

## Revista Mexicana de Patología Clínica

Volumen **51**  
Volume

Número **4**  
Number

Octubre-Diciembre **2004**  
October-December

*Artículo:*

### Monitorización terapéutica de la ciclosporina: Estado de la cuestión

Derechos reservados, Copyright © 2004:  
Federación Mexicana de Patología Clínica, AC

Otras secciones de  
este sitio:

-  [Índice de este número](#)
-  [Más revistas](#)
-  [Búsqueda](#)

*Others sections in  
this web site:*

-  [Contents of this number](#)
-  [More journals](#)
-  [Search](#)

# Monitorización terapéutica de la ciclosporina:

## Estado de la cuestión

**Palabras clave:** Ciclosporina, inmunoanálisis, monitorización en  $C_2$ .

**Key words:** Cyclosporine, immunoassays,  $C_2$  monitoring.

Manuel J Garrido\*

\* Laboratorio Central. Hospital Clínico Universitario. Santiago de Compostela, España.

### ABREVIATURAS:

EMIT: enzyme multiplied immunotechnique.

HPLC: cromatografía líquida de alta resolución.

LC/MS: cromatografía líquida acoplada a detector de masas.

LC/MS/MS: cromatografía líquida acoplada a tandem masas.

### Correspondencia:

Manuel J. Garrido

Laboratorio Central. Hospital Clínico Universitario

C/Choupana s/n

15706 Santiago de Compostela (España)

Fax: +34 981 950852.

E-mail: majogaou@yahoo.es

Recibido: 24/05/2004

Aceptado: 19/08/2004

200

## Resumen

Desde que se introdujo la formulación Neoral® de ciclosporina, múltiples evidencias, tanto desde el punto de vista clínico como analítico, aconsejan su monitorización a las dos horas postdosis ( $C_2$ ). Clínicamente, la monitorización en  $C_2$  muestra un valor predictivo mayor del rechazo agudo en el periodo inicial postrasplante de riñón, hígado y corazón, así como para la detección de sobredosificación durante el periodo de mantenimiento en pacientes previamente monitorizados en predosis ( $C_0$ ), permitiendo disminuir las dosis y evitar efectos secundarios. También presenta la indudable ventaja analítica de una menor diferencia entre los valores obtenidos mediante distintos inmunoanálisis ya que en  $C_2$  la relación metabolitos/ciclosporina A es menor que en  $C_0$ . Una mejor concordancia entre métodos, podría contribuir a un mejor establecimiento de niveles terapéuticos de ciclosporina A en pacientes trasplantados, independientemente del método analítico utilizado para su monitorización.

## Summary

Since cyclosporine A (CsA) was formulated as Neoral®, multiple evidences suggest the greater usefulness of its two hours post-dosis levels ( $C_2$ ) for its therapeutic monitoring. Clinically,  $C_2$  therapeutic CsA monitoring better predicts acute post-transplant rejection episodes in heart, lung and kidney de novo patients, and detect overexposure in some maintenance patients who did not show this exposure in  $C_0$  (predose level), leading to a less dosis avoiding secondary effects. Likewise  $C_2$  shows shorter difference among values determined by different immunoassays because of the smaller metabolites/CsA parent drug ratio in  $C_2$ . This fact would contribute to stablish a better guide for immunosuppressive CsA therapeutic levels in transplant recipients with independence of the assay used for its determination.

## Introducción

La ciclosporina A (CsA) es un decapeptido de origen fúngico, disponible desde la década de los 80, con propiedades inmunosupresoras<sup>1,2</sup> que ha repercutido enormemente en el tratamiento de los trasplantes. Su acción farmacológica se basa en la inhibición de la calcineurina, una serin-treonina fosfatasa dependiente de la calmodulina, con lo que se inactiva la producción de IL-2 y se inhibe la vía de activación de los linfocitos T.<sup>3-5</sup> Aunque se han ido introduciendo nuevos agentes inmunosupresores, ya sea con análogo o diferente mecanismo farmacológico de acción, la ciclosporina A sigue siendo ampliamente utilizada.

