

1   **RECOMENDACIONES PARA LA MEDICIÓN DE NIVELES PLASMÁTICOS DE FÁRMACOS**  
2   **INMUNOSUPRESORES EN EL MONITOREO DE DROGAS TERAPEÚTICAS EN EL**  
3   **LABORATORIO CLÍNICO.**

4

5   **AUTOR**

6

7   BQ. María Paola Pellegrini Pinto. Jefa Sección Química Clínica. Subdepartamento  
8   Enfermedades No Transmisibles. Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de  
9   Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.

10

11

12

13   **REVISORES INTERNOS**

14

15   Dra. Verónica Ramírez Muñoz. Jefe Subdepartamento Coordinación Externa. Departamento  
16   Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública de Chile.

17

18   BQ. Hugo Moscoso Espinoza. Jefe Subdepartamento Enfermedades No Transmisibles.  
19   Departamento Laboratorio Biomédico Nacional y de Referencia. Instituto de Salud Pública  
20   de Chile.

21

22

23   **REVISORES EXTERNOS**

24

25   QF. Carolina Salas Palma. Jefe Laboratorio Clínico Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna.

26

27   QF. Daniel Navea Montoya. Director técnico Laboratorio Farmacocinética Hospital Dr. Luis  
28   Calvo Mackenna

29

30

31

32

33

34

35

36	<b>INDICE DE CONTENIDOS</b>	
37		
38	1.- RESUMEN	Página: 3
39		
40	2.- ALCANCE	Página: 3
41		
42	3.- INTRODUCCIÓN	Página: 3
43		
44	4.- DESARROLLO	Página: 5
45		
46	5.- RECOMENDACIONES GENERALES	Página: 7
47		
48	5.1.- Fase Pre examen	Página: 8
49	5.2.- Fase examen	Página: 9
50		
51	6.- METODOLOGÍAS ANALÍTICAS	Página: 10
52		
53	6.1.- DE REFERENCIA	Página: 10
54		
55	6.2.- DE INMUNOENSAYO	Página: 11
56		
57	7.- PRINCIPALES INMUNOSUPRESORES	Página: 14
58		
59	7.1.- Ciclosporina A	Página: 14
60		
61	7.2.- Tacrolimus	Página: 17
62		
63	7.3.- Sirolimus	Página: 20
64		
65	7.4.- Everolimus	Página: 23
66		
67	7.5.- Micofenolato	Página: 25
68		
69	8.- ANEXO FIGURA N°1 y 2	Página: 28
70		
71	9.- REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	Página: 30
72		
73		
74		

75 **1.- RESUMEN**

76

77 Los fármacos inmunosupresores se caracterizan por poseer un estrecho rango terapéutico,  
78 además de presentar una gran variabilidad farmacocinética y farmacodinámica tanto intra  
79 como inter individual, por lo que la monitorización de sus concentraciones plasmáticas es  
80 la base para la dosificación. Por este motivo se requiere que el laboratorio clínico realice  
81 estos exámenes con un alto grado de precisión y exactitud.

82

83 El presente documento se elaboró para entregar recomendaciones, tanto al equipo clínico  
84 tratante, como a los profesionales de laboratorio clínico que realizan o deseen realizar estos  
85 exámenes, teniendo en consideración diferentes aspectos técnicos que puedan afectar las  
86 mediciones.

87

88

89 **2.- ALCANCE**

90

91

92 En el presente documento se dan recomendaciones básicas a tener en cuenta por los  
93 laboratorios clínicos para la realización o implementación de los exámenes de  
94 determinación de niveles plasmáticos de fármacos inmunosupresores más frecuentemente  
95 utilizados en nuestro país, los cuales son usados principalmente posterior al trasplante de  
96 órganos con el objetivo de inhibir la actividad del sistema inmunitario para prevenir el  
97 rechazo de trasplantes de órganos o células madre, y para tratar enfermedades  
98 autoinmunes como el lupus o la enfermedad inflamatoria intestinal. En este documento se  
99 incluyen los fármacos ciclosporina A, tacrolimus, sirolimus, everolimus y ácido micofenólico,  
100 considerando los diferentes métodos analíticos disponibles en el mercado.

101

102

103 **3.- INTRODUCCIÓN**

104

105

106 Según la definición proporcionada por el International Association of Therapeutic Drug  
107 Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT), la monitorización terapéutica de drogas  
108 (Therapeutic drug monitoring, TDM) es una especialidad clínica multidisciplinaria cuyo

109

110 objetivo es mejorar la atención al paciente mediante el ajuste individual de la dosis de un  
111 fármaco. La experiencia clínica y los ensayos clínicos han demostrado que dicho ajuste  
112 mejora el resultado clínico en una población general o específica.

113

114 La farmacocinética clínica contribuye a establecer pautas posológicas individualizadas,  
115 consensuadas, tomando en consideración el criterio clínico, la situación del paciente y el  
116 análisis farmacocinético del valor de concentración plasmática determinado en una  
117 muestra de sangre. Al utilizar el resultado de una concentración diagnóstica y evaluarlo en  
118 conjunto con un equipo multidisciplinario, este se convierte en una prueba diagnóstica que  
119 representa una gran ventaja en la terapia inmunosupresora que recibe el paciente.

120

121 Se entiende como farmacocinética el estudio de la absorción, distribución, metabolismo y  
122 excreción de los medicamentos por el organismo, en palabras simples es la forma en que el  
123 organismo biotransforma el fármaco.

124

125 El primer objetivo de la farmacocinética clínica es la individualización de dosis, buscando un  
126 mayor beneficio del tratamiento farmacoterapéutico instaurado, con lo que se consigue  
127 minimizar la posible toxicidad y asimismo incrementar la probabilidad de conseguir efectos  
128 terapéuticos deseados, debido a que para medicamentos que presentan comportamiento  
129 que no son lineales ni predecibles, además de existir una gran variabilidad interindividual,  
130 es lo que en gran medida justifica la medición de los niveles plasmáticos de tales fármacos  
131 para ajustar dosis.

132

133 Es bien sabido que cuando a un paciente no se le puede medir la respuesta farmacológica,  
134 con parámetros simples y seguros, la determinación de la concentración del fármaco en  
135 sangre es el método más útil para establecer la dosis óptima y como consecuencia, el plan  
136 de seguimiento clínico terapéutico que el paciente deberá seguir para asegurar la  
137 efectividad y seguridad de su tratamiento, dejándose de lado prácticas como: relaciones  
138 empíricas dosis-respuesta, experiencia e intuición médica, interpretación de la respuesta  
139 clínica observada; además se debe tomar en cuenta que la intensidad del efecto  
140 farmacológico se correlaciona más estrechamente con su concentración plasmática que con  
141 su dosis y por lo tanto permite optimizar su farmacoterapia.

142

143

144

145 De esta forma el objetivo de la TDM es eliminar fracasos terapéuticos por una dosis  
146 insuficiente y evitar toxicidades por una dosis excesiva, es decir, lograr una máxima eficacia  
147 con mínimos efectos adversos.

148

149 Los fármacos inmunosupresores se utilizan para el tratamiento de diversas enfermedades,  
150 tales como del tipo inmunitarias (artritis reumatoídea, lupus eritematoso sistémico),  
151 alergias, mieloma múltiple, nefritis crónica, entre otras, destacándose como base del  
152 tratamiento farmacológico para la mantención (aumento de la sobrevida) y prevención del  
153 rechazo en pacientes receptores de órganos trasplantados. En esta última aplicación, la  
154 terapia inmunosupresora óptima es básica y esencial para la mantención del órgano  
155 transplantado.

156

157 Los fármacos inmunosupresores se caracterizan por poseer un estrecho margen  
158 terapéutico y una gran variabilidad intra e inter individual, lo cual incrementa las  
159 posibilidades de falla terapéutica cuando se usa una dosis estándar para todos los  
160 pacientes, por lo tanto, es importante poder usar todas las herramientas disponibles para  
161 minimizar la toxicidad y evitar la pérdida o deterioro del órgano trasplantado. Es aquí donde  
162 juega un rol muy importante el laboratorio clínico puesto que las mediciones de niveles  
163 plasmáticos que entregue al equipo clínico, permitirán optimizar las terapias  
164 inmunosupresoras.

