



CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS
AVANZADOS DEL
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

UNIDAD ZACATENCO
DEPARTAMENTO DE FARMACOLOGÍA

**Modelaje farmacocinético y farmacodinámico del
esquema de inmunosupresión
utilizado en pacientes con trasplante renal**

TESIS

Que presenta

M. en C. José Rodrigo González Ramírez

Para obtener el grado de

DOCTOR EN CIENCIAS

En la Especialidad de

FARMACOLOGIA

Directores de tesis:

Dr. Gilberto Castañeda Hernández
Dra. Mara Medeiros Domingo

El presente trabajo de investigación fue realizado bajo la dirección y asesoría del Dr. Gilberto Castañeda Hernández y de la Dra. Mara Medeiros Domingo en el Departamento de Farmacología del Centro de Investigación y Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional en México, D. F.

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por haberme otorgado la beca con número de registro 257065, para realizar mi estudio doctoral.

Dedicatorias

A la persona que durante toda mi vida ha estado conmigo, a quien siempre le voy a agradecer no solo por darme la vida, si no por todo lo que me ha enseñado.

No hubiera llegado sin ti.

TE AMO MAMÁ

Alguna día me gustaría llegar a ser como tu, pero no puedo ser perfecto.

Dedicatorias

A la alegría más grande de mi vida

Ese ángel hermoso que con una sonrisa
ilumina mi día.

André, eres mi pedacito de sol y aunque tu no
lo sabes fuiste mi motor para hacer este
trabajo.

A mi Hijo

A ti **Marce** “ el gran amor de mi vida”, mamá de mi pedacito de
sol.

A ti dedico este trabajo, me dejó muchas cosas, es algo muy
valioso para mi, no por tener uno título o publicaciones, sino por
haberme dejado tantas experiencias en mi vida.

Siempre estuviste conmigo, además, tu me diste ese motorcito con
pies, por eso te dedico mi doctorado.

TE AMO

Besos al Pollo

Agradecimientos

Por haberme dejado trabajar con ustedes. No tienen idea de todo lo que me han dejado.

Dr. Gilberto Castañeda

Dra. Mara Medeiros

No pude elegir mejor laboratorio en donde aprender y donde trabajar. Estuve en el mejor lugar y sobre todo con los mejores!

Muchas gracias!

Agradecimientos

*A los integrantes de mi comité tutorial por sus comentarios, consejos y sugerencias al revisar mi tesis, fue muy valioso para mi, además que esto permitió el enriquecimiento de este trabajo. **Dra. Liliana Favari, Dr. Jorge A Sánchez, Dr. Gustavo Lugo. Gracias por su valioso trabajo y tiempo.** Especialmente a una de las mejores docentes*

*Especialmente a la **Dra. Lety Cruz**, una de las mejores maestros que he tenido, una persona a quien aprecio mucho y admiro. Fue parte de mi formación en la maestría y continuó en el doctorado, Dra. Lety, le agradezco que formó parte de este trabajo. **Sin usted no habría salido esto! GRACIAS.***

A Lulú, por el apoyo durante 5 años. Maestría y Doctorado. Ni el doctorado y la maestría hubiera tenido mucho sentido sin ti en ese lab. Quien mejor que tu para estar ahí? Gracias. Ah, se me olvidaba: “Gracias Ma. De Lourdes González por el apoyo técnico”. jajaja

*A mis asesores particulares: Orlando, Lili, Olivid, Lorena, Ricardo Jiménez (El Ricardo), Jessica (Por sus datos), Pilar García (Pili), Dra. Tere Arredondo, etc. **Gracias Chicos, de igual manera cuenten conmigo!***

*A mis codemandados: Dra. Josefina Alberú, Dra. Carmen Gracida, Dr. Abdiel Esquivel, Dra. Mara Medeiros y Dr. Gilberto Castañeda. Un honor haber sido demandado junto a ustedes! Dra. Leticia Cruz, la única que se salvó!. Grupo fundamental en el desarrollo, aprendizaje e investigación de este y otros proyectos en los que nos involucramos. **Gracias, el Título es suyo. PD. Gracias a Olivares & CIA.***

*Al **Dr. Iñaki**, por haber dejado muchas preguntas sembradas, después de aclarar otras.*

*A la **Dra. Nieves**, por habernos permitido trabajar con ella y su grupo. Sobre todo por haberme presentado a alguien que me mostró que este tema es muy simple, fácil y no tiene nada complicado, “para él”; una experiencia que se me quedó muy grabada, una linda exposición al **Dr. Holford** esa si fue una experiencia extrema! Ja ja ja ja ja.*

A mi hermano: Juan José ÓRTIZ ALVARADO. No sabes lo que significa contar contigo, eres el apoyo más fuerte que tengo y he tenido por muchos años.

El “Doctorado” ha sido algo muy divertido para mi, una de las mejores experiencias en mi vida, algo enriquecedor desde el punto de vista personal. Abrí los ojos a muchas cosas fuera de la ciencia, aún y estando dentro de la misma.

Aprendía a disfrutar mi vida y las cosas que hago.

Por eso, GRACIAS a todos los que formaron parte de alguna forma u otra de esta etapa en mi vida.

Alimentaron la inquietud en mi, ese mal del que siempre he padecido!

Si el doctorado me deja algo profesionalmente no me importa, ya me dejó algo más!

GRACIAS

ÍNDICE

Lista de Abreviaturas	I
Lista de Figuras	II
Lista de Tablas	III
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Trasplante	1
1.2. Farmacoterapia	1
1.2.1. Características del micofenolato y el tacrolimus	4
1.2.1.1. Ácido micofenólico	5
1.2.1.2. Tacrolimus	8
1.3. Monitoreo terapéutico	11
1.3.1. Monitoreo de concentraciones	11
1.3.2. Monitoreo farmacodinámico	13
1.4. Herramientas analíticas	14
1.4.1. Farmacometría	14
1.4.2. Relación farmacocinética-farmacodinámica	15
1.4.3. Aplicación del modelaje PK/PD	16
1.5. Uso de genéricos en trasplantes	17
1.5.1. Medicamentos genéricos	17
1.5.2. Pruebas de intercambiabilidad	18
1.5.2.1. Bioequivalencia	18
1.5.2.2. Perfil de disolución	19
1.6. Calidad de los inmunosupresores genéricos	21
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	24

3. OBJETIVOS	25
3.1. Objetivos específicos	25
4. MATERIALES Y MÉTODOS	26
4.1. Estudio farmacocinético del ácido micofenólico	26
4.2. Relación farmacocinética-farmacodinámica del tacrolimus	27
4.3. Simulación para tacrolimus	28
4.4. Aplicación en estudios de bioequivalencia	28
5. RESULTADOS	29
5.1. Farmacocinética del ácido micofenólico	29
5.2. Relación farmacocinética-farmacodinámica de tacrolimus	32
5.3. Simulación para tacrolimus	34
5.4. Aplicación en estudios de bioequivalencia	37
6. DISCUSIÓN	40
7. CONCLUSIONES	45
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	46

APÉNDICES

Lista de Abreviaturas

ABC	Área Bajo la Curva de concentración contra tiempo.
AMF	Ácido micofenólico.
AUC	Area Under the concentration versus time Curve (Área Bajo la Curva de concentración contra tiempo).
C_{max}	Concentración máxima.
COFEPRIS	Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios.
CYP3A4	Citocromo P 450 3A4.
CYP3A5	Citocromo P 450 3A5.
DM-MPA	6-O-desmethyl-MPA.
EC-AMF	Ácido micofenólico con capa entérica.
E.E.	Estado Estacionario.
EMA	European Medicine Agency (Agencia Europea de Medicamentos).
FDA	Food and Drug Administration (Administración de Alimentos y Medicamentos).
FKBP12	Binding Protein of FK12 (Proteína de unión a FK12).
GAMF	7 hidroxiglucurónido del ácido micofenólico.
I.C.	Intervalo de confianza.
IL-2	Interleucina 2.
IL-3	Interleucina 3.
IL-4	Interleucina 4.
IMPDH	Inosin Monofosfato Deshidrogenasa.
INF- γ	Interferón gama.
MMF	Micofenolato de Mofetilo.
MRP-2	MDR (Multiple Drug Resistance) Related Protein 2. Proteína de Resistencia a Múltiples Fármacos 2.
NF-AT	Factor nuclear de células T activadas.
UGT1A9	Uridin Glucuronil Transferasa 1A9.
TNF- α	Tumoral Necrosis Factor alpha (Factor de Necrosis Tumoral alfa).

Lista de Figuras

- Figura I.** A, Monitoreo de niveles en valle. B, Monitoreo farmacocinético.
- Figura II.** Diseño para estudios de bioequivalencia.
- Figura III.** Perfil de disolución.
- Figura IV.** A, Farmacocinética de pacientes pre y B, post trasplante.
- Figura V.** Comparación de la exposición de ácido micofenólico en pacientes pre y postrasplante.
- Figura VI.** A, Perfil de disolución de formulaciones de MMF, CellCept (Innovador), Tevacept (Genérico) imagen modificada de González-Bañuelos J. 2010. B, Exposición al ácido micofenólico en pacientes pretrasplantados por formulación administrada.
- Figura VII.** Modelo de efecto máximo (Emax) y parámetros farmacodinámicos de tacrolimus.
- Figura VIII.** A, Relación concentración efecto inhibitorio de calcineurina para tacrolimus con un coeficiente de Hill de 3) y su comparativo con un Hill de 1. B, Farmacodinamia promedio de tacrolimus y su variación.
- Figura IX.** A, Perfil farmacocinético promedio de tacrolimus en pacientes trasplantados ($\pm 40\%$ en Concentración). B, Relación PK/PD calculada para tacrolimus. C, Perfil farmacocinético tras múltiples dosis de tacrolimus. D, Curso temporal del efecto (relación PK/PD) tras múltiples dosis de tacrolimus.
- Figura X.** A, Curso temporal del efecto considerando la variabilidad farmacocinética para tacrolimus ($\pm 40\%$ en Concentración). B, Curso temporal del efecto considerando la variabilidad farmacocinética y farmacodinámica para tacrolimus. C, Simulación del curso temporal del efecto tras múltiples dosis, considerando la variabilidad farmacocinética para tacrolimus ($\pm 40\%$ en Concentración). D, Simulación del curso temporal del efecto tras múltiples dosis, considerando la variabilidad farmacocinética y farmacodinámica.

- Figure XI.** Grupo 1. Perfiles farmacocinéticos de tacrolimus con variación del 20% en las concentraciones; Grupo 2. Perfiles farmacocinéticos del tacrolimus con variación del 90% en las concentraciones.
- Figura XII.** Grupo 1. Relación PK/PD para los perfiles farmacocinéticos dentro del 20% de variación. Grupo 2. Relación PK/PD para los perfiles dentro del 90% de variación cinética.
- Figura XIII.** Aplicación de los criterios de bioequivalencia para la relación PK y PD. Los puntos son los individuos, las líneas punteadas son los criterios de bioequivalencia marcados.

Lista de Tablas

- Tabla I.** Factores involucrados en la nefropatía crónica del trasplante.
- Tabla II.** Fármacos inmunosupresores empleados en el trasplante renal.
- Tabla III.** Demografía de los pacientes pretrasplantados.
- Tabla IV.** Farmacocinética del ácido micofenólico después de la administración de una dosis de MMF en los pacientes pretrasplantados.
- Tabla IV.** Datos farmacocinéticos del tacrolimus obtenidos de la literatura y su variabilidad.

1. INTRODUCCIÓN

1.1. Trasplante

El trasplante es un tratamiento médico que consiste en trasladar órganos, tejidos, o células de una persona a otra. Lo que se pretende es que el órgano trasplantado reemplace y asuma la función del órgano dañado del paciente en cuestión, con el procedimiento se logra en la mayoría de los casos salvar la vida y/o mejorar la calidad de vida del individuo. Este tipo de procedimiento médico se puede realizar para una gran diversidad de órganos y tejidos, que pueden ir desde riñón, pulmón, corazón, páncreas, hígado, piel, córnea y células entre otros [1].

A nivel mundial, el trasplante renal es el tipo de trasplante más frecuente [2], México no es la excepción. Del total de trasplantes realizados en un año, en nuestro país el 58 por ciento de los trasplantes es para trasplantes renales, con un promedio de 2300 trasplantes en los últimos años. Sin embargo, tan solo el 23% de los pacientes en lista de espera para recibir un trasplante renal llega a ser beneficiado con el procedimiento de acuerdo a cifras emitidas por el Centro Nacional de Trasplantes en el año 2012 [1]. Los datos pueden ser más críticos si se considera que existen alrededor de 60000 pacientes que se encuentran en diálisis en nuestro país, y los cuales podrían ser candidatos a este procedimiento [3, 4]. Por ello, es de suma importancia conservar la vida del pacientes y del injerto por el mayor tiempo de vida posible.

1.2. Farmacoterapia

Es un hecho que en las ultimas décadas se ha evolucionado en el mejoramiento de la calidad de vida y supervivencia de los pacientes trasplantados, existiendo diversos factores que están involucrados en que se diera esta mejora, uno de los más importantes ha sido la introducción de fármacos capaces de inhibir la

respuesta del sistema inmune contra el injerto, fármacos denominados como inmunosupresores. Este avance se dio de manera paulatina, durante la década de 1960 e inicios de los años 70 hubo una ligera mejoría al disminuir la tasa de rechazo a un 30 por ciento, la inclusión de fármacos como la azatioprina y esteroides mejoraron la eficacia tanto en pacientes con trasplante renal proveniente de donadores vivos como fallecidos. Sin embargo, al extenderse el uso de esta combinación se hizo muy frecuente encontrar muertes debido a una inmunosupresión excesiva, al parecer debido al uso de corticosteroides a dosis elevadas y por periodos prolongados. En este mismo periodo se identificó que otra causa del incremento de sobrevivencia de los pacientes fue la mejora de los programas de diálisis, ya que cuando el riñón trasplantado mostraba indicios de fallas, el paciente era sometido a diálisis tras la suspensión de la farmacoterapia. Un de los mayores cambios se dio tras la introducción de la ciclosporina, inmunosupresor inhibidor de la calcineurina, tan solo en un año, la ciclosporina incrementó la tasa de sobrevivencia de 70 a un 80 por ciento. Debido a su eficacia, su implementación se extendió a otro tipo de trasplantes como fueron el de hígado, corazón, pulmón y páncreas [5, 6].

Dicho desarrollo de fármacos no finalizó con la ciclosporina, nuevos inmunosupresores fueron desarrollados, lo cual trajo consigo el incremento en la tasa de sobrevivencia a corto plazo (1 año), sin embargo, a largo plazo (5-10 años), aun en recientes años no se observa una gran mejoría. Para donadores vivos con idéntico antígeno leucitario humano (HLA - Human Leukocyte Antigen), se esperan tasas de sobrevivencia de 70-75 por ciento a 10 años [5, 6].

Existen casos donde el injerto tiene una buena función durante los primeros años postrasplante, con el tiempo existe daño progresivo y disminución en la función del órgano, lo cual se denomina como disfunción crónica del injerto. Esta disfunción es la causa más frecuente de pérdida del órgano después del primer año de realizado el procedimiento. Las razones para que se presente disfunción a largo plazo involucra varios factores. Algunos estudios han demostrado que los

episodios de rechazo agudo severo y la frecuencia de ellos son los mayores factores de riesgo para que se presente rechazo crónico. Pero, este tipo de rechazo no responde a la terapia empleada para pacientes que presentan rechazo agudo, que se basa en la administración de esteroides en bolo [5, 6].

Hay varios mecanismos involucrados descritos por los que se da la disfunción a largo plazo, se pueden clasificar en mecanismos inmunológicos o mecanismos independientes del sistema inmune [5, 7], los cuales se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Factores involucrados en la nefropatía crónica del trasplante.

Factores inmunológicos:	Factores no inmunológicos:
Baja compatibilidad del HLA	Edad avanzada del donador
Sensibilización previa	Daño en la preservación del injerto
Episodios de rechazo agudo	Daño por proceso isquémico
Inmunosupresión subóptima	Hipertensión
Falta de apego al tratamiento	Hiperlipidemias
Retraso en la función del injerto	Toxicidad de ciclosporina y tacrolimus

Dada la relación que existe entre la frecuencia y severidad de los episodios de rechazo agudo y la probabilidad de presentar rechazo a largo plazo, la modulación del sistema inmune desde etapas muy tempranas al procedimiento quirúrgico es esencial, en ocasiones se da tratamiento inmunosupresor antes del propio procedimiento quirúrgico, tratando de mejorar el pronóstico de vida del injerto. Por otra parte, inmediatamente después del trasplante, se emplean dosis iniciales muy elevadas de inmunosupresores, lo cual trae consigo la aparición de problemas de toxicidad, generalmente se observan infecciones muy frecuentes, problemas gastrointestinales y hematológicos en los pacientes [5, 8, 9], al responder el paciente de manera satisfactoria y encontrarse estable, las dosis de los inmunosupresores son disminuidas paulatinamente.

