

LILIAN MONTEIRO PEREIRA

**Co-interferências da farmacocinética dos inibidores de calcineurina em associação com micofenolato mofetil em pacientes transplantados renais**

Tese apresentada à Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Nefrologia

Orientador: Prof. Dr. Elias David Neto

São Paulo  
2006

**Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)**

Preparada pela Biblioteca da  
Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

©reprodução autorizada pelo autor

Pereira, Lilian Monteiro

Co-interferências da farmacocinética dos inibidores de calcineurina em  
associação com micofenolato mofetil em pacientes transplantados renais / Lilian  
Monteiro Pereira. -- São Paulo, 2006.

Tese(doutorado)--Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo.  
Departamento de Clínica Médica.

Área de concentração: Nefrologia.

Orientador: Elias David Neto.

Descritores: 1.Monitoramento de medicamentos 2.Área sob a curva  
3.Farmacocinética 4.Ácido micofenólico 5.Ciclosporina 6.Tacrolimo 7.Transplante  
de rim

USP/FM/SBD-179/06

*À minha nobre, preciosa e amada família:  
meus pais, **Antonio Roberto e Celisa Stella**  
minhas irmãs, **Eliane e Cristiana**  
minha avó **Wanda**  
meus cunhados, **Caio e Rodrigo**  
minhas sobrinhas **Júlia e Isabela**, obras de arte da natureza  
e **Alívia**, minha irmã de alma,  
que me ensinaram que a família é o meu maior tesouro.*

## Agradecimentos

Ao meu orientador, **Prof. Dr. Elias David Neto**, pelo apoio durante todo o desenvolvimento dessa tese e pela inteligência e visão que possui e que o distinguem.

Ao **Prof. Dr. Luiz Estevam Ianhez**, Chefe Clínico da Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, pelo incentivo que me deu em toda a minha carreira e pelo coração de ouro que tem e que o torna querido por todos.

Ao **Prof. Dr. William Carlos Nahas**, Chefe Cirúrgico da Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo, a minha profunda admiração pela habilidade e pelo cuidado que dispensa ao paciente no ato cirúrgico.

À minha queridíssima amiga **Carlucci** pela companhia e carinho e pelos ótimos momentos de convívio dentro e fora do Hospital. A sua amizade me engrandece!

A todos os médicos assistentes da Unidade de Transplante Renal, **Margarida, Pedro Renato, Flavio, João Américo, Luiz Sergio, Maria Cristina, Carlucci, David, Christiano, Dr. Saldanha, Daisa, Affonso, Ioannis, Hideki e Renato**, pela competência profissional e por proporcionarem um ambiente de trabalho agradável.

Ao Grupo de Pesquisa Clínica da Unidade de Transplante Renal, que tem na excelência do método o seu objetivo. Meu profundo agradecimento aos colegas médicos, **Elias** (chefe), **Maria Cristina, Francine, Carlucci, Elisangela, Flavia, Patrícia e Gustavo**; às farmacêuticas, **Melissa e Luciana**; à enfermeira, **Fabiana** e ao auxiliar administrativo, **Rafael**. Fazer

parte desse seleto grupo é um dos grandes orgulhos da minha vida profissional. Para sempre na lembrança ficarão “as pioneiras” **Cristiane Feres Alves** e **Érica Kakehashi**, por quem tenho enorme respeito e carinho.

À Divisão de Laboratório Central do Hospital das Clínicas da FMUSP, nas pessoas do **Dr. Marcelo Burattini** e biomédicos **Nairo Massakazu Sumita**, **Paschoalina Romano** e **Letícia Aparecida Néri Guimarães**, pela realização de todas as dosagens sangüíneas dos imunossupressores dessa tese de acordo com a mais alta qualidade exigida para esse procedimento.

À enfermeira-chefe da Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da FMUSP, **Eliza Midori Yagyu**, e toda a sua equipe, pela competência com que executam as tarefas e pelo cuidado com que cuidam dos pacientes. Os seus atos podem ser resumidos em uma palavra: amor.

A todos os funcionários da Unidade de Transplante Renal e da Divisão de Clínica Urológica do Hospital das Clínicas da FMUSP, com destaque para **Fátima Alves**, **Iones**, **Tereza**, **Cida**, **Rafles** e todos os funcionários do ambulatório, pela dedicação e alegria no dia a dia.

Aos funcionários da Informática Médica da Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da FMUSP, **Fátima**, **Thiago**, **Fernando** e **Elisa**, pelos levantamentos de dados rápidos e eficientes e pela procura constante no aperfeiçoamento do Prontuário Eletrônico, peça fundamental para o desenvolvimento dessa tese.

A todo o setor de Pós-graduação da Disciplina de Nefrologia do Hospital das Clínicas da FMUSP por ter me acolhido. Deixo aqui minha admiração pelo **Dr. Rui Toledo Barros**, um exemplo de dedicação e busca incessante no aperfeiçoamento da pós-graduação da Nefrologia.

A todos os amigos da UNTR Frei Caneca, pelo cuidado que dispensam ao paciente dialítico, especialmente aos meus “pequeninos” da diálise: **Enf<sup>a</sup>. Luciene, Enf<sup>a</sup>. Valquíria, Enf<sup>o</sup>. Gabriel, Enf<sup>a</sup>. Veruska**, auxiliares administrativas **Vanusa e Natália** e toda a equipe de auxiliares de enfermagem, administração e serviços gerais.

À querida **Gizah Garcia Leal**, que fez uma revisão bem humorada dessa tese e conseguiu deixá-la mais compreensível.

Ao Serviço de Documentação Científica da FMUSP e ao **Sr. Josué Moreira de Souza** pela diagramação, edição e impressão dos exemplares dessa tese (aceitando a cor rosa da capa sem julgamentos).

Ao **Bruno Ferezin** por todo o apoio de informática, permitindo a continuidade do trabalho.

A todos os pacientes que participaram deste estudo com amor e desprendimento, pelo carinho e confiança.

A todos os pacientes, adultos, crianças e adolescentes, que ficam sob meus cuidados no ambulatório do Transplante Renal, meu mais profundo agradecimento por me tornarem uma pessoa mais completa após cada atendimento.

Às pessoas que passaram pela minha vida e deixaram um pouco de si: **Flavio Azm Rassekh, Gustavo Fernandes Ferreira, Maria Lúcia de Pinho Apezato, Katayoun Rassekh Ebrahimzadeh, Chahla Rassekh, Marcelo Amin Rassekh, Lillian Vidigal, Luciana Elias & família, Tânia do Socorro Souza Chaves, Dulce Helena Rizzardo Briza, Roberta Ferreira de Oliveira, Mariângela David, Célia Maria Novelino, Jerônimo Ruiz Centeno, Kald Ali Abdallah, Fábio Di Nizo, David Machado, todos os funcionários do Hospital Sírio-Libanês e do Hospital Nove de Julho,**

**Isadora Rudge, Sidney Monteiro, Priscila Abade de Carvalho, Roberto Toscano, Paulo Henrique Silva, Denise e Edmar Tanaka, Ana Lúcia e Ana Maria Sasaki, Alberto Motta, Milena de Paulis, Érika Pracchia Ribeiro, Ana Paula Silvatti, Josiane Ribeiro, Regina Lúcia Baldini, Regina Maudonnet, Andréa e Cristina Lucchini, Cátia Mendes Pereira, Dra. Vera Koch, Maria Fernanda Camargo, Maria Fernanda Ramos, Cristina Lúcia Henriques e Sergio Eduardo Alonso Araujo.**

Aos típicos **Noah, Katrina e Chiquinho**, um mundo de emoções.

Ao amigo **Alexandre de Christo Viegas**, o Cabral, por tudo.

Ao **Flávio Grigório**, pela companhia carinhosa num período difícil e por me ensinar a viver o dia de hoje.

*“...e caiu a chuva, transbordaram os rios, sopraram os ventos  
e deram com ímpeto contra aquela casa, que não caiu,  
porque fora edificada sobre a rocha.”*

*Mateus, 7. 25*



## Normalização adotada

Esta tese está de acordo com:

Referências: adaptado de *International Committee of Medical Journals Editors* (Vancouver)

Universidade de São Paulo. Faculdade de Medicina. Serviço de Biblioteca e Documentação. *Guia de apresentação de dissertações, teses e monografias*. Elaborado por Anneliese Carneiro da Cunha, Maria Julia de A. L. Freddi, Maria F. Crestana, Marinalva de Souza Aragão, Suely Campos Cardoso, Valéria Vilhena. São Paulo: Serviço de Biblioteca e Documentação; 2004.

Abreviaturas dos títulos dos periódicos de acordo com *List of Journals Indexed in Index Medicus*.

# Sumário

Lista de abreviaturas

Lista de Figuras

Lista de Tabelas

Resumo

Summary

1. INTRODUÇÃO.....	1
2. OBJETIVOS.....	12
3. MÉTODOS.....	14
4. RESULTADOS.....	28
4.1 Dados demográficos .....	29
4.2 Análise dos indicadores farmacocinéticos.....	33
4.2.1 Tacrolimo.....	33
4.2.2 Ciclosporina.....	37
4.2.3 Ácido micofenólico.....	39
4.2.3.1 Ácido micofenólico no grupo tacrolimo.....	39
4.2.3.2 Ácido micofenólico no grupo ciclosporina .....	47
4.3 Comparação dos indicadores farmacocinéticos de MPA entre os grupos tacrolimo e ciclosporina.....	53
4.3.1 Dose de micofenolato mofetil.....	54
4.3.2 Área sob a curva concentração-tempo de MPA (MPA-AUC <sub>0-12</sub> ).....	55
4.3.3 Área sob a curva concentração-tempo de MPA (MPA-AUC <sub>0-12</sub> ) ajustada pela dose de MMF .....	57
4.4 Estratégia para simplificar a monitoração de ácido micofenólico .....	64
4.4.1 Pós-transplante imediato .....	65
4.4.2 Pós-transplante recente e tardio.....	67

5. DISCUSSÃO .....	70
6. CONCLUSÕES .....	79
7. REFERÊNCIAS .....	81
Apêndices .....	91

## Lista de abreviaturas

- AUC<sub>0-12</sub>**: área sob a curva concentração-tempo de 0 a 12 horas
- AUC<sub>0-4</sub>**: área sob a curva concentração-tempo de 0 a 4 horas
- AUC<sub>4-12</sub>**: área sob a curva concentração-tempo de 4 a 12 horas
- AUC<sub>calc</sub>**: área sob a curva concentração-tempo calculada por uma equação
- C**: concentração sanguínea de droga
- CSA**: ciclosporina microemulsão
- MMF**: micofenolato mofetil
- MPA**: ácido micofenólico
- TAC**: tacrolimo
- PK**: farmacocinética

