renal pediátrico

Abstract

Cyclosporine population pharmacokinetic during post kidney transplantation early phase in pediatric receptors

Background: Cyclosporine (CsA) is an immunosuppressive drug whether selectively modifies the T *helper* lymphocytes function. **Objective:** To determine differences between CsA plasma concentrations at steady state in treated pediatric patients with acceptance/rejection of kidney transplantation(KT) and to determine pharmacokinetical parameters. **Methods:** Ambispective, comparative and cross-linked study. Patients aged 5-18 years were included, belonging to the kidney transplantation program at the Pediatrics National Institute. **Results:** Sixty four patients were studied, 35 with rejection and 29 with acceptance of the KT, with rejection 13 (37.1%) male and 22 (62.1%) female vs. male acceptance = 19 (65.5%) and female = 10 (34.5%), $p = 0.023$. Number of CsA concentrations **in the first 59 days** were 731, acceptance: 262(81%) subtherapeutical, 55(17%) terapeutical and 6 (2%) toxical vs rejection: 309(75%) subtherapeutical, 78(19%) terapeutical and 21(9%) toxical ($p=0.04$). **Between 60 and 180 days** there were 794, acceptance: 233(77%) subtherapeutical, 63(21%) terapeutical and 5 (2%) toxical vs rejection: 357(72%) subtherapeutical, 98(20%) terapeutical and 38(8%) toxical ($p=0.01$). **And >180 days** there were 432, acceptance; 104(59%) subtherapeutical; 60(34%) terapeutical and 12(7%) toxical vs rejection: 138(54%) subtherapeutical; 89(35%) terapeutical and 27(11%) toxical $p=0.34$. **Population pharmacokinetical parameters** were calculated with WINONLINE package, for acceptance patients were: TR: $AUC=2587.35(\text{mcg/mL/h})$; $K_{10-HL}=2.09(\text{h})$; $K_{01-HL}=0.973(\text{h})$; $\alpha(\text{h}^{-1})=0.7355$; $\beta=0.0720(\text{h}^{-1})$; $\alpha\text{-HL}=0.94(\text{h})$; $\beta\text{-HL}=9.61(\text{h})$; $A=72270.4(\text{ng/mL})$; $B=126.15(\text{ng/mL})$; $CL/F=0.000773(\text{ng/mL/h})$; $T_{\max}=1.54(\text{h})$; $C_{\max}=344.26(\text{ng/mL})$, correlation observed-theoretical=0.94 according to equation: $C_p=Ae^{\alpha t}+Be^{\beta t}$. **Conclusions:** **1.** There are significant differences between plasmatic subtherapeutical, therapeutical and toxical CsA concentrations in pediatric patients with acceptance or rejection kidney transplantation. **2.** CsA concentrations pharmacokinetical behavior were adjusted to an open two-compartmental model only in acceptance patients. **3.-** An individual treatment may be calculate based upon population pharmacokinetical parameters.

Key words: Population pharmacokinetic, pediatric kidney transplantation, Cyclosporine.

INTRODUCCIÓN

El trasplante renal pediátrico en México representa un bajo porcentaje del total de trasplantes renales que se realizan año con año, siendo alrededor de un 15 a 20%. Este porcentaje comparado con el número de trasplantes renales realizados hace 10 años representa el doble; sin embargo, a pesar de este incremento, sigue representando una baja proporción, la cual no tiene relación con el impacto positivo que tiene en los niños esta terapia, al mejorarles significativamente su calidad de vida y acercarlos a curvas de crecimiento y desarrollo ponderoestatural más normales. Se han efectuado grandes esfuerzos en la búsqueda y desarrollo de una inmunosupresión segura, específica, predecible y efectiva; así la introducción de agentes inmunosupresores potentes mejoraron los resultados de manera dramática. La introducción de la Ciclosporina A (CsA) en clínica supuso un cambio sustancial en la farmacoterapia inmunosupresora al iniciar el control selectivo de la respuesta inmunológica y disminuir la toxicidad celular generalizada provocada por los tratamientos existentes. La CsA sólo puede ser absorbida en duodeno. Por esta razón, la biodisponibilidad en adultos es mayor que la que se observa en pacientes pediátricos, ya que existen variaciones en la longitud duodenal entre estas dos poblaciones de pacientes. No obstante, varios estudios han demostrado una amplia variabilidad en los parámetros farmacocinéticos de la CsA; esta alta variabilidad depende de factores como la edad, la condición física, tipo de órgano trasplantado o comedicación, así como el estado nutricional del paciente trasplantado.

El monitoreo de las concentraciones plasmáticas de CsA es un proceso costoso efectivo en la optimización de la farmacoterapia inmunosupresora, pues reduce, la elevada variabilidad en las concentraciones plasmáticas de CsA, previene los episodios de rechazo agudo y crónico del órgano trasplantado, minimiza la toxicidad inducida por concentraciones sanguíneas elevadas, y permite controlar las interacciones farmacológicas y el grado de cumplimiento del paciente. Esta monitorización de CsA tiene como fin las modificaciones en la dosis diaria de CsA en virtud de las concentraciones obtenidas en ésta.

El presente estudio sugiere una mejoría en dicho ámbito, pues al conocer los parámetros farmacocinéticos poblacionales de este grupo de pacientes, las

modificaciones en las dosis diarias de CsA se realizarán con base en criterios farmacocinéticos poblacionales, lo cual representa una medida más confiable dado que se conocerá el comportamiento de la droga en el organismo de este grupo de pacientes.

I.- Antecedentes

1.1.- Introducción

El donar un órgano es compartir con alguna otra persona aunque no forme parte de nuestra familia, clase social o grupo de amigos. La donación altruista de órganos, tejidos y células ha ido evolucionando de manera importante, logrando que con la información adecuada se acreciente la “cultura de la donación con fines de trasplante en nuestra población”. Sin embargo, todavía existen muchas limitantes para que las personas ayuden a otras a mejorar su calidad de vida, la cual depende de un trasplante¹.

2.1.1 Historia del trasplante renal

En 1933 se realizó el primer trasplante renal, con poco éxito en EUA. En 1947 en Boston, se trasplantó un riñón cadavérico a una persona con choque séptico, quien reanudó la diuresis natural a los tres meses. Para 1950 diferentes equipos europeos y americanos continuaron con el trasplante renal en humanos, de donador cadavérico con resultados positivos, y fue en 1954 cuando se logró un trasplante renal con éxito en gemelos univitelinos. En 1961 se aprueba el tratamiento con inmunosupresores; para 1963 se efectúa el primer trasplante renal en México, por los doctores Federico Ortiz Quezada, Manuel Quijano y Gilberto Flores, con una sobrevivida de 6 años, en el Centro Médico Nacional del Instituto Mexicano del Seguro Social¹.

En 1971, iniciaron el programa de “Trasplante renal” en el Instituto Nacional de Nutrición “Dr. Salvador Zubirán”, los doctores Federico Chávez-Peón, Manuel Campuzano y José Luis Bravo. En el año de 1973 comienza el programa de “Trasplante renal en niños” conducido por el Dr. Octavio Ruiz Separe y el Dr. Samuel Zaltzman en el IMAN. Así, en 1975 el Dr. Octavio Ruiz Separe arranca este programa en el Hospital Central Militar y en la medicina privada. Por último, en 1976 el Dr. Javier Castellanos inicia el programa de trasplantes en el hospital 20 de Noviembre del ISSSTE, en la Ciudad de Méxi

El trasplante renal pediátrico representa, en general, alrededor de 10-15% del total de receptores de riñón por insuficiencia renal crónica terminal. Esta baja proporción no tiene relación con el impacto positivo que tiene en los niños esta terapia, al mejorarles significativamente su calidad de vida y acercarlos a curvas de crecimiento y desarrollo ponderoestatural más normales^{2, 3}.

La edad pediátrica abarca desde el nacimiento hasta los 21 años y se caracteriza por el crecimiento y desarrollo de los diferentes órganos y sistemas⁴. La enfermedad renal crónica tiene implicaciones diferentes en los niños que en los adultos, ya que afecta directamente el desarrollo. También destacan las diferencias en la etiología de la enfermedad renal terminal, la actividad del sistema inmune, la biodisponibilidad y toxicidad de medicamentos, la disponibilidad y tamaño de los órganos, los retos técnicos y el tipo de complicaciones postrasplante⁵.

Actualmente, gracias al desarrollo de centros de trasplante e investigación especializados en la atención pediátrica, a la mejoría en la preparación y selección de donadores y receptores, en la técnica quirúrgica y a nuevos esquemas inmunosupresores, los pacientes pediátricos tienen una sobrevida del injerto similar a la reportada en adultos, de hecho los niños menores de 10 años han logrado tener la mejor sobrevida del trasplante renal de todos los grupos etáreos⁵.

2.2.1 Avances en Fármacos Inmunosupresores.

El índice de supervivencia del injerto mejoró con la introducción de nuevos esquemas de inmunosupresión y con la mayor experiencia. En la actualidad, la falta de adhesión al tratamiento y el rechazo crónico representan los principales obstáculos en estos pacientes⁶.

Se han efectuado grandes esfuerzos en la búsqueda y desarrollo de una inmunosupresión segura, específica, predecible y efectiva; así la introducción de agentes inmunosupresores potentes, mejoraron los resultados de manera dramática. En el año de 1959^{7, 8}, la inmunosupresión química se inicia cuando se describe la

inducción específica de tolerancia a las proteínas humanas en animales tratados con el metabolito 6 mercaptopurina.

Poco tiempo después Calne y col. (1962)⁹ reportaron un impresionante incremento en la sobrevida del alotrasplante renal.

En un principio se utilizó el imidazol derivado de la 6 mercaptopurina conocido en la actualidad con el nombre de azatioprina, el cual posteriormente en 1963 se utilizó en combinación con esteroides colocándose como una inmunosupresión química efectiva; sin embargo se han realizado múltiples intentos por cambiar este esquema de inmunosupresión a lo largo del tiempo¹⁰. Así en 1967¹¹, se comienza con el uso de suero antilinfocito; en 1971¹², se utiliza la ciclofosfamida en lugar de la azatioprina; en 1973¹³, inicia el uso de transfusiones prospectivas; y en 1977¹⁴, el de irradiación linfocitaria total. Sin embargo la mayoría de los centros de trasplante hasta hace pocos años, continúan utilizando como agente inmunosupresor efectivo a la azatioprina y a la prednisona. Así con los datos antes mencionados, la sobrevida del injerto fue estable durante la década de los sesentas^{9,15} y la década de los setentas¹⁶, sin embargo en la década de los 80's¹⁷, se inicia una era totalmente diferente en los trasplantes de órganos en general y en especial en el trasplante de riñón.

Este cambio inicialmente sucede con el descubrimiento de Borel J.F. en el año de 1976 de las propiedades inmunosupresoras de la ciclosporina A, con lo cual se inicia una nueva forma de inmunosupresión química^{18, 19}.