165

166 Para obtener resultados analíticos exactos y precisos, los laboratorios clínicos han  
167 incorporado metodologías que pueden cumplir con dichos requisitos. Gran parte de las  
168 mediciones de niveles de inmunosupresores se pueden realizar mediante Cromatografía  
169 Líquida de Alta Resolución (HPLC) transformándose en el método *Gold Standard* para la  
170 mayoría de estas determinaciones. Por otra parte, mediante la introducción de  
171 inmunoensayos se ha podido masificar la cuantificación al introducir equipamiento de  
172 menor costo y de uso rutinario en el laboratorio, lo que permite que los profesionales de  
173 laboratorio de rutina puedan realizar los análisis, esto considerando que el método de HPLC  
174 requiere de profesionales altamente calificados. En este contexto los inmunoensayos son  
175 métodos capaces de tener un buen comportamiento en cuanto a resolución y especificidad,  
176 además de una buena correlación con el *Gold Standard*. Cabe señalar, que en la actualidad  
177 se desarrollan técnicas acopladas a detectores de masa (HPLC/MS/MS) los cuales han  
178 entregado utilidad en los casos en que no es posible realizar la diferenciación de los  
179 fármacos mediante HPLC convencional o existe gran cantidad de interferentes en las

180 muestras. Las recomendaciones para el laboratorio clínico abordan, desde las  
181 consideraciones técnicas para la medición cuantitativa de la concentración y seguimiento  
182 de sus niveles plasmáticos, el control de calidad interno y externo a tener presente al  
183 momento de seleccionar determinados tipos de técnicas analíticas disponibles.  
184 Adicionalmente se incluyen consideraciones útiles para la toma de muestra, manipulación  
185 de las muestras, transporte, estabilidad y sensibilidad analítica de los diferentes métodos.

186

187

#### 188 **4.- DESARROLLO**

189

190

191 El éxito logrado en el transcurso de las últimas décadas, mejorando la supervivencia de los  
192 injertos en los receptores de trasplantes de órganos ha dependido en gran medida del  
193 desarrollo y uso clínico de fármacos inmunosupresores de probada eficacia. El mejor  
194 ejemplo tuvo lugar en la década de los ochenta, con la disponibilidad de la ciclosporina A  
195 (CsA), que permitió una reducción significativa en la incidencia de eventos de rechazo agudo  
196 y una mejoría sustancial en la sobrevida de injertos a corto plazo. En los noventas, se  
197 introdujeron nuevos inmunosupresores, los cuales han contribuido a reducir todavía más la  
198 frecuencia de este tipo de rechazos y mejorar los perfiles de efectos adversos.

199

200 En los últimos 25 años se ha comprendido de mejor forma los beneficios de combinar  
201 fármacos inmunosupresores y la importancia de contar con una mayor compatibilidad entre  
202 receptor y donante, así como también la importancia de preservación de órganos y quimio  
203 profilaxis de infecciones oportunistas. Todos estos adelantos contribuyen a una progresiva  
204 mejoría en la evolución clínica. Así, receptores no sensibilizados de un primer trasplante de  
205 riñón de donante cadáver o vivo tienen ahora una expectativa de sobrevida al año de al  
206 menos un 95% (paciente) y un 90% (injerto).

207

208 El TDM, ayuda a calcular la dosis de fármaco a administrar, evitando de este modo la  
209 aparición de reacciones adversas que pudiesen estar relacionados con la gran variabilidad  
210 farmacocinética y farmacodinámica inter individual e intra individual, al igual que la  
211 dependencia de los niveles terapéuticos del período post trasplante. Por otra parte,  
212 considera una serie de parámetros, desde la extracción de la muestra del paciente,  
213 medición de los niveles plasmáticos de inmunosupresores e interpretación de resultados.

214

215 Los métodos analíticos y sus resultados son de gran relevancia, especialmente al momento  
216 del ajuste terapéutico, en donde el equipo clínico tratante debe considerar el estado clínico  
217 del paciente y el nivel de concentración del inmunosupresor.

218

219 El TDM es una práctica habitual en pacientes que reciben terapia post trasplante, este  
220 monitoreo considera desde la toma de muestra hasta la cuantificación del inmunosupresor,  
221 interpretación de resultados y posterior uso de esta información para el ajuste de dosis  
222 adecuado. Para lo anterior es de vital importancia que los métodos analíticos utilizados para  
223 estos fines sean confiables, con un alto grado de exactitud y precisión, para que el equipo  
224 clínico realice el ajuste del esquema terapéutico sobre la base del estado clínico y el nivel  
225 de concentración del o de los inmunosupresores en estudio. Es importante además  
226 participar de un programa de control de calidad externo.

227

228 Se han elaborado numerosos documentos de consenso sobre TDM de inmunosupresores,  
229 asimismo una de las asociaciones internacionales dedicada a este tema es la International  
230 Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDM-CT). En el 2000  
231 se formó un grupo de trabajo sobre inmunosupresores entre la Federación Internacional de  
232 Química Clínica, IFCC (International Federation of Clinical Chemistry) con la IATDM-CT, el  
233 cual se ha dedicado a entregar información de utilidad para los laboratorios clínicos y  
234 farmacéuticos para el monitoreo de fármacos inmunosupresores y la interpretación de  
235 estos resultados.

236

237 Respecto de las mediciones requeridas para los inmunosupresores por el laboratorio clínico,  
238 se han desarrollado diferentes métodos analíticos para cuantificarlos utilizando  
239 Inmunoensayos (IA) acoplados a diversas tecnologías de detección tales como  
240 Radioinmunoensayo (Radioimmunoassay, RIA), Enzyme Multiplied Immunoassay (EMIT),  
241 Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay (ELISA), Chemiluminescent Enzyme Immunoassay  
242 (CLIA), Electro-Chemiluminescent Immunoassay (ECLIA), Automated Antibody Conjugated  
243 Magnetic Immunoassay (ACMIA), Cyclosporine Extended Range Assay (CSAE). En la  
244 actualidad se encuentran incorporado junto al HPLC métodos cromatográficos acoplados a  
245 espectrometría de masas (HPLC-MS/MS), los cuales aparecen como métodos *gold estándar*.  
246 Una de las principales desventajas que poseen los inmunoensayos es la reactividad cruzada  
247 de la droga en estudio con algunos de sus metabolitos, lo cual puede producir una sobre  
248 estimación, esta consideración se debe tener presente al compararlos con los métodos  
249 HPLC y los de espectrometría de masas.

250 Es importante mencionar que la mayoría de los métodos analíticos disponibles miden la  
251 droga total presente en el plasma (droga libre más droga unida a proteínas), lo cual no  
252 corresponde a la proporción o cantidad de droga que efectivamente tiene el efecto  
253 inmunosupresor que es la droga libre, sin embargo, los valores de referencia o intervalo  
254 terapéutico con el que se trabaja y dosifica está estimado en base a esta medición o  
255 resultado.

256

257 Antes de seleccionar la metodología de análisis a implementar, es importante considerar  
258 los métodos disponibles en el laboratorio y que tiempos de respuesta son posibles de  
259 establecer, lo cual depende de la necesidad del equipo clínico, disponibilidad  
260 presupuestaria, volúmenes de muestra, entre otras consideraciones.

261

262

## 263 **5.- RECOMENDACIONES GENERALES**

264

265 Algunas recomendaciones y directrices generales para la medición cuantitativa de la  
266 concentración de los inmunosupresores y monitorización de sus niveles plasmáticos:

267

### 268 **5.1 Fase Pre examen**

269

- 270 • Es necesario disponer de una orden de solicitud de examen y/o información básica  
271 del paciente, datos relacionados con el tratamiento farmacológico como: dosis,  
272 fecha y hora de última administración, fecha y hora de toma de muestra, además de  
273 consignar otros datos como cuál es el objetivo de la monitorización, es decir, control  
274 de tratamiento, sospecha de intoxicación, entre otros.
- 275 • Dependiendo del fármaco inmunosupresor a monitorizar, es importante definir el  
276 momento óptimo de extracción de la muestra, con el fin de adecuar el número de  
277 extracciones de sangre a las estrictamente necesarias. El momento de extracción  
278 debe ser el nivel que tenga una mejor correlación con el área bajo la curva (ABC) del  
279 medicamento o el que se defina por consenso en la guía clínica para el tratamiento  
280 farmacoterapéutico.
- 281 • La monitorización se debe realizar en el estado estacionario definido para el  
282 respectivo fármaco.
- 283 • Considerar el lugar de extracción, si son obtenidas durante una infusión intra venosa  
284 continua, la muestra debe tomarse del miembro opuesto. Si la muestra de la misma

vía IV por la que se administró previamente el medicamento, ésta debe ser cuidadosamente lavada con suero fisiológico.