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Desenho do estudo.....	16
<b>Figura 2</b> - Modelo de coleta de curva farmacocinética.....	19
<b>Figura 3</b> - Dose média de tacrolimo (mg/kg/dia) nos dias das cinéticas ....	33
<b>Figura 4</b> - Evolução de C0 (a) e da TAC-AUC <sub>0-12</sub> (b) do dia 7 ao dia 180 pós-transplante (médias e DP). ....	35
<b>Figura 5</b> - Comparação dos principais indicadores farmacocinéticos de tacrolimo do Grupo 1 (TAC baixo) com o Grupo 2 (TAC habitual): C0 (a) e TAC-AUC <sub>0-12</sub> (b) .....	36
<b>Figura 6</b> - Dose mediana de CSA (mg/kg/dia) em todos os momentos do estudo. ....	37
<b>Figura 7</b> - Evolução da média de CSA-AUC <sub>0-12</sub> nos primeiros 180 dias pós-transplante .....	38
<b>Figura 8</b> - Dose de MMF nos pacientes do grupo tacrolimo (a) e, separadamente, no Grupo 1 e Grupo 2 (b).....	40
<b>Figura 9</b> - Evolução dos indicadores farmacocinéticos de MPA no grupo tacrolimo (n = 165 curvas de MPA) : C0 (a), C2 (b), C12 (c), C <sub>max</sub> (d) e AUC <sub>0-12</sub> (e). ....	42
<b>Figura 10</b> - MPA-AUC <sub>0-12</sub> normalizada pela dose ao longo do tempo em 165 curvas no grupo tacrolimo .....	43
<b>Figura 11</b> - Concentrações de MPA normalizadas pela dose ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ): C0 (a), C12 (b), C <sub>max</sub> (c) e C2 (d).....	44
<b>Figura 12</b> - Dispersão entre dose de MMF e AUC <sub>0-12</sub> de MPA em 33 pacientes que receberam MMF em associação com tacrolimo ( $r^2=0,275$ ) .....	45
<b>Figura 13</b> - Porcentagem de MPA-AUC <sub>0-12</sub> ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ) dentro da faixa terapêutica de 36 a 60 $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ nos pacientes do grupo TAC que receberam 1500 mg/dia (a) ou 2000 (b) mg/dia de MMF .....	46
<b>Figura 14</b> - Dose de MMF (mg/kg/dia) nos 19 pacientes do grupo ciclosporina.....	48
<b>Figura 15</b> - Evolução da concentração de MPA no grupo ciclosporina (n = 95 curvas de MPA): C0 (a), C2 (b), C12 (c), C <sub>max</sub> (d) e MPA-AUC <sub>0-12</sub> (e). ....	49

<b>Figura 16</b> - MPA-AUC <sub>0-12</sub> normalizada pela dose de MMF ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) em 95 curvas em todos os dias de cinéticas no grupo ciclosporina.....	50
<b>Figura 17</b> - Evolução das concentrações sanguíneas de MPA normalizadas pela dose ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) no grupo ciclosporina : C0 (a), C12 (b), C <sub>max</sub> (c) e C2 (d).....	51
<b>Figura 18</b> - Dispersão entre dose de MMF e AUC <sub>0-12</sub> de MPA em 19 pacientes do grupo ciclosporina ( $r^2=0,114$ ).....	52
<b>Figura 19</b> - Porcentagem de curvas que atingiram a faixa terapêutica de MPA-AUC <sub>0-12</sub> ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ) em cada momento do estudo no grupo CSA (MMF 2000 mg/dia) .....	53
<b>Figura 20</b> - Médias para MPA-AUC <sub>0-12</sub> nos grupos TAC e CSA em cada dia de cinética (7, 14, 30, 60 e 180).....	56
<b>Figura 21</b> - Médias $\pm$ desvios-padrão para MPA-AUC <sub>0-12</sub> nos grupos TAC e CSA em todas as cinéticas .....	56
<b>Figura 22</b> - Comparação de MPA-AUC <sub>0-12</sub> ajustada pela dose ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) entre grupos TAC e CSA nos dias 7, 14, 30, 60 e 180 pós-transplante. ....	58
<b>Figura 23</b> - Evolução da MPA-AUC <sub>0-12</sub> ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ) e da MPA-AUC <sub>0-12</sub> ajustada pela dose ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) nos grupos TAC e CSA ao longo do tempo .....	60
<b>Figura 24</b> - Comparação de MPA-AUC <sub>0-12</sub> ajustada pela dose entre os grupos TAC (linha inteira) e CSA (linha pontilhada) em cada dia de cinética .....	61

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b>	– Dados demográficos da população do estudo farmacocinético e comparação com a população excluída.....	30
<b>Tabela 2</b>	– Comparação dos dados demográficos entre o grupo TAC e CSA .....	31
<b>Tabela 3</b>	– Evolução da TAC-AUC <sub>0-12</sub> entre o dia 7 e o dia 180 pós-transplante .....	34
<b>Tabela 4</b>	– Principais indicadores farmacocinéticos de CSA nos primeiros 180 dias pós-transplante.....	38
<b>Tabela 5</b>	– Evolução dos indicadores farmacocinéticos de MPA em associação com TAC (n=165 curvas de MPA) dos dias 7 ao 180 pós-transplante renal. ....	41
<b>Tabela 6</b>	– Evolução dos indicadores farmacocinéticos de MPA quando MMF foi empregado em associação com CSA (n=95 curvas de MPA). ....	50
<b>Tabela 7</b>	– Comparação das doses de MMF entre os grupos TAC e CSA (mg/kg/d) .....	54
<b>Tabela 8</b>	– Medidas resumo para MPA-AUC <sub>0-12</sub> nos grupos TAC e CSA..	55
<b>Tabela 9</b>	– Comparação das médias de C <sub>0</sub> , C <sub>2</sub> , C <sub>max</sub> e AUC de MPA (ajustados pela dose) nos grupos TAC e CSA do dia 7 ao dia 180 pós-transplante .....	59
<b>Tabela 10</b>	– Comparação de MPA-AUC <sub>0-4</sub> e MPA-AUC <sub>4-12</sub> ajustadas pela dose entre os grupos TAC e CSA em todos os dias de cinética.....	62
<b>Tabela 11</b>	– Comparação da amplitude e frequência do segundo pico de MPA (ajustado pela dose) entre os grupos TAC e CSA nos períodos imediato, precoce e tardio pós-transplante. ....	63
<b>Tabela 12</b>	– Coeficiente de explicação da regressão (r <sup>2</sup> ) e erro de concordância das 39 curvas de MPA do dia 7 .....	65
<b>Tabela 13</b>	– Descritores estatísticos das combinações C <sub>0</sub> /C <sub>2</sub> e C <sub>2</sub> /C <sub>4</sub> para cálculo da MPA-AUC <sub>0-12</sub> no dia 7 pós-transplante.....	66
<b>Tabela 14</b>	– Coeficiente de explicação da regressão (r <sup>2</sup> ) e erro de concordância das 156 curvas de MPA dos dias 14 a 180 .....	67
<b>Tabela 15</b>	– Resumo dos indicadores estatísticos da monitoração de MPA.....	69

## Resumo

Pereira LM. *Co-interferências da farmacocinética dos inibidores de calcineurina em associação com micofenolato mofetil em pacientes transplantados renais* [tese]. São Paulo: Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo; 2006. 90p.

O ácido micofenólico (MPA) é o metabólito ativo do micofenolato mofetil (MMF), um imunossupressor seletivo para linfócitos amplamente utilizado em transplantes. A exposição ao MPA na fase inicial pós-transplante renal está associada com menor incidência de rejeição aguda e com maior sobrevida do enxerto. A faixa terapêutica recomendada para MPA é área sob a curva concentração-tempo (AUC) entre 36 e 60  $\mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ . A evolução da farmacocinética de MPA pode ter impacto sobre a dose de MMF dependendo do período pós-transplante e do inibidor de calcineurina empregado concomitantemente. Em um estudo prospectivo e randomizado de minimização de tacrolimo (MoDIFY – *Modification of Doses to Improve Function through the Years*), 120 receptores de transplante renal foram destinados para um de três grupos: 1) tacrolimo (minimização) com MMF 2g/d; 2) tacrolimo (habitual) com MMF 1,5 g/d e 3) ciclosporina-Neoral com MMF 2g/d (grupo controle). Todos os pacientes receberam corticóide e indução com anti-IL2R. Os pacientes foram submetidos à coleta de curvas farmacocinéticas de 12 horas de tacrolimo ou ciclosporina e MPA nos dias 7, 14, 30, 60 e 180 pós-transplante. Os primeiros  $50\pm 5$  pacientes que apresentassem curvas completas em todos os momentos fariam parte do estudo farmacocinético, que teve como objetivos: 1- estabelecer a evolução da AUC de MPA; 2 - definir se a evolução é diferente sob tacrolimo ou ciclosporina, 3 - determinar o tempo para atingir a faixa terapêutica de MPA e 4 - determinar uma estratégia para simplificar a sua monitoração. Para o estudo farmacocinético, os pacientes foram divididos em grupo tacrolimo e ciclosporina. Cinquenta e dois pacientes foram incluídos, 33 do grupo tacrolimo (15 grupo 1/18 grupo 2) e 19 do grupo ciclosporina. A AUC de MPA ajustada pela dose de MMF (MPA-AUC<sub>0-12</sub>) aumentou ao longo do tempo nos dois grupos. No dia 7, não houve diferença nas curvas entre os grupos tacrolimo e ciclosporina. Do dia 14 ao dia 180, a MPA-AUC<sub>0-12</sub> foi mais elevada no grupo tacrolimo em decorrência de um segundo pico sanguíneo de MPA mais elevado. Com o uso de doses fixas de MMF, uma grande porcentagem de curvas ficou abaixo da faixa terapêutica de MPA em todos os momentos. No dia 7, a equação que emprega a concentração pré-dose (C0) e a concentração na segunda hora (C2) foi a que apresentou maior precisão para estimar a AUC ( $R^2=0,904$  e erro de concordância  $\pm 7,9 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ). Após o dia 7, a equação que utiliza C2 isoladamente foi a que melhor reproduziu a exposição ao MPA ( $R^2=0,719$  e erro de concordância  $\pm 10,8 \mu\text{g}\cdot\text{h}/\text{mL}$ ). As equações foram validadas para cada inibidor de calcineurina e para cada respectivo período do estudo. Em conclusão, a exposição ao MPA nos primeiros seis meses após transplante renal é imprevisível e maior sob tacrolimo do que sob ciclosporina. Para qualquer inibidor de calcineurina utilizado com MMF, uma equação que emprega C0 e C2 (até o dia 7) e outra que emprega C2 isoladamente (após o dia 7) permite a monitoração de MPA com simplicidade e precisão.