Un punto fundamental en la farmacoterapia de pacientes trasplantados es que se emplean combinaciones de dos o más inmunosupresores, una de las combinaciones empleadas con más frecuencia es la conformada por tacrolimus, ácido micofenólico y prednisona, este manejo presenta tasas de eficacia durante el primer año de 98-99% [10], considerando que al tener diferentes blancos y por

ende sus mecanismos de acción propios, la inhibición de la respuesta inmune se da a diferentes niveles de la misma, por lo cual dichas combinaciones han demostrado mayor eficacia que el empleo de fármacos inmunosupresores en monoterapia [9, 10].

Dentro del arsenal farmacoterapéutico se cuenta con moléculas pequeñas como son la ciclosporina, el tacrolimus, la azatioprina, el ácido micofenólico, el micofenolato de mofetilo, el everolimus y el sirolimus (Tabla II), además del uso de biofármacos como anticuerpos mono y policlonales para terapias de inducción o en episodios de rechazo agudo [7]. Las combinaciones con ciclosporina en lugar del tacrolimus, o azatioprina en sustitución del ácido micofenólico son otras posibles terapias, y en algunos casos, principalmente en pacientes pediátricos se llega a prescindir de los esteroides [11, 12].

Dada la toxicidad inherente de los inhibidores de calcineurina como son el tacrolimus y la ciclosporina, en algunos centros se emplean terapias de minimización, en los cuales se busca emplear la menor dosis posible de estos fármacos para evitar la nefrotoxicidad que provocan a largo plazo [11, 12]. A pesar de la variedad de fármacos disponibles y las distintas combinaciones de ellos, se siguen presentando problemas tras su uso [11, 12].

1.2.1. Características del micofenolato y tacrolimus

Farmacocinética y su variabilidad

Un punto fundamental de la complejidad en el manejo de la terapia inmunosupresora es la variabilidad cinética que muestran los fármacos empleados. Ya que aun, a las dosis recomendadas se requiere realizar una gran cantidad de ajustes para obtener los niveles deseados [13].

1.2.1.1. Ácido micofenólico.

El ácido micofenólico (AMF) se encuentra disponible en dos formulaciones, como profármaco del micofenolato de mofetilo (MMF), el cual es hidrolizado por esterasas en el plasma, la otra formulación es micofenolato sódico con capa entérica (EC-AMF) [14]. La formulación de micofenolato sódico con capa entérica fue diseñada con el fin de proteger la mucosa gástrica al evitar el contacto del principio activo con las paredes del estómago, liberando el fármaco únicamente a nivel intestinal y así disminuir los efectos adversos gastrointestinales. Las reducciones de dosis son frecuentes dada la aparición de eventos adversos que limitan su uso, alrededor de un 20% de los pacientes las requieren [15, 16].

Tras la aprobación del MMF por la FDA en 1995, este se ha convertido en el agente antiproliferativo de mayor uso en trasplantes, más del 81% de los pacientes recibe MMF en su terapia post-trasplante [17].

Mecanismo de acción.

El ácido micofenólico inhibe la inosin-monofosfato deshidrogenasa (IMPDH), enzima limitante en la síntesis *de novo* de los nucleótidos de guanina en linfocitos T y B. El efecto inhibitorio selectivo sobre el sistema inmune se explica por la dependencia de los linfocitos de obtener guanina por la vía *de novo* y no por la vía alternativa de biosíntesis del nucleótido, la falta de guanina provoca la inhibición de la proliferación linfocitaria, lo cual lleva a la inmunosupresión no sólo celular, sino también humoral al disminuir la producción de anticuerpos y algunas citocinas [18].

Farmacocinética.

El ácido micofenólico, tras la administración de cualquiera de sus formulaciones muestra una farmacocinética muy variable. Se ha observado que a dosis normalizadas de AMF, éste puede mostrar una ABC variable hasta en 10 veces [19], dichas variaciones se deben a diferentes factores que van desde las diferencias intra e interindividuo hasta algunas debidas a las formulaciones de genéricos de MMF y AMF que se administran [20-22].

La biodisponibilidad para el MMF es mayor al 90%, y el tiempo en el que alcanza la concentración máxima va de 1-2 h postadministración, pudiendo presentar un segundo máximo entre 6-12 h después de la administración debido a que sufre circulación enterohepática [20].

Una vez en sangre, el AMF se une extensamente a la albúmina humana (97%) y es eliminado a través de glucuronidación por diferentes isoformas de la UGT, siendo el 7 hidroxiglucurónido del ácido micofenólico (GAMF), generado por la isoenzima UGT1A9 un metabolito inactivo, también se llegan a formar en menor proporción un acilglucurónido del ácido micofenólico, el cual se ha observado que presenta actividad inmunosupresora *in vitro* [23, 24]. Se ha determinado que algunas isoenzimas de la UGT como las isoformas UGT1A9 y la UGT2B7 son las principales responsables del metabolismo del AMF, al parecer por su elevado nivel de expresión a nivel hepático y renal comparado con otras isoformas. Sin embargo, las isoformas UGT1A7, 1A8 y 1A10 también son capaces de metabolizar al AMF pero en menor magnitud. Las isoformas 1A8, 1A9 y 2B7 han mostrado ser polimórficas y de afectar la cinética del micofenolato en caucásicos. Un metabolito generado en muy baja proporción es el 6-O-desmetil-AMF (DM-AMF) el cual es generado por isoformas del CYP3A [20].

Los glucurónidos generados son excretados en la orina vía secreción tubular activa y en la bilis, por la proteína de resistencia a múltiples fármacos 2 (MRP-2).

El glucurónido principal a nivel intestinal es desconjugado a AMF por las bacterias propias del tracto gastrointestinal y es reabsorbido hacia la circulación pudiendo generar un segundo pico en la cinética [20]. El tiempo de vida media de eliminación es de aproximadamente 17.9 h [25, 26].

Interacciones medicamentosas y reacciones adversas.

Otra fuente de variación que es de importancia clínica son las interacciones medicamentosas, se han reportado interacciones con:

- Aciclovir [14]
- Antiácidos con hidróxido de magnesio y aluminio [14].
- Colestiramina [14].
- Ciclosporina A [14, 25, 27].
- Tacrolimus [28, 29]

Para el micofenolato hay varias reacciones adversas asociadas a su uso, que se agravan a niveles elevados del fármaco, en general son gastrointestinales, infecciones frecuentes y hematológicas, pero pudiendo aparecer otras (Tabla II) [30, 31].

Pacientes pediátricos y ácido micofenólico.

El paciente pediátrico trasplantado muestra un comportamiento similar al adulto, muestra gran variabilidad intra e interindividual en la farmacocinética del AMF, tanto en fases tempranas postrasplante [32] así como en etapas de mantenimiento [33].

Algunos centros en donde se realizan trasplantes y el seguimiento de los pacientes mediante el monitoreo de concentraciones plasmáticas, se han implementado descriptores de exposición como las concentraciones máximas (Cmax) que alcanzan los fármacos para evaluar la seguridad, dicho marcador

muestra diferencia en cuanto a la sensibilidad al fármaco, en adultos se considera que al presentar una C_{max} por arriba de 32.8 $\mu\text{g/mL}$, se incrementa la probabilidad de presentar problemas de toxicidad, aunque esta asociación no se ha podido realizar en pacientes pediátricos de manera clara, se sugiere que la C_{max} debería ser menor a 10 $\mu\text{g/mL}$ para evitar eventos adversos [30, 34, 35].

Los estudios en caso de los inmunosupresores en población pediátrica trasplantada tiene consideraciones especiales, desde el punto de vista científico y clínico, así como del ético [36-38]. Lo cual hace que la información sobre esta población sea limitada. Este es el caso de los inmunosupresores en población pediátricos trasplantada.

1.2.1.2 Tacrolimus.

El tacrolimus llegó a sustituir a la ciclosporina como agente inmunosupresor de primera elección, y es considerado como la piedra angular en la terapia inmunosupresora [17, 39]. El tacrolimus se encuentra disponible en formulación de liberación inmediata y en formulación de liberación prolongada [40].

Mecanismo de acción.

El tacrolimus se une a la proteína fijadora FK12 (FKBP12), una inmunofilina intracelular, este complejo se une a la calcineurina, dando como resultado la inhibición de su actividad como fosfatasa. Por lo cual, la desfosforilación del factor nuclear de células T activadas (NF-AT) y su traslocación al núcleo del linfocito T no se lleva a cabo y con ello inhibe la expresión de citocinas muy importantes en la proliferación y diferenciación de los linfocitos como es la IL-2 e IL-4, además del interferon gamma ($\text{INF-}\gamma$), IL-3, el factor de necrosis tumoral alfa ($\text{TNF-}\alpha$). La supresión de estas citocinas resulta fundamental en la inhibición de la activación de las células T y de la respuesta inmune [5, 9, 41].

Farmacocinética.

La absorción del tacrolimus es baja, se reporta una biodisponibilidad promedio de 25%, sin embargo, se pueden observar pacientes con 5% al 93% del fármaco disponible. En los pacientes pediátricos se reporta una biodisponibilidad promedio de 18%, sin embargo, es común mostrar del 5% a 26% [14].

El tacrolimus se distribuye altamente en la mayoría de los tejidos, dado que es una molécula lipofílica [42, 43]. Puede atravesar la placenta, y se puede encontrar en la leche materna en niveles similares a los que se encuentra en plasma. En la sangre, gran parte del tacrolimus se une a los eritrocitos, así como también a proteínas como la albúmina y a la α_1 -glicoproteína [14, 44, 45].

El tacrolimus es metabolizado por la acción de los citocromos, específicamente por el CYP3A4 y CYP3A5, lo cual genera metabolitos hidroxilados y desmetilados [46]. Dichos citocromos se encuentran en el hígado y en intestino delgado, sin embargo, los niveles de expresión del CYP3A5 en algunos individuos no es suficiente para considerarse que el metabolismo por ese citocromo sea significativo [44].

De los 15 productos del metabolismo de tacrolimus, del 95% al 99% se elimina por vía biliar y menos del 2.5% se elimina en orina. El tiempo de vida media de eliminación del fármaco puede variar de 12 a 35 horas [44, 46]. Una vez metabolizado el fármaco, la glicoproteína P interviene en la secreción hacia el lumen del canalículo biliar y su posterior eliminación en las heces [47].

Tomando en consideración los procesos anteriores que van desde la absorción hasta la eliminación del fármaco, se puede hacer notar que existen múltiples factores que influyen en la exposición total al fármaco. Si se consideran factores como el tipo de trasplante, la función hepática, función renal, las interacciones medicamentosas, el tiempo postrasplante, la edad, el hematocrito, niveles de

albúmina, los alimentos, se hace evidente la necesidad de asegurar una exposición adecuada al fármaco, por ello es necesario realizar el monitoreo de concentraciones sanguíneas de manera cotidiana [44, 47].

Reacciones adversas.

Con el uso de tacrolimus es frecuente observar problemas de toxicidad, entre los que destacan: nefrotoxicidad, neurotoxicidad, diabetogénesis, trastornos gastrointestinales e infecciones, los cuales se hacen más frecuentes a concentraciones elevadas del fármaco. Algunos eventos adversos menos frecuentes son las alteraciones isquémicas de arterias, anemia, leucopenia, dolor de cabeza, diarrea, náusea, vómitos, úlceras y dolor gastrointestinal, hiperglucemia e hiperpotasemia, entre otros [44].

Tabla II. Fármacos inmunosupresores empleados en trasplante renal. Modificada de Scott LJ, 2003.

Fármaco	Descripción	Mecanismo	Toxicidad	Notas
Ciclosporina	Péptido cíclico de 11 aminoácidos	Se une a una ciclofilina, el complejo inhibe a la calcineurina y la activación de las células T.	Nefrotóxica, síndrome urémico-hemolítico, hipertensión, neurotoxicidad, hiperplasia, hiperplasia gingival, cambios en la piel, diabetes postrasplante, hiperlipidemias	Monitoreo en valle, monitoreo 2h post administración
Tacrolimus	Antibiótico macrólido	Se une a FKBP12, complejo que inhibe a la calcineurina y la activación de las células T.	Efectos similares a la ciclosporina pero menor incidencia de hipertensión, hiperlipidemias, cambios en la piel, hiperplasia gingival. Elevada incidencia para diabetes y neurotoxicidad.	Monitoreo en valle
Sirolimus	Macrólido antibiótico	Se une a FKBP12, complejo que inhibe mTOR inhibe proliferación de células T y liberación de IL-2.	Hiperlipidemias, incrementa la toxicidad por inhibidores de calcineurina, trombocitopenia, cicatrización lenta, retrasa la función del injerto, úlceras bucales, neumonitis.	Monitoreo lipídico
Everolimus	Derivado de sirolimus	-	-	-
Micofenolato de mofetilo y micofenolato sódico con capa entérica	Producto de un hongo del género penicillium	Inhibe la síntesis de nucleótidos de guanina, inhibe la proliferación de las células T y B.	Problemas gastrointestinales, neutropenia, anemia,	Monitoreo en valle, absorción reducida por ciclosporina
Azatioprina	Profármaco que genera 6-mercaptopurina	Interfiere con la síntesis de DNA	Leucopenia, supresión de la médula ósea, macrocitosis, toxicidad hepática (poco frecuente)	Conteo de células sanguíneas

1.3. Monitoreo terapéutico.

1.3.1. Monitoreo de concentraciones.

La asociación de la toxicidad y los riesgos de la ineficacia con las concentraciones plasmáticas del tacrolimus y micofenolato hace que sean considerados fármacos con una ventana terapéutica estrecha, por lo cual se recomienda implementar herramientas para asegurar que las concentraciones sanguíneas o plasmáticas de dichos fármacos se encuentre en niveles eficaces y seguros. La principal herramienta empleada para poder controlar la exposición a los fármacos es el monitoreo de niveles, este monitoreo puede realizarse de dos maneras:

- *Monitoreo de un punto:* Este monitoreo consta de la toma de una muestra de sangre a un tiempo específico post-administración (Figura 1. A). Dicha muestra es analizada mediante una metodología adecuada y validada con la cual se cuantifica la concentración del fármaco en la muestra [48]. El muestreo se realiza generalmente poco tiempo antes de recibir la siguiente dosis dentro del protocolo de administración, tanto para el micofenolato como para tacrolimus la toma de la muestra se hace a 12 h postadministración. A este tipo de monitoreo se le denomina monitoreo en valle. Para micofenolato, las concentraciones en este punto deben encontrarse entre 1 y 3.5 µg/mL, para tacrolimus las concentraciones deben estar entre 5-15 ng/mL para considerarse eficaz y seguro [13, 49, 50]. Sin embargo, para el caso de tacrolimus estos niveles objetivo cambian según la etapa postrasplante [51].
- *Monitoreo farmacocinético:* Se realiza tomando varias muestras de sangre a diferentes tiempos post-administración. Por lo general, se obtienen de 8 a 9 puntos de concentración, con las cuales se caracteriza el perfil farmacocinético del pacientes y se obtiene el ABC (Figura 1. B), que se

compara con un intervalo de exposición previamente reportado. Para considerar eficaz y seguro al ácido micofenólico, su ABC debe de encontrarse entre 30 y 60 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, mientras que para tacrolimus, la exposición debe de encontrarse entre 125 y 210 $\text{ng}\cdot\text{h}/\text{mL}$. Hay autores que hacen diferencia en los niveles de exposición de pacientes pediátricos y adultos, en pacientes pediátricos, dicha ABC debe estar dentro de 36 a 64 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$, mientras que para adultos ABC debe estar en 30-60 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ [13, 49, 52].

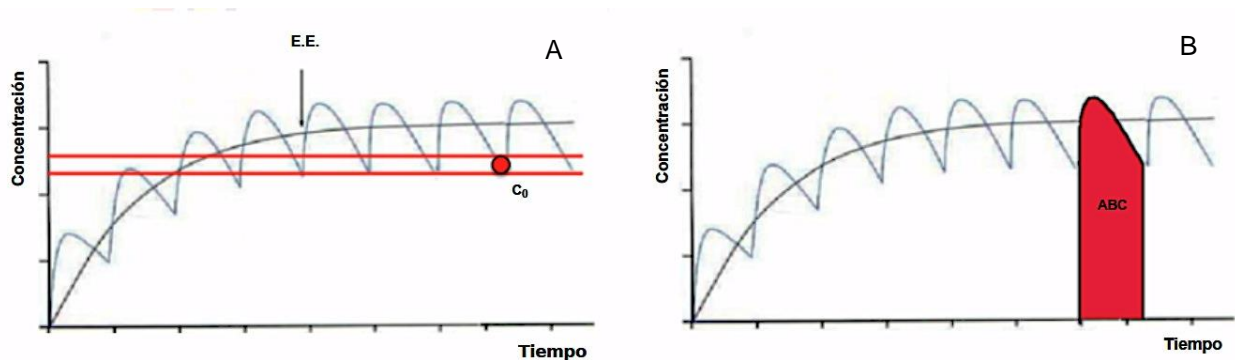


Figura I. A, Monitoreo de niveles en valle. B, Monitoreo farmacocinético.