2.3.1. Ciclosporina A

La introducción de la CsA en clínica supuso un cambio sustancial en la farmacoterapia inmunosupresora al iniciarse el control selectivo de la respuesta inmunológica y disminuir la toxicidad celular generalizada provocada por los tratamientos existentes. La CsA ha permitido prolongar la supervivencia de los pacientes de forma significativa, y a pesar de la aparición de nuevos fármacos, tales

como el micofenolato de mofetilo y el tacrólimo, continúa siendo el principal fármaco de los protocolos fármaco terapéuticos de inmunosupresión que reciben los pacientes con trasplante renal²⁰.

La CsA es un fármaco que fue aislado a principios de los años setenta de cultivos de una muestra de tierra que contenía una especie de hongos: *tolypocladium inflatum* Gams, productores de dicha sustancia activa²¹.

2.3.2. Propiedades físicas y químicas de CsA

La estructura química de la molécula es la que le confiere la actividad farmacológica. Son 11 aminoácidos dispuestos de manera cíclica. La estructura del anillo es rígida debido a los enlaces por puentes de hidrógeno internos entre los aminoácidos, a la presencia de un residuo en configuración D y a que el primer aminoácido contiene un doble enlace. Es insoluble en agua, pero muy soluble en disolventes orgánicos y lípidos. Presenta un peso molecular de 1202,63²².

2.3.3. Farmacodinamia de la molécula de CsA

La CsA modifica selectivamente la función de los linfocitos T *helper* (TH) e indirectamente la de otros subtipos celulares. Inhibe fundamentalmente la capacidad de las células TH para generar y liberar interleucina (IL-2) y otras linfoquinas, como el interferón-gamma y los factores estimuladores del crecimiento de células T citotóxicas²³.

La CsA se une con gran afinidad a una proteína del citoplasma: la ciclofilina. Después penetra en el núcleo celular e inhibe la RNA polimerasa necesaria para sintetizar los RNA mensajeros (mRNA) que codifican la síntesis de las diversas linfoquinas. Sin embargo, no inhibe la actividad quimiotáctica o fagocítica de los neutrófilos, no es mielosupresor a dosis inmunosupresoras y no es linfocitotóxico²³.

Su eficacia como inmunosupresor se demostró en diversos estudios clínicos, como el multicéntrico realizado por un grupo europeo y publicado en 1983²⁴ o el realizado por Calne et al²⁵.

2.3.4. Farmacocinética

La ciclosporina presenta una biodisponibilidad altamente variable al administrarla por vía oral. Esto se debe a que es prácticamente insoluble en agua, por tanto, es necesario que se constituya una emulsión que permita la formación de micelas que puedan viajar por el medio acuoso constituido por los fluidos gastrointestinales para llegar a la pared intestinal y pasar a la sangre, de esta forma, la ciclosporina sólo puede absorberse en presencia de sales biliares que permitan la emulsificación (al igual que para muchos nutrientes de carácter lipídico), o bien gracias a formulaciones farmacéuticas que permitan la formación de micelas en ausencia de bilis. Por otro lado, la ciclosporina sólo puede ser absorbida en duodeno. Por esta razón, la biodisponibilidad en adultos es mayor que la que se observa en pacientes pediátricos, ya que existen variaciones en la longitud duodenal entre estas dos poblaciones de pacientes²⁶. El intervalo terapéutico de CsA en plasma medido mediante radioinmunoanálisis se estableció en el inmediato postrasplante en 100-250 ng/ml con una reducción después de los 60 días de 75-150 ng/ml, y con una nueva reducción a partir de los 6 meses de 50-100 ng/ml²⁷.

La biodisponibilidad oral de la CsA varía entre 4 y 30%. Su absorción en la porción superior del intestino delgado es errática, incompleta y muy variable entre los distintos pacientes. El fármaco se distribuye ampliamente en todos los tejidos, mostrando un volumen de distribución de 3.5 a 13 l/kg de peso. Su lipofilia hace que se concentre en el tejido adiposo y ciertos órganos con un alto contenido lipídico, como hígado, páncreas. El 50% del fármaco detectado en sangre está unido a la fracción celular, repartiéndose en un 80-90% a los eritrocitos y en un 4-20% a los linfocitos. El 50-30% restante se encuentra en el plasma, unido a lipoproteínas circulantes (aproximadamente en un 85-90%), principalmente a HDL y LDL y muy poco a VLDL y quilomicrones. La unión de la CsA a los hematíes es saturable y

dependiente de la temperatura y del hematocrito. Si disminuye la temperatura o aumenta el hematocrito, la proporción de fármaco unido a la fracción celular aumenta²³.

La CsA se metaboliza extensamente en el hígado, en el sistema enzimático microsomal del citocromo P-450. En los seres humanos se han determinado alrededor de 25 metabolitos como resultado de esta biotransformación. Algunos de ellos han sido aislados y estudiados con detenimiento puesto que se les atribuye cierta actividad inmunosupresora y una posible relación con los efectos tóxicos que se presentan durante la terapia con CsA. De todos ellos, los que se encuentran mayoritariamente en sangre son AM1, AM9, AM4N y AM1c²³.

La excreción de CsA y sus metabolitos es fundamentalmente biliar, siendo la excreción renal muy pequeña (>3%). Su semivida de eliminación, en condiciones normales, varía de diez-veintisiete horas. El aclaramiento plasmático oscila entre 5 y 20 ml/kg/min, encontrándose aumentado en pacientes pediátricos y disminuido en los casos de insuficiencia hepática²³.

Sin embargo varios estudios han demostrado una amplia variabilidad en los parámetros farmacocinéticos de la ciclosporina; esta alta variabilidad depende de factores como la edad, la condición física del paciente, tipo de órgano transplantado o comedicación²⁶, así como el estado nutricional como fue demostrado por un estudio realizado por Lares-Asef y cols²⁸.

2.3.5. Monitoreo de CsA

La relación establecida entre la concentración en suero de CsA y su respuesta terapéutica o tóxica, así como la alta variabilidad inter e intraindividual encontrada en los procesos farmacocinéticos y farmacodinámicos, condiciona su estrecho ámbito terapéutico y determina la necesidad de su monitorización²⁰.

La monitorización de las concentraciones plasmáticas de CsA es un proceso costo efectivo en la optimización de la farmacoterapia inmunosupresora, al reducir la elevada variabilidad en las concentraciones plasmáticas de CsA, previene los episodios de rechazo agudo y crónico del órgano trasplantado, minimiza la toxicidad inducida por concentraciones plasmáticas elevadas, y permite controlar las interacciones farmacológicas y el grado de cumplimiento del paciente²⁰.

Marcén R. y col.²⁹ concluyen que la monitorización de la dosis de CsA 2 horas después de la administración oral no muestra una superioridad clara. Su utilización ha permitido identificar un número variable de enfermos que estaban inmunosuprimidos en exceso pero el ajuste de la dosis ha deparado resultados modestos.

David E. y col.³⁰ han demostrado que el uso de la medición del AUC a las 4 horas posterior a la administración oral de CsA es una buena manera de disminuir cualquier efecto secundario. Sin embargo, nunca fue demostrado que refleje fielmente el área bajo la curva en una población pediátrica.

Los efectos de la ciclosporina están relacionados con la dosis, pero la influencia del régimen de la dosis ha sido poco investigada. Se han encontrado pocos estudios para la valoración cinética de ciclosporina y por ello para administrar adecuadamente la dosis.

II.- JUSTIFICACIÓN

En virtud del incremento de pacientes pediátricos que requieren trasplante renal y la utilidad de la ciclosporina como agente inmunosupresor, aunado al riesgo-beneficio que implica su uso, debido a su alto grado de toxicidad y a la posibilidad de rechazo cuando se alcanzan concentraciones subterapéuticas así como la amplia variabilidad en los parámetros farmacocinéticos de la ciclosporina, resulta obligado el monitoreo terapéutico de ciclosporina en pacientes bajo tratamiento, con el fin de lograr una mejor aproximación terapéutica empleando criterios farmacocinéticos.

III.- PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Existen diferencias entre las concentraciones plasmáticas de CsA en estado estacionario en pacientes con aceptación o rechazo del trasplante renal?

IV.- HIPOTESIS

Las concentraciones plasmáticas de ciclosporina alcanzadas en estado estacionario, son diferentes en niños con aceptación o rechazo del trasplante renal.

V.- OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Establecer la relación entre las concentraciones plasmáticas de ciclosporina en estado estacionario con la aceptación o rechazo del trasplante de riñón.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

1. Comparar las concentraciones plasmáticas de ciclosporina en pacientes pediátricos con aceptación y rechazo de trasplante renal.
2. Obtener los parámetros farmacocinéticos de CsA a partir de las concentraciones plasmáticas, obtenidas de toda la fase de tratamiento poblacional.
3. Diseñar un nuevo esquema de tratamiento con ciclosporina a partir de datos farmacocinéticos en pacientes pediátricos que requieren trasplante renal, para su posterior evaluación.

VI.- MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño del estudio

Es un estudio ambispectivo, transversal y comparativo.

Criterios de Inclusión

Receptores pediátricos de trasplante renal hombres y mujeres, con edades de 3 a 18 años con y sin rechazo al trasplante.

Criterios de Exclusión

Pacientes con enfermedad hepática.

Criterios de Eliminación

Pacientes que no cuenten con reporte de las concentraciones plasmáticas máxima y mínima de ciclosporina en estado estacionario postrasplante renal.

Población

Se estudiaron 64 pacientes de entre 3 y 18 años de edad, con las mismas características clínicas, mismo tipo de tratamiento y medición de concentraciones de ciclosporina en plasma por el mismo método analítico.

Manejo Farmacológico

El manejo farmacológico consistió en: aproximadamente 48 h previas al trasplante se administró azatioprina en dosis de 5mg/kg/d al igual que 24 h previas se administró prednisona 1 mg/kg. Cuatro h previas recibieron el 50% de la dosis de metilprednisolona (20-30 mg/kg/d) al igual que dosis de antibiótico (cefalotina-ceftazidima) y el 50% restante de metilprednisolona se administró durante la cirugía al igual que dosis única de ciclofosfamida (1mg/kg).

Se les administró una dosis de ciclosporina de 5-6 mg/kg/d, metilprednisolona intravenosa por 3 días (20-30 mg/kg/d) y posteriormente prednisona 2 mg/kg/d al igual que azatioprina. El rango de modificación de dosis de ciclosporina se determinó por el estado clínico y las concentraciones sanguíneas de ciclosporina.

ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS.-

Se tomaron de 1 a 3 muestras por semana. Se determinaron las concentraciones C_{max} y C_{min} de ciclosporina en sangre mediante inmunofluorescencia polarizada (TDX-Abbott) con un coeficiente de variación para controles bajo de 60-90 ng/mL con una media de 75 ng/ml, medio de 225-275 ng/ml con una media de 250 ng/ml y alto de 600-800 ng/ml con una media de 700 ng/ml y un límite de detección entre 0 a 1000 ng/ml.