La absorción intestinal de ciclosporina A presenta una gran variabilidad intra e interindividual y, por tanto, del nivel de fármaco en sangre para una misma dosis, lo cual depende tanto de su absorción como de su metabolización hepática.<sup>6</sup> Aunque al principio se utilizó la formulación Sandimmune®, una suspensión hidrofóbica de ciclosporina A con un agente dispersante, en la década de los 90 se reformuló como Neoral®, una suspensión de microesferas con lo que se mejoró la absorción del fármaco, disminuyendo la enorme variabilidad intraindividual para su biodisponibilidad.<sup>7</sup> La utilidad de la ciclosporina A como agente inmunosupresor es óptima en un intervalo estrecho de concentraciones, lo que implica que su infradosificación conlleve a un mayor riesgo de rechazo y su sobredosificación a efectos secundarios de nefrotoxicidad, hipertensión, hepatotoxicidad y neurotoxicidad.<sup>8-11</sup> En la práctica clínica, esto hace necesario la monitorización terapéutica de la ciclosporina A.

## Protocolos de monitorización

La clásica monitorización del nivel valle de ciclosporina A en muestras de sangre tomadas aproximadamente una hora antes de la próxima dosis ( $C_0$ ) no sería un marcador fiable de la exposición al fármaco.<sup>12</sup> No parece predecir el devenir clínico y

distinguir los pacientes que sufren rechazo agudo de los que no, por lo que se buscaron nuevas estrategias para su monitorización en la práctica clínica. Entre ellas mostró utilidad el área bajo la curva concentración/tiempo entre las 0 y 4 horas postdosis ( $AUC_{0-4}$ ), que es un buen marcador de la exposición sistémica al fármaco tanto en adultos como en niños.<sup>13-17</sup> Esta metódica de monitorización recoge la zona de máxima variabilidad que corresponde a la fase absorptiva del fármaco, así como el máximo de concentración que se sitúa para Neoral® en torno a las dos horas y correlaciona bien con el devenir clínico, con alto valor predictivo del rechazo agudo. Sin embargo  $AUC_{0-4}$  presenta claros inconvenientes para su utilización en la rutina diaria, por lo que se buscó el punto único de concentración que mejor correlacionase con  $AUC_{0-4}$ . El nivel 2 horas postdosis ( $C_2$ ), que correspondería aproximadamente con la concentración máxima ( $C_{máx}$ ) de fármaco en sangre, parece cumplir esta exigencia. Además  $C_2$  demostró una elevada correlación con la disminución de linfocitos T expresando IL-2, así como con la inhibición de la calcineurina, hechos responsables de su efecto inmunosupresor.<sup>18,19</sup>

Un problema de la monitorización de ciclosporina A en  $C_2$  lo representan los pacientes con cinéticas de absorción lentas, que presentan el máximo de concentración de fármaco en sangre para tiempos mayores que la norma. En estos sujetos sería recomendable monitorizar otro punto más para distinguirlos de los que absorben poco, en los que el perfil de la curva concentración/tiempo es similar a la del resto de pacientes, si bien con un área bajo la curva menor.

## Consideraciones clínicas

Numerosos estudios han puesto de manifiesto la utilidad clínica de la monitorización del nivel  $C_2$  en pacientes trasplantados de riñón, corazón e hígado para la predicción de rechazo agudo,<sup>20</sup> lo que ha permitido la definición de niveles terapéuticos

relativamente fijos.<sup>21</sup> Además, la determinación de  $C_2$  en pacientes durante el periodo de mantenimiento terapéutico muestra casos de sobredosificación que no pueden objetivarse mediante la determinación en  $C_0$ .<sup>22</sup> El reajuste de las dosis en estos casos no supuso un incremento en el rechazo, pero disminuyó la incidencia de efectos secundarios de nefrotoxicidad e hipertensión.

Recientemente, el *Consensus on Neoral C<sub>2</sub> Expert Review in Transplantation* (CONCERT) adoptó varias recomendaciones para la monitorización de la ciclosporina A en  $C_2$ .<sup>23</sup> En ellas se concluye que  $C_2$  es el procedimiento de elección para la monitorización de ciclosporina A administrada a pacientes en el periodo postrasplante inmediato de riñón e hígado, proponiéndose los correspondientes intervalos terapéuticos. La monitorización de  $C_2$  también posee ventajas en casos tratados con este inmunosupresor durante el periodo de mantenimiento. Quedan pendientes, por falta de evidencias clínicas, el establecimiento de niveles terapéuticos en estos pacientes y en trasplantados torácicos, así como la validación de un intervalo terapéutico para niños.