El inconveniente de muestrear un solo punto de concentración es la limitada información que se obtiene, ya que solo nos representa la concentración que se tiene a un tiempo específico, además de que existen varios factores que pueden estar modificando la exposición total al fármaco y pasar desapercibidos al muestrear un solo punto a un tiempo específico [53, 54]. El monitoreo farmacocinético proporciona mayor información del fármaco y del paciente, da una descripción más completa de los procesos que sufre el fármaco en ese paciente, y se puede obtener información como la magnitud y velocidad de absorción del fármaco, detectar la aparente distribución del fármaco en los tejidos, la velocidad de eliminación del fármaco; esta información se puede traducir en mejorar el régimen y el intervalo de dosificación de los fármacos y así

reducir riesgos. Sin embargo, este tipo de monitoreo resulta poco práctico y costoso por la cantidad de muestras y el tiempo que se invierte en su realización [54, 55].

Para el caso del micofenolato, el monitoreo de niveles en valle parece ser poco útil, debido a que la cinética de este fármaco es muy errática, se llegan a observar dos o tres picos en su perfil farmacocinético y al intentar relacionar el único punto de concentración con la exposición total al fármaco nos se observa una buena correlación debido a que no se consideran esos máximos de concentración [29] [56-58]. En cambio, para tacrolimus aunque su biodisponibilidad es variable, la cinética es más predecible y hay una buena correlación entre los niveles en valle y la ABC por lo cual es un mejor descriptor de la exposición que el micofenolato [47].

Aun con los monitoreos, el reto radica en obtener esas exposiciones o niveles objetivo, esto debido a la gran variabilidad en su farmacocinética, ya que se ha observado variabilidad intra e interindividual para ambos fármacos [47, 56, 57, 59, 60]. Se ha observado que un 20% de los pacientes bajo algún tratamiento inmunosupresor requieren modificar su régimen de dosificación ya sea disminuyendo las dosis o suspendiendo temporalmente por la aparición de algún evento adverso, llegando en algunos casos a la suspensión definitiva del fármaco o un cambio en la combinación de inmunosupresores, con los riesgos que esto conlleva [7, 9, 10, 61]

1.3.2. Monitoreo farmacodinámico.

Considerando las características farmacocinéticas de ambos inmunosupresores y las limitantes que tienen los monitoreos de las concentraciones, la asociación que se hace entre la eficacia-seguridad para los inmunosupresores y la exposición a ellos puede no ser muy precisa desde el punto de vista predictivo.

Aun hay controversia si realmente es útil desde el punto de vista clínico realizar estos tipos de monitoreos y la correcta manera de realizarse [62].

Como alternativa se está proponiendo realizar el monitoreo farmacodinámico, en donde se evalúan biomarcadores asociados a los mecanismos de acción de los fármacos.

Se ha propuesto la cuantificación de citocinas, la actividad enzimática de los blancos farmacológicos así como la propia proliferación de linfocitos T [63, 64]. Sin embargo, no se ha propuesto formalmente un biomarcador para poder evaluar la eficacia al tratamiento inmunosupresor. Para tacrolimus se han avalado los nivel de expresión de algunas citocinas como: IL-2, IL-4, TNF- α , INF- γ y la actividad de calcineurina, de las cuales, la actividad de la calcineurina y en menor magnitud, los niveles de IL-2 correlacionan con la proliferación del linfocito T. [65-68]. Para el micofenolato, los estudios farmacodinámicos también han incluido los niveles de expresión de las citocinas, la actividad de la IMPDH, su enzima blanco y la proliferación de los linfocitos T [64, 68].

1.4 Herramientas analíticas.

1.4.1. Farmacometría.

Por la cantidad de información a considerar en los pacientes como son la farmacoterapia empleada, la evolución del paciente y del injerto, los posibles episodios de rechazo, los cambios de régimen inmunosupresor, los ajustes de dosis, la comedicación para otros padecimientos, se están proponiendo en algunos centros dedicados a trasplantes, el uso de herramientas analíticas que desde un punto de vista cuantitativo ayuden a soportar la toma de decisiones en la práctica clínica [69, 70].

Este tipo de herramientas analíticas integran información clínica del paciente, información cinética y dinámica de los medicamento administrados. Esto serviría para mejorar el manejo clínico de los pacientes. Aunque la aplicación de este tipo de herramientas se había propuesto desde el año de 1968 por el Dr. R.W. Jelliffe y en el año de 1969 por el Dr. L.B. Sheiner [71, 72], no ha sido hasta el año de 2010 que se ha consolidado como una disciplina científica denominada “Farmacometría” [73], la cual está estrechamente ligada a dos áreas: la farmacología y la estadística [74].

La farmacometría ha sido descrita como:

“Ciencia que se basa en la descripción cuantitativa de los padecimientos, los efectos de los fármacos y su variabilidad” [75]

“La ciencia que se basa en la aplicación de principios cuantitativos para la interpretación de observaciones farmacológicas” [76].

1.4.2. Relación farmacocinética – farmacodinámica.

La obtención de información cinética y dinámica del uso de los fármacos en la clínica resulta ser de gran relevancia cuando se interpreta de manera integrada [77], la integración se puede realizar mediante modelos farmacocinéticos, farmacodinámicos o modelos farmacocinéticos-farmacodinámicos, con los cuales a partir de datos experimentales como las concentraciones del fármaco a cierto tiempo y los datos de las concentraciones efectivas se puede obtener el curso temporal de la respuesta tras el uso de un fármaco [77, 78]. Un modelo es una expresión matemática que nos ayuda a representar algún evento en términos matemáticos [77]. Para el caso de modelos en farmacología, quedan descritos por sus parámetros fundamentales que en el caso de modelos farmacocinéticos son el volumen de distribución (Vd) y el aclaramiento del fármaco (Cl), mientras que para modelos farmacodinámicos quedaría en

términos del efecto máximo que se alcanza con el fármaco (E_{max}) y la concentración a la cual se tiene el 50% del efecto ($EC_{50\%}$) [77].

Al combinar la cinética y la dinámica podemos determinar el curso temporal del efecto de un fármaco, esto es la relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) de los fármacos en el organismo. Esta relación está descrita por los parámetros farmacocinéticos, farmacodinámicos y su variabilidad. Si se compara la farmacocinética de un paciente con otro es fácil detectar si las concentraciones o sus exposiciones son distintas, quizás debido a diferencias en la absorción, el metabolismo o la eliminación del fármaco en el organismo, sin embargo, la evaluación del efecto no es tan simple, en algunos casos, la respuesta que se espera es fácil de observar, pero hay algunos fármacos en donde su respuesta no es tan clara, o su efecto se da días después de la administración del mismo, con lo que el seguimiento farmacodinámico no se observa a simple vista. Por ello, se han desarrollado distintos modelos farmacodinámicos que pueden describir el efecto, de manera general se pueden observar dos casos, aunque existen más modelos farmacodinámicos. 1) cuando el efecto del fármaco es inmediato, y se relaciona directamente con las concentraciones observadas del fármaco, el 2) cuando el efecto del fármaco es retardado en relación con las concentraciones observadas del fármaco, un modelo de respuestas indirectas [78, 79].

1.4.3. Aplicación del modelaje PK/PD.

La aplicación de este tipo de herramientas no ha sido explotada como en otras áreas, sus más grandes avances se han dado gracias a la industria farmacéutica, este tipo de análisis se ha implementado en el desarrollo y la evaluación de estudios clínicos en distintas fases [80-82]. Organismos como la Administración de Alimentos y Medicamentos de Estados Unidos de América (FDA- Por sus siglas en inglés), han implementado guías sobre el diseño, el análisis de datos y las cuestiones regulatorias involucradas al desarrollar

estudios de exposición-respuesta de fármacos ya sea en el proceso de descubrimiento y desarrollo de nuevas moléculas hasta estudios confirmatorios de eficacia y seguridad de medicamentos [83-85].

1.5. Uso de genéricos en trasplantes.

1.5.1. Medicamentos genéricos

Los medicamentos genéricos son una alternativa terapéutica, el 75% de las prescripciones realizadas en Estados Unidos son de medicamentos genéricos, es evidente que este crecimiento es debido a los ahorros que representa para los sistemas de salud, y las ganancias para los fabricantes, algunos reportes indican que han llegado a generar ventas por \$34 billones de dólares [86].

Para considerar un medicamento como genérico, este debe cumplir con pruebas que demuestren su calidad, pruebas denominadas de intercambiabilidad. Los medicamentos con la categoría de genéricos, son las especialidades farmacéuticas que cumplen con dichas pruebas, con lo que demuestran que son equivalentes con respecto al medicamento de referencia dentro de un intervalo definido [48].

Las pruebas fundamentales de intercambiabilidad, son la bioequivalencia y el perfil de disolución, las cuales están bien descritas en la **NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013**, que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de biocomparabilidad. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de biocomparabilidad.

1.5.2. Pruebas de intercambiabilidad

- **Bioequivalencia:** la relación entre dos equivalentes farmacéuticos o alternativas farmacéuticas cuando al ser administrados bajo condiciones similares producen biodisponibilidades semejantes. La biodisponibilidad es la proporción de fármaco que se absorbe a la circulación general después de la administración de un medicamento y el tiempo que requiere para hacerlo.
- **Perfil de disolución:** la determinación experimental de la cantidad de fármaco disuelto a diferentes tiempos, en condiciones experimentales controladas, a partir de la forma farmacéutica.

1.5.2.1. Bioequivalencia

Para el caso de la bioequivalencia se tiene que determinar la biodisponibilidad de las formulaciones a comparar, las cuales se denominan como medicamento de referencia, que por lo general es la formulación innovadora y el medicamento a prueba o candidato a genérico. Dicha prueba debe mostrar la relación de la magnitud y velocidad de la absorción del medicamento de referencia y el medicamento de prueba.

La relación de los descriptores farmacocinéticos ABC y la Cmax media del medicamento de referencia y el de prueba. Este procedimiento implica el cálculo del IC_{90%} para el cociente (o diferencia) de los promedios del ABC y Cmax entre los productos. Los límites del IC para las medias poblaciones, así como el nivel de confianza, se establecen para determinar la bioequivalencia. Para calcular el cociente de los promedios de los medicamentos, los cálculos deben de realizarse con los datos de ABC y Cmax transformados a su expresión logarítmica. El criterio de equivalencia es empleando el intervalo de aceptación de 0.8-1.25.

El diseño aleatorizado, cruzado 2x2 y en doble ciego, como el representado en la Figura II, que consta de 2 secuencias, en el primer periodo, la secuencia 1 recibe el medicamento de prueba y para la secuencia 2, el medicamento de prueba, después de un periodo de lavado, en el periodo II del estudio, la secuencia 1 recibe el medicamento de prueba y la secuencia 2 el de referencia. Las secuencias son los individuos agrupados en 1 y 2, mientras que los periodos se refiere al tratamiento a recibir, ya se el medicamento de prueba de referencias, al final del estudio los dos grupos habrán recibido los dos tratamientos (Figura II).

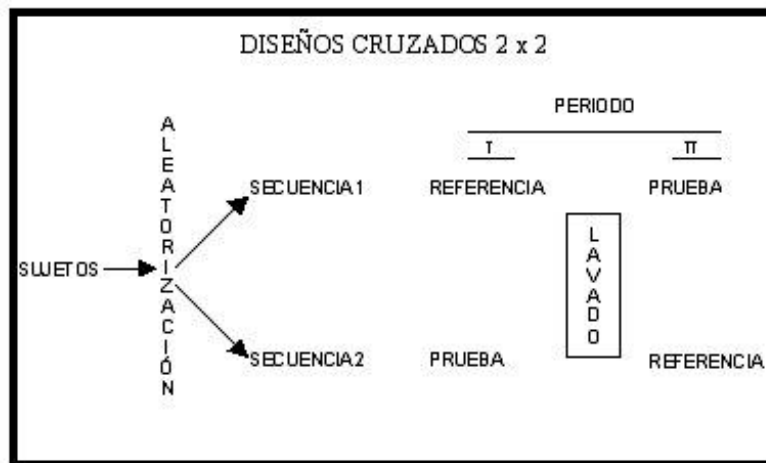


Figura II. Diseño para estudios de bioequivalencia

1.5.2.2. Perfil de disolución

Dicha prueba se basa en la determinación experimental de la cantidad de fármaco disuelto a diferentes tiempos, en condiciones experimentales controladas, a partir de la forma farmacéutica. Esta prueba lo que busca es emular las condiciones fisiológicas postadministración a las cuales es sometido el fármaco, en el tracto gastrointestinal. El perfil de disolución no solo ve la magnitud de disolución del fármaco, también la velocidad en la cual lo hace [48] (Figura III).

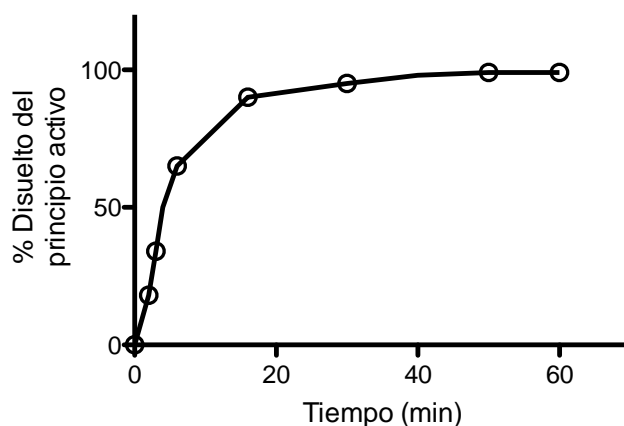


Figura III. Perfil de disolución

Los criterios para determinar el tipo de prueba de intercambiabilidad a emplearse ya sea el perfil de disolución o la bioequivalencia son descritos por la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), y hace mención a los siguiente criterios:

- **Forma farmacéutica**, todas las formas farmacéuticas orales de liberación inmediata, todas las formas farmacéuticas de liberación modificada, todas las formas farmacéuticas no orales de acción sistemática
- **Margen terapéutico estrecho**, deben ser considerados todos aquellos medicamentos en los que la relación entre su concentración terapéutica y su concentración tóxica es muy cercana, así como todos aquellos medicamentos que presenten efectos tóxicos a sus concentraciones terapéuticas.
- **Grupo terapéutico**, antibióticos, hormonales, antineoplásicos, cardiotónicos, antiepilépticos, inmunosupresores, virostáticos e hipoglucemiantes.
- **Farmacocinético**, medicamentos con farmacocinética no lineal, medicamentos con baja absorción, medicamentos que presenten un alto metabolismo de primer paso (mayor de 70%), medicamentos con vías

- metabólicas combinadas y medicamentos sin información sobre su farmacocinética.
- **Fisicoquímico**, fármacos con baja solubilidad, fármacos con polimorfismo y fármacos altamente inestables

Después de realizarse las distintas pruebas y los análisis que se han mencionado se podría determinar si un medicamento es o no considerado como genérico para su futura comercialización.

1.5.3. Calidad de inmunosupresores genéricos

Alrededor del mundo existen organismos encargados de regular y reglamentar la fabricación, el desarrollo de medicamentos, el almacenamiento, la distribución y la comercialización de los mismos, así como también el otorgamiento de las autorizaciones correspondientes para su comercialización. En México, se encuentra la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), en Estados Unidos se encuentra la Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA), en Europa se encuentra la Agencia Europea de Medicamentos (EMA), en Japón, la Agencia de Medicamentos y Dispositivos Médicos (PMDA), entre otros,

Sin embargo, la calidad de los medicamentos sigue siendo un tema delicado. Aún con el continuo debate sobre el uso de medicamentos genéricos con un estrecho índice terapéutico, como es el empleo de inmunosupresores genéricos en pacientes trasplantados, estos medicamentos en la actualidad se siguen empleando debido a razones económicas [87-89].

En diferentes países, se encuentran disponibles formulaciones genéricas de micofenolato de mofetilo, la bioequivalencia de esas formulaciones con el innovador CellCept® ha sido evaluada [90-94].

La prueba de bioequivalencia debe ser evaluada en voluntarios sanos adultos [87], sin embargo, la formulación genérica de micofenolato de mofetilo de Teva Pharmaceuticals ha sido evaluada en pacientes adultos con trasplante renal, presentando una farmacocinética equivalente [95], además de mostrar resultados clínicos comparables en términos de eficacia y seguridad [96] con respecto al innovador. Esta información es útil, ya que se ha argumentado que en el caso de los agentes inmunosupresores la biodisponibilidad en voluntarios sanos no necesariamente corresponde a la obtenida en pacientes trasplantados [88].

Las formulaciones de inmunosupresores genéricos son empleadas para tratar a pacientes pediátricos trasplantados, siendo particularmente muy escasa la información de biodisponibilidad en esta población [97].

En el caso del micofenolato de mofetilo, se ha señalado que los datos obtenidos en adultos no pueden extrapolarse directamente a los niños, ya que existen diversos cambios en la biodisponibilidad debido a cambios por la edad [98-100]. Por otra parte, se ha informado de que hay diferencias en la disolución entre las formulaciones genéricas y el innovador que pueden alterar la absorción del fármaco en el tracto gastrointestinal [101]. El papel de estas diferencias en la disolución sobre la biodisponibilidad de micofenolato, y concretamente en los niños, no se conoce.

Aún y con los distintos organismos regulatorios de la calidad de los medicamentos alrededor del mundo se han observado problemas en distintos países, ya sea con medicamentos subestándar y hasta falsificación de ellos, existiendo evidencia de que este fenómeno se da de manera frecuente en países en vías de desarrollo [102].

En México estudios realizados han mostrado que formulaciones genéricas de micofenolato sódico con capa entérica no cumplían con los requisitos de calidad marcados por la FDA en la prueba de disolución [22].