- Tipo de contenedor: En general para todos los inmunosupresores abordados en el presente documento se deben utilizar tubos para toma de muestras de sangre con anticoagulante EDTA.
  - Estabilidad: Aunque las muestras pueden conservarse hasta por 5 días a 15-25°C, de acuerdo a las recomendaciones internacionales del CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) si éstas no se procesan dentro de 8 horas, se recomienda conservarlas de forma refrigerada a 2-8°C, en los tubos originales, tapados bajo estas condiciones las muestras de sangre son estables hasta por 7 días. Si se requiere conservarlas por mayor tiempo, se recomienda conservarlas congeladas a -20°C hasta por un máximo de 6 meses (para Tacrolimus). Una vez descongelada mezclar cuidadosamente hasta obtener una mezcla completamente homogénea, sin agitar para evitar la formación de espuma. No volver a congelar. Las muestras congeladas y refrigeradas deben alcanzar la temperatura ambiente antes de su pretratamiento.
  - Para el caso de immunoensayos, las muestras pretratadas con el reactivo hemolizante deben analizarse dentro de 30 minutos para evitar la evaporación. En caso contrario, se pueden conservar en tubos cerrados hasta por 4 horas a temperatura ambiente (20-25°C). Se recomienda una vez abierto estos tubos procesarlas dentro de 30 minutos, evitando retrasos entre las muestras para que todas se analicen dentro de los tiempos recomendados.

## 5.2 Fase Examen

- El método analítico debe estar validado o verificado, según corresponda, y el laboratorio debe disponer de un programa de control de calidad interno y participar en un programa de control de calidad externo.
  - La determinación analítica se realiza preferentemente en sangre completa.
  - Para el control de calidad analítico, incorporar en las mediciones controles de tercera opinión, independientes de los controles de primera opinión que pudiesen ser parte de los kits analíticos del fabricante.

- 318     • El laboratorio clínico debe disponer de un programa de control de calidad interno y  
 319        participar en programas de control de calidad externos para controlar sus métodos  
 320        analíticos en uso y evaluar su desempeño analítico.  
 321     • Los laboratorios pueden seguir las orientaciones disponibles en la “Guía técnica para  
 322        control de calidad de mediciones cuantitativas en el laboratorio clínico” (ISP, 2015).  
 323     • En la siguiente tabla se describen algunos de los programas de evaluación externa  
 324        de la calidad disponibles que abordan los inmunosupresores de uso frecuente:  
 325

<b>Organismo organizador del PEEC</b>	<b>Nombre del Programa</b>	<b>Inmunosupresores evaluados</b>
CAP College American Pathology	Immunosuppressive Drugs CS	Ciclosporina Tacrolimus Sirolimus
	Everolimus EV	Everolimus
	Mycophenolic Acid MPA	Ácido micofenólico
RIQAS	Immunosupprressant Programme	Ciclosporina
		Tacrolimus
		Sirolimus
		Everolimus
EQAS	Therapeutic Drug Monitoring Program	Tacrolimus Sirolimus Ciclosporina Everolimus
UKNEQAS	Immunosuppressants	Ciclosporina Tacrolimus Sirolimus Everolimus Mycophenolate

- 326  
 327  
 328 **6.- METODOLOGÍAS ANALÍTICAS DISPONIBLES**  
 329  
 330  
 331 Las metodologías disponibles para la cuantificación y monitorización de los  
 332 inmunosupresores se pueden dividir en dos grandes categorías: aquellas consideradas  
 333 como de referencia, implementadas normalmente en centros de referencia y universidades  
 334 y aquellos métodos de menor complejidad que permiten su uso habitualmente en la rutina

335 de los laboratorios, estas últimas aportadas por diversos fabricantes de reactivos de  
336 diagnóstico.

337

338

339 **6.1.- Metodologías de Referencia o *Gold Standard***

340

341 **Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC)**

342 Los métodos analíticos de HPLC para la cuantificación de los inmunosupresores han sido  
343 considerados por varios años como las técnicas analíticas *gold standard* para este tipo de  
344 mediciones, los cuales están libres de interferencias y reacciones cruzadas con los  
345 metabolitos de los inmunosupresores y presentan una elevada sensibilidad.

346 Estas técnicas son esencialmente manuales y particularmente dependientes del operador  
347 en el proceso de extracción del fármaco total.

348

349 **Ventajas:**

- 350 • Alto grado de precisión y exactitud.

351

352 **Desventajas:**

- 353 • Se requiere una mayor inversión inicial en comparación con otras metodologías.  
354 • Es necesario contar con personal con competencias específicas y entrenado.  
355 • Fase de Pre-examen esencialmente manual.

356

357 **Cromatografía Líquida de Alta Resolución acoplado a detector de Masas (HPLC/MS/MS)**

358

359 La espectrometría de masas acoplada a HPLC con detectores del tipo cuadrupolo,  
360 LC/MS/MS permite hoy en día la cuantificación simultánea de los inmunosupresores  
361 ciclosporina A, tacrolimus, sirolimus y everolimus en una sola muestra de sangre, la cual  
362 debe ser previamente sometida a un proceso de precipitación de sus proteínas.

363 Estas detecciones son altamente selectivas, específicas, sensibles y en general requieren  
364 menores tiempos de análisis. La detección y cuantificación de los inmunosupresores están  
365 dentro de los siguientes intervalos de concentración: 2,5 a 30 ng/mL para tacrolimus,  
366 sirolimus y everolimus y de 50 a 1500 ng/mL para CsA. En la actualidad se presenta como  
367 método de referencia para la cuantificación de esos cuatro inmunosupresores y existen ya  
368 algunos fabricantes internacionales que los comercializan como kits para este tipo de  
369 instrumentos.

370      **Ventajas:**

- 371      ● Alto grado de precisión y exactitud.  
372      ● Pueden procesarse simultáneamente cuatro inmunosupresores y un elevado  
373      número de muestras si se dispone de un autosampler.

374

375      **Desventajas:**

- 376      ● Se requiere una mayor inversión inicial en comparación con otras metodologías.  
377      ● Es necesario contar con personal con competencias específicas y entrenado.  
378      ● Fase de Pre-examen esencialmente manual.

379

380

381      **6.2.- Metodologías de Inmunoensayo**

382

383      **ECLIA (Electro-Chemiluminescent Immunoassay)**

384

385      Es una prueba inmunológica de electroquimioluminiscencia, para la cuantificación del  
386      fármaco en sangre humana total.

387

388      Utiliza un reactivo de pretratamiento, el cual sirve para la lisis de los glóbulos rojos y  
389      precipitación de la mayoría de las proteínas sanguíneas. Posteriormente, para extraer el  
390      fármaco, la muestra se centrifuga y se extrae el sobrenadante, que es la porción que debe  
391      ser analizada y que contiene la CsA total.

392

393      La duración de la técnica individual (principio de competición) tiene una duración final de  
394      18 minutos:

395

- 396      ● En una primera incubación la muestra pretratada se incuba con un anticuerpo  
397      monoclonal anti-fármaco marcada con biotina y un derivado de fármaco marcada  
398      con quelato de rutenio (complejo tris (2,2'-bipiridina) rutenio II). Según la  
399      concentración de CsA en la muestra y la formación del respectivo inmunocomplejo,  
400      los puntos de fijación del anticuerpo marcado son ocupados en parte por el analito  
401      contenido en la muestra y en parte por el hapteno marcado con rutenio.
- 402
- 403      ● En una segunda incubación, después de incorporar las micropartículas recubiertas  
404      de estreptavidina, el complejo formado se fija a la fase sólida por interacción entre  
405      la biotina y la estreptavidina.

406

407 La mezcla de reactivos se traslada a la celda de lectura donde, por magnetismo, las  
408 micropartículas se fijan a la superficie del electrodo. Los elementos no fijados se eliminan  
409 posteriormente por efecto de una solución específica. Finalmente, se aplica una corriente  
410 eléctrica que produce una reacción quimioluminiscente cuya emisión de luz se mide  
411 espectrofotométricamente.

412

413 Los resultados se obtienen mediante una curva de calibración generada por el sistema a  
414 partir de una calibración a 2 puntos y una curva máster incluida en el código de barras del  
415 reactivo.