202

## Consideraciones analíticas

Los métodos de elección para la determinación específica de ciclosporina A son mediante técnicas de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) o cromatografía líquida acoplada a detector de masas (LC/MS) que son lentas y laboriosas, por lo que, para la monitorización de rutina, en los laboratorios clínicos se utilizan distintos inmunoanálisis comerciales.<sup>24</sup> Éstos presentan una variable reactividad cruzada con los metabolitos de primera generación de la ciclosporina A (AM1, AM4n, AM9, AM19), por lo que proporcionan valores mayores para la ciclosporina A que los métodos específicos.<sup>25-27</sup>

En un estudio comparativo en muestras  $C_0$  entre distintos inmunoanálisis y HPLC, Steimer encontró un error sistemático de signo positivo para los valores obtenidos mediante los inmunoanálisis

monoclonales de polarización de fluorescencia (mFPFA) de Abbott entre 29 y 57% en los analizadores AXYSM y TDx, respectivamente, y de 9% para los valores determinados por EMIT (*Enzyme Multiplied Immunoassay Technique*) de Dade Behring.<sup>26</sup> Recientemente, un programa de control de calidad del *College of American Pathologists* (CAP) mostró que los valores medios de las concentraciones de ciclosporina A obtenidas por los laboratorios que utilizaban mFPFA y EMIT eran, respectivamente, entre 22-28 y 0-12% mayores que las medias de los diferentes laboratorios que utilizaban LC/MS.<sup>28</sup>

Sin embargo, Levy señala que en pacientes de riñón e hígado los valores  $C_2$  de ciclosporina A son independientes del procedimiento analítico utilizado, por lo que no sería necesario el empleo de factores correctores.<sup>17</sup> A similares conclusiones llegan Johnston y colaboradores quienes, en un estudio comparativo de los resultados de distintos métodos en pacientes trasplantados de riñón e hígado, concluyen que las concentraciones de ciclosporina A medidas en  $C_2$  por los inmunoanálisis habitualmente utilizados no presentan valores significativamente distintos de los encontrados por RIA y LC/MS/MS (cromatografía líquida acoplada a tandem masas).<sup>29</sup> Según estos autores, los valores  $C_2$  medidos por mFPFA y EMIT, que son los más ampliamente utilizados de acuerdo con el *International Cyclosporine Proficiency Testing Scheme* ([www.bioanalytics.co.uk](http://www.bioanalytics.co.uk)), darían un valor medio de 117 y 112%, respectivamente, con relación a LC/MS/MS, aunque las diferencias no presentan significación estadística.<sup>29</sup> Por el contrario, para  $C_0$  los resultados proporcionados por mFPFA sí serían significativamente mayores que los de LC/MS/MS. El cociente entre las concentraciones de ciclosporina A obtenidas mediante un determinado inmunoanálisis y por otro método específico, se puede considerar como un marcador de su reactividad cruzada con los metabolitos de la ciclosporina A, y estos cocientes son significativamente menores en  $C_2$  que en  $C_0$ .<sup>30-34</sup> La ciclosporina A presenta un efecto de primer paso que condi-

ción de forma significativa las concentraciones en sangre de este fármaco, así como la de sus metabolitos. La mayor proporción relativa de metabolitos en  $C_0$  podría deberse a un menor aclaramiento total y menor volumen de distribución de estos compuestos más polares, cuya concentración disminuiría más lentamente que la de la propia ciclosporina. Por otra parte, los metabolitos podrían no haberse formado o ingresado aún en la circulación sistémica a las dos horas después de la dosis, porque la absorción no hubiera tenido lugar.<sup>31,32</sup> Estos hechos justifican el menor efecto interferente relativo de los metabolitos de la ciclosporina A para  $C_2$  que para  $C_0$ .