Descritores: monitoramento de medicamentos, área sob a curva, farmacocinética, ácido micofenólico, ciclosporina, tacrolimo, transplante de rim



## Summary

Pereira LM. *Interference of calcineurin inhibitors on the pharmacokinetics of mycophenolic acid in renal transplantation* [thesis]. São Paulo: "Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo"; 2006. 90p.

Mycophenolic acid (MPA) is the active metabolite of mycophenolate mofetil (MMF), a selective lymphocyte anti-proliferative drug. It has been demonstrated that early adequate exposure to MPA is associated with less acute rejection and better long-term outcome in kidney transplantation. To the present, the recommended therapeutic range for MPA is an area under the concentration-time curve (MPA-AUC<sub>0-12</sub>) between 36 and 60 µg.h/mL. Changes in pharmacokinetic parameters over time may cause impact in the optimal dose of MMF on the immediate post-transplant period and beyond. During a prospective, randomized trial of TAC minimization (the MoDIFY study - Modification of Doses to Improve Function through the Years), 120 renal transplant recipients were allocated to one of three groups: 1) tacrolimus (minimization dosage) plus MMF 2 g/d, 2) tacrolimus (plain dosage) plus MMF 1.5 g/d and 3) Neoral plus MMF 2 g/d, the control arm. All patients received prednisone and anti-IL2R induction. All patients had calcineurin inhibitor and MPA 12-hour pharmacokinetic curves drawn on days 7, 14, 30, 60 and 180 after transplant. It was defined that the first 50±5 patients who completed all curves in all time-points would be selected for the pharmacokinetic study, which aimed: 1 – to establish the evolution of MPA profile; 2 – to define whether the evolution of MPA exposure is different in patients under Neoral or tacrolimus; 3 – to determine the length to achieve MPA-AUC<sub>0-12</sub> target range, and 4 – to search for a strategy for MPA monitoring. For the pharmacokinetic study, patients were divided in two groups: tacrolimus and Neoral. Fifty-two patients were enrolled, 33 allocated to tacrolimus group (15 group 1/18 group 2) and 19 allocated to Neoral group. Dose-adjusted MPA-AUC<sub>0-12</sub> increased throughout the study period in both groups. On day 7, there was no difference between the groups. From day 14 to 180, dose-adjusted MPA-AUC<sub>0-12</sub> was higher in tacrolimus group due to a higher mycophenolic acid second peak. With fixed MMF doses, a great percentage of patients were out of MPA target therapeutic window in both groups at all time-points. On day 7, the equation that uses pre-dose concentration (C<sub>0</sub>) and concentration on the second hour (C<sub>2</sub>) presented the best accuracy to calculate MPA-AUC (R<sup>2</sup>=0.904; Error of Agreement ± 7.9 µg.h/mL). Beyond day 7, the use of a single concentration (C<sub>2</sub>) equation was the best approach for MPA monitoring (R<sup>2</sup>=0.719; Error of Agreement ± 10.8 µg.h/mL). The equations were validated for each calcineurin inhibitor group and for all time-points (day 7 to day 180). In conclusion, with fixed dose MMF, exposure to MPA during the first six months after transplantation is unpredictable and is higher under tacrolimus than Neoral. Nevertheless, despite the calcineurin inhibitor used in association with MMF, an equation that uses C<sub>0</sub> and C<sub>2</sub> until day 7, and C<sub>2</sub> alone thereafter, provides an accurate monitoring strategy for mycophenolic acid in renal transplantation.

Keywords: drug monitoring, area under the curve, pharmacokinetics, mycophenolic acid, cyclosporine, tacrolimus, kidney transplantation

# 1. INTRODUÇÃO

---

A evolução da ciência e da tecnologia tornou o transplante de rim uma terapêutica substitutiva indispensável ao tratamento da insuficiência renal crônica. Com o uso da combinação de novas drogas, a sobrevida dos enxertos renais ao fim do primeiro ano atingiu 90-95% e a incidência de rejeição aguda diminuiu para menos de 20% <sup>1</sup>.

A imunossupressão atual em transplantes de órgãos sólidos tem como pilar os inibidores de calcineurina, ciclosporina (CSA) e tacrolimo (TAC). A introdução da CSA, no início dos anos 1980, elevou a sobrevida do primeiro ano de transplantes renais a mais de 80% devido à sua eficácia na prevenção da rejeição aguda <sup>1</sup>. A formulação microemulsão é mais estável e tem menor variabilidade interpaciente <sup>2</sup>, fazendo com que seu uso seja disseminado na atualidade.

Mais recentemente, o TAC provou ser potente agente imunossupressor. Embora estruturalmente diferente da CSA, o TAC também impede a produção de interleucina-2 (IL-2) pelos linfócitos T inibindo a calcineurina. Estudos recentes têm mostrado superioridade clínica do TAC <sup>3</sup> sobre CSA, com menor incidência de rejeição aguda e melhor função renal no longo prazo <sup>4</sup>. Nos primeiros meses pós-transplante, quando o risco de rejeição aguda é alto, a necessidade de uso dos inibidores de calcineurina é inquestionável. Embora protocolos com novas combinações de drogas e preparados biológicos que

dispensem o uso dos inibidores de calcineurina estejam em curso<sup>5</sup>, os resultados obtidos ainda não justificam seu uso rotineiro<sup>6,7</sup>.

Sollinger *et al.*<sup>39</sup>, no início dos anos 1990, conduziram os primeiros ensaios clínicos de MMF em transplante renal, seguindo resultados encorajadores obtidos em modelos animais. O seu uso em larga escala em transplantes ocorreu a partir de 1995 após estudos clínicos multicêntricos<sup>40,41</sup>. Esses estudos demonstraram a superioridade do MMF sobre a azatioprina e placebo na prevenção de rejeição aguda nos primeiros seis meses, quando associado à CSA e ao corticoesteróide.

O MMF é uma pró-droga cujo metabólito ativo é o ácido micofenólico (MPA). A molécula mofetil confere aumento na biodisponibilidade oral desta droga, que é de 94%<sup>39</sup>. O MPA é um inibidor reversível da enzima inosina monofosfato desidrogenase (IMPDH), que é crítica para a síntese *de novo* de purinas. A depleção de nucleotídeos guanósina pelo MPA tem efeitos antiproliferativos seletivos sobre os linfócitos, que não dispõem da via de salvação e ficam restritos à síntese *de novo* de purinas, diferentemente de outros tipos celulares. A ação do MPA difere radicalmente do mecanismo de ação dos inibidores de calcineurina e sirolimus, pois não afeta eventos mais proximais que seguem o reconhecimento de antígenos.

*In vitro*, o MPA bloqueia a proliferação de linfócitos T e B, inibe a formação de anticorpos e a geração de células T citotóxicas. Além disso, diminui a expressão de moléculas de adesão em linfócitos impedindo sua ligação às células endoteliais e o afluxo para os tecidos<sup>42</sup>. O MPA pode exercer efeito preventivo no desenvolvimento de arteriopatias (lesão crítica

da nefropatia crônica do enxerto). Após administração oral o MMF é rapidamente absorvido e hidrolizado para MPA pelo fígado, causando um pico de nível em 1 a 2 horas. O MPA é então glucoronidado pela família de enzimas uridina difosfato glucuronosil transferase (UDPGT) para uma forma inativa, MPAG (ácido 7-hidroxi-glucuronido micofenólico), excretado na bile e para o acil-glucoronido MPAG (AcMPAG) que é ativo sobre a IMPDH. A excreção biliar de MPAG é feita pela proteína associada a resistência multidrogas 2 (do inglês *multidrug resistance associated protein 2*, MRP2), que é expressa na superfície canalicular dos hepatócitos, sendo responsável pela excreção de conjugados endógenos e produtos conjugados de metabolismo de drogas<sup>8</sup>. Na luz intestinal o MPAG sofre desconjugação que o transforma novamente em MPA, que é absorvido pelo cólon. Este ciclo entero-hepático pode produzir um segundo pico variável, geralmente 6 a 12 horas após a ingestão oral de MMF, que pode ser uma das causas da toxicidade gastrointestinal desta droga. Em humanos, a interferência no ciclo entero-hepático pode reduzir a AUC de MPA em 35 a 40%. O MPAG é excretado pelos rins e a AUC de MPA aumenta nos casos de insuficiência renal. A biodisponibilidade do MMF em cápsulas é superior a 90% e sua meia vida 12 horas. Nem MMF, tampouco MPA são dialisáveis<sup>1</sup>.

Os novos agentes imunossupressores, com mecanismos de ação diferentes, tornaram viáveis esquemas de imunossupressão que combinam diversas drogas com dosagens menores de cada uma, minimizando os efeitos colaterais de cada droga, alcançando assim um efeito terapêutico melhor por somatório de ações.

O sucesso do transplante de órgãos sólidos depende, em grande parte, do correto uso dos imunossupressores. Ainda não existe um medicamento perfeito capaz de exercer o efeito imunossupressor, sem efeitos tóxicos. Entretanto, o princípio de utilizar a menor dose efetiva de cada droga é o que prevalece. Sabe-se que a exposição correta aos imunossupressores, avaliada pela área sob a curva concentração-tempo pós-dose (AUC), propicia maiores taxas de sucesso do enxerto. Sabe-se também que existem interferências dos inibidores de calcineurina sobre a biodisponibilidade do MMF e vice-versa <sup>8</sup>.

Em 1999, Mahalati *et al.* demonstraram correlação da AUC abreviada 0 – 4 horas (AUC<sub>0-4</sub>) de ciclosporina com rejeição aguda e nefrotoxicidade, definindo uma janela terapêutica para AUC<sub>0-4</sub> de 4400 a 5500 µg.h/mL na primeira semana após transplante renal <sup>9</sup>, corroborado por estudo em 2001 <sup>10</sup> e seguido de vários outros estudos, inclusive em nosso meio <sup>11-13</sup>.