416

#### 417 **CLIA (Chemiluminescent Enzyme Immunoassay)**

418

419 Esta metodología utiliza un inmunoanálisis quimioluminiscente amplificado de  
420 micropartículas de dos pasos.

421

422 Tiene características similares del método anterior respecto de requerir de un  
423 pretratamiento previo, de tipo manual, que tiene como objetivo desproteinizar las  
424 muestras de sangre por medio de centrifugación. El sobrenadante obtenido es el que  
425 contiene la droga total presente en la muestra y es el utilizado para realizar la medición.  
426 Para realizar la medición en el equipo es necesario utilizar un tubo de pretratamiento, el  
427 cual es colocado en el autoanalizador.

428

429 En el primer paso, se combinan la muestra, el diluyente de ensayo y las micropartículas  
430 paramagnéticas recubiertas de anticuerpo anti-fármaco. El fármaco presente en la muestra  
431 se une a las micropartículas. Después del lavado se añade el conjugado de fármaco marcado  
432 con acridinio para constituir un complejo inmune. Las soluciones preactivadora y activadora  
433 se añaden a la mezcla de reacción después de otro ciclo de lavado y la reacción  
434 quimioluminiscente resultante se mide espectrofotométricamente. Existe una relación  
435 indirectamente proporcional entre la cantidad de fármaco presente en la muestra y las  
436 unidades relativas de luz medidas, detectadas por el sistema óptico del analizador químico.

437

438

439

440

441 **ACMIA (Automated Antibody Conjugated Magnetic Immunoassay)**

442

443 El método ACMIA es un inmunoensayo competitivo que utiliza tecnología de  
444 quimioluminiscencia directa. El fármaco presente en la muestra del paciente compite con  
445 el fármaco marcado con éster de acridinio del reactivo por una cantidad limitada de  
446 anticuerpo anti-fármaco monoclonal de ratón marcado con biotina. El anticuerpo anti-  
447 fármaco marcado con biotina se une a estreptavidina, que está unida de forma covalente a  
448 partículas paramagnéticas de la fase sólida. Para este ensayo, la muestra se trata  
449 previamente de forma manual para lisar las células y solubilizar el fármaco en estudio.

450

451 **CSAE (Cyclosporine Extended Range Assay).**

452

453 Al igual que los métodos anteriores, requiere de un pretratamiento de la muestra. Utiliza  
454 un método de inmunoensayo heterogéneo automatizado con sistema acoplado a la enzima  
455  $\beta$ -galactosidasa, sustratos y reactivos necesarios para generar lecturas bicromáticas que son  
456 proporcionales a la cantidad de fármaco presente en la muestra de reacción.

457

458 **Análisis CEDIA PLUS**

459

460 Utiliza la tecnología recombinante del ADN para producir un sistema de  
461 enzimoinmunoanálisis homogéneo. El análisis se basa en la enzima bacteriana  $\beta$ -  
462 galactosidasa, que se ha preparado genéticamente dividiéndola en dos fragmentos  
463 inactivos. Estos fragmentos se vuelven a asociar espontáneamente para formar enzimas  
464 totalmente activas que, durante el análisis, descomponen un sustrato y generan un cambio  
465 de color que puede medirse espectrofotométricamente.

466

467 En el análisis, el fármaco de la muestra compite con el fármaco conjugado con un fragmento  
468 inactivo de  $\beta$ -galactosidasa por los lugares de unión de los anticuerpos monoclonales  
469 específicos para el fármaco. Si la muestra contiene el fármaco, ésta se fija al anticuerpo y  
470 deja libre los fragmentos enzimáticos inactivos, que forman enzimas activas. Si la muestra  
471 no contiene el fármaco, el anticuerpo se fija al fármaco conjugado en el fragmento inactivo  
472 e inhibe la recombinación de los fragmentos de  $\beta$ -galactosidasa inactivos, impidiendo la  
473 formación de una enzima activa. La cantidad de enzima activa formada y el cambio de  
474 absorbancia son directamente proporcionales a la cantidad de fármaco que contenga la  
475 muestra.

476 **EMIT (Enzyme Multiplied Immunoassay)**

477

478 EMIT es un enzimoinmunoensayo homogéneo competitivo, variante que no requiere  
479 etapas de separación final, lo que permite un proceso de fácil automatización en los  
480 instrumentos analíticos.

481

482 El ensayo se fundamenta en la inhibición o activación del marcador enzimático, al  
483 producirse la unión antígeno-anticuerpo, no siendo necesario ningún paso de lavado  
484 posterior, dado que la reacción se realiza en el mismo tubo o celda de lectura.

485

486

487 **7.- PRINCIPALES CARACTERISTICAS DE LOS FÁRMACOS INMUNOSUPRESORES Y**  
488 **RECOMENDACIONES PARA SU MONITOREO.**

489

490

491 **7.1.- Ciclosporina A (CsA)**

492

493 La ciclosporina A se extrae de diferentes especies de hongos como el *Trichoderma*  
494 *polysporum*, *Bauveria nivea*, entre otros. Es un péptido cíclico neutro, compuesto de 11  
495 aminoácidos y una masa relativa de 1203 g/mol, es altamente liposoluble, se metaboliza a  
496 nivel hepático y se han identificado 11 metabolitos, (ver Figura N°1).

497

498 Este fármaco fue introducido en 1980 como terapia inmunosupresora en reemplazo de la  
499 azatioprina.

500

501 **Mecanismo de acción**

502

503 La CsA se utiliza principalmente como fármaco inmunosupresor para prevenir el rechazo de  
504 órganos en pacientes trasplantados (tanto de órganos sólidos como de precursores  
505 hematopoyéticos), atraviesa la membrana celular libremente y produce inmunosupresión  
506 al bloquear la activación de los linfocitos T, al unirse al receptor de la inmunofilina,  
507 ciclofilina, inhibiendo la actividad fosfatasa de la calcineurina, que participa en la  
508 transcripción del ácido ribonucleico para la síntesis de interleuquinas (IL-2, IL-3, IL-4 y IL-  
509 12), mediadores de la inflamación y factores estimulantes de macrófagos y granulocitos. La  
510 inhibición de la calcineurina también produce otros efectos intracelulares que contribuyen

511 al efecto inmunosupresivo. La CsA también puede provocar efectos adversos tales como  
512 nefrotoxicidad aguda, reducción del flujo sanguíneo renal, vasoconstricción arterial  
513 aferente, disminución de la velocidad glomerular e incremento de la resistencia vascular  
514 renal, (ver Figura N°2).

515

#### 516 **Características farmacocinéticas**

517

518 Absorción: La absorción es variable y depende del individuo y de la forma farmacéutica,  
519 siendo mejor absorbida en forma de emulsión. La biodisponibilidad oral es del 20 al 50%.  
520 La relación entre la dosis administrada y la exposición (AUC) de ciclosporina A es lineal  
521 dentro del intervalo de dosis terapéutica.

522

523 Unión a proteínas: Aproximadamente el 90% se encuentra unido a proteínas  
524 (principalmente lipoproteínas).

525

526 Vida media: La distribución del fármaco sigue un modelo bicompartimental (con  
527 distribución a nivel sanguíneo y órgano periférico) y variable, aproximadamente 7 horas en  
528 niños (rango entre 7 a 19 horas) y 19 horas en adultos (rango de 10 a 27 horas).

529

530 Metabolización: en el tracto gastrointestinal, los riñones y el hígado.

531

532 Eliminación: Principalmente biliar, solo el 6% se excreta por la orina. Solo un 0,1% de la dosis  
533 se excreta por la orina sin cambio.

534

#### 535 **Momento de monitorización**

536

537 Se utiliza ampliamente la medición del nivel pre dosis (C0) o basal, cuya muestra se debe  
538 tomar media hora antes de la ingestión de la siguiente dosis del medicamento. El estudio  
539 pionero de Levy y col. demostró que la mejor correlación con el Área Bajo la Curva (AUC) se  
540 lograba con la C2 (determinación a las 2 horas de la toma del fármaco). Algunos estudios  
541 han demostrado que el nivel C2 se correlaciona mejor con una mayor inhibición de los  
542 linfocitos T productores de IL-2 y una mayor inhibición de la Calcineurina, lo que explica su  
543 efecto inmunosupresor. Otro de los estudios a favor del uso de C2 es relacionado a una  
544 ventaja analítica de C2 puesto que hay una menor relación metabolitos / CsA que en C0 y  
545 no habría tantas diferencias entre los distintos métodos analíticos.

546 Es muy importante destacar que los estudios mencionados anteriormente han sido  
547 realizados en pacientes sometidos a trasplantes de órganos sólidos, principalmente en  
548 riñón e hígado por lo que no se pueden aplicar directamente a la infusión de precursores  
549 hematopoyéticos, en que sólo se ha estudiado la aplicación de metodología basada en el  
550 monitoreo en CO.