Sin embargo, Schültz y colaboradores encontraron diferencias significativas en la monitorización de las concentraciones de fármaco en  $C_2$  entre TDX y EMIT para valores bajos de  $C_2$ ,<sup>30</sup> lo cual también concuerda con resultados obtenidos en nuestro laboratorio.<sup>32</sup> En cualquier caso, como ya se indicó anteriormente, en  $C_2$  el cociente entre las concentraciones medidas por diferentes inmunoanálisis es menor que en  $C_0$ ,<sup>31,32</sup> lo que conduce a una mejor correlación entre los resultados. Este hecho supone una evidente ventaja analítica, pero las diferencias entre los resultados proporcionados por los distintos inmunoanálisis podrían ser clínicamente significativas y, consecuentemente, los valores no serían transferibles. Asimismo, el uso de factores de interconversión no parece adecuado debido a la gran variabilidad encontrada y que en gran medida sería paciente-dependiente. Por lo tanto, en cuanto a la especificidad de los distintos inmunoanálisis comerciales para la determinación de ciclosporina A en  $C_2$ , estamos ante un debate no cerrado; pues si bien existe un acuerdo general sobre la mejor concordancia de resultados en este punto, no se puede asegurar la total transferibilidad ni incluso la interconversión de los resultados.

Otro aspecto a tener en cuenta para la monitorización en  $C_2$  hace referencia a la toma de muestras que, según las recomendaciones del CONCERT, debe realizarse dos horas ( $\pm$  15 minutos)

postdosis para que la variabilidad no supere 10% y no conlleve un erróneo cambio de pauta.<sup>23,35</sup> Esto exige un alto grado de concienciación del personal que realiza la toma de las muestras. Por otra parte, en la monitorización de  $C_2$  debe tenerse en cuenta que los límites superiores de linealidad de algunos inmunoanálisis son menores que los niveles terapéuticos, requiriendo, por tanto, la dilución previa de las muestras. Sin embargo, a medida que se va imponiendo la monitorización en  $C_2$ , algunos fabricantes han comenzado a desarrollar protocolos analíticos que facilitan este paso previo.<sup>36</sup>

## Referencias

1. Borel JF. Cyclosporine. A present experimental status. *Transplant Proc* 1981; 13: 344-348.
2. Schreiber SL. Chemistry and biology of the immunophilins and their immunosuppressive ligands. *Science* 1991; 251: 283-287.
3. Chaudhuri B, Stephan C. Only in the presence of immunophilins can cyclosporine and FK 506 disrupt binding of calcineurin A to its autoinhibitors domain yet strengthen interaction between calcineurin A and B subunits. *Biochem Biophys Res Commun* 1995; 215: 781-790.
4. Britton S, Palacios R. Cyclosporine A usefulness, risks and mechanism of action. *Immunol Rev* 1982; 65: 5-22.
5. Keown PA, Essery GL, Stiller CR et al. Mechanisms of immunosuppression by cyclosporine. *Transplant Proc* 1981; 13: 386-389.
6. Rosano TG, Freed BM, Pell MA et al. Cyclosporine metabolites in human blood and renal tissue. *Transplant Proc* 1986; 18 (suppl S): 35-40.
7. Kovacic JM, Mueller EA, Niese D. Clinical development of a cyclosporine microemulsion in transplantation. *Ther Drug Monit* 1996; 18: 429-434.
8. Sells RA. A prospective randomized substitutive trial of cyclosporine as a prophylactic agent in human renal transplant rejection. *Transplant Proc* 1983; 15: 2495-2500.
9. Barton CH, Vaziri ND. Cyclosporine nephrotoxicity. *Int J Artif Organs* 1985; 8: 291-296.
10. Atkinson K, Biggs J, Dodds A et al. Cyclosporine associated hepatotoxicity after allogeneic marrow transplantation in man: Differentiation from other cause of postransplant liver disease. *Transplant Proc* 1983; 15: 2761.
11. Kahan BD. Cyclosporine. *N Engl J Med* 1989; 321: 1725-1738.
12. Mahalati K, Belitsky P, Sketris I. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. *Transplantation* 1999; 68: 55-62.
13. Morris RG, Russ GR, Cervieell MJ et al. Comparison of trough, 2-hour, and limited AUC blood sampling for monitoring cyclosporine Neoral® at day 7 post-renal transplantation and incidence of rejection in the first month. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 479-486.
14. Levy G, Burru P, Cavallari A et al. Improved clinical outcomes for liver transplant recipients using cyclosporine monitoring based on 2 hr postdose levels ( $C_2$ ). *Transplantation* 2002; 73: 953-959.