ANÁLISIS FARMACOCINÉTICO.-

En la primera fase del estudio se desarrolló un modelo farmacocinético derivado de las concentraciones C_{max} y C_{min} en estado estacionario poblacional para ciclosporina. Por medio del programa WINNONLIN se obtuvieron los parámetros farmacocinéticos de ciclosporina, volumen de distribución, depuración, y vida media de eliminación los cuales definen el comportamiento del fármaco. Se asumió un modelo abierto de dos compartimentos.

Aspectos éticos

Por el diseño del estudio y variables a estudiar se consideró que es sin riesgo de acuerdo al reglamento correspondiente de la Ley General de Salud en materia de investigación, ya que forma parte tratamiento tanto el manejo con CsA, así como el monitoreo de las concentraciones plasmáticas.

Análisis Estadístico.

Para comparar las concentraciones de ciclosporina de acuerdo a la aceptación o rechazo de trasplante renal se utilizó la prueba χ^2 , t de Student para muestras independientes o bien la prueba U de Mann Whitney, dependiendo de la distribución de los datos así como de la dispersión de los mismos; para el análisis estadístico se utilizó el paquete SPSS v. 17.0.^{31, 32.}

VII.- Resultados

En la Tabla 1 se presentan las características biológicas de los pacientes estudiados, no se encontraron diferencias significativas entre las edades de los pacientes con aceptación de trasplante con valores $\bar{x} \pm DE$ de 12.02 ± 4.27 años en los niños con aceptación de trasplante contra 12.02 ± 3.25 años en los niños con rechazo del trasplante. Tampoco se encontraron diferencias significativas con respecto al peso corporal, ya que los valores $\bar{x} \pm DE$ en los niños con aceptación del trasplante fueron de 36.29 ± 13.35 kg contra 32.94 ± 11.24 kg en los niños con rechazo del trasplante. Sin embargo, las concentraciones plasmáticas de ciclosporina mostraron diferencias estadísticamente significativas, ya que los valores de la mediana y los valores mínimo y máximo entre ambos grupos fueron diferentes, 48 (0-776) ng/mL en los niños con aceptación del trasplante, y 54 (0-953) ng/mL en los niños con rechazo del trasplante.

Tabla 1.- Características biológicas de los pacientes pediátricos con aceptación o rechazo de trasplante renal

Paciente	Trasplante renal		VALOR p
	Aceptación	Rechazo	
Edad (años)	12.34 \pm 4.27	12.02 \pm 3.25	*0.186 ^{NS}
Talla (cm)	134.23 \pm 16.25	127.69 \pm 25.02	*0.577 ^{NS}
Peso corporal (kgs)	36.29 \pm 13.35	32.94 \pm 11.24	*0.279 ^{NS}
Concentraciones de Ciclosporina (ng/ml)	48 (0-776)	54 (0-953)	**0.002

^{NS} Diferencia no significativa

* Prueba t de student

** Prueba U de Mann-Witney

De los 64 pacientes en edad pediátrica estudiados (ver la Tabla 2.), 35 presentaron rechazo al TR, 13 (37.1%) correspondieron a niños y 22 (62.1%) a niñas, mientras que 29 aceptaron el TR: 19 (65.5%) niños y 10 (34.5%) niñas, los cuales mostraron

diferencias estadísticamente significativas con una $p=0.024$. Llama la atención que 19 de 32 pacientes masculinos aceptaron el trasplante en tanto que 13 de 32 pacientes masculinos lo rechazaron, mientras que sólo 10 de 32 niñas aceptaron el TR contra 22 de 32 que lo rechazaron, de tal manera que encontramos una mayor proporción de niños con aceptación de TR y un mayor porcentaje de rechazo en las niñas estudiadas. Al hacer el análisis por características clínicas por sexo y aceptación/rechazo de TR, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas (ANOVA, $p>0.05$).

Tabla 2.- Contraste de las diferencias entre niñas y niños de acuerdo a la aceptación o rechazo de trasplante renal así como por características clínicas

	NIÑOS n=32		NIÑAS n=32		p
	ACEPTACION n=19 (59.4%) media \pm de	RECHAZO n=13 (40.6%) media \pm de	ACEPTACION n=10 (31.3%) media \pm de	RECHAZO n=22 (68.8%) media \pm de	
Edad (años)	13.1 \pm 3.4	12.1 \pm 3.7	11.0 \pm 5.4	12.0 \pm 3.0	0.560**
Peso (Kg)	37.6 \pm 11.5	32.5 \pm 10.7	33.3 \pm 15.3	33.3 \pm 11.5	0.564**
Talla (m)	1.36 \pm 0.13	1.33 \pm 0.17	1.29 \pm 0.26	1.30 \pm 0.13	0.496**

* x2 test

** ANOVA

En la tabla 3 se presenta la distribución de las 731 concentraciones de ciclosporina en diferentes niveles terapéuticos, obtenidas en los primeros 59 días del postrasplante; los niveles alcanzados en los pacientes con aceptación del TR fueron los siguientes: 262 (35.8%) en concentraciones subterapéuticas, 55 (7.5%) en concentraciones terapéuticas y 6 (0.8%) en concentraciones tóxicas. En los pacientes con rechazo del TR los niveles alcanzados fueron: 309 (42.8%) en concentraciones subterapéuticas, 78 (10.6%) en concentraciones terapéuticas y 21 (2.8%) en concentraciones tóxicas, cuyas diferencias fueron estadísticamente significativas con una $p=0.04$.

Tabla 3.- Distribución de frecuencias de 731 concentraciones plasmáticas de CsA obtenidas en los primeros 59 días postrasplante renal en pacientes pediátricos con aceptación y rechazo del trasplante

Concentración de CsA	Aceptación de Trasplante		Rechazo de Trasplante		p
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
Subterapéuticas	262	81	309	75	
Terapéutica	55	17	78	19	*0.04 ^S
Toxica	6	2	21	6	
	323		408		731

^S Diferencia estadísticamente significativa

* Prueba de X² de frecuencias

De los 60 a los 180 días se obtuvieron 794 concentraciones de CsA (ver tabla 4), de las cuales en los pacientes con aceptación del TR, 233(29.3%) fueron concentraciones subterapéuticas, 63 (7.9%) en concentraciones terapéuticas y 5 (0.6%) en concentraciones tóxicas. En los pacientes que presentaron rechazo del TR 357 (44.9%) tuvieron concentraciones subterapéuticas, 98 (12.3%) concentraciones terapéuticas y 38 (4.7%) concentraciones tóxicas, con diferencias estadísticamente significativas con una p=0.0013.

Tabla 4.- Distribución de frecuencias de 794 concentraciones plasmáticas de CsA obtenidas de los 60 a los 180 días postrasplante renal en pacientes pediátricos con aceptación y rechazo del trasplante

Concentración de CsA	Aceptación de Trasplante		Rechazo de Trasplante		p
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
Subterapéuticas	233	77	357	72	
Terapéutica	63	21	98	20	*0.0013 ^S
Toxica	5	2	38	8	
	301		493		794

^S=Diferencia estadísticamente significativa

*=Prueba de X² de frecuencias

Las concentraciones de CsA obtenidas \geq 180 días fueron 430 (ver tabla 5); en los pacientes con aceptación del TR 104 (24.1%) se encontraron en concentraciones

subterapéuticas, 60 (13.9%) en concentraciones terapéuticas y 12 (2.7%) en concentraciones tóxicas. En los pacientes con rechazo del TR 138 (32.0%) fueron concentraciones subterapéuticas, 89 (20.6%) concentraciones terapéuticas y 27 (6.2%) en concentraciones tóxicas sin alcanzar diferencias estadísticamente significativas con una $p=0.348$

Tabla 5.- Distribución de frecuencias de 430 concentraciones plasmáticas de CsA obtenidas a partir de los 181 días postrasplante renal en pacientes pediátricos con aceptación y rechazo del trasplante

Concentración de CsA	Aceptación de Trasplante		Rechazo de Trasplante		p
	Frecuencia	%	Frecuencia	%	
Subterapéuticas	104	59	138	54	
Terapéutica	60	34	89	35	*0.348
Tóxica	12	7	27	11	
	176		254		430

*=Prueba de X^2 de frecuencias

Concentraciones plasmáticas en función del Tiempo

En las figuras 1 y 2 se describen la nube de dispersión de las concentraciones plasmáticas de ciclosporina en función del tiempo, obtenidas durante toda la etapa del tratamiento, tanto en los pacientes que aceptaron el trasplante renal como en los que presentaron rechazo del mismo, respectivamente. Así mismo en ambas gráficas se muestran las líneas que separan las concentraciones de ciclosporina en niveles de toxicidad, terapéuticos y subterapéuticos, durante los primeros 59 días de tratamiento, de los 60 a los 180 días y de los 181 o más.

En la figura 1 que corresponde a la curva de dispersión de las concentraciones de ciclosporina plasmática en los pacientes que aceptaron el trasplante renal, se observa una dispersión más homogénea y que define un decaimiento exponencial negativo de las concentraciones de ciclosporina en función del tiempo lo que permite ajustar los datos a un modelo farmacocinético bicompartimental, ya que comparativamente con la dispersión observada en los pacientes con rechazo del

trasplante observada en la figura 2, muestra una dispersión de los datos muy amplia y dispersa que impide ajustar los datos a un modelo farmacocinético compartimental. En éstos pacientes las concentraciones son muy heterogéneas en comparación con las concentraciones obtenidas en los pacientes quienes aceptaron el trasplante renal; en estos pacientes se observa mayor número de concentraciones en niveles tóxicos durante el tratamiento con ciclosporina, a diferencias de las concentraciones obtenidas en los pacientes quienes aceptaron el trasplante de riñón, cuyas concentraciones tóxicas son mínimas y esporádicas durante toda la fase de tratamiento.

Figura 1.- Concentraciones terapéuticas, subterapéuticas y tóxicas de Ciclosporina A, en pacientes sin rechazo de trasplante renal, graficado por tiempo de administración: primeros 59 días, de los 60 a los 180 días y 181 y mas días.