551

552 Volumen de muestra: Se debe respetar siempre el volumen del llenado indicado en el tubo  
553 lavanda (EDTA), como mínimo se pueden aceptar microtubos de 0,5 mL.

554

**555 Métodos analíticos disponibles para CsA**

556 ACMIA

557 EMIT

558 CLIA

559 ECLIA

560 HPLC

561

**562 Intervalos de medición analítica**

563 Los intervalos de medición para CsA para los diferentes sistemas analíticos indicados van  
564 desde 30 – 2000 ng/mL.

565

**566 Intervalo de referencia**

567 No existe un nivel terapéutico definido para CsA en sangre total. Para determinar el nivel  
568 óptimo de CsA en sangre deben considerarse variados factores, tales como como la  
569 complejidad del estado clínico del paciente, las diferentes sensibilidades individuales frente  
570 a los efectos inmunosupresores y nefrotóxicos de la CsA, la coadministración de otros  
571 inmunosupresores, el tipo de trasplante, el tiempo transcurrido desde el trasplante.

572 Los valores individuales de CsA no pueden utilizarse como indicador único para justificar la  
573 modificación del tratamiento. Cada paciente debe ser evaluado meticulosamente desde el  
574 punto de vista clínico antes de que se haga cualquier ajuste al tratamiento y cada usuario  
575 de ensayos para cuantificar niveles de CsA debe establecer sus propios límites en base a la  
576 experiencia clínica.

577

578 Estos niveles varían de acuerdo a la prueba de diagnóstico in vitro comercial utilizada, sin  
579 embargo, para Trasplante de precursores hematopoyéticos, se considera lo siguiente:

580

Nivel	Tiempo post trasplante	Niveles Terapéuticos
CsA C0	Día 0 a día 21	250-300 ng/mL
CsA C0	Día 21 en adelante	150 – 300 ng/mL

581

582 Para trasplante hepático, lo siguiente:

583

Nivel	Tiempo post trasplante	Niveles Terapéuticos
CsA C2	0 a 3 meses	1000 - 1100 ng/mL
CsA C2	3 a 6 meses	800 - 1000 ng/mL
CsA C2	6 meses en adelante	600 – 800 ng/mL

584

585 Nivel de toxicidad: &gt; 350 ng/mL.

586

587

588 **7.2.- Tacrolimus**

589

590 El tacrolimus es un macrólido con un anillo de lactona, con 23 miembros de carbón,  
591 proveniente de la bacteria *Streptomyces tsukubaensis*. Fue aislado por primera vez en Japón  
592 en el año 1984, (ver Figura N°1).

593

594 **Mecanismo de acción**

595

596 Al igual que la CsA, tacrolimus ejerce su acción inmunosupresora formando un complejo al  
597 unirse con la inmunofilina y de esta forma reduce la actividad de la peptidil-prolil isomerasa.  
598 Es este complejo el que interactúa e inhibe a la calcineurina disminuyendo la transcripción  
599 de linfocinas, IL-2, IL-3, IL-4, el factor estimulante de colonias de granulocitos-macrófagos y  
600 de interferón gamma, en los linfocitos T, reduciendo la respuesta proliferativa de éstas  
601 células frente a antígenos y mitógenos.

602

603 El mecanismo de acción del tacrolimus es similar al de CsA, pero su incidencia en el rechazo  
604 agudo es menor. Respecto a la supervivencia de trasplantes y al efecto inmunosupresor a  
605 corto plazo, tanto CsA como tacrolimus producen efectos similares, sin embargo, a largo  
606 plazo tacrolimus produce efectos más favorables en la supervivencia del trasplante y  
607 rechazo.

608

609 Sus propiedades son similares a las de CsA, pero su acción es mucho más potente. Tiene un  
610 amplio rango de interacciones. Algunos antifúngicos del tipo azol incrementan los niveles  
611 plasmáticos por competencia con las enzimas que los degradan. La inmunosupresión con  
612 tacrolimus se asocia con significativa baja de rechazo agudo si se compara con CsA,  
613 adicionalmente la respuesta clínica durante el primer año de tratamiento es mejor con  
614 tacrolimus que con CsA en el trasplante hepático, (ver Figura N°2).

615

#### 616 **Características farmacocinéticas**

617

618 Absorción: la biodisponibilidad oral promedio es de aproximadamente un 20 % y es menor  
619 luego de ingestión de comidas ricas en grasas.

620

621 Unión a Proteínas: 75 – 99%, principalmente albúmina y  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida.

622

623 Vida media: 11,3 horas (Rango de 3,5 a 40,6 horas).

624

625 Metabolización: hepática, primariamente por la enzima CYP3A4.

626

627 Eliminación: menos del 1 % de la dosis administrada se excreta inalterada en la orina.  
628 Cuando se administra por vía intravenosa, la eliminación fecal representa el 92,6  $\pm$  30,7%,  
629 y la urinaria 2,3  $\pm$  1,1%.

630

#### 631 **Métodos analíticos para Tacrolimus**

632

633 Los métodos analíticos de inmunoensayo para tacrolimus son del mismo tipo que los  
634 descritos para CsA y requieren pretratamiento similar de las muestras, de acuerdo a lo  
635 especificado por el fabricante:

636

637 ACMIA

638 EMIT

639 CLIA

640 ECLIA

641 **HPLC**

642

643 La única diferencia radica en el tipo de analito en estudio, siendo para este caso el  
644 tacrolimus presente en la muestra de sangre.

645 El pretratamiento para el análisis de tacrolimus requiere de una extracción previa del  
646 fármaco y posterior análisis con anticuerpos específicos.

647

648 CLIA y ECLIA entregan una precisión adecuada para concentraciones de Tacrolimus de 3  
649 ng/mL. Es necesario utilizar métodos que tengan un alto grado de sensibilidad, precisión y  
650 exactitud.

651

#### 652 **Intervalos de medición analítica**

653

654 Los intervalos de medición para tacrolimus en los diferentes sistemas analíticos van desde  
655 1 a 30 ng/mL.

656

657 Un consenso europeo del año 2007 recomendó a los laboratorios productores de reactivos  
658 de diagnósticos buscar métodos analíticos para cuantificar niveles de 1 ng/mL o inferiores  
659 para así disminuir los límites de los niveles terapéuticos de 3 a 7 ng/mL.

660

#### 661 **Intervalo de referencia**

662

663 Al igual que con la ciclosporina A, existe una correlación entre los niveles de concentración  
664 sanguínea de tacrolimus y el grado de inmunosupresión y toxicidad.

665

666 Los niveles óptimos pueden variar dependiendo de la metodología analítica utilizada, sin  
667 embargo, como norma general se han establecido valores de consenso.

668

Nivel	Niveles Terapéuticos
Tacrolimus C0	5 - 20 ng/mL

669

670 En la fase de mantención del trasplante renal es recomendable una concentración de 5  
671 ng/mL al usar tacrolimus junto a otros inmunosupresores como ácido micofenólico o  
672 esteroides. Recientemente la inclusión de nuevos inmunosupresores como everolimus, han  
673 llevado a reducir las concentraciones target (concentración terapéutica esperada) a 3  
674 ng/mL, es por esto que la concentración target puede variar dependiendo de cuáles son los  
675 otros fármacos inmunosupresores que se usan de manera concomitante, por lo tanto, los  
676 niveles terapéuticos para tacrolimus varían en función de factores clínicos y de los métodos  
677 analíticos empleados para su cuantificación. Lo anterior hace complejo el establecimiento

678 de intervalos, sin embargo, como norma general se han establecido los siguientes niveles  
679 terapéuticos:

680

Nivel	Tiempo post trasplante	Niveles Terapéuticos
Tacrolimus C0	0 a 3 meses	10 – 15 ng/mL
	Mayor a 3 meses	5 – 10 ng/mL

681

682 Nivel de toxicidad: > 20 ng/mL.

683

684 Por otro lado, también han surgido protocolos de medición de Área Bajo la Curva (AUC) los  
685 que han demostrado ser un mejor predictor de toxicidad para la prevención de efectos no  
686 deseados. Puede realizarse bajo protocolo de AUC (0 a 12 hrs) y además los protocolos de  
687 muestreo limitado (LSS) donde se puede realizar el AUC sólo con 4 muestras (AUC 0-4 hrs).