En contraste, las formulaciones genéricas de micofenolato de mofetilo mostraron cumplir con los requisitos de calidad marcados por la FDA. Las formulaciones evaluadas mostraron que tanto el contenido y los perfiles de disolución eran muy similares. Concluyendo que la formulación genérica exhibe una biodisponibilidad en niños comparable con el innovador [103].

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El manejo farmacológico en los pacientes trasplantados es complejo, considerando que es una politerapia, son fármacos con ventana terapéutica estrecha, presentan gran variabilidad farmacocinética y farmacodinámica, además de la propia evolución del paciente. Existen poblaciones en las cuales se deben de realizar estas consideraciones como es el caso de los pacientes pediátricos trasplantados. Sin embargo, la cantidad de información sobre esta población específica es muy limitada [14, 17, 19-22,32-33, 39].

El tacrolimus y el ácido micofenólico son fundamentales dentro de la terapia inmunosupresora en pacientes trasplantados [17,39].

Dentro de la práctica clínica se han implementado el monitoreo de las concentraciones plasmáticas, en algunos casos el monitoreo farmacocinético y el monitoreo farmacodinámico como herramientas para mejorar el cuidado de los pacientes trasplantados [51, 13, 49, 64, 68, 52]. Sin embargo, la información obtenida, por lo general no es interpretada e integrada de manera adecuada dada la complejidad de la información y el manejo de los conceptos de farmacocinética y/o farmacodinamia del paciente trasplantado [69,70,77].

Es por esto que se propuso diseñar un modelo para simular la relación farmacocinética y farmacodinámica de tacrolimus dentro de la terapia inmunosupresora. Así, como también caracterizar las diferencias farmacocinéticas de micofenolato de mofetilo en pacientes postrasplantados y su relación con las formulaciones administradas. Además, mostrar la aplicación del modelado y simulación como soporte en la evaluación de estudios de bioequivalencia para inmunosupresores.

3. OBJETIVOS

- Caracterizar las diferencias farmacocinéticas de micofenolato en pacientes pediátricos pre y postrasplantados para considerarlas como medida predictiva de la exposición al fármaco.
- Entender las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de los principales inmunosupresores usados en el trasplante renal.
- Mostrar la aplicación del modelado y simulación en los estudios de bioequivalencia de inmunosupresores.

3.1. Objetivos específicos:

- Cuantificación por HPLC de AMF en muestras provenientes de la farmacocinética de pacientes trasplantados.
- Caracterizar la variabilidad farmacocinética del ácido micofenólico dentro de la terapia inmunosupresora en pacientes pre y postrasplante y su asociación con la calidad de las formulaciones administradas.
- Caracterizar la variabilidad farmacocinética y farmacodinámica del tacrolimus dentro de la terapia inmunosupresora en el trasplante renal y su relación con la farmacodinamia del ácido micofenólico.
- Vincular los conceptos de variabilidad farmacocinética y farmacodinámica de los inmunosupresores en los estudios de bioequivalencia.

4. MATERIALES Y METODOS

4.1. Estudio farmacocinético del ácido micofenólico

Se realizó un estudio prospectivo, en pacientes pediátricos pre y pos-trasplante renal, con función renal estable, y que dentro de su régimen inmunosupresor estuvieran siendo tratados con micofenolato de mofetilo/micofenolato sódico ó alguna formulación de ácido micofenólico. Los pacientes fueron captados en la consulta externa del Hospital Infantil Federico Gómez. Se les invitó a participar en el estudio y citó de manera programada al sitio de la toma de muestras.

En algunos pacientes se llevaron a cabo dos visitas:

En la primera visita, ya fueran pacientes pre o postrasplante se realizaron los siguientes pasos:

- Firma del consentimiento informado
- Registro de los datos del paciente
- Examen médico completo
- Toma de muestra para biometría
- En pacientes trasplantados se evaluó la presencia de posibles eventos adversos relacionados con toma del medicamento en su uso cotidiano.
- El paciente trasplantado llegó antes de la hora en que toma su dosis de la mañana, en ayunas y habiendo tomado la dosis de la noche.
- Al paciente pretrasplantado se le realizó el primer estudio farmacocinético a una sola dosis de 600 mg/m² de micofenolato de mofetilo (Cell-Cept).

El procedimiento para toma de muestras fue igual para los dos tipos de pacientes. Se tomarón 8 muestras sanguíneas de 1 ml en tubo microtainer con anticoagulante (excepto en la primera muestra que se tomaron 3.5 mL para los análisis), los siguientes tiempos fueron 0.5, 1, 2, 3, 4, 6, y 12 horas. Las

muestras de la farmacocinética se almacenaron hasta su análisis a -20°C , analizándose en un periodo menor a los 2 meses de obtenidas.

Se realizó el perfil farmacocinético a cada uno de los pacientes, ya sean pre o pos-trasplantados. Siguiendo el mismo procedimiento antes mencionado. Las concentraciones de ácido micofenólico en las muestras se analizaron por cromatografía de líquidos de alta resolución [104]. Se calculó el ABC de la curva de concentración plasmática vs. tiempo usando el método de los trapecoides, C_{\min} , C_{\max} y t_{\max} se tomaron directamente de los puntos experimentales, los cálculos se realizaron con el programa WinNonlin versión 6.0. Los resultados de la farmacocinética se le proporcionaron al médico nefrólogo tratante.

4.2. Relación farmacocinética-farmacodinámica de tacrolimus

A partir de datos farmacocinéticos publicados de pacientes tratados con tacrolimus, micofenolato de mofetilo y prednisona [105], y datos farmacodinámicos de inhibición de calcineurina inducida por tacrolimus [65] se obtuvo:

- La simulación de la relación farmacocinética/farmacodinámica de tacrolimus en pacientes tras una dosis y a múltiples dosis en estado estacionario.
- La relación farmacocinética/farmacodinámica de micofenolato de mofetilo en pacientes tras una dosis y a múltiples dosis en estado estacionario.
- Se caracterizó la relación farmacodinámica de tacrolimus/micofenolato dentro de la terapia inmunosupresora.

4.3 Simulación para tacrolimus.

1. Como primer paso, de los datos farmacodinámicos de tacrolimus publicados en la literatura por Millan & Cols, 2003 en voluntarios sanos, se obtuvo el modelo farmacodinámico y los parámetros:

- Efecto máximo (E_{max})
- Concentración efectiva al 50% ($EC_{50\%}$)
- Coeficiente de Hill (h)

Se emplearon los datos farmacocinéticos de tacrolimus de concentración vs tiempo publicados por Park & Cols, 2009 en pacientes adultos trasplantados, de los cuales se obtuvo el perfil farmacocinético promedio y sus límites máximos y mínimos de variación para pacientes adultos [10].

2. Empleando el modelo farmacodinámico y los parámetros farmacodinámicos obtenidos se calculó el efecto inhibitorio promedio sobre calcineurina para cada uno de los puntos de concentración del perfil farmacocinético promedio así como para sus límites de variación.

3. Una vez calculada la relación farmacocinética/farmacodinámica (PK/PD) tras una dosis de tacrolimus se aplicó el principio de superposición para simular la relación (PK/PD) tras múltiples dosis.

4.4. Aplicación en estudios de bioequivalencia.

Simulación del estudio de bioequivalencia.

Se simuló el estudio de bioequivalencia para tacrolimus a partir de los datos farmacocinéticos promedio publicados por Park & Cols, 2009. Se simularon dos grupos de 24 perfiles farmacocinéticos.

1. El primero grupo de 24 perfiles farmacocinéticos con un margen de variación de $\pm 20\%$ de concentración y el segundo grupo de 24 perfiles farmacocinéticos con el margen de variación mostrado por pacientes trasplantados (más de 20%).
2. Se calcularon los siguientes parámetros farmacocinéticos de los 48 perfiles:
 - a. Área bajo la curva (AUC)

b. Concentración máxima (C_{max})

3. Se calcularon las relaciones en valores logarítmicos del ABC del grupo A entre el logaritmo del ABC del grupo B ($\log ABC^A / \log ABC^B$), así como las relaciones de los logaritmos de la C_{max} del grupo A entre el logaritmo de la C_{max} del grupo B ($\log C_{max}^A / \log C_{max}^B$), para cada sujeto simulado. A las relaciones para ABC y C_{max} se les calculó el intervalo de confianza al 90%. Las relaciones calculadas fueron compararon con los criterios de aceptación marcados por la FDA (IC90%: 0.8-1.25).
4. A los 48 perfiles farmacocinéticos se les calculó la relación farmacocinética/farmacodinámica.
5. Se calculó la ABC del efecto a los 48 perfiles simulados y se calculo la relación ABC del efecto para el grupo 1 y del grupo 2 de manera similar que para los parámetros farmacocinéticos.

Las simulaciones se realizaron en una hoja de cálculos convencional, (Microsoft® Excel 2011 para Mac Versión 14.1.2).

5. RESULTADOS

5.1. Farmacocinética del ácido micofenólico

Se obtuvieron los perfiles farmacocinéticos pre y post trasplante de 18 pacientes (Figura IV). La exposición no mostró diferencias significativas entre las cinéticas de los pacientes pretrasplantados y postrasplantados.

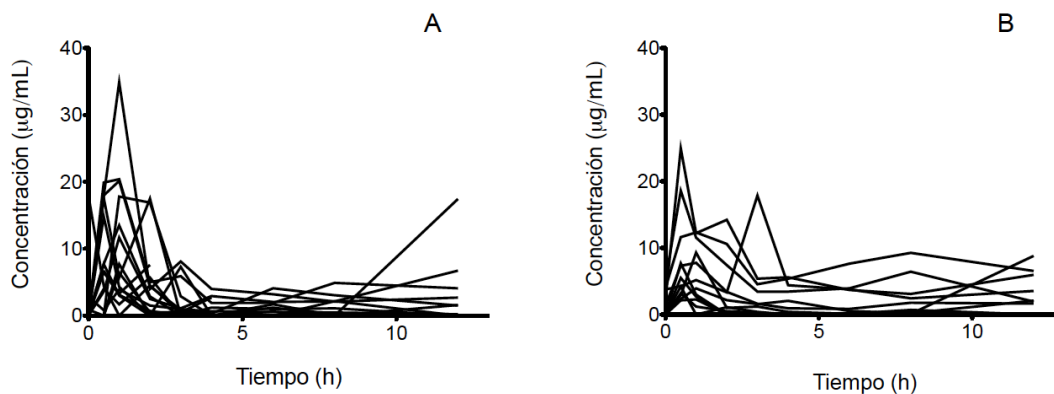


Figura IV. A, Farmacocinética de pacientes pre y **B,** post trasplante.

El área bajo la curva pre y postrasplante se comparó para determinar si individualmente seguía alguna tendencia para predecir la exposición, sin embargo, la exposición mostrada no reflejó una tendencia predecible (Figura V).

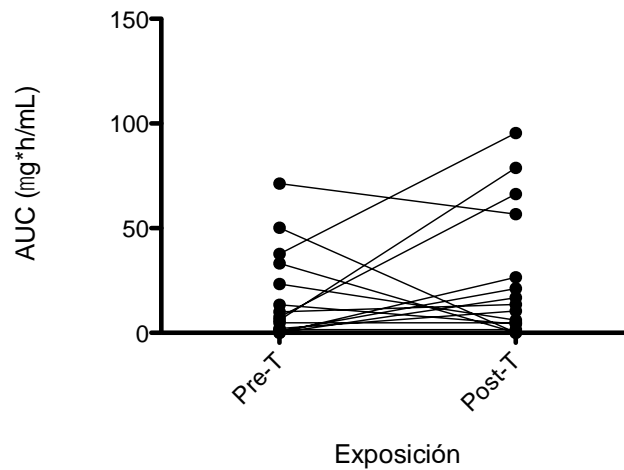


Figura V. Comparación de la exposición de ácido micofenólico en pacientes pre y postraplante.
 *Pre-T, pretrasplantado; Post-T, postrasplantado.

Se llevó a cabo el análisis de la exposición (ABC) que mostraron los pacientes pretrasplantados tras la administración de MMF. Un total de 18 pacientes fueron analizados, ocho pacientes recibieron la formulación innovadora Cellcept®, y 10 recibieron la formulación genérica Tevacept®. Los datos demográficos presentados en la Tabla III. La proporción de hombres fue 62% y 50% para los grupos Cellcept® y Tevacept® respectivamente, no hubo diferencia entre los grupos en edad, peso o superficie corporal. No se encontraron diferencias significativas en los niveles de exposición de los pacientes (Figura VI B), dichos datos se compararon con datos publicados en nuestro laboratorio sobre calidad de formulaciones de MMF cumpliendo con uniformidad de contenido y la disolución (Figura VI A).

Tabla III. Demografía de los pacientes pretrasplantados

Característica (Media ± SEM)	Cellcept®	Tevecept®	Valor de p
n	8	10	-
Edad (años)	13.88 ± 1.07	12.4 ± 1.47	0.451
Género (M/F)	5/3	5/5	-
Peso(kg)	38.63 ± 4.50	32.56 ± 4.44	0.357
Talla (cm)	146.5 ± 6.53	138.4 ± 8.45	0.477
S.C. (m ²)	1.231 ± 0.10	1.085 ± 0.10	0.354
TFG (mL/min/1.73m ²)	7.743 ± 0.85	12.92 ± 2.37	0.087

* Prueba t no pareada.

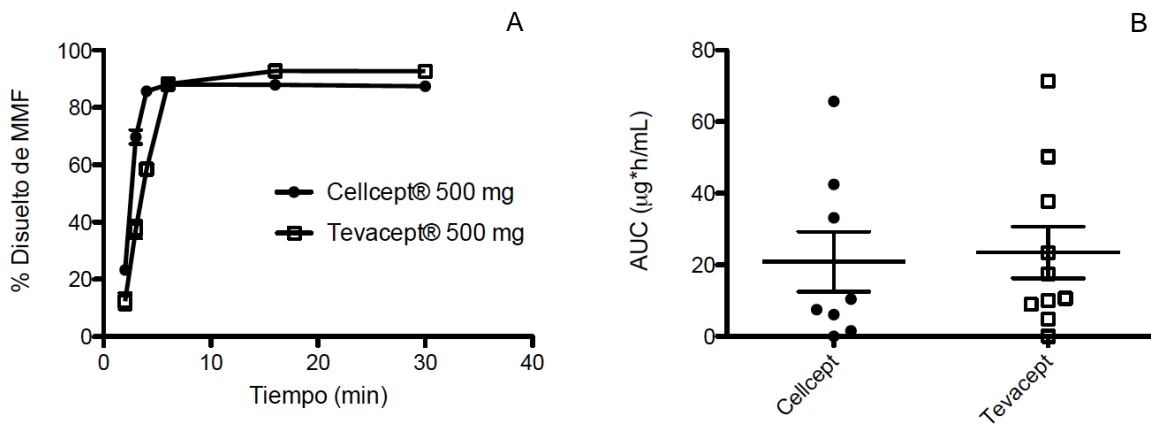


Figura VI. **A**, Perfil de disolución de las formulaciones de MMF, CellCept (Innovador), Tevecept (Genérico) imagen modificada de González-Bañuelos, 2010. **B**, Exposición al ácido micofenólico en pacientes pretrasplantados por formulación administrada.

Tabla IV. Farmacocinética del ácido micofenólico después de la administración de una dosis de MMF en pacientes pretrasplantados.

Parámetro (\pm SEM)	Cellcept®	Tevacept®	Valor de p
Dosis (mg)	656.3 \pm 45.75	625.0 \pm 41.67	0.621
AUC ₀₋₁₂ ($\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$)	19.97 \pm 8.257	23.53 \pm 7.111	0.747
AUC/Dosis	0.035 \pm 0.013	0.038 \pm 0.011	0.868
C _{max} ($\mu\text{g}/\text{mL}$)	8.56 \pm 2.673	13.56 \pm 3.188	0.262
C _{max} /Dosis ($\mu\text{g}/\text{mL} / 600 \text{ mg}/\text{m}^2$)	0.017 \pm 0.004	0.024 \pm 0.004	0.250
T _{max} (h)	1.14 \pm 0.322	1.05 \pm 0.194	0.811

* Prueba t no pareada.

5.2. Relación farmacocinética-farmacodinámica de tacrolimus

Se obtuvieron las concentraciones plasmáticas del tacrolimus de pacientes trasplantados tratados con tacrolimus, micofenolato de mofetilo y prednisona, publicados por Park en 2009 (Tabla IV) [105].

Tabla IV. Concentraciones plasmáticas de tacrolimus obtenidos de la literatura y su variabilidad.

Tiempo (h)	Concentración (ng/mL)		
	Promedio	- 40%	+ 40%
0	15.18	9.11	21.25
0.5	25.08	15.05	35.11
1	33.66	20.20	47.12
1.5	36.3	21.78	50.82
2	36.3	21.78	50.82
2.5	33.66	20.20	47.12
6	24.75	14.85	34.65
8	21.12	12.67	29.57
10	18.15	10.89	25.41
12	17.16	10.30	24.02

Se obtuvieron los datos farmacodinámicos de inhibición de calcineurina para tacrolimus de los datos publicados por Millan & Cols, 2003. Con los datos de la

inhibición de calcineurina se estimaron los parámetros E_{max} , $EC_{50\%}$ y el coeficiente de Hill (h) (Figura VII).

$$E = \frac{E_{max} C^h}{EC_{50\%}^h + C^h} \qquad E = \frac{96.3 C^3}{8.45^3 + C^3}$$

Figura VII. Modelo de efecto máximo (E_{max}) y parámetros farmacodinámicos de tacrolimus
 $EC_{50\%}$: Concentración efectiva al 50%, h: coeficiente de Hill.