15. Grant D, Kneteman N, Tchervenkov J et al. Peak cyclosporine levels ( $C_{max}$ ) correlate with freedom from liver graft rejection: results of a prospective, randomized comparison of neoral and sandimmune for liver transplantation (NOF-8). *Transplantation* 1999; 67: 1133-1137.
16. Dunn SP, Falkenstein K, Cooney G. Neoral  $C_2$  monitoring in pediatric liver transplant recipients. *Transplant Proc* 2001; 33: 3094-3095.
17. Levy G.  $C_2$  monitoring strategy for optimizing cyclosporine immunosuppression from the Neoral® formulation. *Bio Drugs* 2001; 15(5): 279-290.
18. Sindhi R, La Via MF, Paulling E et al. Stimulated response of peripheral lymphocytes may distinguish cyclosporine effect in renal transplant recipients receiving a cyclosporine + rapamycin regimen. *Transplantation* 2000; 15: 69: 432-436.
19. Halloran PF, Helms LM, Kuny L et al. The temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine *in vivo*. *Transplantation* 1999; 68: 1356-1361.
20. Nashan B, Cole E, Levy G et al. Clinical validation studies of neoral  $C_2$  monitoring: A review. *Transplantation* 2002; 73 (9): S3-S11.
21. Mahalati K, Belitsky P, West K et al. Approaching the therapeutic window for cyclosporine in kidney transplantation: A prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 823-833.
22. Midtvedt K, Fauchald P, Bergan S et al.  $C_2$  monitoring in maintenance renal transplant recipients: Is it worthwhile? *Transplantation* 2003, 76 (8): 1236-1238.
23. Levy G, Thervet E, Lake J et al (CONCERT Group): Patient management by neoral  $C_2$  monitoring: And international consensus statement. *Transplantation* 2002; 73 (9): S12-S18.
24. Andrews J, Cramb R. Cyclosporine: revisions in monitoring guidelines and review of current analytical methods. *Ann Clin Biochem* 2002; 39: 424-435.
25. Schütz E, Svinarov D, Shipkova M et al. Cyclosporine whole blood immunoassays (AxSYM, CEDIA and EMIT): a critical overview of performance characteristics and comparison with HPLC. *Clin Chem* 1998; 44: 2158-2164.
26. Steimer W. Performance and specificity of monoclonal immunoassays for cyclosporine monitoring: How specific is specific. *Clin Chem* 1999; 45: 371-381.
27. Ruzicka K, Schweiger C, Szerkeres T. Evaluation of four automated methods for determination of whole blood cyclosporine concentration. *Am J Clin Pathol* 1999; 112: 358-365.
28. Soldin S, Steele B, Witte D et al. Lack of specificity of cyclosporine immunoassays. *Arch Pathol Lab Med* 2003; 127: 19-22.
29. Johnston A, Chusney G, Schütz E et al. Monitoring cyclosporine in blood: between-assay differences at trough and 2 hours post-dose ( $C_2$ ). *Ther Drug Monit* 2003; 25: 167-173.
30. Schütz E, Streit F, Dias V et al. Immunoassays in comparison to LC-MS/MS, is there a difference between trough ( $C_0$ ) and  $C_2$  levels? *Ther Drug Monit* 2001; 23: 471.
31. Fernández-Marmiesse A, Hermida J, Tutor JC. Comparison of predose vs 2-hour postdose blood metabolites/cyclosporine ratios in kidney and liver transplant patients. *Clin Biochem* 2000; 33: 383-386.
32. Garrido MJ, Hermida J, Tutor JC. Relationship between Cyclosporine Concentrations obtained using the Roche Cobas Integra and AbbottTDx monoclonal immunoassays in pre-dose and two hour post-dose blood samples from kidney transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 785-788.
33. Kahan BD, Keown P, Levy GA et al. Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clin Therapeutics* 2000; 24 (3): 1-21.
34. Holt DW, Johnston A, Hahan BD et al. New approaches to cyclosporine monitoring raise further concerns about analytical techniques. *Clin Chem* 2000;46:872-874.
35. Saint-Marcoux F, Rousseau A, Le Meur Y et al. Influence of sampling-time error on cyclosporine measurements nominally at 2 hours after administration. *Clin Chem* 2003; 49 (5): 813-815.
36. Loor R, Pope L, Boyd R et al. Monitoring cyclosporine of pre-dose and post-dose samples using nonextraction homogeneous immunoassay. *Ther Drug Monit* 2004; 26(1): 58-67.