Mais recentemente, a concentração sanguínea na segunda hora (C2) tem mostrado maior correlação com AUC de CSA do que a concentração pré-dose (C0) <sup>12, 14</sup>, além de ser de mais fácil obtenção do que AUC abreviada. C2 tem sido empregada em estudos tanto em adultos <sup>15, 16</sup> quanto em transplante renal pediátrico <sup>17, 18</sup>. Hardinger *et al.* mostraram diminuição de custos em imunossupressão quando CSA foi monitorada por C2 em comparação com C0 <sup>19</sup>. Reforçando a importância de C2, estudos farmacodinâmicos mostram que a inibição máxima da atividade da calcineurina ocorre duas horas após a administração de CSA <sup>20</sup>. Em estudo randomizado que comparou indução com basiliximab (n=70) versus globulina anti-timocítica (n=65) e manutenção com CSA Neoral, MMF e

prednisona, Pescovitz *et al.* encontraram menor incidência de rejeição aguda nos pacientes com valores de C2 de CSA acima de 1500 ng/mL<sup>21</sup>. O uso de C2 para monitorar ciclosporina tem sido preconizado desde 1997, após o consenso de Vancouver<sup>22</sup> e, especialmente, depois que Thervet *et al.*<sup>16</sup> publicaram em 2003 resultados do estudo MO2ART, no qual o emprego de C2 esteve associado a menor incidência de rejeição aguda nos primeiros três meses após o transplante renal. Embora C0 seja ainda o indicador mais empregado mundialmente, as evidências clínicas da superioridade de um indicador sobre o outro ainda são controversas<sup>12, 23, 24</sup>

O uso da AUC abreviada pode unificar a monitoração tanto de MPA quanto de TAC e CSA, pois cada droga apresenta boa correlação com uma concentração isolada diferente<sup>25</sup>. De acordo com essas evidências, a determinação de uma concentração sanguínea isolada (C0, C2) de CSA que possa prever a não ocorrência de rejeição aguda ainda está por ser definida<sup>14, 26-28</sup>, pois os estudos com maior impacto mostram AUC abreviada como o indicador mais provável de não ocorrência de rejeição aguda<sup>29, 30</sup>.

Até o presente, a monitoração de tacrolimo é feita pelo nível pré-dose da droga. Numa tentativa de correlacionar a exposição a TAC com C2, Jorgensen *et al.* não encontraram resultado positivo, porém utilizaram como comparativo a AUC<sub>0-6</sub> em vez da completa de 12 horas, o que pode ter contribuído para o resultado obtido<sup>32</sup>. Estudando a evolução da farmacocinética de TAC no primeiro ano pós-transplante em 100 pacientes, Kuypers *et al.* identificaram a AUC abreviada como superior a qualquer

concentração sangüínea isolada para monitorar a exposição à droga<sup>33</sup>. Esses autores encontraram incidência de rejeição aguda maior (26,5% vs 7,7%) nos pacientes que não atingiram simultaneamente AUC de TAC 150 ng.h/mL e de MPA 45 mg.h/L até o dia 7 pós-transplante<sup>34</sup>. Nesses estudos, não houve correlação entre C0 e AUC de MPA.

Fica cada vez mais claro que os níveis sanguíneos de imunossuppressores devem ser determinados para cada população, pois há evidências de que a miscigenação étnica tem importante impacto sobre o intervalo terapêutico das drogas<sup>31</sup>.

Em nosso meio, Felipe *et al.*<sup>35</sup> publicaram estudo importante sobre o impacto da miscigenação étnica na farmacocinética de TAC. A concentração pré-dose e a TAC-AUC<sub>0-12</sub> foram avaliadas na primeira semana e durante os primeiros seis meses pós-transplante renal em 22 pacientes divididos em brancos e não-brancos. Os não-brancos apresentaram menor exposição à droga, medida pela AUC, maior variabilidade intra e interpaciente e maior porcentagem de pacientes com C0 de TAC abaixo de 10 ng/mL na primeira semana. Dessa forma, os autores recomendam dose inicial maior e monitoração mais freqüente de TAC na primeira semana em pacientes não-brancos, procedimento que pode ser explicado por variações no polimorfismo da CYP3A5, que é a enzima responsável pelo metabolismo dos inibidores de calcineurina<sup>36-38</sup>.

Em 1996, Bullingham *et al.*<sup>43</sup> mostraram a importância da monitoração farmacocinética no uso de MMF, que foi endossada por estudo duplo cego que indicou MPA-AUC<sub>0-12</sub> como única variável preditiva de



rejeição aguda. Isso ocorreu quando MMF foi usado com CSA e corticoesteróides em adultos transplantados renais<sup>44</sup>. Nesse trabalho, mostrou-se que MPA-AUC<sub>0-12</sub> acima de 40 mg.h/L esteve associada a menor taxa de rejeição aguda.

Em 1997, Zucker *et al.*<sup>45</sup> realizaram um estudo farmacocinético de 12 horas, em pacientes de transplante renal estáveis, recebendo TAC ou CSA em combinação com a mesma dose de MMF. A AUC<sub>0-12</sub> de cada droga foi calculada para avaliar efeito recíproco nas respectivas biodisponibilidades e mostrou efeito mínimo de MMF na farmacocinética de TAC. Entretanto, pacientes recebendo TAC e MMF exibiram níveis significativamente mais altos (concentração mínima e AUC) de MPA do que aqueles recebendo CSA (Sandimmun ou Neoral). Equivalentes níveis de MPA foram atingidos em pacientes recebendo CSA com dose de MMF 1,5 g duas vezes ao dia. Esse estudo sugere que o MMF em combinação com TAC necessita de diminuição da dosagem.

A administração de MMF e CSA para receptores de transplantes de órgãos sólidos reduz a concentração plasmática de MPA e aumenta a concentração de MPAG quando comparado a TAC/MMF ou MMF/esteróides<sup>46</sup>. Estudos em animais mostraram que a associação CSA/MMF resulta em menor MPA-AUC devido a ausência de segundo pico, provavelmente por interferência no ciclo entero-hepático de MPA<sup>47</sup>. O mecanismo exato de interferência de CSA sobre a farmacocinética de MPA ainda não foi totalmente elucidado, porém o grupo de van Gelder descreveu excreção biliar de MPAG diminuída pela inibição da MRP2 (descrita acima).

A inibição da MPR2 pela CSA diminui a excreção biliar de MPAG para a circulação entero-hepática, conseqüentemente com ausência de segundo pico de MPA e menor MPA-AUC<sup>8</sup>.

Em uma população pediátrica, Weber *et al.*<sup>48</sup> estudaram a farmacocinética do MPA na tentativa de avaliar a terapêutica com MMF após transplante renal. Cinquenta e quatro crianças sob esquema tríplice com ciclosporina, MMF e prednisona tiveram a MPA-AUC<sub>0-12</sub> colhida na fase precoce e sexto mês pós-transplante. MPA-AUC<sub>0-12</sub> de 33,8 mg.h/L (medida por cromatografia líquida - HPLC) na fase inicial (até a terceira semana) do transplante apresentou sensibilidade de 75% para a não ocorrência de rejeição aguda. A MPA-AUC<sub>0-12</sub> estabilizou apenas após o terceiro mês de transplante. O nível de MPA livre no sangue esteve associado a efeitos colaterais. Estes dados sugerem que a monitoração de MPA sanguíneo permite otimizar a dose de MMF em relação à rejeição aguda e aos efeitos colaterais.

Em 2004, Filler<sup>49</sup> sugeriu que, em crianças transplantadas renais, a melhor forma de monitorar MPA seria através da AUC abreviada (0, 1, 2 e 4 horas). A necessidade de monitoração para determinar a dose foi recentemente demonstrada por van Hest *et al.*<sup>50</sup>, em modelo de simulação computacional, verificando que a exposição adequada a MPA é mais rapidamente obtida quando se monitora a concentração sanguínea do que quando doses fixas de MMF são ofertadas.

A influência da administração de MMF com CSA ou TAC vem sendo amplamente investigada. É sabido que não há correlação entre a dose de MMF e os níveis basais de MPA. Em 2000, os estudos de Filler

*et al.*<sup>51</sup> sugeriram que a farmacocinética de MPA poderia ser influenciada pela imunossupressão concomitante. Analisando os perfis farmacocinéticos de 13 pacientes recebendo MMF sem CSA ou TAC, comparando-os com aqueles de 14 pacientes que receberam uma combinação de MMF e TAC e de 15 pacientes que receberam MMF com CSA, concluíram que a medicação concomitante altera o *clearance* de MPA. Mostraram que o *clearance* aparente de MPA fica reduzido na combinação de MMF com TAC.

Dois grandes estudos multicêntricos internacionais estão em andamento para verificar o impacto da monitoração de MPA sobre a evolução do transplante renal, e os primeiros resultados são previstos para 2006<sup>52</sup>.

A grande variabilidade interindividual na absorção, distribuição e eliminação dessas drogas, somada às suas estreitas janelas terapêuticas, faz da monitoração terapêutica desses imunossupressores uma ferramenta essencial para manter níveis das drogas dentro das respectivas faixas terapêuticas, possibilitando adequada administração de suas dosagens. Shaw *et al.*<sup>53</sup> atentaram para a importância de se estabelecer um parâmetro farmacocinético específico para cada droga na sua monitoração.

A tendência atual em imunossupressão é a de se utilizar concentrações sanguíneas de CSA e de TAC menores que as usualmente recomendadas, especialmente quando associadas a doses adequadas de MMF. Esse procedimento pode minimizar efeitos colaterais e prevenir a rejeição aguda na mesma medida do uso isolado de concentrações elevadas dos inibidores de calcineurina<sup>54</sup>.

O impacto da miscigenação étnica sobre a farmacocinética de TAC<sup>55</sup> provavelmente pode se estender aos demais imunossupressores. Chocair *et al*, da Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas de São Paulo, mostraram que a atividade da enzima tiopurina metil-transferase em usuários de azatioprina está diretamente relacionada à sobrevida do enxerto e varia de acordo com a etnia. Pacientes com baixa atividade enzimática mostram-se intolerantes a azatioprina<sup>56</sup>.

A exposição ao MPA ao longo dos primeiros seis meses após transplante ainda não foi extensamente estudada. O conhecimento das mudanças no perfil farmacocinético de MPA ao longo desse período pode ter impacto na dose de MMF. Apesar dos estudos que mostram a evolução dos níveis de MPA de acordo com a medicação concomitante, faltam ainda informações sobre o melhor momento para se modificar a dose de MMF.

No presente estudo, avaliou-se o perfil da farmacocinética de MPA ao longo dos primeiros seis meses após o transplante renal levando-se em conta as interferências que podem ocorrer quando MMF está associado ao TAC ou à CSA. Procurou-se ainda definir a melhor forma de monitoração terapêutica de MPA de acordo com o inibidor de calcineurina associado e também do período pós-transplante.

## 2. OBJETIVOS

---

**PRIMÁRIOS**

- Analisar a evolução das curvas farmacocinéticas de ácido micofenólico nos primeiros 180 dias após o transplante renal;
- Determinar se a evolução é diferente de acordo com o inibidor de calcineurina empregado em associação com micofenolato mofetil.

**SECUNDÁRIOS**

- Determinar o tempo necessário para se atingir a faixa terapêutica da área sob a curva de ácido micofenólico de acordo com a dose de MMF e o inibidor de calcineurina empregado;
- Determinar uma estratégia para simplificar a monitoração do ácido micofenólico em transplante renal de acordo com o inibidor de calcineurina e o período pós-transplante.