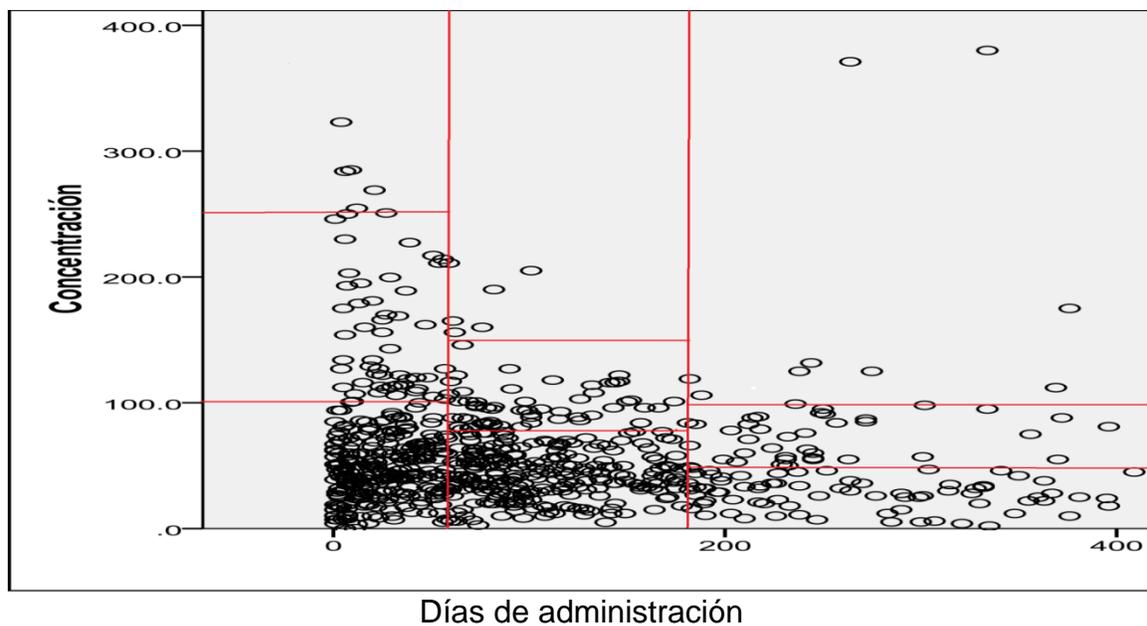


Figura 2.- Concentraciones terapéuticas, subterapéuticas y tóxicas de Ciclosporina A, en pacientes con rechazo de trasplante renal, graficado por tiempo de administración: primeros 59 días, de los 60 a los 180 días y 181 y mas días.

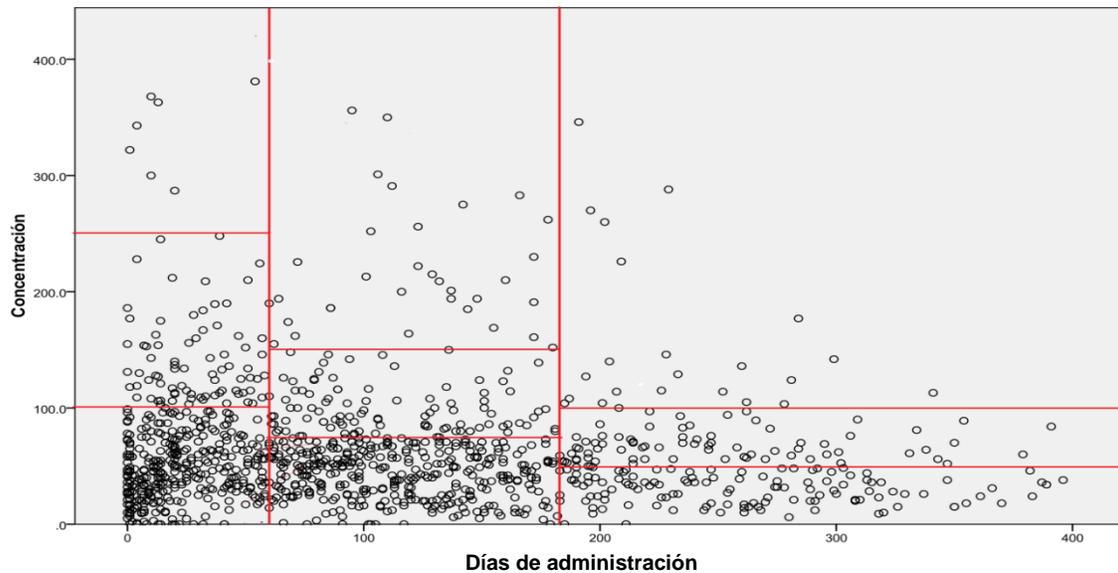
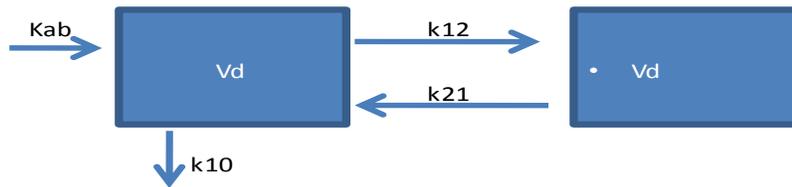


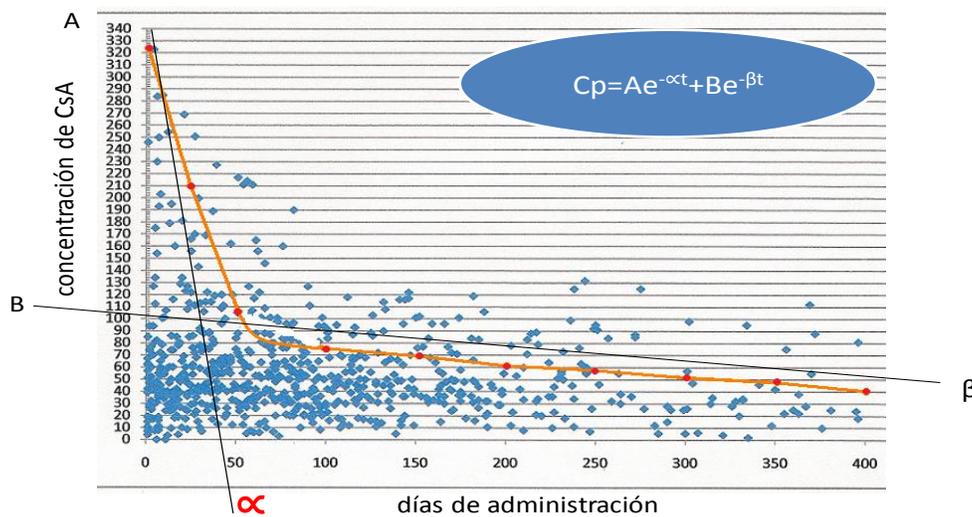
Figura 3.- Descripción grafica de un modelo bicompartimental con las velocidades de paso en los diferentes compartimentos.



En la figura 3 se observa la imagen representativa de un modelo bicompartimental representado por los 2 rectángulos el de la izquierda corresponde al compartimento central y el de la derecha compartimento periférico, con sus respectivas velocidades de paso; K_{ab} o volumen de absorción, es cuando se absorbe el fármaco y pasa al

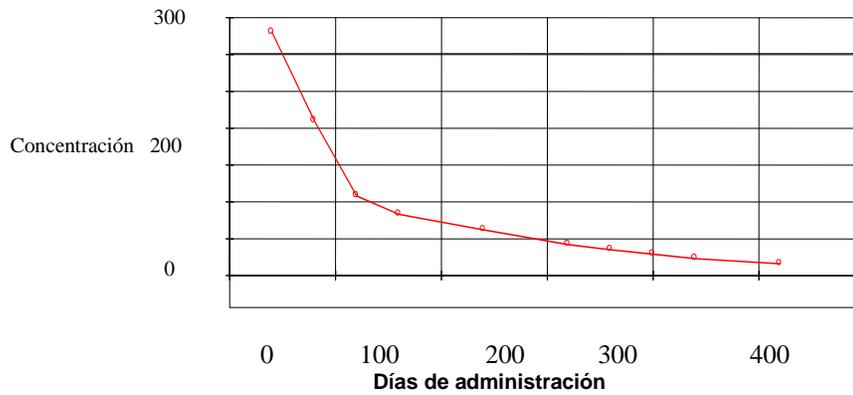
compartimento central, K_{12} o volumen de paso del compartimento central al periférico, K_{21} o volumen de paso del compartimento periférico al central, K_{10} o volumen de eliminación del compartimento central.

Figura 4.- Estimados iniciales de las concentraciones plasmáticas de CsA en función del tiempo de receptores pediátricos con aceptación de TR.



En la figura 4 se observan graficadas las concentraciones de CsA en función del tiempo en la cual se ilustra la curva teórica obtenida de los estimados iniciales de las concentraciones de CsA. Como puede verse se define una primera fase de distribución rápida del medicamento seguida de una fase de eliminación más lenta, lo cual permite inferir que se trata de un modelo bicompartimental con cinética de absorción de primer orden representándose con la fórmula de un modelo biexponencial la cual aparece en la figura.

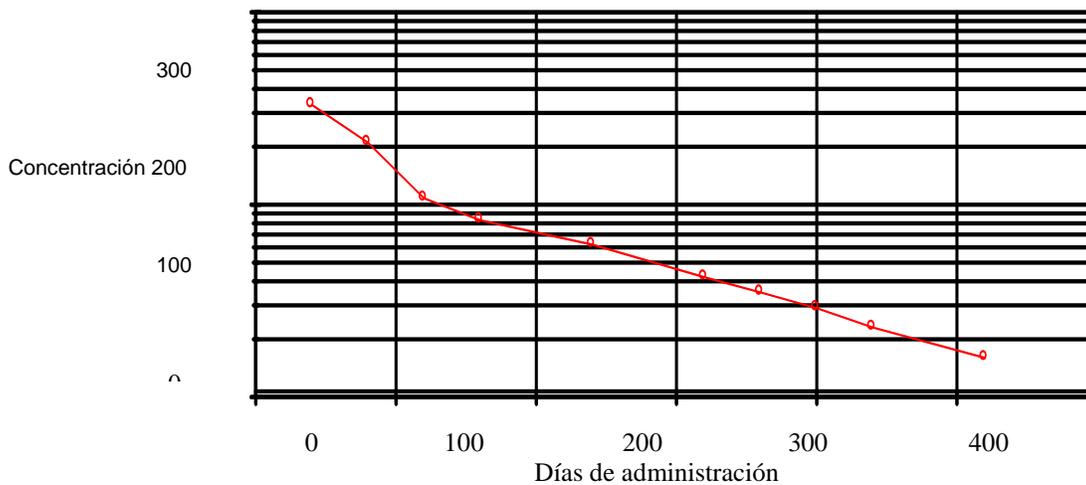
Figura 5.- Ajuste de las concentraciones plasmáticas de ciclosporina en función del tiempo, empleando el programa WINNONLIN



(Escala aritmética).