688

689

### 690 **7.3.- Sirolimus**

691

692 El sirolimus, también denominado rapamicina, es un antibiótico lipofílico macrocíclico,  
693 lactona, consistente en un anillo de 31 miembros, descubierto en 1965 en una muestra de  
694 suelo en Isla de Pascua. Es producido por la bacteria *Streptomyces hygroscopicus*, (ver  
695 Figura N°1).

696

697

#### 698 **Mecanismo de acción**

699

700 El sirolimus inhibe la activación del linfocito T y su proliferación vía mTOR (mammalian  
701 target of rapamycin). Se une a las inmunofilinas FKBP12 formando un complejo  
702 sirolimus/FKBP12. El complejo de sirolimus y la inmunofilina celular FKBP12 modulan la  
703 respuesta inmune al combinarse con la proteína mTOR, e inhibiendo su activación y las fases  
704 del ciclo celular G1 a S, (ver Figura N°2).

705

#### 706 **Características farmacocinéticas**

707

708 Absorción: se absorbe poco en el tracto gastrointestinal. Su biodisponibilidad vía oral se  
709 estima que es de un 15%.

710 Unión a proteínas: aproximadamente en un 92%, con una mayor afinidad por albúmina  
711 (97%). También se une  $\alpha$ 1-glicoproteína ácida y lipoproteínas.

712

713 Vida media: 57 – 62 hrs, con un aclaramiento individual muy variable.

714

715 Metabolización: El sirolimus es metabolizado mayoritariamente en el hígado y la pared  
716 intestinal por el citocromo P450, por la isoenzima CYP3A4.

717

718 Eliminación: El sirolimus experimenta mayoritariamente desmetilación e hidroxilación y sus  
719 metabolitos se excretan en gran medida por la bilis y las heces. Solo un 2% se elimina vía  
720 renal.

721

### 722 **Métodos analíticos para Sirolimus**

723

724 ACMIA

725 E EMIT

726 CLIA

727 ECLIA

728 HPLC

729

### 730 **Intervalos de medición analítica**

731

732 Los intervalos de medición para sirolimus para los diferentes sistemas analíticos indicados  
733 van desde 0,5 a 30 ng/mL.

734

### 735 **Intervalo de referencia**

736

737 De la misma forma que tacrolimus, para determinar el nivel óptimo de sirolimus en sangre  
738 deben considerarse numerosos factores, como la complejidad del estado clínico, las  
739 diferentes sensibilidades individuales frente a los efectos inmunosupresores y nefrotóxicos  
740 del sirolimus, la coadministración de otros inmunosupresores, el tipo de trasplante, el  
741 tiempo transcurrido desde el trasplante y diversos otros factores. Los valores individuales  
742 de sirolimus no pueden utilizarse como único indicador para justificar la modificación del  
743 tratamiento. Cada paciente se deberá evaluar meticulosamente desde el punto de vista  
744 clínico antes de hacerse cualquier ajuste al tratamiento y cada usuario del ensayo debe

745 establecer sus propios límites en base a la experiencia clínica. Estos niveles varían de  
746 acuerdo a la prueba analítica comercial de diagnóstico in-vitro usado.

747

748 Nivel terapéutico general: 5 -15 ng/mL.

749 Nivel de toxicidad: > 20 ng/mL.

750

### 751 **Niveles y correlaciones sanguíneas**

752

753 El sirolimus es rápidamente absorbido por la vía gastrointestinal, alcanzando su máxima  
754 concentración sanguínea a las 2 horas de ingesta. Su máxima biodisponibilidad es de un  
755 15%, atribuido principalmente al metabolismo hepático e intestinal. Esta barrera de  
756 absorción varía considerablemente de paciente a paciente. La distribución del sirolimus  
757 alcanza a un 95%, dentro de los glóbulos rojos, un 3% en el plasma y un 2% en otros  
758 componentes celulares sanguíneos. Aproximadamente un 92% del sirolimus plasmático  
759 está unido a proteínas, especialmente a albúmina. El metabolismo del sirolimus es vía  
760 metabolismo oxidativo intestinal CYP3A4 y hepático. Se han caracterizado 7 metabolitos  
761 como 41-O- y 7-O-demetyl, hidroxy, hidroxi-dimetilado y dimetilado sirolimus, los cuales son  
762 farmacológicamente inactivos y eliminados por la vía biliar, con vida media de 62 horas en  
763 adultos y 11 horas en niños.

764

765 Las reacciones adversas más frecuentes son hipertensión, hiperlipidemia, anemia,  
766 trombocitopenia, trastornos electrolíticos (hipopotasemia e hipofosfatemia), edema  
767 periférico, dolor abdominal, artralgias, trastornos cutáneos, pirexia, cefalea, náuseas,  
768 diarrea o estreñimiento y una incidencia más alta de linfoceles.

769

770 Se hace necesario monitorizar las concentraciones mínimas del sirolimus (C<sub>0</sub>),  
771 especialmente debido por la amplia variabilidad intraindividual e interindividual del  
772 comportamiento farmacocinético del fármaco. Se acepta de forma general que la  
773 concentración mínima es un buen reflejo de la exposición total, medida por el área bajo la  
774 curva de concentración respecto del tiempo (AUC). Se ha demostrado una buena  
775 correlación entre las concentraciones C<sub>0</sub> y AUC del sirolimus. Esto también sucede cuando  
776 se utiliza el fármaco en combinación con tacrolimus.

777

778 Se recomienda monitorizar la concentración del sirolimus dado que la posología no es un  
779 buen factor predictivo de exposición al fármaco. Cuando el aclaramiento del sirolimus se

780 aproxime al flujo sanguíneo hepático, debe reducirse la dosis en función de las  
781 concentraciones medidas de sirolimus en pacientes con disfunción hepática. También se  
782 requiere una estrecha monitorización farmacológica debido a que el sirolimus es  
783 metabolizado por la isoenzima CYP3A4 del citocromo P450, que metaboliza otros fármacos,  
784 por lo que es sensible a las interacciones farmacológicas. Existen numerosos datos sobre  
785

786 interacciones farmacológicas que podrían causar un aumento o una disminución de las  
787 concentraciones sanguíneas de sirolimus, como las notificadas para la CsA y el tacrolimus.

788

789 La muestra de elección para cuantificar sirulimus es sangre total, en la cual se investigan los  
790 niveles concomitantes de CsA y corticosteroides que recibe el paciente.

791

792

#### 793 **7.4.- Everolimus**

794

795 El everolimus es un derivado del sirolimus, sintetizado con la introducción de un grupo 2-  
796 hidroxietileno en el átomo de carbono de la posición 40 de sirolimus. El everolimus se  
797 metaboliza en el tracto gastrointestinal e hígado, generando al menos 20 metabolitos, (ver  
798 Figura N°1).

799

#### 800 **Mecanismo de acción**

801

802 El everolimus tiene un efecto inmunosupresor idéntico al sirolimus, inhibiendo la activación  
803 del linfocito T y su proliferación vía mTOR, mediante su unión a FKBP-12, formando un  
804 complejo everolimus/FKBP12. Al unirse a mTOR bloquea su función inhibiendo  
805 posteriormente la activación de la cinasa p70 S6, deteniendo el ciclo celular en las fases G1  
806 a S. Estos efectos inhiben las vías de señalización del receptor para la IL-2 y dependientes  
807 de CD28.

808

809 Las concentraciones sanguíneas de everolimus en pacientes trasplantados se correlacionan  
810 con la eficacia terapéutica y con la frecuencia de efectos adversos. Dado los estrechos  
811 márgenes terapéuticos del fármaco, las interacciones farmacocinéticas y la elevada  
812 variabilidad entre pacientes, se recomienda monitorizar el fármaco en sangre total a todos  
813 los pacientes en tratamiento con trasplantes de órganos sólidos, para una mejor eficacia,  
814 (ver Figura N°2).

815    **Características farmacocinéticas**

816

817    Absorción: se absorbe rápidamente tras su administración oral, alcanzando su  
818    concentración máxima en sangre al cabo de 1-2 hrs.

819

820    Unión a proteínas: aproximadamente un 74%.

821

822    Vida media de eliminación: 28+/- 7 hrs.

823

824    Metabolización: everolimus es un sustrato de CYP3A4 y de la glicoproteína-P, su  
825    metabolización da lugar a monohidroxilaciones y O-dealquilaciones, ninguno de estos  
826    metabolitos contribuye de manera significativa a la actividad inmunosupresora de  
827    everolimus.