### 3. MÉTODOS

---

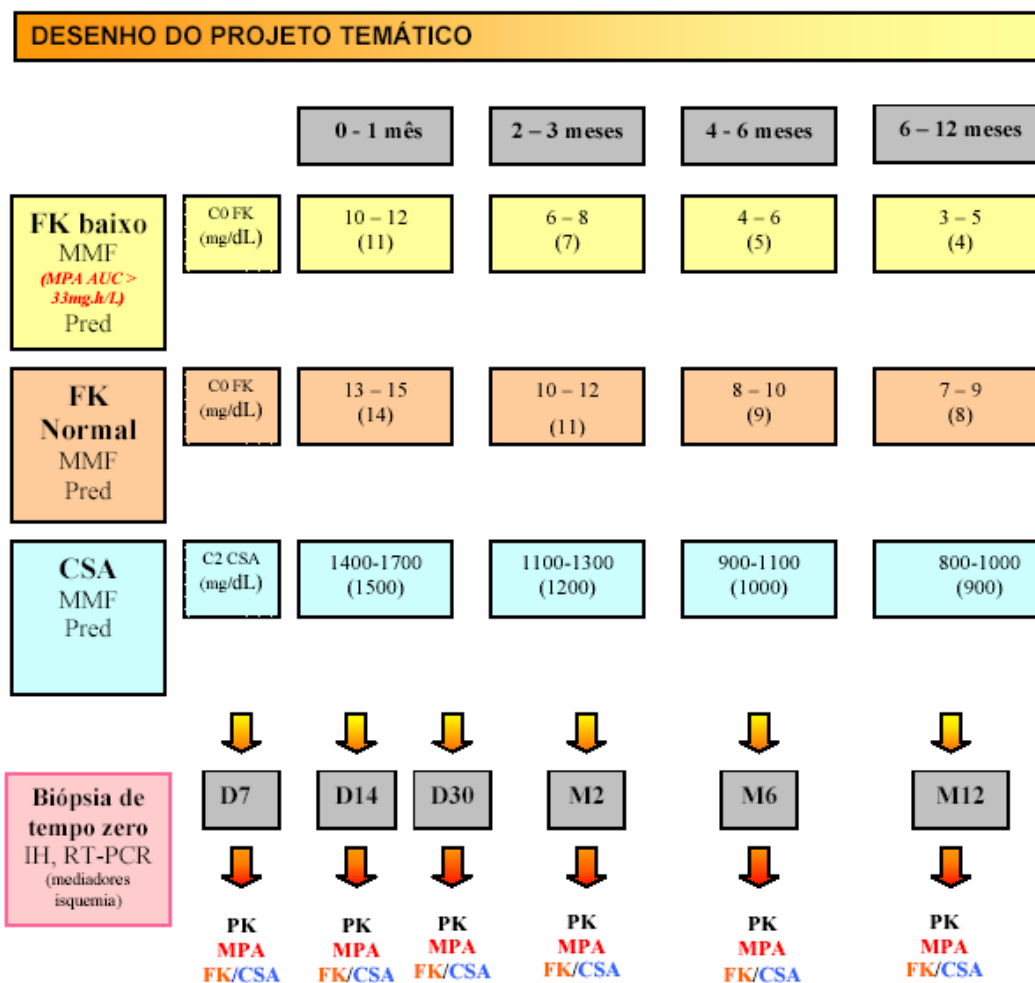
Este estudo faz parte de um Projeto Temático aprovado na Comissão de Ética para Análise de Projetos de Pesquisa (CAPPesq) sob nº 1013/02 em 12/03/2003 intitulado “*Transplante Renal: em direção à melhor imunossupressão, conduta e custos.*” É um estudo prospectivo, randomizado (1:1:1), aberto e comparativo para avaliação da exposição aos imunossupressores em três grupos de estudo (**Figura 1**):

- **Grupo 1:** TAC dose baixa + MMF 2 gramas/dia + corticoesteróide
- **Grupo 2:** TAC dose habitual + MMF 1,5 grama/dia + corticoesteróide
- **Grupo 3:** CSA microemulsão + MMF 2 gramas/dia + corticoesteróide

O objetivo primário desse Projeto Temático é comparar a função do enxerto renal e a incidência de nefropatia crônica de enxerto, ao final do primeiro ano de transplante, entre os três grupos.

Pacientes submetidos a transplante renal na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (UTR-HCFMUSP) foram convidados a participar deste estudo desde que preenchessem todos os critérios de inclusão e nenhum dos critérios de exclusão.





**Figura 1 - Desenho do estudo**

Legenda:

FK: tacrolimo

CSA: ciclosporina

C0: concentração pré-dose

C2: concentração na 2ª hora pós-dose

D: dia

M: Mês

PK: curva farmacocinética de 12 horas

MPA: ácido micofenólico

**Critérios de Inclusão**

1. Pacientes com pelo menos 18 anos de idade completos.
2. Receptores de transplante de rim primário ou secundário, doador falecido ou vivo (aparentado ou não), não HLA-idêntico.
3. Mulheres em idade ou capacidade de procriar com um teste de gravidez negativo. Mulheres na faixa etária reprodutiva deveriam utilizar um método contraceptivo eficaz durante o estudo.
4. Pacientes que estivessem dispostos e em condições de participar integralmente durante todo o desenvolvimento do estudo e que tenham assinado o Termo de Consentimento Pós-informação.

**Critérios de Exclusão**

1. Paciente com transplante múltiplo de órgãos ou com transplante prévio de qualquer outro órgão diferente de rim.
2. Pacientes com qualquer tipo de hipersensibilidade conhecida a CSA, TAC, MMF ou componentes da fórmula farmacêutica.
3. Pacientes com trombocitopenia ( $< 75.000$ ), neutropenia ( $< 1.500$ ), leucopenia ( $< 4.500$ ) e/ou hemoglobina  $< 6,0$  antes do recrutamento.
4. Pacientes que estivessem recebendo alguma outra droga em investigação.
5. Pacientes com antecedentes de neoplasia nos últimos cinco anos, com exceção de carcinoma de pele.
6. Presença de infecção clinicamente significativa em tratamento.

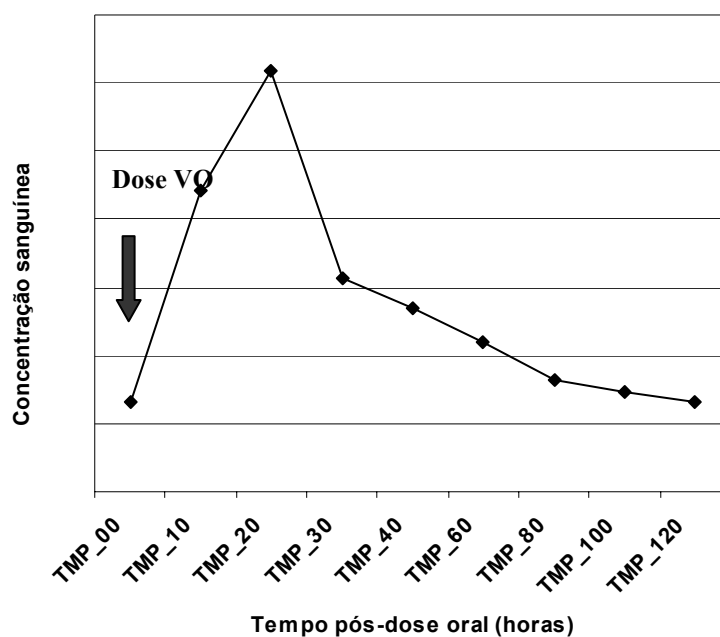
7. Pacientes HIV positivos.
8. Evidência de uso contínuo de drogas ilícitas ou alcoolismo.
9. Pacientes com teste de gravidez positivo.
10. Hepatopatia caracterizada por elevação de duas ou mais vezes das enzimas hepáticas AST e ALT.
11. Pacientes com Reatividade contra Painel atual Classe I > 50%.
12. Uso de indução com anticorpos anti-linfocíticos mono ou policlonais, tais como timoglobulina (ATGAM, Timoglobuline<sup>®</sup>) ou OKT3 (Orthoclone<sup>®</sup>).

Cento e vinte pacientes foram incluídos no Projeto Temático, sendo destinados 39 para o Grupo 1 (TAC baixo), 41 para o Grupo 2 (TAC habitual) e 40 para o Grupo 3 (CSA).

A presente tese, intitulada “*CO-INTERFERÊNCIAS DA FARMACOCINÉTICA DOS INIBIDORES DE CALCINEURINA EM ASSOCIAÇÃO COM MICOFENOLATO MOFETIL EM PACIENTES TRANSPLANTADOS RENAIIS*”, foi aprovada pela CAPPesq sob n° 498/04 e é um subprojeto do Projeto Temático.

Este estudo foi planejado para avaliar as curvas de dosagem sangüínea de CSA, TAC e MPA dos 50±5 primeiros pacientes do Projeto Temático que completassem seis meses de seguimento até 31/12/2004 e que tivessem colhido AUC<sub>0-12</sub> de MPA e TAC ou CSA nos dias 7, 14, 30, 60 e 180 pós-transplante.

As curvas cinéticas foram obtidas por meio da dosagem sanguínea da respectiva droga nos tempos 0, 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após dose oral matinal (**Figura 2**).



**Figura 2** - Modelo de coleta de curva farmacocinética

O MPA foi dosado pelo ensaio EMIT 2000 (Syva Company – Dade Behring Inc, USA)<sup>1</sup>, com técnica de imunoensaio enzimático homogêneo, usado para análise do MPA no plasma. Nesse ensaio, o MPA da amostra sanguínea compete com o MPA marcado com a enzima glicose-6-fosfato desidrogenase da enzima reagente 2. A enzima ativa (não ligada) converte a nicotinamida adenina dinucleotídeo (NAD) oxidada do anticorpo reagente 1 a NADH, produzindo alteração na cinética de absorvância, que pode ser

<sup>1</sup> EMIT® Mycophenolic Acid Assay, 1999 Syva Company - Manual de Instrução revisado em outubro de 1999

medida por espectrofotometria. A atividade da enzima diminui com a ligação ao anticorpo, o que permite medir a concentração do MPA na amostra em termos da atividade enzimática. A enzima glicose-6-fosfato endógena do soro não interfere no ensaio porque a coenzima NAD somente funciona com a enzima bacteriana (*Leuconostoc mesenteroides*) que é usada no ensaio.