Según los datos publicados por Millan & Cols, 2003, el tacrolimus muestra un relación concentración efecto muy pronunciada, lo cual queda de manifiesto por el valor del coeficiente de Hill de 3, lo cual permite observar que a concentraciones bajas en donde la curva de concentración-efecto inicia su fase de ascendente los cambios en la concentración provocan cambios mayores en el efecto inhibitorio, esto se haría más evidente si la fase ascendente fuera menor, por ejemplo, un coeficiente de Hill de 1. De igual manera, se representa la variación PD mostrada por Millan & Cols. 2003, la cual fue considerada para las simulaciones PK/PD (Figura VIII A).

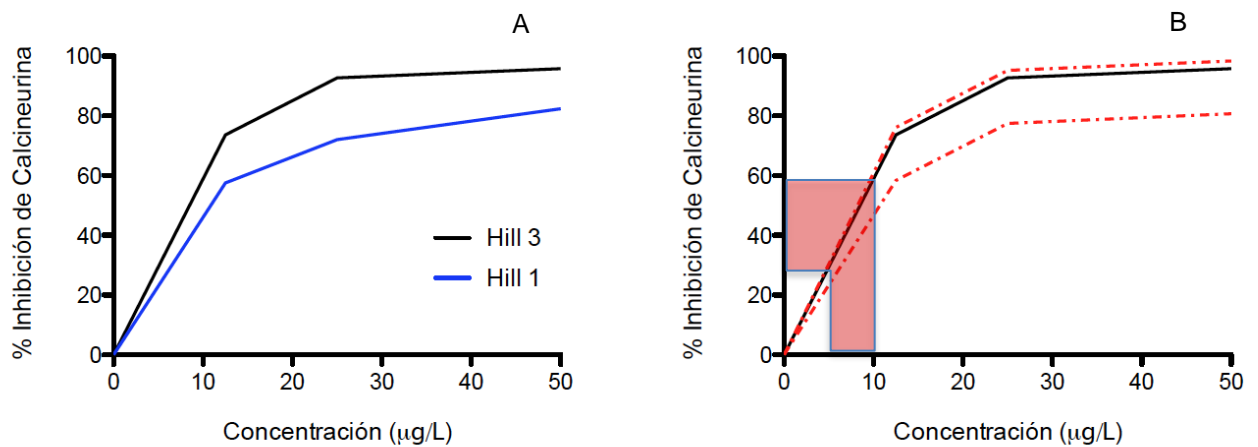


Figura VIII. A, Relación concentración efecto inhibitorio de calcineurina para tacrolimus con un coeficiente de Hill de 3 (Línea negra) y su comparativo con un Hill de 1 (Línea azul). **B**, Farmacodinámia promedio de tacrolimus (Línea negra) y su variación (Líneas puntedadas rojas) farmacodinámica de tacrolimus.

Con el modelo farmacodinámico ya determinado se calcularon los efectos obtenidos para cada tiempo de concentración del perfil farmacocinético por sustitución en el modelo farmacodinámico, de igual manera para su variación media (\pm 40% de concentración) obteniéndose con ello, la relación farmacocinética/farmacodinámica (Tabla V).

Tabla V. Curso temporal de la concentración

<i>Tiempo (h)</i>	Concentración de tacrolimus (ng/mL)			% de Inhibición Calcineurina		
	<i>Promedio</i>	<i>- 40%</i>	<i>+ 40%</i>	<i>Promedio</i>	<i>Efecto (- 40% Conc.)</i>	<i>Efecto (+ 40% Conc)</i>
0	15.18	9.11	21.25	82.125	53.526	90.601
0.5	25.08	15.05	35.11	92.750	81.805	94.975
1	33.66	20.20	47.12	94.799	89.724	95.748
1.5	36.3	21.78	50.82	95.100	90.983	95.859
2	36.3	21.78	50.82	95.100	90.983	95.859
2.5	33.66	20.20	47.12	94.799	89.724	95.748
6	24.75	14.85	34.65	92.612	81.309	94.922
8	21.12	12.67	29.57	90.500	74.264	94.102
10	18.15	10.89	25.41	87.467	65.621	92.882
12	17.16	10.30	24.02	86.021	62.002	92.282

5.3. Simulaciones para tacrolimus

Con los datos del curso temporal de las concentraciones y de inhibición de calcineurina, se aplicó el principio de superposición, con lo que se emuló el régimen de múltiples dosis que se administra con inmunosupresores (Figura IX).

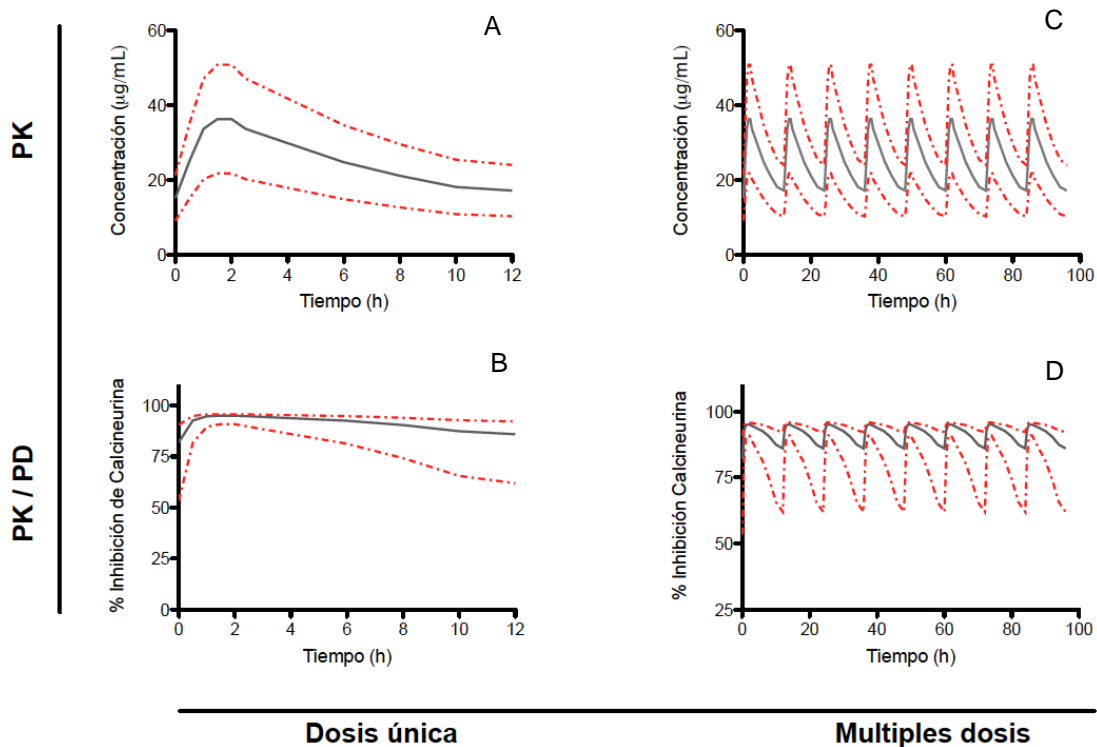


Figura IX. **A**, Perfil farmacocinético promedio de tacrolimus en pacientes trasplantados ($\pm 40\%$ en concentración). **B**, Relación PK/PD calculada para tacrolimus. **C**, Perfil farmacocinético tras múltiples dosis de tacrolimus. **D**, Curso temporal del efecto (relación PK/PD) tras múltiples dosis de tacrolimus. Para las gráficas C y D se aplicó el principio de superposición. En todos los casos se muestra la variabilidad (Líneas rojas punteadas).

Aplicando el principio de superposición al curso temporal del efecto tras una dosis, se simuló el efecto tras múltiples dosis. Considerando que en la vida real, la variación en un efecto no solo depende de factores farmacocinéticos (Figura X A y C), se calculó la relación PK/PD considerando la variación PK y PD tras la administración de una dosis (Figura X B) y tras múltiples dosis (Figura X D).

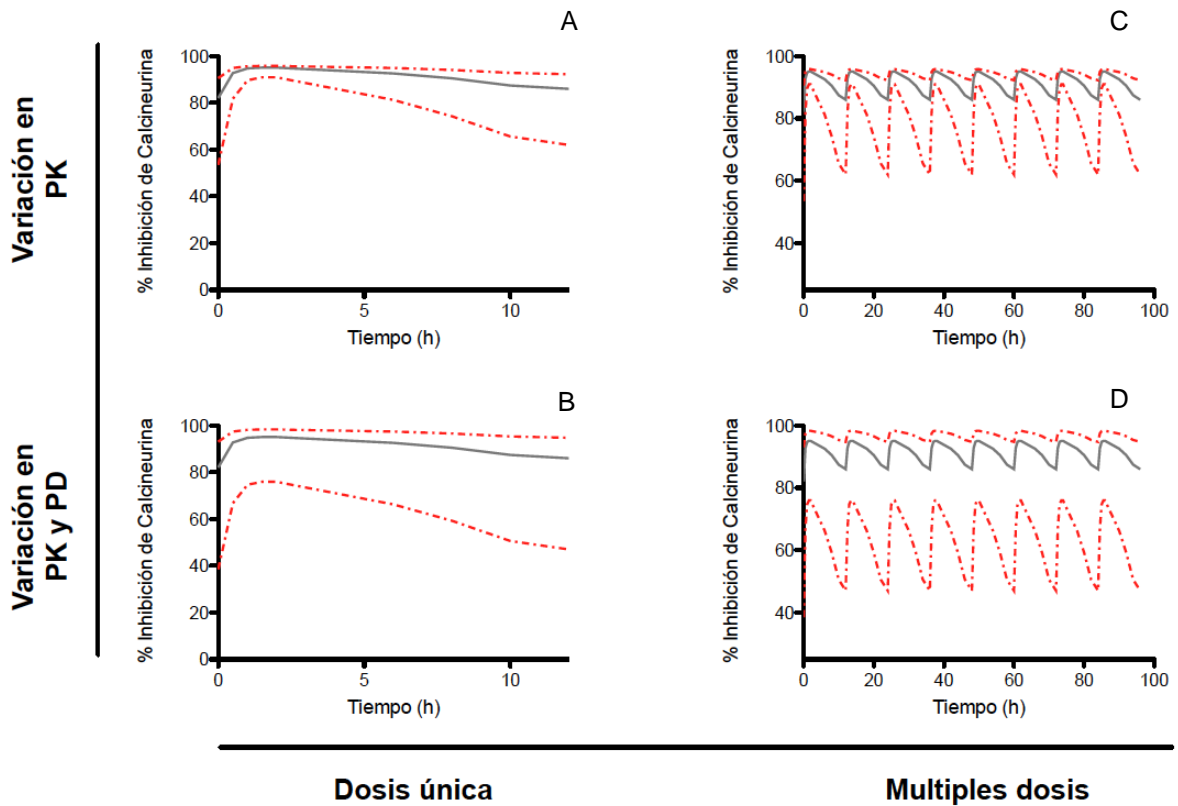


Figura X. **A**, Curso temporal del efecto considerando la variabilidad farmacocinética para tacrolimus ($\pm 40\%$ en concentración). **B**, Curso temporal del efecto considerando la variabilidad farmacocinética y farmacodinámica para tacrolimus. **C**, Simulación del curso temporal del efecto tras múltiples dosis, considerando la variabilidad farmacocinética para tacrolimus ($\pm 40\%$ en Concentración). **D**, Simulación del curso temporal del efecto tras múltiples dosis, considerando la variabilidad farmacocinética y farmacodinámica.

5.4. Aplicación en estudios de bioequivalencia.

Se simularon un total de 48 perfiles farmacocinéticos en dos grupos, tomando los valores promedio obtenidos en la literatura publicados por Park en 2009, para su simulación. El grupo 1 se simuló de acuerdo a la variación permitida para estudios de bioequivalencia que es del 20%. El segundo grupo se simuló acorde a la variación de tacrolimus que se observa en la práctica clínica (Figura XI).

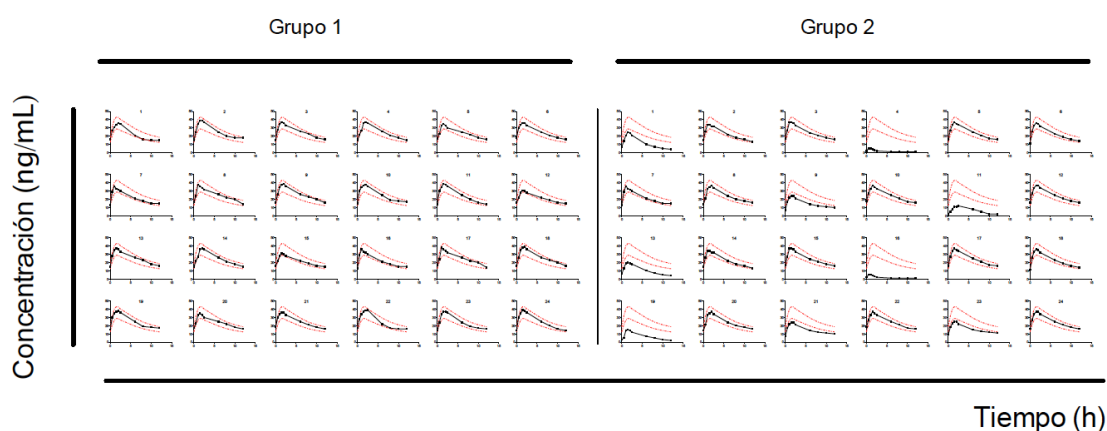


Figure XI. Grupo 1. Perfiles farmacocinéticos de tacrolimus con variación del 20% en las concentraciones; **Grupo 2.** Perfiles farmacocinéticos de tacrolimus con variación del 90% en las concentraciones.

Empleando el modelo farmacodinámico de Emax y los parámetros farmacodinámicos calculados (Emax: 96.3, EC50%:8.45 y h: 3), se calculó el efecto para cada punto de concentración de los 48 perfiles farmacocinéticos (Figura XII).

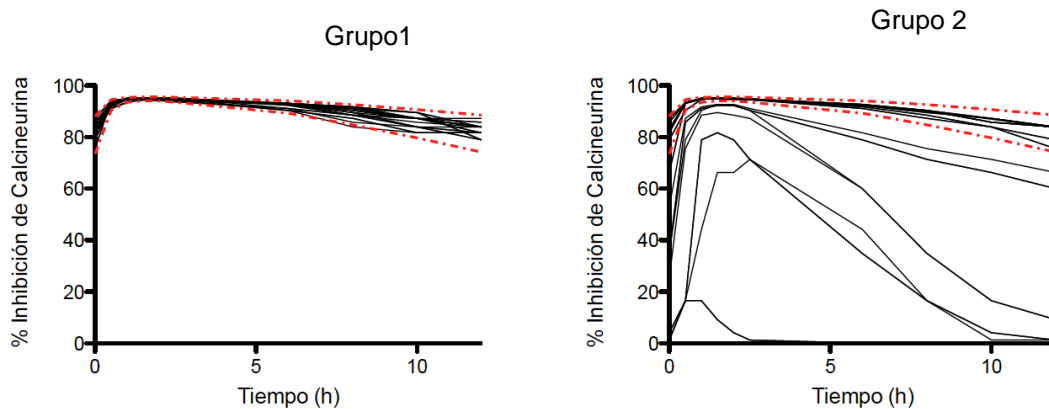


Figura XII. Grupo 1. Relación PK/PD para los perfiles farmacocinéticos dentro del 20% de variación. Grupo 2. Relación PK/PD para los perfiles dentro del 90% de variación cinética.

Para la comparación se consideró al grupo 1 como referencia y al grupo 2 como prueba, se calcularon AUC_{0-t} y C_{max} , aplicando un análisis farmacocinético no compartamental. Los intervalos de confianza al 90% fueron calculados para la relaciones de AUC y C_{max} de referencia entre prueba. Se consideró el criterio establecido por la FDA y la NOM 177 SSA1 2013, que dicta que los intervalos de confianza de AUC y C_{max} estén dentro del intervalo de 80-125 para valores logarítmicos (Figura XIII).