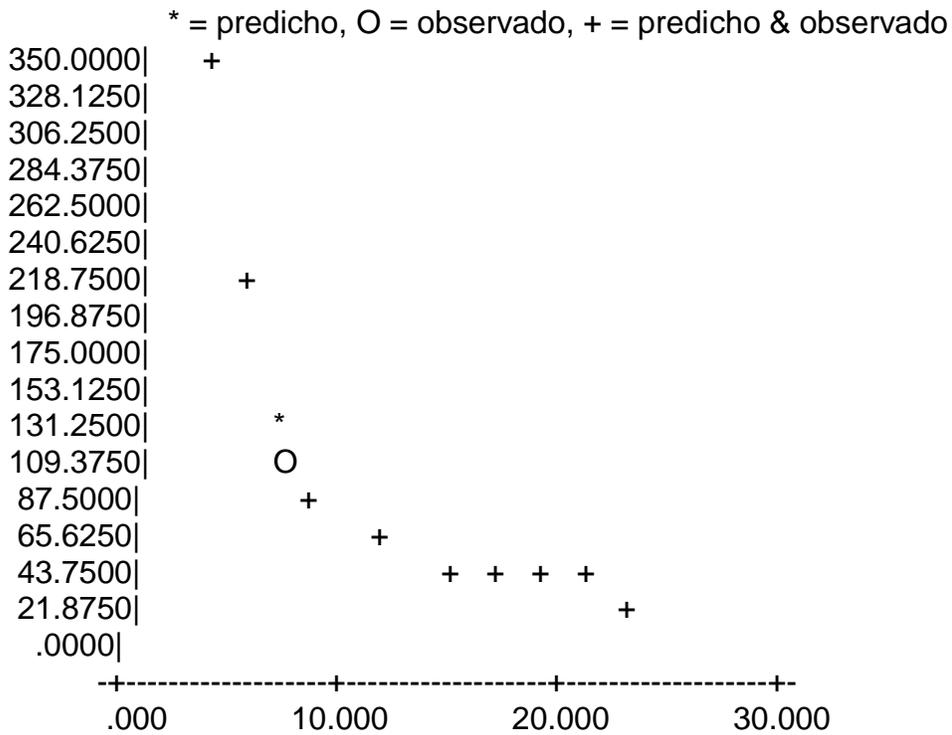
En la figura 5 se observan las concentraciones plasmáticas de ciclosporina en función del tiempo, graficados en escala aritmética. Éstas concentraciones corresponden a los valores promedio obtenidos de las concentraciones para cada tiempo. En la figura 6 se grafican las mismas concentraciones promedio de ciclosporina en función del tiempo, en escala semilogarítmica, la cual permite definir que se trata de un modelo bicompartimental con cinética de absorción de primer orden

Figura 6.- Curva de concentraciones plasmáticas de ciclosporina en función del tiempo.



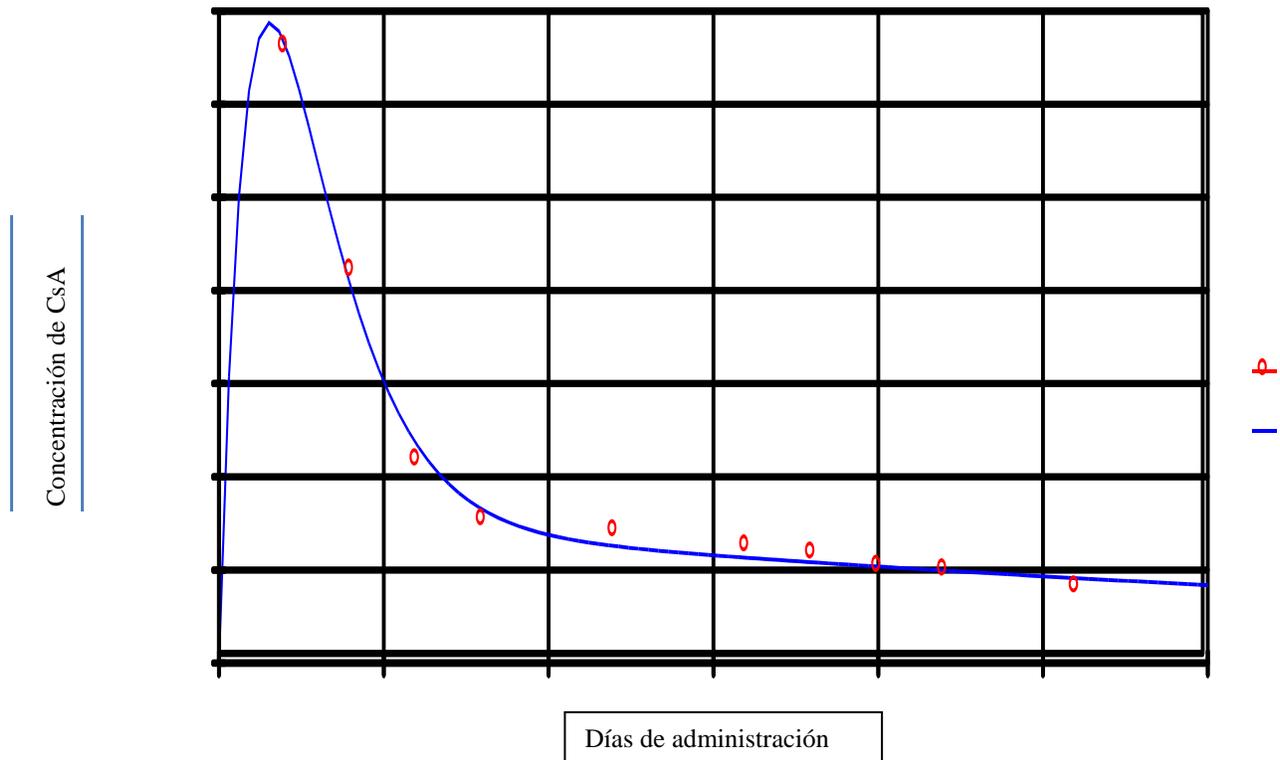
(Escala semilogarítmica).

Figura 7.- Comparación de concentraciones de CsA observadas predichas y observadas/predichas analizadas con WINNONLIN.



En la figura 7 se describen la concordancia de las concentraciones de CsA observadas graficadas sobre las concentraciones de CsA predichas por el sistema en la cual se obtuvo una correlación observado predicho del 0.99 tomando en cuenta los márgenes de errores de predicción de $\pm 35\%$.

Figura 8.- Curva de farmacocinética poblacional de CsA ajustada por mínimos cuadrados por el programa WINNONLIN.



Al introducir los datos al programa WINNONLIN nos da una bondad de ajustes matemáticos por los cuales se obtienen los parámetros farmacocinéticos poblacionales, los cuales se obtienen en base a la curva de farmacocinética poblacional, como se ilustra en la figura 8, en la cual están graficadas las concentraciones de ciclosporina A vs tiempo, señalados con un punto, seguidos de una curva ajustada por mínimos cuadrados.

Tabla 6.- Parámetros farmacocinéticos estimados con el software WINNONLIN.

Parámetros	Estimados
AUC (mcg/mL/h)	2587.3
K10-HL (h)	2.09
K01-HL (h)	0.932742
Alpha (h ⁻¹)	0.735
Beta (h ⁻¹)	0.072
Alpha-HL (h)	0.942
Beta-HL (h)	9.61
A (ng/mL)	72270.4
B (ng/mL)	126.15
CL/F (ng/mL/h)	0.0007
Tmax (h)	1.52
Cmax (ng/MI)	344.26

VIII.- Discusión

La ciclosporina es un péptido cíclico con actividad inmunosupresora, utilizado para prevenir rechazo de injertos en pacientes que requieren trasplante de órganos sólidos, y también para prevenir al injerto contra la enfermedad del huésped, en pacientes que requieren trasplante de medula ósea. Ésta no se utiliza para tratar episodios de rechazo agudo. La ciclosporina ha sido utilizada en pacientes desde 1978³³, la cual ha sido efectiva para mejorar la sobrevivencia a largo plazo de pacientes con trasplante renal y de otros órganos sólidos.

En virtud de la importancia de llevar a la práctica el monitoreo de las concentraciones plasmáticas de ciclosporina en pacientes trasplantados, cuya finalidad es la optimización para su uso racional; éstos tienen que interpretarse dentro del contexto de la metodología analítica utilizada y los fluidos biológicos que han sido muestreados.

Debido a la variabilidad intra e interindividual en el comportamiento farmacocinético de los medicamentos, resulta obligado conocer las características farmacocinéticas, de ser posibles en las poblaciones donde se va aplicar el medicamento, y considerar la posibilidad de individualizar el nuevo régimen de tratamiento, a través del seguimiento de las concentraciones plasmáticas monitoreadas en estado estable (steady state), con la finalidad de evaluar las variaciones de los parámetros farmacocinéticos, que pueden ser modificados por factores biológicos³⁴, fisiopatológicos³⁵ y/o ambientales³⁶, requeridos para ajustar la(s) nueva(s) dosis de ciclosporina, a partir del conocimiento farmacocinético personalizado.

Las concentraciones necesarias de ciclosporina, para optimizar la sobrevivencia del injerto mientras se minimiza la toxicidad potencial, varía dependiendo de ambos factores. De tal manera que es muy importante y se debe tener mucha cautela para utilizar las ecuaciones más adecuadas con el fin de calcular las nuevas dosis de ciclosporina, llevando a cabo un estricto monitoreo de sus concentraciones en

plasma y la respuesta clínica, con la finalidad de evaluar continuamente la evolución clínica y terapéutica del paciente.

La ciclosporina tiene algunas características fisicoquímicas que son muy importantes, ya que es un compuesto hidrosoluble aproximadamente el 20 % se une a leucocitos y 40% a eritrocitos, de tal manera que un 40% permanece en el plasma donde se une de manera importante a lipoproteínas, las cuales representan una fracción pequeña de las proteínas plasmáticas³⁷⁻³⁸.

La meta terapéutica de las concentraciones de ciclosporina, es optimizar la relación riesgo beneficio para que el paciente tenga la oportunidad óptima de lograr un resultado terapéutico favorable. Así los pacientes con bajo riesgo (por ejemplo receptores de injertos idénticos HLA, o pacientes que reciben otra terapia inmunosupresora concurrente) pudieran ser aceptablemente controlados con concentraciones más bajas que las usuales. Por otro lado, los pacientes de alto riesgo (incluyen aquellos pacientes con injertos pobremente aceptados) los cuales pudieran requerir concentraciones más altas para prevenir el rechazo del injerto.

Los resultados descriptivos muestran una aparente mayor frecuencia de rechazo en las niñas, sin embargo en relación al género los grupos fueron homogéneos en edad, peso y talla, por lo que la causa de este hallazgo puede tener más relación con los procesos farmacocinéticos de CsA y otras características del paciente lo cual da pauta a estudios posteriores.

Los resultados que obtuvimos en el presente estudio, hacen evidentes las diferencias que existen entre las concentraciones plasmáticas de CsA alcanzadas durante todo el tratamiento, entre los pacientes en edad pediátrica quienes aceptaron el trasplante renal y quienes lo rechazaron. El porcentaje de concentraciones subterapéuticas y tóxicas fueron significativamente más elevadas 57.3 % y 78.9 % respectivamente en los niños con rechazo del trasplante renal, contra el 42.7% y 21.1 %) respectivamente ($p < 0.05$) en los niños quienes aceptaron el trasplante renal.