Ainda nesse ensaio, é possível determinar concentrações entre 0,5 e 15 µg/mL com variação intra-ensaio menor do que 5%. Os resultados obtidos com o MPA-EMIT correlacionam-se bem com os obtidos por cromatografia líquida de alta pressão (HPLC)<sup>57, 58</sup>. O EMIT também detecta o metabólito 2 do MPA; dessa forma, permite detectar não somente o MPA total, mas também o seu metabólito com atividade imunossupressora (AcMPAG), o que é uma vantagem sobre HPLC. O ensaio EMIT 2000 não tem reatividade cruzada com o metabólito glucoronil-MPA (MPAG). No Laboratório Central do HCFMUSP, os resultados são obtidos em torno de 15 minutos e a capacidade de dosagem é de 60 a 80 amostras por hora quando se usa o Roche Mira *Clinical Chemistry Analyser*. O sistema automatizado de medida de substâncias químicas utilizado foi o COBAS MIRA Plus<sup>®</sup>.

O TAC foi dosado pelo ensaio diagnóstico IMx TAC II (Abbott Laboratories - Abbott Park, Illinois, USA)<sup>2</sup>. O ensaio IMx TAC II é um sistema de reagentes *in vitro* para a determinação quantitativa de TAC e de alguns dos seus metabólitos no sangue total humano (EDTA). O Imx TAC II baseia-se na tecnologia do ensaio imunoenzimático de micropartículas (MEIA).

---

<sup>2</sup> IMx Tacrolimus II Abbott Laboratories - Manual de Instrução revisado em dezembro de 2001

Antes do início da seqüência automática IMx, realiza-se o pré-tratamento manual, no qual se extrai a amostra de sangue total com um reagente de precipitação, que é depois centrifugada. O sobrenadante é decantado para a cavidade de amostra e os reagentes IMx tacrolimus II, juntamente com a amostra, são adicionados à célula de reação. O TAC e o conjugado competem pela ligação às micropartículas revestidas com anticorpos anti-tacrolimo formando um complexo anticorpo-antígeno e anticorpo-antígeno-fosfatase alcalina. Uma alíquota contendo estes complexos ligados as micropartículas é transferida para a matriz de fibra de vidro. As micropartículas ligam-se irreversivelmente à matriz, que é lavada. A seguir, adiciona-se o substrato 4-metilumbeliferil-fosfato e o produto fluorescente é medido pelo sistema óptico do equipamento.

A CSA foi dosada pelo TDx/TDx/FLx CSA Monoclonal<sup>3</sup> em sangue total (Abbott Laboratories - Abbott Park, Illinois, USA). Esse ensaio consiste num sistema de reagentes para a quantificação *in vitro* da CSA em sangue total que utiliza a tecnologia do Imunoensaio de Fluorescência Polarizada (FPIA). É necessário pré-tratamento para minimizar a interferência provocada por compostos endógenos fluorescentes ligados às proteínas, pois é realizado no sobrenadante da amostra.

As doses diárias de MMF, TAC e CSA foram divididas em duas tomadas, com intervalo de 12 horas entre as administrações. Todas as drogas foram administradas simultaneamente. Considerou-se o primeiro dia do

---

<sup>3</sup> TDx/TDxFLx CSA Monoclonal em sangue total – Manual de Instrução revisado em outubro de 2000

estudo aquele em que ocorreu a primeira administração dos medicamentos da randomização, que deveria ser no máximo 48 horas após o ato cirúrgico. Durante o período de estudo de seis meses, as coletas de farmacocinéticas de MPA, de CSA e de TAC foram realizadas nos dias 7, 14, 30, 60 e 180 pós-transplante.

Todos os pacientes do estudo foram internados, um dia antes da realização da farmacocinética, na Enfermaria da Unidade de Transplante Renal, aos cuidados do Grupo de Pesquisa Clínica da UTR-HCFMUSP. Como foram orientados a trazer os medicamentos que estivessem usando, o paciente tomou os imunossupressores, conforme prévia randomização, às 20:00 horas. Na manhã seguinte, foram iniciadas as coletas para a farmacocinética das drogas com todos os pacientes clinicamente estáveis. Além disso, a medicação concomitante era trazida pelo paciente e ingerida ou aplicada no horário habitual.

A primeira coleta de sangue foi imediatamente antes de o paciente receber a dose matinal das suas medicações, o que corresponde à concentração no tempo zero ( $C_0$ , nível basal ou pré-dose). Os imunossupressores foram então administrados junto com o desjejum (leite). As coletas subseqüentes foram realizadas nos tempos correspondentes a 1, 2, 3, 4, 6, 8, 10 e 12 horas após a administração das medicações. Em cada tempo, foram coletadas duas amostras de sangue total em tubos contendo EDTA (2 mL em cada tubo). Uma amostra foi destinada à dosagem de MPA sanguíneo; a outra, à dosagem de TAC ou CSA.

Para cada paciente havia uma folha de controle (documento fonte), na qual a Enfermeira de Pesquisa Clínica anotava o horário da administração dos imunossupressores na noite anterior e no dia da coleta de farmacocinética. Nesse documento foram registrados também a dose dos medicamentos e dados do exame físico do paciente (peso, altura e pressão arterial) - **Apêndice 1**.

As análises foram realizadas no Laboratório de Bioquímica da Divisão de Laboratório Central do HCFMUSP, e o encaminhamento das amostras de sangue foi de responsabilidade da enfermagem de pesquisa - **Apêndice 2**.

Cada paciente foi submetido a uma única punção em sua veia, que permaneceu com um catéter durante as 12 horas de coleta - **Apêndice 3**. Somente após a última coleta o paciente pôde tomar a dose noturna de suas medicações, recebendo, em seguida, alta hospitalar.

As dosagens obtidas foram inseridas no Prontuário Eletrônico da UTR-HCFMUSP. O levantamento dos dados foi feito em planilha eletrônica pelo Serviço de Informática da UTR-HCFMUSP.

Definiu-se  $C_x$  como a concentração da droga no tempo  $x$  e  $C_{max}$  como a maior concentração obtida na curva cinética.  $AUC_{0-12}$  foi calculada utilizando-se a regra trapezoidal linear<sup>59</sup>. Para MPA, o segundo pico foi definido como qualquer elevação de concentração após o primeiro pico ( $C_{max}$ ) que fosse 1,96 vez maior que a variação intra-ensaio (5%) do MPA.

Definiu-se como valor inferior da normalidade para  $AUC_{0-12}$  de cada droga imunossupressora aquele necessário para prevenir rejeição aguda de



acordo com a literatura, ou seja: MPA  $\geq 36$   $\mu\text{g.h/mL}$  (dosado por EMIT) <sup>58</sup>, TAC  $\geq 150$   $\text{ng.h/mL}$  <sup>33</sup> e CSA  $\geq 10000$   $\text{ng.h/mL}$  <sup>9</sup>.

A análise estatística foi executada com o software *Sigma Stat*<sup>®</sup> para Windows (SPSS Inc.) versão 2.03, e os gráficos foram construídos com auxílio do *Sigma Plot*<sup>®</sup> para Windows (SPSS Inc.) versão 8.02, ambos licenciados. Os dados paramétricos foram expressos como média  $\pm$  desvio-padrão e os não-paramétricos como mediana e intervalo interquartil. Para comparações entre os grupos foram utilizados Análise de Variância (ANOVA) ou teste de Mann-Whitney, conforme apropriado. Para comparações dentro de um mesmo grupo, utilizou-se o teste *t* não-pareado. Considerou-se significativo  $p \leq 0,05$ .

Para verificar as correlações entre concentrações isoladas e a  $\text{AUC}_{0-12}$ , utilizou-se a Análise de Regressão Linear Simples, para cada concentração isolada, ou Regressão Linear Múltipla, quando mais de uma concentração foi empregada. Pela análise de Regressão, calculou-se o Coeficiente de Explicação da Regressão ( $r^2$ ), mostrando-se a equação que relaciona o valor da concentração com a  $\text{AUC}_{0-12}$ .

O índice estatístico  $r^2$  descreve aumento ou diminuições proporcionais das respectivas médias de duas variáveis; entretanto, fazem pequena distinção entre o tipo e magnitude de possíveis co-variações, ou seja, são insuficientes como medidas de acurácia. O erro de concordância entre a  $\text{AUC}_{0-12}$  medida (método trapezoidal) e a AUC calculada (por uma equação) foi avaliado pelo método de Bland & Altman, que correlaciona a média dos

dois métodos com a diferença entre eles <sup>60</sup>. Empregou-se também o índice de concordância de Willmott ( $d$ ) <sup>61</sup>, que reflete o grau em que a variável observada (AUC trapezoidal) é estimada com precisão pela variável simulada (AUC calculada). Seu valor varia de 0 (falta de concordância) a 1 (concordância perfeita) entre as medidas simuladas e observadas. Considerou-se significativo neste estudo um índice de concordância maior do que 0,900.

A randomização para os grupos de estudo do Projeto Temático foi elaborada por um estatístico independente e fornecida em envelopes numerados contendo o grupo (TAC baixo, TAC habitual, ou CSA) para o qual o paciente foi destinado.

A amostra do estudo farmacocinético foi dividida em dois grupos: TAC (todos os pacientes que receberam tacrolimo, tanto grupo 1, quanto o grupo 2) e CSA (pacientes do grupo 3).

No estudo farmacocinético, foram analisados os dados demográficos dos dois grupos e a evolução dos principais indicadores farmacocinéticos de TAC e CSA.

Quanto ao MPA, o estudo visou a:

1. Estabelecer a evolução dos indicadores farmacocinéticos nos primeiros 180 dias pós-transplante: demonstração da evolução da média de MPA-AUC<sub>0-12</sub> e MPA-AUC ajustada pela dose, bem como demais indicadores, nos dias 7, 14, 30, 60 e 180 pós-transplante;

2. Definir se a evolução é diferente entre os grupos TAC e CSA: comparação das médias dos indicadores farmacocinéticos através de ANOVA e teste t não-pareado entre o grupo TAC e CSA, bem como da incidência e da amplitude do segundo pico de MPA em cada grupo;
3. Determinar o tempo para atingir a janela terapêutica de MPA (36 – 60 µg.h/mL): verificação, no grupo TAC e CSA, da porcentagem de curvas que estão na faixa terapêutica do dia 7 ao dia 180, de acordo com a dose de MMF em cada grupo de estudo;
4. Estabelecer uma estratégia de monitoração de MPA de acordo com o grupo e o tempo pós-transplante: as curvas de MPA disponíveis em cada período foram randomizadas;  $\frac{3}{4}$  das curvas foram empregadas na Regressão Linear (para se obter o  $r^2$ ) e na determinação do erro de concordância e do índice de concordância da equação obtida. Em seguida, calculou-se a diferença entre a AUC trapezoidal e a AUC calculada pela equação utilizando-se para isso os restantes  $\frac{1}{4}$  das curvas que não foram empregadas na Regressão (processo de validação da equação). A equação foi validada para o grupo TAC e grupo CSA, bem como para cada momento de coleta de cinética (dia 7 a dia 180). A diferença entre as curvas calculadas e trapezoidais foi expressa em mediana e intervalo interquartil. Considerou-se preciso a equação com:

- $r^2 > 0,700$ ;
- Índice de concordância de Willmott (d)  $> 0,900$ ;
- Intervalo interquartil da diferença da AUC calculada com a AUC trapezoidal contido no intervalo do erro de concordância.