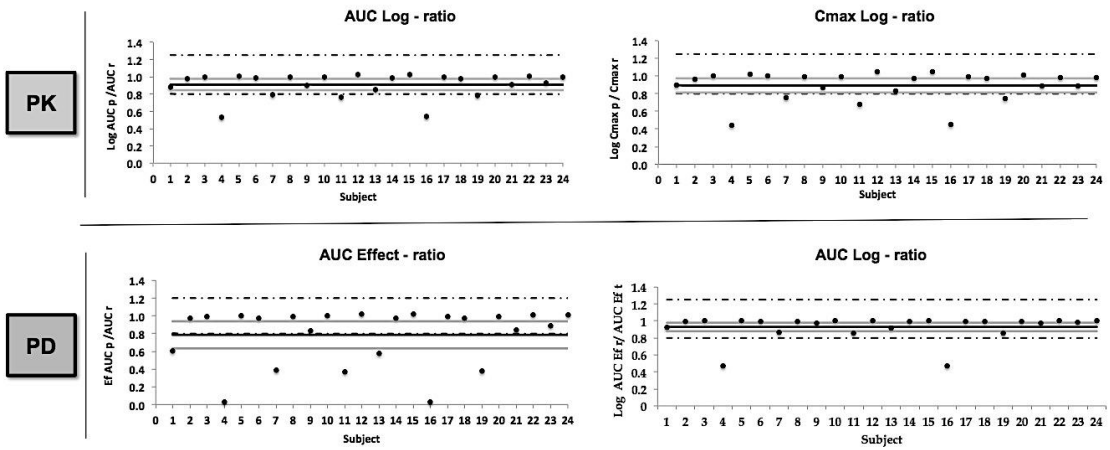


Figura XIII. Aplicación de los criterios de bioequivalencia para la relación PK y PD. Los puntos son los individuos, las líneas punteadas son los criterios de bioequivalencia marcados. Las líneas sólidas negras son la relación promedio. Las líneas gris solidas son los intervalos de confianza de los datos.

6. DISCUSIÓN

Farmacocinética de MMF

El manejo clínico de los pacientes trasplantados es un reto, existiendo varios factores que están involucrados para llevar a buen término el injerto. Uno de los principales es emplear inmunosupresores que son fundamentales para este propósito [5, 6]. Las combinaciones de inmunosupresores tratan de inhibir de manera controlada la respuesta del sistema inmune contra el órgano trasplantado. Sin embargo esto no siempre se logra, aún y con el uso de estos fármacos se tienen tasas de rechazo a largo plazo de un 30% [10], además de la frecuente aparición de eventos adversos asociados a concentraciones plasmáticas elevadas de los inmunosupresores [10].

Tacrolimus y micofenolato de mofetilo son inmunosupresores empleados frecuentemente dentro del régimen inmunosupresor en pacientes trasplantados, tanto en pacientes adultos como pediátricos [20, 97, 100, 106]. Cabe destacar que no hay formulaciones específicas para esta última población en nuestro país [14]. Tacrolimus se encuentra disponible en forma de cápsulas de liberación inmediata y en una formulación inyectable. Actualmente una nueva formulación de capsulas de liberación prolongada ha salido al mercado, la cual fue aprobada por la FDA en el año de 2013, dicha formulación permite simplificar el régimen de dosificación, ya que se da una sola toma al día, lo cual favorece el apego al tratamiento, en algunos estudios se ha documentado que el apego de un paciente a un régimen inmunosupresor puede ir del 5 al 71% [107]. Tanto para las capsulas de liberación prolongada como las de liberación inmediata se tienen presentaciones de 0.5, 1 y 5 mg de tacrolimus. En pacientes pediátricos se recomienda administrar una dosis de entre 0.15 a 0.20 mg/kg/día de tacrolimus, dicha dosis dividida en dos tomas, con la formulación convencional, tacrolimus se administra cada 12 horas [14]. Con una dosis promedio de 0.16 mg/kg/día, se tiene una ABC aproximada de tacrolimus de 104 mg*h/L [43]. Se ha observado que hay una buena correlación

entre la AUC y los niveles en valle (C_0), lo cual permite relacionar las concentraciones provenientes de los monitoreos rutinarios a los cuales se somete el paciente y con ello la predicción de la exposición a la cual está siendo expuesto el paciente, se ha encontrado correlación entre ABC y la C_0 de tacrolimus en sangre total, con un coeficiente de correlación (r) de 0.90 para la primera dosis oral, y una $r=0.83$ en el estado estacionario [43]. Sin embargo, el ajuste de dosis no depende exclusivamente a las concentraciones que muestre el paciente. El mismo fabricante hace la aclaración que el ajuste de dosis se debe de realizar considerando la respuesta clínica [14]. Dejando abierta la posibilidad de que aún y estando fuera de los intervalos de concentración establecidos, si la relación eficacia y seguridad del paciente es buena, no tiene porque modificarse el régimen de dosificación, con nuestro estudio tratamos de explicar lo que estaría sucediendo clínicamente en el paciente, lo cual será discutido más adelante.

Así como para tacrolimus, micofenolato de mofetilo tiene disponibles distintas formulaciones, en nuestro país se encuentra disponible en forma de comprimidos de 500 mg, cápsulas de 250 mg y solución inyectable con el equivalente de 500 mg de micofenolato de mofetilo. En algunos países se cuenta con una formulación oral en suspensión, diseñada especialmente para pacientes pediátricos [108], esta formulación en suspensión permite dosificar de manera más precisa, considerando que los pacientes pediátricos trasplantados requieren una dosis de 600 mg/m², dos veces al día, hasta un máximo de 1 g al día [14]. El emplear la formulación en suspensión traería ventajas, una de las cuales queda de manifiesto en nuestro estudio. Para el cual, se calculó la dosis de acuerdo a la superficie corporal de cada paciente a razón de 600 mg/m², sin embargo, se tuvo que administrar la dosis más cercana a la calculada, de acuerdo a las formulaciones disponibles, a nuestros pacientes se les administraron dosis de 500 y de 750 mg (Tabla IV), para los pacientes que recibieron 500 mg requerían en promedio 497 mg totales con rangos de 387 a 664 mg, dicha dosis es imposible de dosificar con las formulaciones orales de 250 y 500 mg disponibles en nuestro país [14], para nuestro estudio, la carencia de una formulación adecuada promueve en algunos

pacientes recibir una dosis $\pm 20\%$ de la dosis requerida, lo cual podría impactar en los niveles plasmáticos de ácido micofenólico, y sus consiguientes ajustes de dosis, sin embargo, el reflejo de esta variación de dosis en las concentraciones plasmáticas de MPA y su eficacia necesita ser documentada más a fondo, así como su eficacia y toxicidad. La disponibilidad de una formulación diseñada específicamente para pacientes pediátricos quizás resulta menos importante cuando la propia disponibilidad y acceso a los medicamentos en general es un tema a tratar en nuestro país. Para el año 2009, se reportó que el surtimiento completo de recetas fue de 97% en las instituciones de seguridad social, cifra que contrasta con 56.2% los hospitales de los Servicios Estatales de Salud (SESA), que además presentaron una gran variación entre estados (13 a 94%) [109]. Dentro de las estrategias implementadas por la Secretaría de Salud para mejorar la disponibilidad y acceso de medicamentos, esta la eliminación del requisito de planta en México, ya que para obtener un registro sanitario era obligatorio tener una planta que produjera en nuestro país, el suprimir este requisito favoreció la apertura del mercado farmacéutico a medicamentos innovadores y genéricos, y así poder cubrir la demanda de medicamentos, sin embargo, esta apertura al mercado de genéricos causa cuestionamientos sobre la capacidad operativa para la evaluación de la calidad de las formulaciones que desean entrar al mercado mexicano, ya que se requieren estudios de biodisponibilidad y bioequivalencia para ello, entre otros requisitos para considerarse como formulaciones genéricas y de eficacia y seguridad para moléculas nuevas [48, 110].

Nuestro grupo ha participado de forma activa en la evaluación de la calidad de algunas formulaciones de inmunosupresores [22], así como su uso en la práctica clínica, dando especial consideración a la población pediátrica trasplantada [111]. Para pacientes pediátricos se ha comparado la biodisponibilidad de formulaciones innovadoras de micofenolato de mofetilo vs micofenolato de sodio con capa entérica, al emplear la formulación con capa entérica se pretende disminuir los eventos adversos gastrointestinales, por ello se comparó la biodisponibilidad de las formulaciones en pacientes pediátricos trasplantados, los cuales no mostraron

diferencia en los niveles de absorción, para MMF con una ABC de 73 $\mu\text{g}^*\text{h}/\text{mL}$ y para micofenolato sódico con capa entérica de 63 $\mu\text{g}^*\text{h}/\text{mL}$, por otra parte dada la naturaleza de la formulaciones se observó diferencia significativa en el t_{max} , siendo de 1 h para MMF y 2 h para la formulación con capa entérica, mostrando mejor perfil de seguridad en relación con los eventos adversos gastrointestinales en estos pacientes [111].

Las formulaciones genéricas de inmunosupresores, entre ellas de MMF se emplean en muchos países [87-94]. Sin embargo, la calidad de algunas formulaciones queda en duda, la formulación de micofenolato sódico con capa entérica Femulan®, desarrollada por la empresa Landsteiner Scientific, S.A. de C.V. no cumplió con la prueba de disolución, dicha prueba consta en someter a agitación en un medio en disolución a pH de 1.2 y 6.8 las tabletas, en el medio a pH 1.2 la capa entérica debe de resistir, por lo cual el fármaco en el medio no debe de ser liberado, mientras que a pH 6.8, la formulación debe de liberar el contenido, simulando las condiciones fisiológicas a las cuales se encontraría en el tracto gastrointestinal y en que lugar debe de ser liberado para poder ser absorbido y disminuir los eventos adversos a nivel gastrointestinal, A pH 6.8 la formulación innovadora Myfortic® liberó 104.9% (104.0% - 105.6%) y Femulan® mostró liberación del 62% (51.3% - 67.7%), dicha diferencia entre las formulaciones fue estadísticamente significativa, con lo que se concluyó que la formulación genérica Femulan® no es equivalente al innovador, Myfortic®. Concluyendo que Femulan® no es una formulación adecuada para uso clínico en el trasplante de órganos, ya que no cumple con los estándares de calidad farmacéutica [22] Con los estudios mencionados quedaba la pregunta de que era lo que sucedía con las formulaciones genéricas de MMF que eran empleadas en pacientes pediátricos. No existen estudios específicos para evaluar la biodisponibilidad de inmunosupresores genéricos en niños, esto a pesar de que la Sociedad Americana de Trasplantes ha expresado claramente la necesidad de estudios específicos en esta población desde el año 2003 [112].

Los estudios de biodisponibilidad comparativa de agentes inmunosupresores, y específicamente de MMF y tacrolimus en la población pediátrica son requeridos por el hecho de que existen factores en niños que promueven diferencias en la biodisponibilidad con respecto a la de adultos [34, 98-100, 112, 113].

Este estudio es el primero en abordar la biodisponibilidad de MMF genérico en la población pediátrica. En nuestro estudio la comparación de la biodisponibilidad de la formulación genérica e innovadora no mostraron diferencias significativas en la ABC (Figura VI B) y tampoco en la C_{max} entre CellCept® y Tevacept®. Sin embargo, se observó gran variabilidad interindividual para ambas formulaciones. Dicha variación es consistente con reportes publicados en población pediátrica [98-100], así como en adultos [20]. La variación interpaciente fue similar con Cellcept® y con Tevacept®. La exposición individual al fármaco para ambas formulaciones se encontró en el mismo intervalo de variación, sin mostrar diferencia significativa, lo que indica que la absorción fue comparable (Figura VI B) [111]. Estos datos sugieren que la variabilidad en la biodisponibilidad del fármaco es debida a las características del paciente y no a la formulación administrada, ya que al compararlo con la evaluación del contenido del principio activo de la formulación publicado por nuestro grupo, las formulaciones de MMF están dentro del intervalo de aceptación de 90-110% de lo declarado en el marbete [103, 114], y que los perfiles de disolución entre el innovador y el genérico exhiben velocidades de disolución similares (Figura VI A), generando un factor de similitud f_2 dentro del intervalo de 50-100 que los hace considerarse equivalentes [48, 103, 115]. La variabilidad en la biodisponibilidad de las formulaciones debido al metabolismo de primer paso, aclaramiento y circulación entrohépática, dependen de factores genéticos y la propia condición del paciente [98-100]. La utilidad de los datos farmacocinéticos pretrasplante con fines predictivos de exposición postrasplante, se analizaron al comparar la cinética de pacientes pretrasplante por individuo y la farmacocinética postrasplante para el mismo paciente, sin embargo y debido a la gran variabilidad intraindividual observada en la Figura V, el número reducido de pacientes y el cambio de formulación de los mismos después del

trasplante no se pudo determinar el valor predictivo de la farmacocinética pretrasplante.

Estudios farmacocinéticos de inmunosupresores en pacientes pretrasplante se han llevado a cabo con anterioridad, considerándose aceptables desde un punto de vista ético [117-119]. Por razones éticas, la ejecución de estudios de biodisponibilidad en población pediátrica sana no es posible [116], lo cual genera un reto ya que estudios de biodisponibilidad comparativa en pacientes trasplantados estables trae consigo complicaciones por cambios continuos en las dosis de los otros inmunosupresores, y comedificación para otros padecimientos así como los propios cambios clínicos del paciente [20, 98-100]. Por tal motivo, la opción más viable fue realizar el estudio en pacientes con enfermedad renal en fase terminal en lista de espera del injerto.

Relación PK/PD

Tanto el tacrolimus como el micofenolato tienen algunas similitudes, ambos tienen farmacocinéticas variables, las cuales se deben en gran medida a las enzimas involucradas en su procesos de absorción, metabolismo y eliminación [20, 47]. Sin embargo, la farmacodinamia es distinta, no solo por el hecho de que tiene enzimas blanco diferentes, si no por la forma que interactúan con las mismas. La manera en la cual se da dicha interacción podría considerarse para su manejo clínico, al integrar la farmacocinética y la farmacodinamia [66, 120] (Figura X). Una de las principales diferencias es que tacrolimus en comparación con MMF, muestra cambios muy pronunciados en la inhibición de su enzima blanco, la calcineurina, mientras que para micofenolato los cambios no son tan drásticos en la inhibición de su enzima blanco, la IMPDH2. La manera de expresar esta diferencia es con un parámetro farmacodinámico, el coeficiente de Hill, este coeficiente nos muestra que tan pronunciado es el cambio en el efecto del fármaco en relación a los cambios de concentración (Figura VIII A). De acuerdo a los datos de Millan & Cols, y nuestro análisis para tacrolimus, este muestra un Hill de 3, mientras que para MPA es de 1 [68]. Los mayores cambios en el efecto para

tacrolimus se observan de manera clara a concentraciones menores a 20 ng/mL, ya que se encuentra en la fase ascendente de la curva de concentración vs efecto (Figura VIII B). En pacientes que presentan concentraciones más cercanas a los niveles objetivo en valle de 5 – 10 ng/mL, a los cambios en efecto son más pronunciados. Los cambios en el efecto inhibitorio de tacrolimus pueden ser mayores a los esperados, se debe tomar en consideración que hay pacientes con niveles bajos de tacrolimus y que pudieran a su vez tener niveles bajos de respuesta, si consideramos ambas posibilidades (Figura X B), la variación sería mayor a la esperada únicamente por variaciones en concentración (Figura X A). El mismo caso de pacientes con niveles bajos de tacrolimus en sangre y niveles bajos de respuesta y tras varios días de administración, se tiene la probabilidad de mostrar repetidamente inhibiciones de la enzima cercanas al 47%, en lugar de 86% que se observaría en un pacientes con niveles adecuados y una respuesta promedio (Figura X D). En aquellos pacientes con niveles bajos de respuesta o niveles del fármaco muy variables se acentúa la importancia del MPA como fármaco de soporte, el cual, como se menciona anteriormente no muestra cambios drásticos en su efecto inhibitorio sobre la IMPDH₂, Sin embargo, a las primeras dosis de micofenolato, el efecto no se observaría de manera inmediata y la utilidad como fármaco de soporte sería menor dado que existen reservas de guanina en el linfocito, por lo cual el linfocito aún podría responder a las señales de activación, una vez agotadas las reservas de guanina la célula sería incapaz de responder, ya que los linfocitos no son capaces de obtener nucleótidos de guanina por otras vías alternativas [18]. Aún con la variabilidad farmacocinética que se observa en pacientes tratados con micofenolato [20] (Figura IV), si consideráramos la farmacodinamia del mismo, las fluctuaciones en los niveles no serían tan alarmantes siempre y cuando los pacientes mantengan niveles adecuados de tacrolimus y que las fluctuaciones de micofenolato no sean continuas por varios días, si este fuera el caso el riesgo de rechazo se incrementaría.

PK/PD en bioequivalencia

El modelaje ya sea farmacocinético, farmacodinámico o PK/PD, ha sido exitosamente aplicado en la industria farmacéutica, para el desarrollo y evaluación de nuevos medicamentos, desde etapas iniciales de su desarrollo hasta fases preclínicas y clínicas [80-82]. Un ejemplo es el desarrollo de micofenolato de mofetilo, el cual fue uno de los primeros medicamentos que empleo simulación para diseñar los estudios clínicos para su registro (Pharmacometrics 2020). La FDA ha emitido guías para elaborar el diseño estudios y el reporte de resultados PK/PD de estudios clínicos para nuevas moléculas o formulaciones que son candidatas a ser comercializadas [83].