De acuerdo con lo anterior, el riesgo de fracaso terapéutico resultó ser más evidente en los niños que rechazaron el trasplante, ya que durante el tratamiento estuvieron expuestos a mayor número de concentraciones subterapéuticas y tóxicas de ciclosporina durante el tratamiento.

Otro aspecto importante que llama la atención fue que los perfiles de decaimiento de las concentraciones plasmáticas de CsA fueron más homogéneos y muchos más definidos, lo cual definió un decaimiento exponencial negativo de las concentraciones las cuales pudieron ajustarse a un modelo farmacocinético bicompartimental en los pacientes quienes aceptaron el trasplante renal, mientras que las concentraciones de CsA alcanzadas durante toda la etapa de tratamiento en los pacientes con rechazo del trasplante, fueron muy dispersas con el mayor número de concentraciones en niveles subterapéuticos y con concentraciones tóxicas. Estos dos aspectos influyeron muy posiblemente en la no aceptación del trasplante en éste grupo de pacientes

De los efectos colaterales más comunes asociados con ciclosporina es el daño renal, el cual usualmente revierte cuando la droga es descontinuada o cuando se reduce la dosis³⁹⁻⁴⁰. Aunque los mecanismos de nefrotoxicidad son poco claros, posiblemente están relacionados a vasconstricción inducida por ciclosporina. Ya que algunos pacientes desarrollan daño renal irreversible, las dosis de ciclosporina y las concentraciones diana son frecuentemente disminuidas en pacientes quienes desarrollan signos tempranos de nefrotoxicidad. Existen otros efectos secundarios menos frecuentes que incluyen hipertensión, efectos sobre el SNC (temblor, dolor de cabeza, parestesias, y raramente convulsiones)⁴¹, reacciones gastrointestinales, hepatotoxicidad, y desordenes hematológicos⁴².

La CsA es una droga inmunosupresora ampliamente usada en receptores pediátricos de injerto renal. Su gran variabilidad interindividual y estrecho índice terapéutico hace necesario el monitoreo de fármacos terapéuticos. Sin embargo la información farmacocinética de CsA es escasa, siendo éste el primer reporte de (popPk) en pacientes pediátricos con trasplante renal. Éste estudio confirma la fiabilidad y viabilidad de la estimación del área bajo la curva (ABC) en ésta

población. El peso corporal y la demora después del trasplante, fueron identificados como factores que influyen el volumen aparente de distribución central y la depuración aparente, y la variabilidad interindividual de la farmacocinética de CsA⁴³.

En virtud de que las diferencias en las tasas metabólicas de los medicamentos y su relación con el peso y la superficie corporal, deben desarrollarse estrategias especiales para monitoreo de fármacos y sus regímenes de dosificación, de tal manera que el uso de CsA ha disminuido el rechazo agudos y un ha marcado incremento en las tasas de sobrevivencia de injertos. Las tasas de crecimiento en niños trasplantados fueron significativamente más altas en pacientes pediátricos bajo tratamiento con CsA. La introducción de CsA en microemulsion conduce a un mejor perfil de absorción y a disminuir la variabilidad interindividual del ABC de CsA mejorando las tasas de rechazo/aceptacion. Las nuevas estrategias de monitoreo basadas sobre los niveles de CsA tomados 2 horas post dosis son muy prometedoras. En el trasplante pediátrico, la CsA es frecuentemente exitosa combinada con mefetil-micofenolato que reduce la aparición del rechazo crónico. La adición a la terapia con de inhibidores de ToR pudiera reforzar una reducción de las dosis de CsA y por consiguiente reducir sus efectos tóxicos⁴⁴.

En un estudio farmacocinético poblacional realizado por Xiaoli D. y Qiang F⁴⁵ usando el NONMEM con un modelo lineal de un compartimento y eliminación de primer orden encontraron que el peso corporal, la albúmina sérica, y la combinación de CsA con rifampicina fueron las covariables más importantes que explican la variabilidad de la depuración aparente de CsA entre pacientes. La variabilidad interindividual de la depuración y el volumen aparente de distribución (VDa) fueron de 18 % y 27 % respectivamente. La fiabilidad y la estabilidad del modelo popPK fueron confirmadas por el procedimiento noparamétrico bootstrap.

Para mejorar la individualización de la dosis de ciclosporina Fanta S et al⁴⁶ llevaron a cabo un análisis para la comprensión de los factores y los efectos clínicos de la farmacocinética de la CsA en 176 niños antes y hasta 16 años después del trasplante renal, para ello utilizaron un modelo popPK de 3 compartimentos. La

significancia del genotipo NR1/2 merece otros estudios adicionales desde el punto de vista farmacogenético. De acuerdo a sus resultados concluyeron que es posible mejorar la individualización de las dosis de CsA en niños si se toman en cuenta los efectos de los factores del desarrollo (peso corporal), el tiempo después del trasplante, así como la formulación y la frecuencia de la dosis de CsA.

Fanta S, et al⁴⁷, evaluaron si las variaciones en los genes ABCB1, ABCC2, SLCO1B1, CYP3A4, CYP3A5, or NR1I2 están asociados con la farmacocinética de CsA en candidatos pediátricos para trasplante renal, y determinar si éstas variantes están relacionadas a la edad. El requerimiento estimado de la dosis oral y la depuración de ciclosporina, se mantuvo en gran parte sin ser explicadas por las variaciones genéticas. Sin embargo, aunque los datos sugieren un efecto relacionado con la edad del polimorfismo ABCB1 sobre la biodisponibilidad oral, se requieren estudios sobre el valor predictivo de la genotipación para la individualización de la terapéutica de ciclosporina en niños.

N. Urtasun, O. Millány y M. Brunet⁴⁸ señalan que dentro del impacto que tendrán la farmacogenética y la farmacodinamia sobre el trasplante de órganos sólidos, deberá tomarse en cuenta una nueva aproximación capaz de considerar las respuestas individuales que son requeridas en gran parte para monitorear la terapia inmunosupresora, y para mejorar su eficacia y seguridad. En los últimos años, se han llevado a cabo estudios preliminares acerca del impacto clínico a partir de la medición de nuevos biomarcadores específicos de exposición (biomarcadores farmacogenéticos) y los efectos biológicos (biomarcadores farmacodinámicos) de drogas inmunosupresoras. La farmacogenética por su asociación con algunos polimorfismos y el requerimiento de dosis terapéuticas, combinada con el monitoreo farmacocinético de un fármaco, permite que las concentraciones terapéuticas sean conseguidas en pocos días y que se mantengan dentro de concentraciones terapéuticas después del trasplante durante la fase de tratamiento inmunosupresor. Sin embargo también señalan que hay necesidad de monitorear la farmacodinamia, la cual puede reflejar el grado de inmunosupresión alcanzado en cada paciente. Las mediciones farmacodinámicas deben estar basadas sobre el análisis de

biomarcadores específicos fuertemente relacionados con los mecanismos de acción de cada agente inmunosupresor, que muestre su efecto inmunomodulatorio sobre la respuesta de las células-T.

IX.- Conclusiones

1. Existen diferencias significativas entre las concentraciones plasmáticas subterapéuticas, terapéuticas y tóxicas de CsA alcanzadas entre los pacientes con rechazo/aceptación del trasplante renal.
2. El fracaso terapéutico de CsA observado en los pacientes con rechazo del trasplante renal pudo ser debido a que en estos pacientes se alcanzaron mayor número de concentraciones subterapéuticas y tóxicas que las alcanzadas en los pacientes quienes aceptaron el trasplante.
3. Los parámetros farmacocinéticos que se obtuvieron de la población estudiada, se derivaron de un modelo abierto de dos compartimentos, ya que el mejor ajuste de los datos experimentales correspondió a un modelo biexponencial.

X.- Recomendaciones

- Las nuevas dosis de ciclosporina, deberán calcularse de manera individualizada a partir de los parámetros farmacocinéticos obtenidos de la población estudiada.
- Posterior a la realización del ajuste de la nueva dosis deberá continuarse el monitoreo de CsA obteniendo una concentración máxima y mínima con el fin de obtener la vida media de eliminación y el volumen de distribución para recalcular la nueva dosis de CsA tomando en cuenta las variaciones farmacocinéticas que pudieran presentar estos parámetros.

Fórmulas recomendadas para obtener las nuevas dosis de CsA en pacientes bajo tratamiento a partir de criterios farmacocinéticos

$$\text{Dosis} = \frac{(\text{Cpss min}) \cdot (\text{Vd}) \cdot (1 - e^{-k_e \cdot T})}{(\text{S}) \cdot (\text{F}) \cdot (e^{-k_e \cdot T})}$$

$$\text{Dosis deseada} = \frac{\text{Cpss Deseada}}{\text{Cpss Actual}} \times \text{Dosis Actual}$$

XI.- Bibliografía

- 1 Centro Estatal Trasplantes del Estado de México (CETRAEM) Trasplante renal en México. Secretaria de Salud del Estado de México 2007: 1-4
- 2 Palacios J. Trasplante renal pediátrico. Rev. Chilena de Cirugía. 2005; 57: 483-488
- 3 Secretaría de Salud. Centro Nacional de Trasplantes. Estadísticas de Donación y Trasplantes. 2008 México
- 4 Behrman R.E, Kliegman R.M, Jenson HB. Textbook of pediatrics. Elsevier Science. 2004.
- 5 Medeiros D. Trasplante Renal en Pediatría. Revista de Investigación Clínica. 2005; 57: 230-236
- 6 Delucchi A, Ferrario M, Varela M. A Single Center Experience over 17 Years. Pediatric Renal Transplantation. 2006; 10: 193-197.
- 7 Schwartz R. Dameschek W. Drug induced immunological tolerance. Nature. 1959; 183: 1682.
- 8 Calne, R.Y. The rejection of renal homografts inhibition in dogs by 6-mercaptopurine. Lancet, 1960; 14: 17.
- 9 Calne R.Y. Alexandre G.P. Murray J.E. A study of the effects of drugs in prolonging survival of homologous renal transplant in dog. Ann. N.Y. Acad. Sci. 1962; 99: 743
- 10 Murray J.E. Merrill J.P. Harrison J.H. Prolonged survival of human kidney homografts by immunosuppressive drug therapy. new engl. Med. 1963; 268: 1315