A randomização das curvas foi feita com auxílio de um *software* de estatística que forneceu um número de 0 a 1 para cada curva. As curvas de número 0 a 0,75 foram empregadas na Regressão Linear e as de 0,76 a 1 foram utilizadas para validação das equações obtidas com a Regressão.

## 4. RESULTADOS

---

Cento e vinte pacientes foram incluídos no Projeto Temático, porém um paciente não foi transplantado. Dos 119 pacientes transplantados, 52 apresentaram todas as  $AUC_{0-12}$  até o dia 180 pós-transplante, sendo a população incluída nas análises dos resultados deste estudo farmacocinético.

#### **4.1 Dados demográficos**

Os dados demográficos da população estudada e da excluída estão na **Tabela 1**. Verifica-se que não houve diferenças entre elas e a amostra incluída na análise do estudo farmacocinético é representativa do total de pacientes randomizados no Projeto Temático.

**Tabela 1 – Dados demográficos da população do estudo farmacocinético e comparação com a população excluída**

	Incluídos (n = 52)	Excluídos (n = 67)	p
<b>Sexo</b> <sup>(n)</sup>			
Masculino	27	40	0,45
Feminino	25	27	
<b>Etnia</b> <sup>(n)</sup>			
Branco	33	46	0,64
Não-brancos	19	21	
<b>Idade</b> (média±DP)	41,3 ± 12 a	42,1 ± 13 a	0,72
<b>Peso</b> (média±DP)	63,1 ± 13 kg	62,4 ± 10 kg	0,77
<b>Nº transplantes</b> <sup>(n)</sup>			
Primeiro	48	63	0,72
Re-transplante	4	4	
<b>Doador</b> <sup>(n)</sup>			
Vivo	22	26	0,18
Cadáver	30	41	
<b>Inibidor de calcineurina</b> <sup>(n)</sup>			
Ciclosporina	19	22	0,84
Tacrolimo	33	45	
<b>Indução</b> <sup>(n)</sup>			
Basiliximab	32	37	0,35
Daclizumab	20	30	

Dos 52 pacientes incluídos, 33 receberam TAC (15 do Grupo 1 e 18 do Grupo 2) e 19 receberam CSA como inibidor de calcineurina associado ao MMF. A comparação desses dois grupos mostrou uma população homogênea, a não ser pela média de idade e peso inicial, ambos mais baixos no grupo CSA (**Tabela 2**).

**Tabela 2** – Comparação dos dados demográficos entre o grupo TAC e CSA

	Tacrolimo (n=33)	Ciclosporina (n=19)	p
<b>Sexo</b>			
Masculino	18 (54,5%)	9 (47%)	0,56
Feminino	15 (45,5%)	10 (53%)	
<b>Cor</b>			
Branco	23 (70%)	14 (74%)	0,75
Não branco	10 (30%)	5 (26%)	
Idade (anos)	43,8±2,2	36,6±11	0,038
Peso (kg)	66,1±13	57,4±15	0,045
<b>Nº transplantes</b>			
Primeiro	31	17	0,60
Re-transplante	2	2	
<b>Doador</b>			
Vivo	14 (42%)	8 (42%)	0,91
Cadáver	19 (58%)	11 (58%)	
<b>Doença de base</b>			
<i>Diabetes mellitus</i>	5 (15%)	2 (10,5%)	0,59
GNC	15 (45%)	9 (47,5%)	0,89
HAS	5 (15%)	5 (26%)	0,77
Outras causas	8 (25%)	3 (16%)	0,49



Função retardada do enxerto, aqui definida como a necessidade de diálise nos primeiros sete dias pós-transplante, ocorreu em 30% e 31,5% dos pacientes do grupo TAC e CSA, respectivamente.

A média da creatinina sérica (mg/dL) não foi diferente em nenhum momento entre os dois grupos (TAC vs. CSA): dia 14 ( $3,13 \pm 2,78$  vs.  $3,99 \pm 4,05$ ), dia 30 ( $1,69 \pm 0,71$  vs.  $2,41 \pm 2,34$ ), dia 60 ( $1,33 \pm 0,42$  vs.  $1,42 \pm 0,49$ ) e dia 180 ( $1,41 \pm 0,54$  vs.  $1,39 \pm 0,48$ ).

A concentração de hemoglobina elevou-se do dia 7 ao dia 180 de  $9,02 \pm 1,7$  para  $13,3 \pm 2,2$  mg/dL no grupo TAC e de  $9,8 \pm 1,6$  para  $13,2 \pm 2,4$  mg/dL no grupo CSA, respectivamente ( $p=NS$ ).

A média  $\pm DP$  (dia da coleta) da albumina sérica (mg/dL) não diferiu entre os grupos, sendo no grupo TAC:  $3,7 \pm 0,3$  (7),  $4,0 \pm 0,4$  (14),  $4,1 \pm 0,3$  (30),  $4,1 \pm 0,3$  (60) e  $4,4 \pm 0,5$  (180) e no grupo CSA:  $3,7 \pm 0,1$ ,  $4,1 \pm 0,4$ ,  $3,9 \pm 0,4$ ,  $4,1 \pm 0,4$  e  $4,2 \pm 0,4$ , nos respectivos dias.

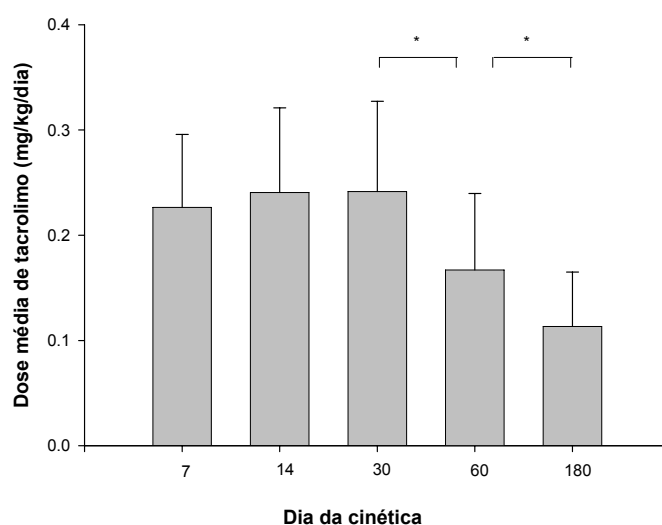
Houve uma queda progressiva na dose de prednisona do dia 7 para o dia 180. No grupo TAC, a dose diminuiu de  $0,87 \pm 0,13$  para  $0,14 \pm 0,17$  mg/kg/d e, no grupo CSA, de  $0,86 \pm 0,19$  para  $0,12 \pm 0,03$  mg/kg/d, respectivamente ( $p=NS$ ).

## 4.2 Análise dos indicadores farmacocinéticos

Dos 52 pacientes incluídos, 19 receberam CSA/MMF/prednisona, fornecendo um total de 95 AUC<sub>0-12</sub> de CSA e de MPA para análise. Os outros 33 pacientes receberam TAC/MMF/prednisona, o que gerou 165 curvas de TAC e de MPA durante o período do estudo. Em resumo, neste estudo foram obtidas e analisadas 95 curvas de CSA, 165 de TAC e 260 de MPA.

### 4.2.1 Tacrolimo

A dose inicial variou de 0,15 a 0,25 mg/kg/dia, sendo ajustada para se manter o nível sérico de acordo com o período pós-transplante (**Figura 1**). Do dia 7 ao dia 180, a dose diária de TAC diminuiu de  $0,22 \pm 0,07$  para  $0,11 \pm 0,05$  mg/kg/dia, respectivamente ( $p < 0,001$ ). A evolução da dose de TAC ao longo do período de estudo pode ser vista na **Figura 3**.



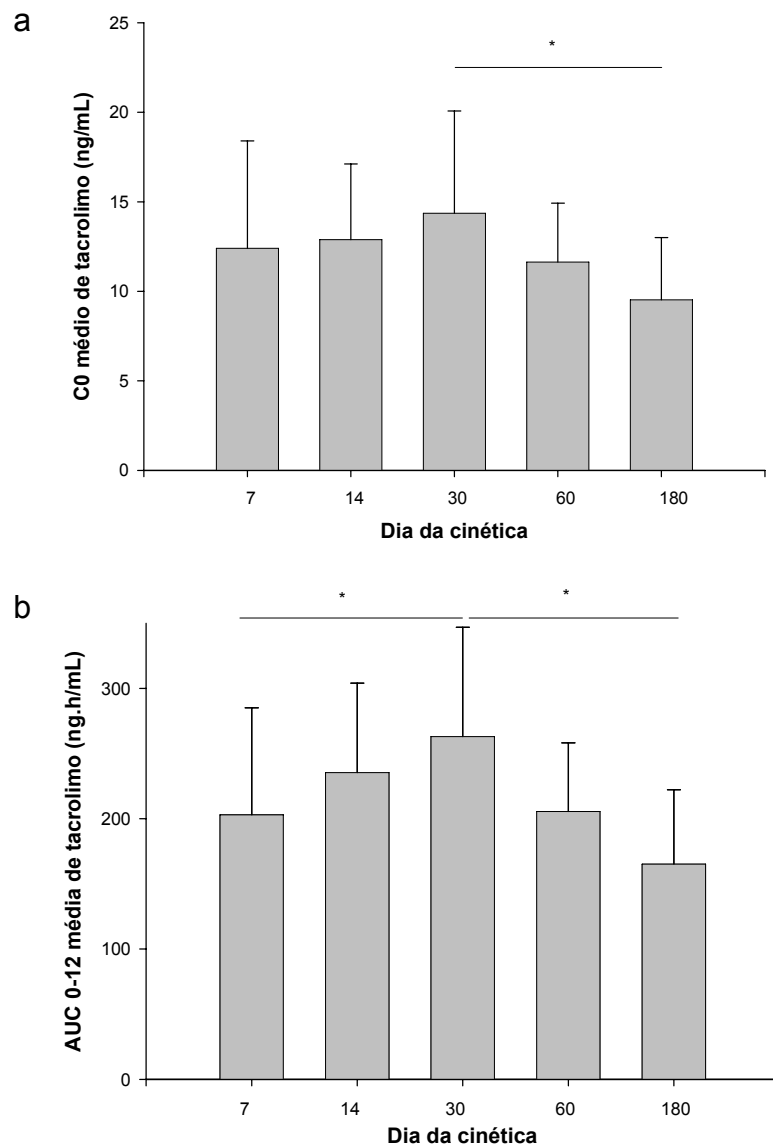
**Figura 3** - Dose média de tacrolimo (mg/kg/dia) nos dias das cinéticas (\* $p < 0,001$ )

A exposição ao TAC pode ser vista na **Tabela 3**, na qual a concentração pré-dose ( $C_0$ ) nos respectivos dias das coletas também é mostrada, por ser este o indicador habitualmente empregado para a monitoração e ajuste de dose de TAC.  $C_0$  de TAC aumentou até o dia 30, mas isso não foi significativo; caiu posteriormente até o dia 180 ( $p < 0,001$ ). A TAC-AUC<sub>0-12</sub> apresentou uma elevação progressiva até o dia 30 ( $p < 0,001$ ) e depois um decréscimo até o dia 180 ( $p < 0,001$ ) - **Figura 4**.