Parte de nuestra propuesta es mostrar la aplicación de la relación PK/PD en estudios de bioequivalencia y ejemplificar lo que podría suceder con fármacos como tacrolimus, con una ventana terapéutica estrecha y una relación concentración-efecto muy pronunciada (Hill 3), considerando los criterios actuales marcados por la FDA para estudios de bioequivalencia y en la NOM 177 de la secretaria de salud publicada en 2013 [48, 121]. Con la simulación del tacrolimus se muestra que es posible que una formulación cumpla con los criterios de bioequivalencia convencional (IC_{90%}: 80-125) (Figura XIII) [48], pero, sin embargo, no ser equivalente farmacodinámicamente. La variación permitida del 0.8 al 1.25 del intervalo de confianza, ha sido modificado en algunos países por las agencias de salud, por ejemplo la Agencia Europea de Medicamentos (EMA) y la Agencia de Salud Publica de Canadá, acepta los criterios de 0.8 a 1.25, con excepción de fármacos considerados como medicamentos de dosificación critica entre los que se considera a a digoxina, fenitoina, teofilina, warfarina, litio y los inmunosupresores sirolimus, ciclosporina y tacrolimus; para los cuales los limites de aceptación para IC_{90%} son de 0.9 a 1.12 para el ABC y de 0.8 a 1.25 para la C_{max}. Con estas modificaciones se reduce la variación permitida para las formulaciones candidatas a considerarse como genéricos. Se debe hacer notar que para los estudios de bioequivalencia se considera el promedio de las relaciones respectivas de la ABC y C_{max} de la formulación de referencia entre la de prueba, y generalmente no se considera las diferencias individuales en donde

dichas diferencias podrían ser de consideración en esos pacientes específicos (Figura XIII).

La medida tomada por la EMA y la Agencia de Salud Pública de Canadá, podría ser implantada en nuestro país, considerando que las formulaciones de inmunosupresores no están diseñadas para pacientes pediátricos, aunado a las variaciones permitidas en las formulaciones genéricas hacen que los ajustes de dosis no sean precisos. Un criterio alternativo sería incluir información de la relación PK/PD dentro de los requisitos de estudio para obtener un registro sanitario.

Perspectivas

Para micofenolato de mofetilo se está realizando la genotipificación de la UGT, enzima involucrada en el metabolismo del ácido micofenólico a sus respectivos glucurónidos. Lo que se pretende es obtener la frecuencia de los distintos polimorfismos en población pediátrica mexicana y determinar su influencia en la variabilidad en la cinética del ácido micofenólico, para identificar posibles subpoblaciones y dosificarlas de mejor manera.

Para nuestra simulación, es necesario realizar la validación del biomarcador y del modelo farmacodinámico, la validación se enfocaría a la relación entre la exposición de tacrolimus y su respuesta inhibitoria sobre calcineurina y la correlación con la eficacia a corto y largo plazo en pacientes pediátricos. El modelo obtenido en pacientes pediátricos se comparará a lo obtenido en adultos que mostramos en este estudio. Cabe mencionar que otro grupo especialista en esta área en la Universidad de Auckland en Nueva Zelanda, nos hizo la observación que la relación entre la concentración y la respuesta para tacrolimus era más pronunciada que un Hill de 3, lo cual sugiere que los cambios en el efecto de tacrolimus es mayor a lo mostrado, sin embargo a la fecha no se ha publicado algo al respecto.

7. CONCLUSIONES

Se caracterizaron las diferencias farmacocinéticas de micofenolato en pacientes pre y postrasplante. La farmacocinética pretrasplante no presenta valor predictivo aparente con los datos obtenidos.

Se pudo entender la relación que existe entre las características farmacocinéticas y farmacodinámicas de tacrolimus y micofenolato en la inmunoterapia.

El modelado y simulación puede ser aplicado en estudios de bioequivalencia de inmunosupresores.

Se determinó que la variación de la farmacocinética de micofenolato de mofetilo no es debida a la calidad de la formulación genérica Tevacept®.

El micofenolato de mofetilo puede estar funcionando como fármaco de soporte cuando los niveles de tacrolimus son bajos,.

La formulación Tevacept® parece ser una opción viable para el tratamiento inmunosupresor en los pacientes pediátricos trasplantados.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. CENATRA. Estadísticas [http://www.cenatra.salud.gob.mx/interior/trasplante_estadisticas.html].
2. Organization WHO: **Organ Donation and Transplantation Activities**. Edited by (GODT) GODT; 2010.
3. Amato D, Álvarez-Aguilar C, Castañeda-Limones R, Rodríguez E, Ávila-Díaz M, Arreola F, Gómez A, Ballesteros H, Becerril R, Paniagua R: **Prevalence of chronic kidney disease in an urban Mexican population**. *Kidney Int Suppl* 2005(97):S11-17.
4. Cueto-Manzano AM: **[The role of primary physicians in the early detection and treatment of chronic renal disease: challenges and opportunities]**. *Rev Invest Clin* 2008, **60**(6):517-526.
5. Sayegh MH, Carpenter CB: **Transplantation 50 Years Later, Progress, Challenges, and Promises**. *N Engl J Med*. 2004, **351**(26):2761-2766.
6. **Immunosupresión en el trasplante renal**
[<http://nefrologiadigital.revistanefrologia.com/modules.php?name=libro&op=viewCap&idpublicacion=1&idedition=13&idcapitulo=96>]
7. Pascual M, Theruvath T, Kawai T, Tolckoff-Rubin N, Cosimi AB: **Strategies to Improve Long-Term Outcomes after Renal Transplantation**. *N Engl J Med*. 2002, **346**(8):580-590.
8. Fishman JA: **Infection in Solid-Organ Transplant Recipients**. *N Engl J Med*. **357**(25):2601-2614.
9. Halloran PF: **Immunosuppressive Drugs for Kidney Transplantation**. *N Engl J Med*. 2004, **351**(26):2715-2729.
10. Heeger PS, Dinavahi R: **Transplant Immunology for Non-Immunologist**. *Mt Sinai J Med*. 2012, **79**(3):376-387.
11. Lamb KE, Lodhi S, Meier-Kriesche HU: **Long-term renal allograft survival in the United States: a critical reappraisal**. *Am J Transplant* 2011, **11**(3):450-462.
12. Kong Y, Wang D, Shang Y, Liang W, Ling X, Guo Z, He X: **Calcineurin-inhibitor minimization in liver transplant patients with calcineurin-inhibitor-related renal dysfunction: a meta-analysis**. *PLoS One* 2011, **6**(9):e24387.
13. Scholten EM, Cremers SC, Schoemaker RC, Rowshani AT, van Kan EJ, den Hartigh J, Paul LC, de Fijter JW: **AUC-guided dosing of tacrolimus prevents progressive systemic overexposure in renal transplant recipients**. *Kidney Int* 2005, **67**(6):2440-2447.
14. **ÍNDICE DE SUSTANCIAS ACTIVAS** [http://www.facmed.unam.mx/bmnd/dirijo.php?bib_vv=6]
15. Tierce JC, Porterfield-Baxa J, Petrilla AA, Kilburg A, Ferguson RM: **Impact of mycophenolate mofetil (MMF)-related gastrointestinal complications and MMF dose alterations on transplant outcomes and healthcare costs in renal transplant recipients**. *Clin Transplant*. 2005, **19**(6):779-784.
16. Bunnapradist S, Lentine KL, Burroughs TE, Pinsky BW, Hardinger KL, Brennan DC, Schnitzler MA: **Mycophenolate Mofetil Dose Reductions and Discontinuations after Gastrointestinal Complications Are Associated with Renal Transplant Graft Failure**. *Transplantation* 2006, **82**(1):102-107 110.1097/1001.tp.0000225760.0000209969.0000225761f.

17. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RWG, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, Leichtman AB: **Immunosuppression: Evolution in Practice and Trends, 1994–2004.** *Am J Transplant.* 2006, **6**(5p2):1111-1131.
18. Barlis P, Sianos G, Ferrante G, Del Furia F, D'Souza S, Di Mario C: **The use of intra-coronary optical coherence tomography for the assessment of sirolimus-eluting stent fracture.** *Int J Cardiol.* 2009, **136**(1):E16-E20.
19. Musuamba FT, Rousseau A, Bosmans J-L, Senessael J-J, Cumps J, Marquet P, Wallemacq P, Verbeeck RK: **Limited Sampling Models and Bayesian Estimation for Mycophenolic Acid Area under the Curve Prediction in Stable Renal Transplant Patients Co-Medicated with Ciclosporin or Sirolimus.** *Clin Pharmacokinet.* 2009, **48**(11):745-758 710.2165/11318060-000000000-000000000.
20. Staatz CE, Tett SE: **Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Mycophenolate in Solid Organ Transplant Recipients.** *Clin Pharmacokinet.* 2007, **46**(1):13-58.
21. Scheubel E AL: **In vitro dissolution of mycophenolate mofetil: differences observed between innovator and generic formulations. In vitro dissolution of mycophenolate mofetil: differences observed between innovator and generic formulations.** In *International Congress on Clinical Pharmacy: 26-4-2009 2009; Orlando, Florida; 2009.*
22. Esquivel A, González-Ramírez R, Alberú J, Gracida C, Medeiros M, Castañeda-Hernández G: **Comparison of Dissolution Properties of 2 Enteric-Coated Formulations Containing Mycophenolate Sodium: Myfortic vs Femulan.** *Transplant P* 2010, **42**(1):353-356.
23. Barraclough KA, Lee KJ, Staatz CE: **Pharmacogenetic influences on mycophenolate therapy.** *Pharmacogenomics* 2010, **11**(3):369-390.
24. Prausa SE, Fukuda T, Maseck D, Curtsinger KL, Liu C, Zhang K, Nick TG, Sherbotie JR, Ellis EN, Goebel J *et al*: **UGT Genotype May Contribute to Adverse Events Following Medication With Mycophenolate Mofetil in Pediatric Kidney Transplant Recipients.** *Clin Pharmacol Ther* 2009, **85**(5):495-500.
25. Hesselink DA, Van Hest RM, Mathot RAA, Bonthuis F, Weimar W, De Bruin RWF, Van Gelder T: **Cyclosporine Interacts with Mycophenolic Acid by Inhibiting the Multidrug Resistance-Associated Protein 2.** *Am J Transplant.* 2005, **5**(5):987-994.
26. Bullingham RES, Nicholls AJ, Kamm BR: **Clinical Pharmacokinetics of Mycophenolate Mofetil.** *Clin Pharmacokinet.* 1998, **34**(6):429-455.
27. Kuriata-Kordek M, Boratynska M, Falkiewicz K, Porazko T, Urbaniak J, Wozniak M, Patrzalek D, Szyber P, Klinger M: **The influence of calcineurin inhibitors on mycophenolic acid pharmacokinetics.** *Transplant P* 2003, **35**(6):2369-2371.
28. Filler G, Zimmering M, Mai I: **Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression.** *Pediatr Nephrol.* 2000, **14**(2):100-104.
29. Filler G: **Abbreviated mycophenolic acid AUC from CO, C1, C2, and C4 is preferable in children after renal transplantation on mycophenolate mofetil and tacrolimus therapy.** *Transpl Int.* 2004, **17**(3):120-125.
30. Mourad M, Malaise J, Chaib Eddour D, De Meyer M, König J, Schepers R, Squifflet JP, Wallemacq P: **Correlation of Mycophenolic Acid Pharmacokinetic Parameters with Side Effects in Kidney Transplant Patients Treated with Mycophenolate Mofetil.** *Clin Chem.* 2001, **47**(1):88-94.

31. Shipkova M, Armstrong VW, Oellerich M, Wieland E: **Mycophenolate mofetil in organ transplantation: focus on metabolism, safety and tolerability**. *Expert Opin Drug Metab Toxicol*. 2005, **1**(3):505-526.
32. Weber LT, Shipkova M, Armstrong VW, Wagner N, Schütz E, Mehls O, Zimmerhackl LB, Oellerich M, Tönshoff B: **The Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Relationship for Total and Free Mycophenolic Acid in Pediatric Renal Transplant Recipients: A Report of the German Study Group on Mycophenolate Mofetil Therapy**. *J Am Soc Nephrol*. 2002, **13**(3):759-768.
33. Ghio L, Ferrareso M, Viganò SM, Ginevri F, Perfumo F, Gianoglio B, Murer L, Zacchello G, Dello Strologo L, Cardillo M *et al*: **Mycophenolate Mofetil Pharmacokinetic Monitoring in Pediatric Kidney Transplant Recipients**. *Transplant P* 2005, **37**(2):856-858.
34. David-Neto E, Araujo LMP, Sumita NM, Mendes ME, Ribeiro Castro MC, Alves CF, Kakehashi E, Romano P, Yagyu EM, Queiroga M *et al*: **Mycophenolic acid pharmacokinetics in stable pediatric renal transplantation**. *Pediatr Nephrol*. 2003, **18**(3):266-272.
35. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, Hene R, Hoitsma A, Squifflet JP, Weimar W, Vanrenterghem Y, Van de Woude FJ, Verpooten GA: **The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation**. *Clin Pharmacol Ther* 1998, **64**(6):672-683.
36. **General Considerations for Pediatric Pharmacokinetic Studies for Drugs and Biological Products**
[<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm072114.pdf>]
37. Shaddy RE, Denne SC, Drugs TCo, Research CoP: **Guidelines for the Ethical Conduct of Studies to Evaluate Drugs in Pediatric Populations**. *Pediatrics* 2010, **125**(4):850-860.
38. **Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects**
[<http://www.wma.net/es/30publications/10policies/b3/17c.pdf>]
39. Knoll GA, Bell RC: **Tacrolimus versus cyclosporin for immunosuppression in renal transplantation: meta-analysis of randomised trials**. *BMJ* 1999, **318**(7191):1104-1107.
40. Barraclough KA, Isbel NM, Johnson DW, Campbell SB, Staatz CE: **Once- Versus Twice-Daily Tacrolimus Are the Formulations Truly Equivalent?** *Drugs* 2011, **71**(12):1561-1577.
41. Duncan MD, Wilkes DS: **Transplant-related Immunosuppression**. *Proc Am Thorac Soc*. 2005, **2**(5):449-455.
42. Sadaba B AJ, Garcia Quetglas E., Fernandez V.: **Posibles indicaciones del tratamiento de las enfermedades autoinmunes con tacrolimus**. *Rev Med Univ Navarra*. 2004, **3**(48):24-38.
43. Reyes-Pérez H, Medeiros-Domingo M: **Uso de tacrolimus en pediatría**. *Bol Med Hosp Infant Mex*. 2006, **63**:276-285.
44. Scott LJ, McKeage K, Keam SJ, Plosker GL: **Tacrolimus: A Further Update of its Use in the Management of Organ Transplantation**. *Drugs* 2003, **63**(12):1247-1297.
45. Suzuki N Fau - Sakane T, Sakane T Fau - Tsunematsu T, Tsunematsu T: **Effects of a novel immunosuppressive agent, FK506, on human B cell activation**. *Clin Exp Immunol*. 1990, **79**(2):240-245.