- 11 Starzl T.E. Marchioro T.L. Purter K. A. The use of heterologous antihymphoid agents in canice renal and liver homotransplantation and in human renal homotransplantation and in human renal homotransplantation. Surg Gynecol. Obstet. 1967; 124: 301
- 12 Starzl, T.E. Putman, C,W, Halquimson.C.G. Renal transplantation under cyclophosphamide. transplant proc .1972; 4: 461.
- 13 Opelz G. Sengard, D.P. Mickey. M.R. Effect of blood transfusions on subsequent kidney transplants. Transp. proc. 1973; 5: 253.
- 14 Slavin S. Srober S. Fuks Z. et al. Induction of specific tissue transplantation tolerance using fractionated total lymphoid irradiation in adult mice. J. Exp. Med 1977; 146: 34.
- 15 Murray J.E. Merrill J.P. Damimin G.J. Kidney transplantation in modified recipients. Ann Surg. 1962; 156: 337.
- 16 Petcher T.J. Weber H.P. Ruegger A. Crystal and molecular structure of iodo-derivative of the cyclic undercapeptid cyclosporin A. Helv, chir acta. 1976; 59: 1480.
- 17 Wenger R.N. Synthesis of cyclosporine an analogues structure, activity relationships of new cyclosporine deriates. Trnasp. proc. 1983; 15: 2230.
- 18 Borel J.F. Compartative study of in vitro an in vivo drug effects on cell-mediated cytotoxicity. immunology 1976; 31: 631
- 19 Borel J.F. Feurer C. Gubler,H.U. Biological effects of cyclosporine A. Anew antilymphocytic agent. agent actions 1976; 6: 468

- 20 Pérez J. Bioequivalencia e intercambio terapéutico de especialidades farmacéuticas. *Nefrología*. 2003; 23: 1
- 21 Practical Guide: Sandimmune (cyclosporine). Sandoz Pharmaceutical. USA, 4/90.
- 22 The Merck Index. Merck & Co. Eleventh edition. USA, 1989
- 23 Soy D. Importancia Clínica de los Metabolitos de Ciclosporina A en Trasplante de Organos. *Originales* 1995; 19: 155-160
- 24 European Multicentre Trial Group: Cyclosporin in cadaveric renal transplantation: On-year follow-up a multicentre trial. *Lancet* 1983; 2: 986-9
- 25 Calne R.Y. White D.J. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadáver donors. *Lancet* 1978; 2: 1323-7.
- 26 Castañeda H. Palma A. Conceptos y precisiones sobre la biodisponibilidad oral de Ciclosporina. *Gaceta Médica de México*. 2002; 138: 495-497
- 27 Kahan B.D. Individualization of cyclosporine therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Transplantation*. 1985; 40: 457-476
- 28 Lares I. Zaltzman S. et al. Pharmacokinetics of Cyclosporine as a Function of Energy-Protein Deficiency in Children with Chronic Renal Failure. *J Clin Pharmacol*. 1997; 37: 179-185.
- 29 Marcén R. Villafruela J.J. Monitorización de la dosis de ciclosporina en trasplante renal: C2 versus C0, *Nefrología*. 2005; 25: 106-112

- 30 David N.E. Britto Z. Alves C. Lemos F. Cyclosporin- A blood concentration at 2 hours is the best parameter to calculate area under the time-concentration curve (0 to 4 hours) (abstract no. 229). American Journal of Transplantation 2001.
- 31 Castilla S.L. Cravioto S. Prueba t de Student para muestras independientes, prueba χ^2 de Pearson para dos o más muestras independientes, prueba μ de Mann Whitney para dos muestras independientes. En Bioestadística Simplificada, Ed. Trillas, México, 1991; 117, 174, 241.
- 32 Daniel W.W. Análisis de la varianza W. Bioestadística, Ed UTEHA, 3a ed, México, 1998; 345-365
- 33 Borel J.F. The history of cyclosporin A and its significance. In: White DJG, ed. Cyclosporin A. New York: Elsevier; 1982:5-18.
- 34 Lares I. et al. Changes in acetylator phenotype over the lifespan in the Wistar rats. Mechanisms of Ageing and Developmental 2006; 127: 73-78.
- 35 Juárez O. Lares I. et al. Effect of severity disease on the pharmacokinetics of cefuroxime in children with multiple organ system failure. Biol Pharm Bull. 2008; 31: 316-320.
- 36 Lares I. et al. Effects of ozone exposure on the oxidative capacity for drug biotransformation in Wistar rats. Toxicological & Environmental Chemistry 2009; 91: 707-716.
- 37 Le Marie M, Tillement J.P. Role of lipoproteins and erythrocytes in the in vivo binding and distribution of Cyclosporin A in the blood. J. Pharm Pharmacol. 1982; 34: 715-718.
- 38 Niederberger W. et al. Distribution and binding of cyclosporine in blood and tissue. Transplant Proceedings. 1983; 15: 2419-2421.
- 39 Myers VD. Cyclosporine nephrotoxicity. Kidney Int. 1986; 30: 964.

- 40 Mihatsch MJ et al. Cyclosporine nephrotoxicity. *Adv Nephrol.* 1988; 17: 303.
- 41 De Groen PC et al. Central nervous system toxicity after liver transplantation: the role of cyclosporine and cholesterol. *N Engl J Med.* 1987; 317: 861-866.
- 42 AHFS Drug Information 1994, Cyclosporine. American Society of Hospital Pharmacists, Inc. Bethesda, MD.
- 43 Irtan S. Saint-Marcoux F. Rousseau A. Zhang D. Leroy V. Marquet P. Jacqz-Aigrain E. Population pharmacokinetics and bayesian estimator of cyclosporine in pediatric renal transplant patients. *Ther Drug Monit.* 2007; 29: 96-102.
- 44 Pape L. Ehrich J.H. Offner G. Cyclosporine in pediatric kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2004; 36: 203S-207S.
- 45 Xiaoli D. Qiang F. Population pharmacokinetic study of cyclosporine in patients with nephrotic syndrome. *J Clin Pharmacol.* 2009 49: 782-8.
- 46 Fanta S. Jönsson S. Karlsson M.O. Niemi M. Holmberg C. Hoppu K. Backman J.T. Long-Term Changes in Cyclosporine Pharmacokinetics After Renal Transplantation in Children: Evidence for Saturable Presystemic Metabolism and Effect of NR1I2 Polymorphism. *J Clin Pharmacol.* 2010 Jan 27. [Epub ahead of print].
- 47 Fanta S. Niemi M. Jönsson S. Karlsson MO. Holmberg C. Neuvonen PJ. Hoppu K. Backman JT. Pharmacogenetics of cyclosporine in children suggests an age-dependent influence of ABCB1 polymorphisms. *Pharmacogenet Genomics.* 2008; 18: 77-90.
- 48 Nerea U. Millán O. Brunet M. Impact of Pharmacogenetics
Trends Transplant. 2008; 2: 107-116.

Agradecimientos

Al Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional y de la mano a cada uno de los maestros que contribuyeron con sus conocimientos para la construcción de mi aprendizaje.

Así como por el apoyo becario recibido.

Reconozco la sabiduría encontrada en cada uno de mis asesores, gracias por su tiempo y humildad en la transmisión de sus enseñanzas.

Agradezco al Instituto Nacional de Pediatría por las facilidades brindadas para la realización de la presente investigación.

Indiscutiblemente agradezco a cada uno de los pacientes que forman parte primordial en el estudio.

Agradezco a mi familia por su apoyo para mi superación académica y profesional.

Finalmente, gracias DIOS por permitirme llegar a este momento... y seguir adelante.

Anexos

Una vez que se obtuvieron los primeros ajustes de los perfiles de concentraciones de ciclosporina para definir el comportamiento farmacocinético, se procedió a ajustar los datos en el programa WINNONLINE para obtener la bondad del ajuste de las curvas a un Modelo Bicompartimental con los siguientes resultados:

Volume/F	0.2259	0	2.259
K01	0.8999	0	8.999
K10	0.204	0	2.04
K12	9.99E-02	0	0.999
K21	9.76E-02	0	0.976

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM (V02.0A) Core Version 05May98

The following default parameter boundaries were generated.

Parameter	Lower Bound	Upper Bound
Volume/F	.0000	2.259
K01	.0000	8.999
K10	.0000	2.040
K12	.0000	.9990
K21	.0000	.9760

Fitting study 1 Data to model 11

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM

ITERATION	WEIGHTED_SS	Volume/F	K01	K10	K12	K21
0	174062.	.2259	.8999	.2040	.9990E-01	.9760E-01
		RANK = 5 CONDITION NO. = 85.41				
1	167486.	.1226	.9436	.1541	.9149E-01	.1003
		RANK = 5 CONDITION NO. = 96.10				
2	130718.	.3484E-01	1.015	.1025	.7970E-01	.1045
		RANK = 5 CONDITION NO. = 127.7				
3	30485.7	.8552E-02	1.085	.8123E-01	.7198E-01	.1070
		RANK = 5 CONDITION NO. = 164.0				
4	965.271	.3579E-02	2.089	.2043	.1068	.8935E-01
		RANK = 5 CONDITION NO. = 199.5				
5	563.259	.3584E-02	1.404	.2133	.1281	.1214

```

RANK = 5 CONDITION NO. = 132.9
6  457.404  .3383E-02  1.181  .2291  .1563  .1410
RANK = 5 CONDITION NO. = 151.6
7  394.731  .3140E-02  1.022  .2487  .1902  .1561
RANK = 5 CONDITION NO. = 200.9
8  348.498  .2882E-02  .9046  .2711  .2283  .1641
RANK = 5 CONDITION NO. = 307.9
9  329.555  .2639E-02  .8122  .2961  .2662  .1688
RANK = 5 CONDITION NO. = 628.5
10 301.287  .2343E-02  .7236  .3314  .3171  .1661
RANK = 5 CONDITION NO. = 5660.
11 283.288  .2325E-02  .7392  .3346  .3174  .1650
RANK = 5 CONDITION NO. = .2088E+05
12 282.636  .2329E-02  .7393  .3346  .3174  .1650
RANK = 5 CONDITION NO. = .2130E+05
13 281.021  .2332E-02  .7456  .3322  .3192  .1634
RANK = 5 CONDITION NO. = .3955E+05
14 280.580  .2334E-02  .7416  .3316  .3190  .1622
RANK = 5 CONDITION NO. = .8877E+06
15 280.263  .2328E-02  .7404  .3319  .3187  .1607
RANK = 5 CONDITION NO. = .6320E+06
16 280.217  .2330E-02  .7400  .3318  .3186  .1606
RANK = 5 CONDITION NO. = .2009E+06
CONVERGENCE ACHIEVED
RELATIVE CHANGE IN WEIGHTED SUM OF SQUARES LESS THAN .000100
16 280.215  .2340E-02  .7431  .3303  .3168  .1605
    
```

Fitting study 1 Data to model 11

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM

PARAMETER	ESTIMATE	STANDARD	CV%	UNIVARIATE C.I.
PLANAR C.I.				
	ERROR			
Volume/F	.002340	.102613	4385.01	-.261432
.517252	.521932			.266112
K01	.743129	32.751550	4407.25	-83.446190
165.097393	166.583651			84.932447
K10	.330324	14.500968	4389.92	-36.945061
73.096679	73.757327			37.605709

```

K12      .316764   17.861020   5638.59   -45.595785   46.229313   -
90.124177   90.757705

K21      .160510    .090423    56.33    -.071926    .392947    -.297355
.618376