828

829    Eliminación: 80% vía heces y 5% vía renal.

830

831    **Métodos analíticos para Everolimus**

832

833    ACMIA

834    EMIT

835    CLIA

836    ECLIA

837

838    **Intervalos de medición analítica**

839

840    Los intervalos de medición para everolimus para los diferentes sistemas analíticos indicados  
841    van desde 0,5 a 30 ng/mL.

842

843    **Intervalo de referencia**

844

845    Para determinar el nivel óptimo de everolimus en sangre deben considerarse numerosos  
846    factores, como la complejidad del estado clínico, las diferentes sensibilidades individuales  
847    frente a los efectos inmunosupresores y nefrotóxicos del everolimus, la coadministración  
848    de otros inmunosupresores, el tipo de trasplante, el tiempo transcurrido desde el trasplante  
849    y diversos otros factores. Los valores individuales de everolimus no pueden utilizarse como

850 único indicador para justificar la modificación del tratamiento. Cada paciente se deberá  
851 evaluar meticulosamente desde el punto de vista clínico antes de hacerse cualquier ajuste  
852 al tratamiento y cada usuario del ensayo debe establecer sus propios límites en base a la  
853 experiencia clínica. Estos niveles varían de acuerdo a la prueba analítica comercial de  
854 diagnóstico in-vitro usado.

855

856 Nivel terapéutico general: 3 – 15 ng/mL.

857 Nivel de toxicidad: > 15 ng/mL.

858

#### 859 **Niveles y correlaciones sanguíneas**

860

861 El everolimus produce sus efectos de immunodepresor y antiproliferativo a través del  
862 complejo FKBP-12 y la posterior inhibición de la señal mediada por mTOR, al igual que el  
863 mecanismo del sirolimus. Su actividad in vivo es idéntica a la del sirolimus.

864

865 Al interior de la célula, everolimus se une a la inmunofilina FKBP-12 y este complejo se une  
866 al mTOR activando la cinasa p70 S6, enzima clave para la transducción y síntesis de ADN, y  
867 la unión del factor que da inicio al eucarionte eIF-4E a la proteína fosforilada y acido estable  
868 PHAS-I, vía que interviene en la síntesis proteica. El everolimus al unirse al mTOR bloquea  
869 su función, inhibiendo que se active la cinasa p70 S6, provocando que se detenga el ciclo  
870 celular en las fases G1 a S. Esta unión mTOR inhiben las vías de señales dependientes del  
871 receptor para la IL-2 y dependientes de CD28.

872

873 La concentración máxima de everolimus postadministración se alcanza 1 a 2 horas de su  
874 administración oral. El everolimus, al igual que el sirolimus es un sustrato de la glucoproteína  
875 P y de la enzima CYP34A. Por lo anterior, su metabolismo a nivel gastrointestinal puede  
876 afectar de forma importante la biodisponibilidad total. El profármaco se metaboliza  
877 principalmente a nivel hepático e intestino, mediante desmetilación, hidroxilación y  
878 degradación del anillo dando lugar a 6 metabolitos principales. La fracción circulante de  
879 everolimus está unida principalmente a los eritrocitos, aproximadamente en un 75% y el  
880 resto unido a proteínas. La semivida de su eliminación en pacientes con trasplantes renales  
881 es de 18 a 35 horas, lo que corresponde a la mitad de lo que ocurre con el sirolimus. Esta  
882 semivida de eliminación es un poco superior en pacientes con trasplantes de hígado.

883

884 Las reacciones adversas de mayor importancia del everolimus son edema periférico,  
885 hipertensión, estreñimiento, náuseas, infección urinaria, anemia e hiperlipidemia. Otros  
886 efectos colaterales incluyen el desarrollo de linfomas, incremento del riesgo de infecciones,  
887 trombosis del injerto, nefrotoxicidad, mayores tiempos de cicatrización de heridas,  
888 trombosis del injerto, infecciones oportunistas y diabetes de nueva aparición post-  
889 trasplante.

890

891

### 892 **7.5.- Micofenolato (MPA)**

893

894 Fármaco inmunosupresor derivado de *Penicillium stoloniferum* que se administra bajo la  
895 forma de micofenolato sódico o micofenolato mofetilo, los cuales se transforman en el  
896 fármaco activo ácido micofenólico (MPA) por las esterasas en la pared intestinal, la sangre,  
897 el hígado y los tejidos. Este fármaco se administra junto con ciclosporina A y corticoides  
898 para prevenir el rechazo en los trasplantes de riñón. El micofenolato asociado a ciclosporina  
899 A no muestra beneficios superiores a los de un tratamiento estándar y su nefrotoxicidad es  
900 menor que la de la ciclosporina A, lo que permite reducir la dosis de ésta, (ver Figura N°1).

901

### 902 **Mecanismo de Acción**

903

904 El ácido micofenólico inhibe la síntesis de las purinas en los linfocitos por inhibición no  
905 competitiva de la enzima inosina monofosfato deshidrogenasa, que participa en la síntesis  
906 de novo de las purinas, siendo un factor limitante en la conversión de inosina monofosfato  
907 a guanosina monofosfato, impidiendo la proliferación de los linfocitos y la formación de  
908 moléculas de adhesión, en respuesta a un estímulo antigénico o mitógeno, (ver Figura N°2).

909

### 910 **Características Farmacocinéticas**

911

912 Absorción: luego de la ingestión oral la biodisponibilidad varía de 70 a 95 %.

913

914 Unión a proteínas: mayor a un 98 %.

915

916 Vida Media: varía de 8 a 16 horas, mientras que para los metabolitos de ácido micofenólico  
917 es de 13 a 17 horas.

918

919 Metabolización: El ácido micofenólico es metabolizado principalmente por la glucoronil  
920 transferasa a metabolitos glucuronados, principalmente glucuronido fenólico de ácido  
921 glucurónico (MPAG) el cual no presenta actividad farmacológica.

922

923 Eliminación: Una pequeña cantidad del fármaco se excreta en la orina como MPA (menos  
924 del 1%). En un estudio farmacocinético, al administrar micofenolato de mofetilo por vía oral,  
925 se observó una excreción del 93 % en la orina y del 6 % en las heces. Aproximadamente el  
926 87 % de la dosis total administrada se excreta en la orina como MPAG, un metabolito  
927 inactivo.

928

929 **Métodos analíticos para Micofenolato**

930 Total MPA

931 HPLC

932 Análisis de ácido micofenólico CEDIA

933 Análisis de ácido micofenólico CEDIA para otros sistemas

934

935

936 **Intervalos de medición analítica**

937 Los intervalos de medición para micofenolato para los diferentes sistemas analíticos van de  
938 0,3 a 10 µg/mL.

939

940 **Intervalo de referencia**

941 Los niveles terapéuticos óptimos están sujetos a diferentes factores, tales como el tipo de  
942 trasplante, medicamentos concomitantes administrados, estado clínico del paciente,  
943 tiempo transcurrido de tratamiento, momento de la toma de muestra, diferencias  
944 individuales de los pacientes, sensibilidad a los efectos inmunosupresores y toxicidad del  
945 medicamento, entre otros.