46. Gonschior AK, Christians U, Winkler M, Linck A, Baumann J, Sewing KF: **Tacrolimus (FK506) metabolite patterns in blood from liver and kidney transplant patients.** *Clin Chem.* 1996, **42**(9):1426-1432.
47. Staatz CE TS: **Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ.** *Clin Pharmacokinet.* 2004, **43**(10):623-653.
48. NOM-177-SSA1-2013: **NORMA Oficial Mexicana NOM-177-SSA1-2013, Que establece las pruebas y procedimientos para demostrar que un medicamento es intercambiable. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados que realicen las pruebas de intercambiabilidad. Requisitos para realizar los estudios de bioequivalencia. Requisitos a que deben sujetarse los Terceros Autorizados, Centros de Investigación o Instituciones Hospitalarias que realicen las pruebas de bioequivalencia.** In *DOF*. Edited by Salud Sd. Mexico D.F. ; 2013.
49. Sanchez-Fructuoso AI: **[Review of a new immunosuppressive drug: enteric-coated mycophenolate sodium (Myfortic)].** *Nefrologia* 2005, **25**(3):234-242, 244.
50. Sanchez Fructuoso A, Calvo N, Moreno MA, Giorgi M, Conesa J, Barrientos A: **Better mycophenolic acid 12-hour trough level after enteric-coated mycophenolate sodium in patients with gastrointestinal intolerance to mycophenolate mofetil.** *Transplant Proc* 2007, **39**(7):2194-2196.
51. Woillard J-B, de Winter BCM, Kamar N, Marquet P, Rostaing L, Rousseau A: **Population pharmacokinetic model and Bayesian estimator for two tacrolimus formulations – twice daily Prograf® and once daily Advagraf®.** *Br J Clin Pharmacol.* 2011, **71**(3):391-402.
52. Sanchez Fructuoso AI, Perez-Flores I, Calvo N, Valero R, Matilla E, Ortega D, Del Dedo MA, Fernandez-Perez C, Barrientos A: **Limited-sampling strategy for mycophenolic acid in renal transplant recipients receiving enteric-coated mycophenolate sodium and tacrolimus.** *Ther Drug Monit* 2012, **34**(3):298-305.
53. Gross AS: **Best practice in therapeutic drug monitoring.** *Br J Clin Pharmacol.* 1998, **46**(2):95-99.
54. Shaw LM, Holt DW, Keown P, Venkataramanan R, Yatscoff RW: **Current opinions on therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs.** *Clin Ther.* 1999, **21**(10):1632-1652.
55. Johnston A, Holt DW: **Therapeutic drug monitoring of immunosuppressant drugs.** *Br J Clin Pharmacol.* 1999, **47**(4):339-350.
56. Pawinski T, Durlik M, Szlaska I, Urbanowicz A, Ostrowska J, Gralak B, Majchrzak J: **The weight of pharmacokinetic parameters for mycophenolic acid in prediction of rejection outcome: The receiver operating characteristic curve analysis.** *Transplant P* 2006, **38**(1):86-89.
57. Pawinski T, Durlik M, Szlaska I, Urbanowicz A, Majchrzak J, Gralak B: **Comparison of mycophenolic acid pharmacokinetic parameters in kidney transplant patients within the first 3 months post-transplant.** *J Clin Pharm Ther* 2006, **31**(1):27-34.
58. Dösch AO, Ehlermann P, Koch A, Remppis A, Katus HA, Dengler TJ: **A comparison of measured trough levels and abbreviated AUC estimation by limited sampling strategies for monitoring mycophenolic acid exposure in stable heart transplant patients receiving cyclosporin A—Containing and cyclosporin A—Free immunosuppressive regimens.** *Clin Ther.* 2006, **28**(6):893-905.
59. Velickovic-Radovanovic RM, Paunovic G, Mikov M, Djordjevic V, Stojanovic M, Catic-Djordjevic A, Cvetkovic T: **Clinical Pharmacokinetics of Tacrolimus after the First Oral Administration in**

- Renal Transplant Recipients on Triple Immunosuppressive Therapy.** *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2010, **106**(6):505-510.
60. Wallemacq P, Verbeeck R: **Comparative Clinical Pharmacokinetics of Tacrolimus in Paediatric and Adult Patients.** *Clin Pharmacokinet.* 2001, **40**(4):283-295.
 61. Salvadori M, Holzer H, de Mattos A, Sollinger H, Arns W, Oppenheimer F, Maca J, Hall M, Groups EBS: **Enteric-coated mycophenolate sodium is therapeutically equivalent to mycophenolate mofetil in de novo renal transplant patients.** *Am J Transplant* 2004, **4**(2):231-236.
 62. Transplantation AJO: **KDIGO Clinical Practice Guideline for the Care of Kidney Transplant Recipients.** *Volume 9.* Edited by 3 S; 2009:S19-S20.
 63. Yatscoff RW, Aspeslet LJ, Gallant HL: **Pharmacodynamic monitoring of immunosuppressive drugs.** *Clin Chem.* 1998, **44**(2):428-432.
 64. Langman LJ, LeGatt DF, Yatscoff RW: **Pharmacodynamic assessment of mycophenolic acid-induced immunosuppression by measuring IMP dehydrogenase activity.** *Clin Chem.* 1995, **41**(2):295-299.
 65. Glander P, Hambach P, Liefeldt L, Budde K: **Inosine 5'-monophosphate dehydrogenase activity as a biomarker in the field of transplantation.** *Clin Chim Acta.* 2012, **413**(17,Äì18):1391-1397.
 66. Millan O, Brunet M, Campistol JM, Faura A, Rojo I, Vidal E, Jimenez O, Vives J, Oppenheimer F, Martorell J: **Pharmacodynamic approach to immunosuppressive therapies using calcineurin inhibitors and mycophenolate mofetil.** *Clin Chem.* 2003, **49**(11):1891-1899.
 67. Mino Y NT, Otsuka A, Ozono S, Kagawa Y, Kawakami J: **Inosine monophosphate dehydrogenase activity depends on plasma concentrations of mycophenolic acid and its glucuronides in kidney transplant recipients.** *Clin Chim Acta.* 2009 Nov;409(1-2):56-61 Epub 2009 Aug 31 2009, **409**(1-2):56-61.
 68. Premaud A, Rousseau A, Johnson G, Canivet C, Gandia P, Muscari F, Peron JM, Rostaing L, Marquet P, Kamar N: **Inhibition of T-cell activation and proliferation by mycophenolic acid in patients awaiting liver transplantation: PK/PD relationships.** *Pharmacol Res.* 2011, **63**(5):432-438.
 69. Dong M, Fukuda T, Vinks AA: **Optimization of Mycophenolic Acid Therapy Using Clinical Pharmacometrics.** *Drug Metab Pharmacokinet.* 2013, **advpub.**
 70. Marquet P: **Pharmacology of immunodepressants in transplantation UMR INSERM 850.** In *Institut National de la Sante et de la Recherche Medicale.* LIMOGES, FRANCE: Faculté de Médecine, Université de Limoges; 2014.
 71. Jelliffe RW: **Computer Assistance in Digitalis Dosage - a Telephone Service for Physicians.** *Fed Proc* 1968, **27**(2):348-&.
 72. Sheiner LB: **Computer-Aided Long-Term Anticoagulation Therapy.** *Comput Biomed Res* 1969, **2**(6):507-&.
 73. Pfister M, D'argenio DZ: **The Emerging Scientific Discipline of Pharmacometrics.** *J Clin Pharmacol.* 2010, **50**(9):6s-6s.
 74. Smith BP, Vincent J: **Biostatistics and Pharmacometrics: Quantitative Sciences to Propel Drug Development Forward.** *Clin Pharmacol Ther* 2010, **88**(2):141-144.

75. **Pharmacometrics** [<http://accpl.org/pharmacometrics/index.html>]
76. **Introduction to Pharmacometrics** [<http://holford.fmhs.auckland.ac.nz/teaching/medsci719/index.php>]
77. Ette EI, Williams PJ: *Pharmacometrics : the science of quantitative pharmacology*. Hoboken, N.J.: John Wiley & Sons; 2007.
78. Shargel L, Wu-Pong S, Yu ABC: *Applied biopharmaceutics & pharmacokinetics*. 5th edition. New York: Appleton & Lange Reviews/McGraw-Hill, Medical Pub. Division; 2005.
79. Mager DE, Wyska E, Jusko WJ: **Diversity of Mechanism-Based Pharmacodynamic Models**. *Drug Metab Dispos.* 2003, **31**(5):510-518.
80. Chien J, Friedrich S, Heathman M, de Alwis D, Sinha V: **Pharmacokinetics/pharmacodynamics and the stages of drug development: Role of modeling and simulation**. *The AAPS Journal* 2005, **7**(3):E544-E559.
81. Stone JA, Banfield C, Pfister M, Tannenbaum S, Allerheiligen S, Wetherington JD, Krishna R, Grasela DM: **Model-Based Drug Development Survey Finds Pharmacometrics Impacting Decision Making in the Pharmaceutical Industry**. *J Clin Pharmacol.* 2010, **50**(9 suppl):20S-30S.
82. Wetherington JD, Pfister M, Banfield C, Stone JA, Krishna R, Allerheiligen S, Grasela DM: **Model-Based Drug Development**. *J Clin Pharmacol.* 2010, **50**(9 suppl):31S-46S.
83. Administration FFaD: **Exposure-Response Relationships — Study Design, Data Analysis, and Regulatory Applications**. In *Guidance for Industry*. Rockville, MD; 2003.
84. Peck CC, Barr WH, Benet LZ, Collins J, Desjardins RE, Furst DE, Harter JG, Levy G, Ludden T, Rodman JH *et al*: **Opportunities for Integration of Pharmacokinetics, Pharmacodynamics, and Toxicokinetics in Rational Drug Development**. *J Clin Pharmacol.* 1994, **34**(2):111-119.
85. Bhattaram VA, Bonapace C, Chilukuri DM, Duan JZ, Garnett C, Gobburu JVS, Jang SH, Kenna L, Lesko LJ, Madabushi R *et al*: **Impact of pharmacometric reviews on new drug approval and labeling decisions - a survey of 31 new drug applications submitted between 2005 and 2006**. *Clin Pharmacol Ther.* 2007, **81**(2):213-221.
86. Karamehic J, Ridic O, Ridic G, Jukic T, Coric J, Subasic D, Panjeta M, Saban A, Zunic L, Masic I: **Financial Aspects and the Future of the Pharmaceutical Industry in the United States of America**. *Mater Sociomed.* 2013, **25**(4):286-290.
87. van Gelder T, Gabardi S: **Methods, strengths, weaknesses, and limitations of bioequivalence tests with special regard to immunosuppressive drugs**. *Transpl Int* 2013, **26**(8):771-777.
88. Pondrom S: **Can Generics Be Trusted?** *Am J Transplant.* 2010, **10**:708–710.
89. Al Ameri MN, Whittaker C, Tucker A, Yaqoob M, Johnston A: **A survey to determine the views of renal transplant patients on generic substitution in the UK**. *Transpl Int* 2011, **24**(8):770-779.
90. Zhang Q, Tao YF, Zhu YB, Zhu DC: **Bioequivalence and Pharmacokinetic Comparison of Two Mycophenolate Mofetil Formulations in Healthy Chinese Male Volunteers: An Open-Label, Randomized-Sequence, Single-Dose, Two-Way Crossover Study**. *Clin Ther.* 2010, **32**(1):171-178.
91. Almeida S, Filipe A, Neves R, Spinola AC, Tanguay M, Ortuno J, Farre A, Torns A: **Mycophenolate mofetil 500-mg tablet under fasting conditions: single-dose, randomized-**

- sequence, open-label, four-way replicate crossover, bioequivalence study in healthy subjects.** *Clin Ther.* 2010, **32**(3):556-574.
92. Estevez-Carrizo FE, Parrillo S, Cedres M, Estevez-Parrillo FT, Rodriguez P: **Comparative bioavailability of two oral formulations of mycophenolate mofetil in healthy adult Uruguayan subjects: a case of highly variable rate of drug absorption.** *Int J Clin Pharmacol Ther* 2010, **48**(9):621-627.
 93. Patel S, Chauhan V, Mandal J, Shah S, Patel K, Saptarshi D, Maheshwari K, Jha PK, Kale P, Patel K *et al*: **Single-dose, Two-way Crossover, Bioequivalence Study of Mycophenolate Mofetil 500 mg Tablet Under Fasting Conditions in Healthy Male Subjects.** *Clin Ther.* 2011, **33**(3):378-390.
 94. Saavedra S In, Sasso A J, Quiñones S L, Saavedra B Mn, Gaete G L, Boza T I, Carvajal H Cb, Soto L J: **Estudio de biodisponibilidad relativa entre dos formulaciones orales de micofenolato mofetilo en voluntarios sanos.** *Rev Med Chil.* 2011, **139**:902-908.
 95. Sunder-Plassmann G, Reinke P, Rath T, Wiecek A, Nowicki M, Moore R, Lutz J, Gaggl M, Ferkl M: **Comparative pharmacokinetic study of two mycophenolate mofetil formulations in stable kidney transplant recipients.** *Transpl Int* 2012, **25**(6):680-686.
 96. Rutkowski B, Bzoma B, Debska-Slizien A, Chamienia A: **Immunosuppressive regimens containing generic mycophenolate mofetil (Myfenax) in de novo renal transplant recipients--preliminary results of 6-month observation.** *Ann Transplant* 2011, **16**(4):74-80.
 97. Abdulnour HA, Araya CE, Dharnidharka VR: **Comparison of generic tacrolimus and Prograf drug levels in a pediatric kidney transplant program: brief communication.** *Pediatr Transplant* 2010, **14**(8):1007-1011.
 98. Tonshoff B, David-Neto E, Ettenger R, Filler G, van Gelder T, Goebel J, Kuypers DR, Tsai E, Vinks AA, Weber LT *et al*: **Pediatric aspects of therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in renal transplantation.** *Transplant Rev (Orlando)* 2011, **25**(2):78-89.
 99. Filler G, Bendrick-Peart J, Christians U: **Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil and sirolimus in children.** *Ther Drug Monit* 2008, **30**(2):138-142.
 100. Downing HJ, Pirmohamed M, Beresford MW, Smyth RL: **Paediatric use of mycophenolate mofetil.** *Br J Clin Pharmacol.* 2013, **75**(1):45-59.
 101. Scheubel E, Adamy L, Cardot JM: **Mycophenolate Mofetil: Use of a Simple Dissolution Technique to Assess Generic Formulation Differences.** *Dissolut Technol* 2012, **19**(1):52-58.
 102. Newton PN, Green MD, Fernandez FM: **Impact of poor-quality medicines in the developing world.** *Trends Pharmacol Sci.* 2010, **31**(3):99-101.
 103. González-Bañuelos J: **Disolucion comparativa de formulaciones orales de micofenolato de mofetilo comercializadas en Mexico.** CINVESTAV-IPN, Farmacología; 2010.
 104. González-Ramírez R: **Monitoreo terapéutico de micofenolato en pacientes con transplante renal y la posibilidad de variaciones en la determinación tras medicación concomitante por un método de HPLC.** CINVESTAV-IPN, Farmacología; 2009.
 105. Park SI, Felipe CR, Pinheiro-Machado PG, Garcia R, Fernandes FB, Casarini DE, Tedesco-Silva H, Jr., Medina-Pestana JO: **Tacrolimus pharmacokinetic drug interactions: effect of prednisone, mycophenolic acid or sirolimus.** *Fundam Clin Pharmacol* 2009, **23**(1):137-145.

106. David-Neto E, Pereira Araujo LM, Sumita NM, Mendes ME, Ribeiro Castro MC, Alves CF, Kakehashi E, Romano P, Yagyu EM, Queiroga M *et al*: **Mycophenolic acid pharmacokinetics in stable pediatric renal transplantation.** *Pediatr Nephrol.* 2003, **18**(3):266-272.
107. Dew MA, Dabbs AD, Myaskovsky L, Shyu S, Shellmer DA, DiMartini AF, Steel J, Unruh M, Switzer GE, Shapiro R *et al*: **Meta-analysis of medical regimen adherence outcomes in pediatric solid organ transplantation.** *Transplantation* 2009, **88**(5):736-746.
108. **Mycophenolate mofetil tablet, film coated (Teva Pharmaceuticals USA Inc).**
[\[http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=b414303f-e6f3-4e22-a537-96be352b59a4\]](http://dailymed.nlm.nih.gov/dailymed/lookup.cfm?setid=b414303f-e6f3-4e22-a537-96be352b59a4)
109. Sesma-Vazquez S, Gomez-Dantés O, J Wirtz V, Castro-Tinoco M: **Abasto, surtimiento y gasto de bolsillo en medicamentos en hospitales públicos de México en 2009** *Volume 53.* Mexico: Salud Pública de México; 2011:470-479.
110. LaJornada: **En riesgo, seguridad sanitaria nacional con eliminación del requisito de planta.** In *LaJornada.* Mexico: LaJornada; 2008.
111. Reyes H, Hernandez AM, Valverde S, Cataneo A, Mendoza A, Barrera I, Ortiz L, Garcia-Roca P, Lopez-Martinez B, Castaneda-Hernandez G *et al*: **Efficacy and safety of conversion of mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium in Mexican renal transplant children.** *Pediatr Transplant* 2010, **14**(6):746-752.
112. Alloway RR, Isaacs R, Lake K, Hoyer P, First R, Helderman H, Bunnapradist S, Leichtman A, Bennett MW, Tejani A *et al*: **Report of the American Society of Transplantation Conference on Immunosuppressive Drugs and the Use of Generic Immunosuppressants.** *Am J Transplant.* 2003, **3**(10):1211-1215.
113. Fernandez de Gatta MM, Santos-Buelga D, Dominguez-Gil A, Garcia M: **Immunosuppressive Therapy for Paediatric Transplant Patients.** *Clin Pharmacokinet.* 2002, **41**(2):115-135.
114. Vial J, Cohen M, Sassiati P, Thiebaut D: **Pharmaceutical quality of docetaxel generics versus originator drug product: a comparative analysis.** *Curr Med Res Opin* 2008, **24**(7):2019-2033.
115. Moore J W, Flanner H H: **Mathematical comparison of dissolution profiles.** *Pharm Tech* 1996, **20** 64-74.
116. **Pediatric Clinical Trials Guidance for Assessors.**
[\[http://www.who.int/childmedicines/CTguidance.pdf\]](http://www.who.int/childmedicines/CTguidance.pdf)
117. Seikku P, Hoppu K, Jalanko H, Holmberg C: **Predictive value of pretransplantation cyclosporine pharmacokinetic studies on initial post-transplantation dosing in pediatric kidney allograft recipients.** *Pediatr Transplant.* 2003, **7**(2):102-110.
118. Bauma WD, Veremis SA, Maddux MS, Pollak R, Mozes MF: **Optimizing cyclosporine use in pediatric patients by measuring pretransplant blood levels.** *Transplant P* 1987, **19**(1 Pt 2):1709-1710.
119. Fanta S, Jonsson S, Backman JT, Karlsson MO, Hoppu K: **Developmental pharmacokinetics of ciclosporin--a population pharmacokinetic study in paediatric renal transplant candidates.** *Br J Clin Pharmacol* 2007, **64**(6):772-784.
120. Premaud A, Rousseau A, Johnson G, Canivet C, Gandia P, Muscari F, Peron JM, Rostaing L, Marquet P, Kamar N: **Inhibition of T-cell activation and proliferation by mycophenolic acid in patients awaiting liver transplantation: PK/PD relationships.** *Pharmacol Res* 2011, **63**(5):432-438.

121. (CDER). **Bioavailability and Bioequivalence Studies for Orally Administered Drug Products — General Considerations.** In *Guidance for Industry*. Rockville, MD; 2003.