```

Fitting study 1 Data to model 11

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM

*** VARIANCE - COVARIANCE MATRIX OF THE ESTIMATES ***

PARAMETER	Volume/F	K01	K10	K12	K21
Volume/F	.105295E-01				
K01	3.36074	1072.66			
K10	-1.48799	-474.928	210.278		
K12	-1.83278	-584.973	259.001	319.016	
K21	-.829504E-02	-2.64566	1.17267	1.44458	.817632E-02

*** CORRELATION MATRIX OF THE ESTIMATES ***

PARAMETER	Volume/F	K01	K10	K12	K21
Volume/F	1.00000				
K01	.999998	1.00000			
K10	-.999999	-.999997	1.00000		
K12	-.999998	-.999994	.999998	1.00000	
K21	-.893996	-.893353	.894335	.894452	1.00000

*** EIGENVALUES OF (Var - Cov) MATRIX ***

NUMBER	EIGENVALUE
1	.3275E+11
2	.2516E+06
3	.7556E+05
4	.1270E+05
5	.3498E-01

Condition_number= .9676E+06

Fitting study 1 Data to model 11

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM

*** SUMMARY OF NONLINEAR ESTIMATION ***

FUNCTION 1

X	OBSERVED	PREDICTED	RESIDUAL	WEIGHT	SE-PRED	STANDARDIZED RESIDUAL
2.000	330.0	331.6	-1.637	1.000	7.484	-8.277
4.000	210.0	202.5	7.491	1.000	7.362	5.514
6.000	108.0	119.5	-11.52	1.000	6.166	-2.713
8.000	83.00	82.43	.5735	1.000	5.266	.1078
12.00	62.00	54.02	7.976	1.000	5.686	1.638
16.00	42.00	39.87	2.128	1.000	3.699	.3269
18.00	35.00	34.48	.5196	1.000	3.254	.7706E-01
20.00	29.00	29.84	-.8411	1.000	3.445	-.1265
22.00	23.00	25.83	-2.832	1.000	3.877	-.4422
26.00	16.00	19.36	-3.360	1.000	4.557	-.5658

CORRECTED SUM OF SQUARED OBSERVATIONS = 92027.6
 WEIGHTED CORRECTED SUM OF SQUARED OBSERVATIONS = 92027.6
 SUM OF SQUARED RESIDUALS = 280.215
 SUM OF WEIGHTED SQUARED RESIDUALS = 280.215
 S = 7.48618 WITH 5 DEGREES OF FREEDOM
 CORRELATION (OBSERVED,PREDICTED) = .9985

AIC criteria = 66.35556
 SC criteria = 67.86849

AUC (0 to last time) computed by trapezoidal rule = 2148.00

Fitting study 1 Data to model 11

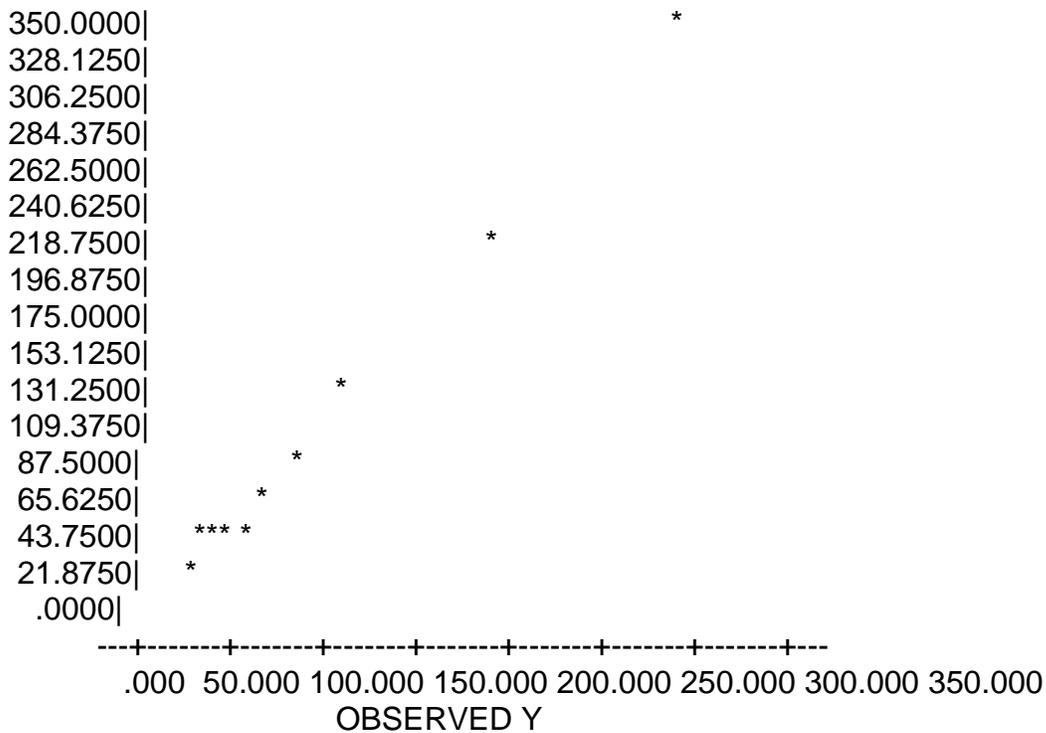
WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM
 SUMMARY OF ESTIMATED SECONDARY PARAMETERS

PARAMETER	ESTIMATE	STANDARD ERROR	CV%
AUC	2587.358656	186.579344	7.21
K10-HL	2.098386	92.025513	4385.54
K01-HL	.932742	41.067202	4402.85
Alpha	.735512	32.419181	4407.70
Beta	.072086	.028472	39.50
Alpha-HL	.942401	41.519862	4405.75
Beta-HL	9.615512	3.563797	37.06
A	72270.403761	*****	837540.21
B	126.150244	59.659117	47.29

CL/F	.000773	.000056	7.22
Tmax	1.520017	.213028	14.01
Cmax	344.269941	18.247462	5.30

Fitting study 1 Data to model 11

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM
 FUNCTION 1
 PLOT OF OBSERVED Y VS. WEIGHTED PREDICTED Y
 WEIGHTED PREDICTED Y

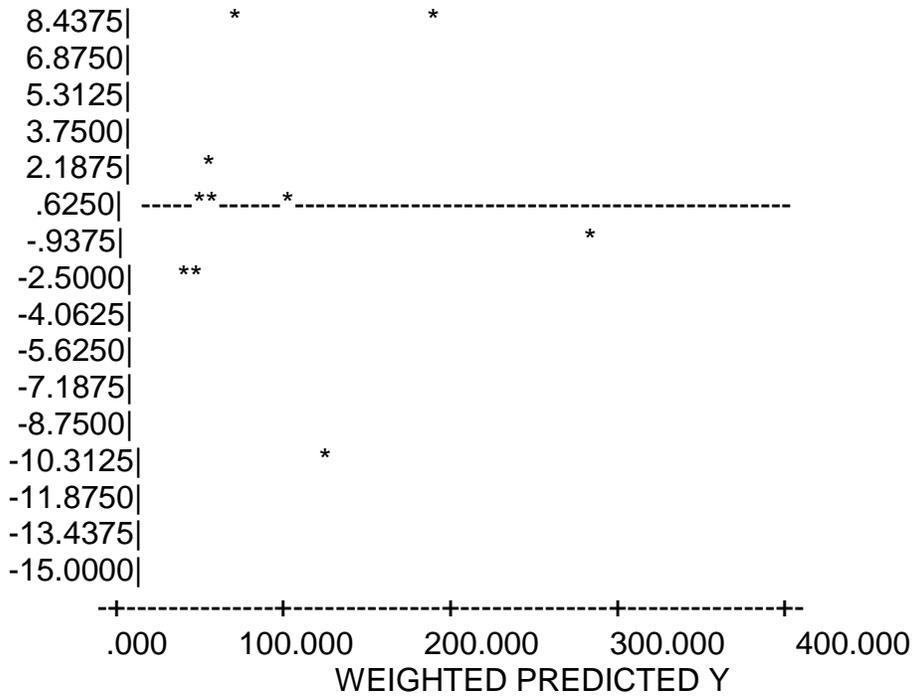


Fitting study 1 Data to model 11

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM

FUNCTION 1

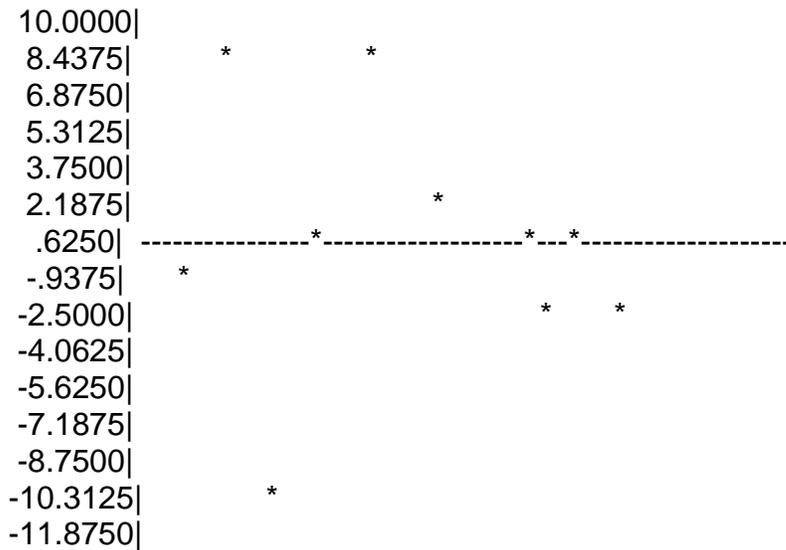
PLOT OF WEIGHTED PREDICTED Y VS. WEIGHTED RESIDUAL Y
 WEIGHTED RESIDUAL Y
 10.0000|

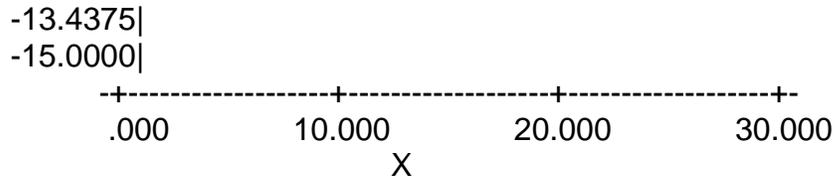


Fitting study 1 Data to model 11

WINNONLIN NONLINEAR ESTIMATION PROGRAM

FUNCTION 1
 PLOT OF X VS WEIGHTED RESIDUAL Y
 WEIGHTED RESIDUAL Y





NORMAL ENDING

TITLE 1

Fitting Study 1 DATA to Model 11

PK Model 11

Gauss-Newton (Levenberg and Hartley) method used

Convergence criteria of .0001 used during minimization process

50 maximum iterations allowed during minimization proces