946

947 Nivel terapéutico general: 1,3 – 3,5 µg/mL.

948 Nivel de toxicidad: > 12 µg/mL.

949

950

951

952

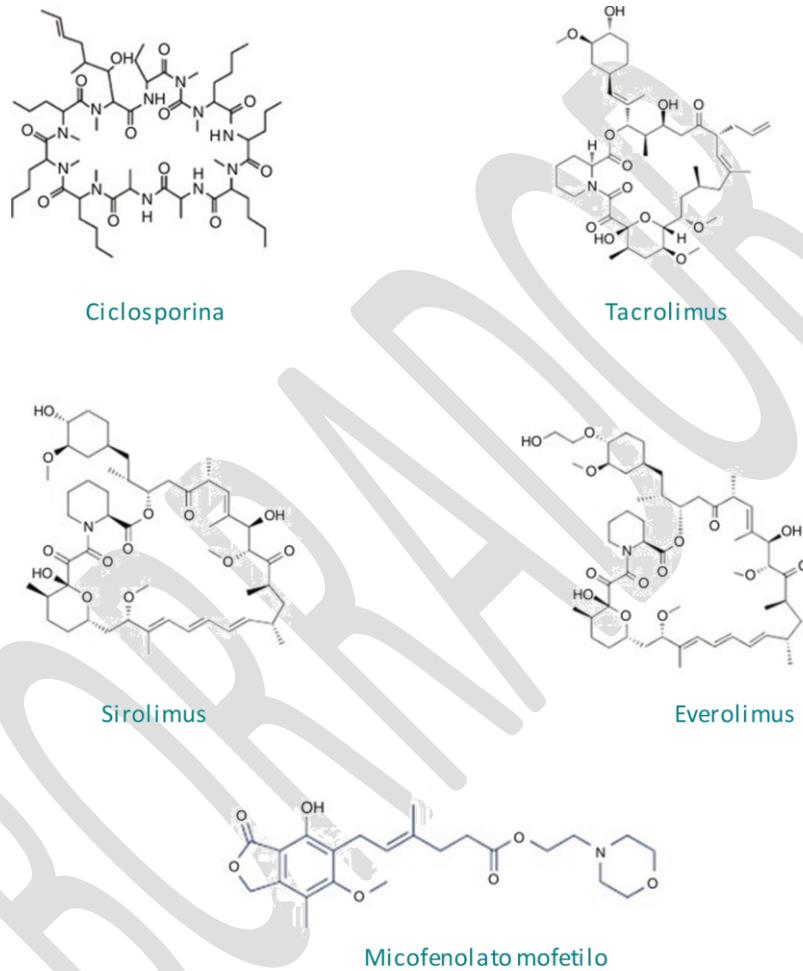
953

954 **ANEXO**

955

956 Figura N°1: Estructura química de los fármacos principales inmunosupresores de uso en  
957 trasplante:

958



959

960

961

962 Modificado de: Enciclopedia de infecciones e inmunidad 2022, 4: 726-740.

963

964

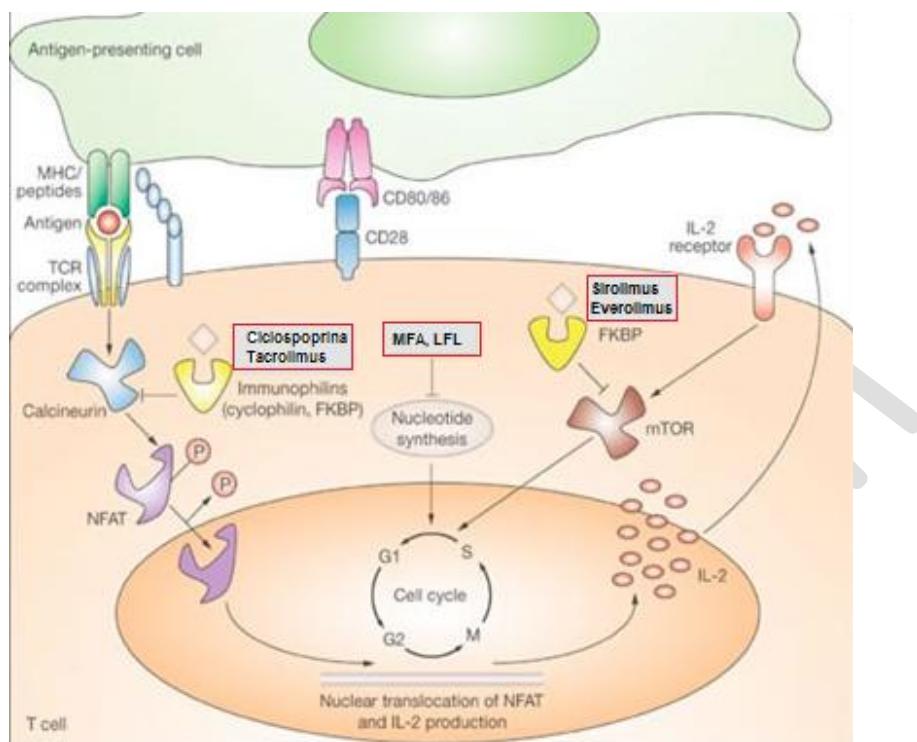
965

966

967 Figura N°2: Mecanismos de acción de los fármacos inmunosupresores:

968

969



970

971

972

- 973 1. Ciclosporina, Tacrolimus
- 974 2. Sirolimus, Everolimus
- 975 3. Micofenolato (MFA).

976

977 Modificado de: Clinical Pharmacokinetics and Therapeutic Drug Monitoring of Sirolimus.

978 Clin Ther 2000; 22 (Suppl. B): B 101-121.

979

980

981

982

983

984

985

986      **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS:**

987

- 988      1. Murray JE. Ronald Lee Herrick Memorial: June 5, 1931-December 27, 2010. *Am J Transplant* 2011; 11 (3): 419
- 989      2. Kahan, BD, Keown, P., Levy, GA, Johnston, A., Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs in clinical practice. *Clinical Therapeutics* 24 (2002) 330.
- 990      3. Holt DW, Denny K, Lee TD, et al. Therapeutic monitoring of sirolimus: its contribution to optimal prescription. *Transplant Proc* 2003; 35 (Suppl 3A):157S-161S.
- 991      4. Sedrani R, Cottens S, Kallen J, et al. Chemical modification of rapamycin: the discovery of SDZ RAD. *Transplant Proc* 1998;(30) 2192-2194.
- 992      5. Holt DW, Armstrong VW, Griesmacher A, Morris RG, Napoli KL, Shaw LM. International Federation of Clinical Chemistry / International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology working group on immunosuppressive drug monit. *Ther Drug Monit* 2002; 24: 59-67.
- 993      6. Tietz. *Textbook of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*. Carl A. Burtis, Edward R. Ashwood and David E. Bruns. Fifth edition. Ed. Elsevier, 2012.
- 994      7. Clinical and Laboratory Standards Institute (formerly NCCLS). Procedures for the Handling and Processing of Blood Specimens; Approved Guideline - Third Edition. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2004. NCCLS Document H18-A3.
- 995      8. Jimenes V, Casabó V y Sancho V (1997) Manual de procedimientos para Farmacocinética Clínica. Valencia:AFAHPE.
- 996      9. Masatomo M, Satoshi M, Hiroto E, Yuzawa K, Matsubara K. Inter –Laboratory variability of current immunoassay methods for Tacrolimus among Japanese hospitals. *Biol. Pharm. Bull.* 2016; (39)1331-1337.
- 997      10. Christians U, Vinks A, Longman L, Clarke W, Wallemacq P, Gelder T, Renjen V, Marquet P, Meyer E. Impact of Laboratory practices on interlaboratory variability in therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Therapeutic drugs monitoring* 2015; 37:718-24.
- 998      11. Wallemacq P, Armstrong V, BrunetM, Haufroid V, Holt D, Johnson A, Kuypers D, Le Meur Y, Marquet P, Oellerich M, Thervet E, Toenshoff B, UndreN, Weber L, Westley I, Mourad M. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: Report of the European Consensus Conference. *Therapeutic drugs monitoring* 2009; 31:139-152.

- 1021      12 Slatter M, Guengerich FP, Yun CH, Christians U, Sewing KF. Cytochrome P450 3A  
1022      enzymes are responsible for biotransformation of FK506 and rapamycin in man and  
1023      rats. *Drug Metab Dispos* 1992; 20: 753-61.
- 1024      13 Mac Donald A., Scaola J., Bunke JT, et al. Clinical Pharmacokinetics and Therapeutic  
1025      Drug Monitoring of Sirolimus. *Clin Ther* 2000; 22 (Suppl. B): B 101-121.
- 1026      14 Levy GA and col. C2 monitoring strategy for optimizing cyclosporine  
1027      immunosuppression from the Neoral formulation. *BioDrugs* 2001; 15 (5); 279-290.
- 1028      15 Seger, Christoph PhD; Shipkova, Maria MD; Christians, Uwe MD, PhD; Billaud,  
1029      Elaine M. PharmD, PhD; Wang, Ping PhD; Holt, David W. DSc (Med); Brunet, Mercè  
1030      PhD; Kunicki, Paweł K. PhD; Pawiński, Thomasz PhD; Langman, Loralie J. PhD;  
1031      Marquet, Pierre MD, PhD; Oellerich, Michael MD; Wieland, Eberhard MD;  
1032      Wallemacq, Pierre PhD. Assuring the Proper Analytical Performance of  
1033      Measurement Procedures for Immunosuppressive Drug Concentrations in Clinical  
1034      Practice: Recommendations of the International Association of Therapeutic Drug  
1035      Monitoring and Clinical Toxicology Immunosuppressive Drug Scientific Committee.  
1036      Therapeutic Drug Monitoring 38(2):p 170-189, April 2016. | DOI:  
1037      10.1097/FTD.0000000000000269
- 1038      16 Hussain Y.; Khan H. Immunosuppressive Drugs. *Encycl. Infect. Immun.* 2022, 4:  
1039      726–740.
- 1040