**Tabela 3** – Evolução da TAC-AUC<sub>0-12</sub> entre o dia 7 e o dia 180 pós-transplante

Dia da cinética	7	14	30	60	180
$C_0$ (ng/mL)	12,4±6	12,8±4,2	14,3±5,7	11,6±3,2	9,5±3,4
AUC <sub>0-12</sub> (ng.h/mL)	203±81	235±68	258±80	206±52	165±56

$C_0$ : concentração sanguínea basal; AUC<sub>0-12</sub>: área sob a curva concentração-tempo de 12 horas

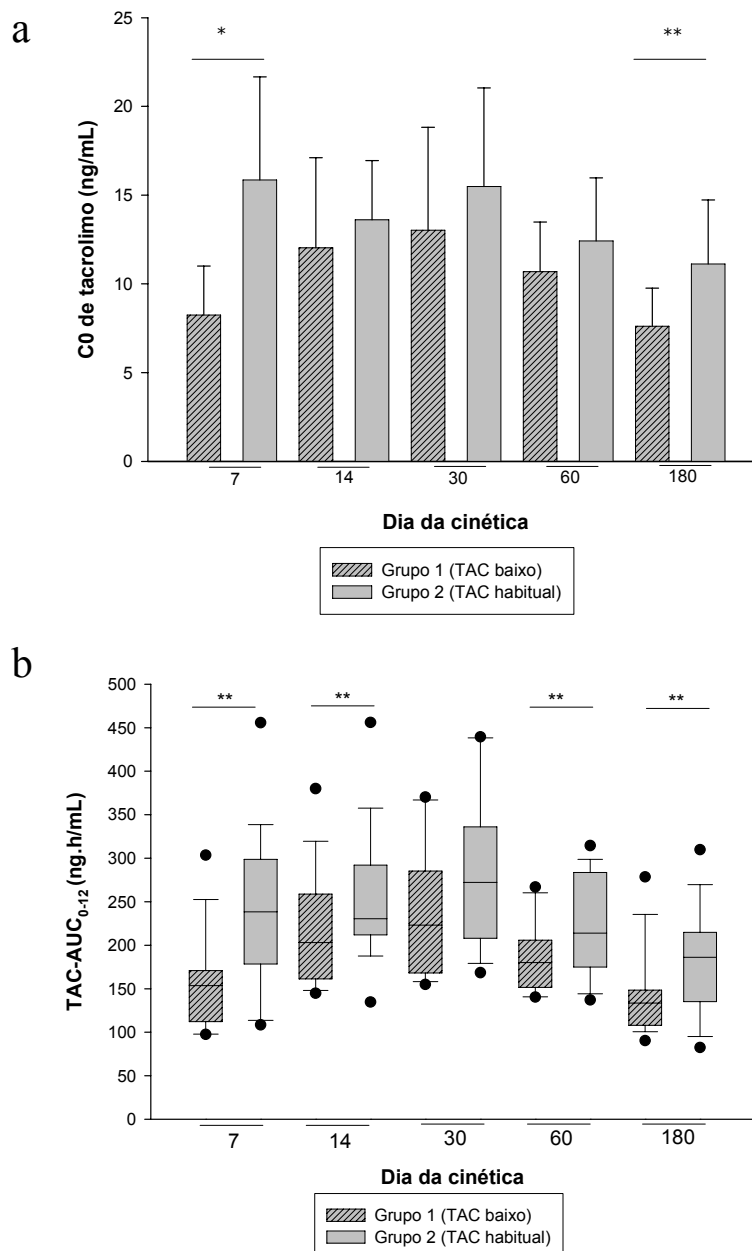


**Figura 4** - Evolução de C0 (a) e da TAC-AUC<sub>0-12</sub> (b) do dia 7 ao dia 180 pós-transplante (médias e DP).

\* p<0,001

Para verificar se os pacientes do grupo TAC permaneceram na faixa terapêutica determinada no desenho do Projeto Temático (**Figura 1**), analisou-se a evolução em separado dos principais indicadores farmacocinéticos no Grupo 1 (TAC baixo) e no Grupo 2 (TAC habitual). C0 permaneceu dentro das respectivas faixas terapêuticas em todos os momentos, exceto no dia 7, quando

C0 médio esteve abaixo de 10 ng/mL nos pacientes do Grupo 1 (**Figura 5a**). A TAC-AUC<sub>0-12</sub> média ficou muito próxima ou acima de 150 ng.h/mL (considerado o nível inferior da normalidade neste estudo), em todos os momentos nos dois grupos (142 ng.h/mL no dia 180 no Grupo 1) – **Figura 5b**.

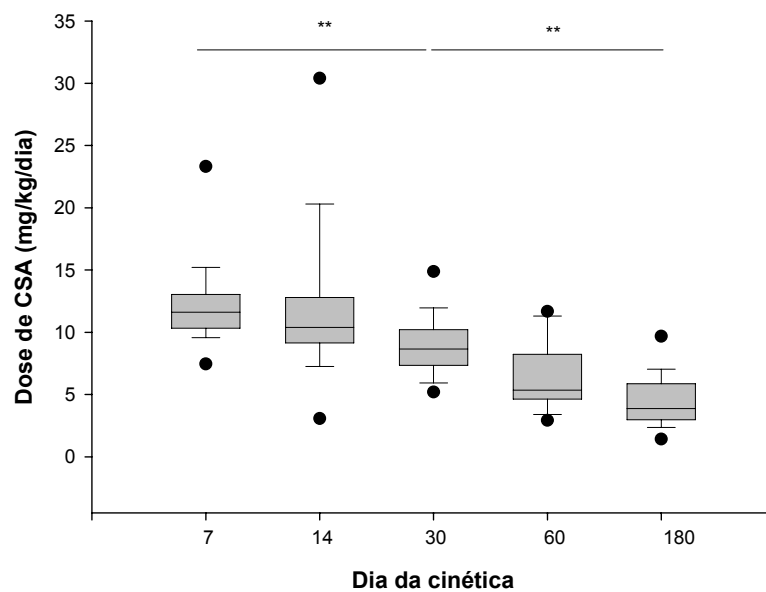


**Figura 5** - Comparação dos principais indicadores farmacocinéticos de tacrolimo do Grupo 1 (TAC baixo) com o Grupo 2 (TAC habitual): C0 (a) e TAC-AUC<sub>0-12</sub> (b)

\*p<0,001 \*\*p<0,05

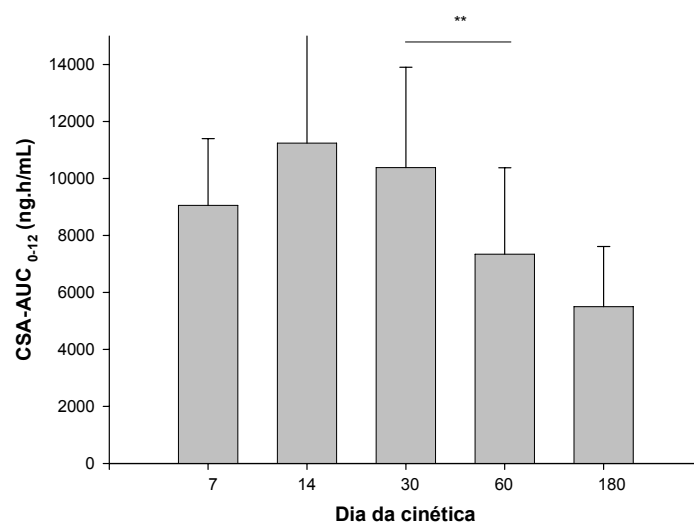
#### 4.2.2 Ciclosporina

A mediana da dose de CSA diminuiu de 11,6 (10,3-12,9) no dia 7 para 3,9 (3,0-5,7) mg/kg/dia no dia 180 ( $p < 0,05$ ). A evolução da dose de CSA ao longo do estudo pode ser vista na **Figura 6**.



**Figura 6** - Dose mediana de CSA (mg/kg/dia) em todos os momentos do estudo.\*\* $p < 0,05$

A CSA-AUC<sub>0-12</sub> (**Tabela 4** e **Figura 7**) aumentou de  $9056 \pm 2338$  ng.h/mL no dia 7 para  $11\,238 \pm 4516$  ng.h/mL no dia 14. Caiu em seguida para  $10383 \pm 3515$  ng.h/mL (dia 30),  $7343 \pm 3029$  ng.h/mL (dia 60) e  $5501 \pm 2109$  ng.h/mL (dia 180). Na **Tabela 4** também estão os principais indicadores farmacocinéticos empregados na prática para o ajuste da dose e monitoração da CSA, isto é, C<sub>0</sub> e C<sub>2</sub>.



**Figura 7** - Evolução da média de CSA-AUC<sub>0-12</sub> nos primeiros 180 dias pós-transplante  
\*\* p<0,05

**Tabela 4** – Principais indicadores farmacocinéticos de CSA nos primeiros 180 dias pós-transplante

Dia da cinética	7	14	30	60	180
C0 (ng/mL)	279 (234-407)	401 (357-519)	441 (361-480)	265 (200-400)	217 (174-275)
C2 (ng/mL)	1628±557	2139±779	2003±765	1441±653	977±435
AUC <sub>0-12</sub> (ng.h/mL)	9058±2338	11238±4516	10383±3515	7343±3029	5501±2109

C0: concentração pré-dose; C2: concentração na segunda hora pós-dose; AUC<sub>0-12</sub>: área sob a curva

Em resumo, a dose de CSA diminuiu progressivamente do dia 7 ao dia 180 pós-transplante. A  $AUC_{0-12}$  elevou-se até o dia 14, caindo a seguir até o final do dia 180. O mesmo fenômeno ocorreu com a concentração pré-dose e com C2. C2 foi o indicador utilizado para ajustar a dose de CSA de acordo com o desenho do Projeto Temático (**Figura 1**) e permaneceu dentro da faixa terapêutica nos dias 7, 60 e 180. Nos dias 14 e 30, a média de C2 esteve acima de 1700 ng/mL, que foi o nível superior determinado para o período.

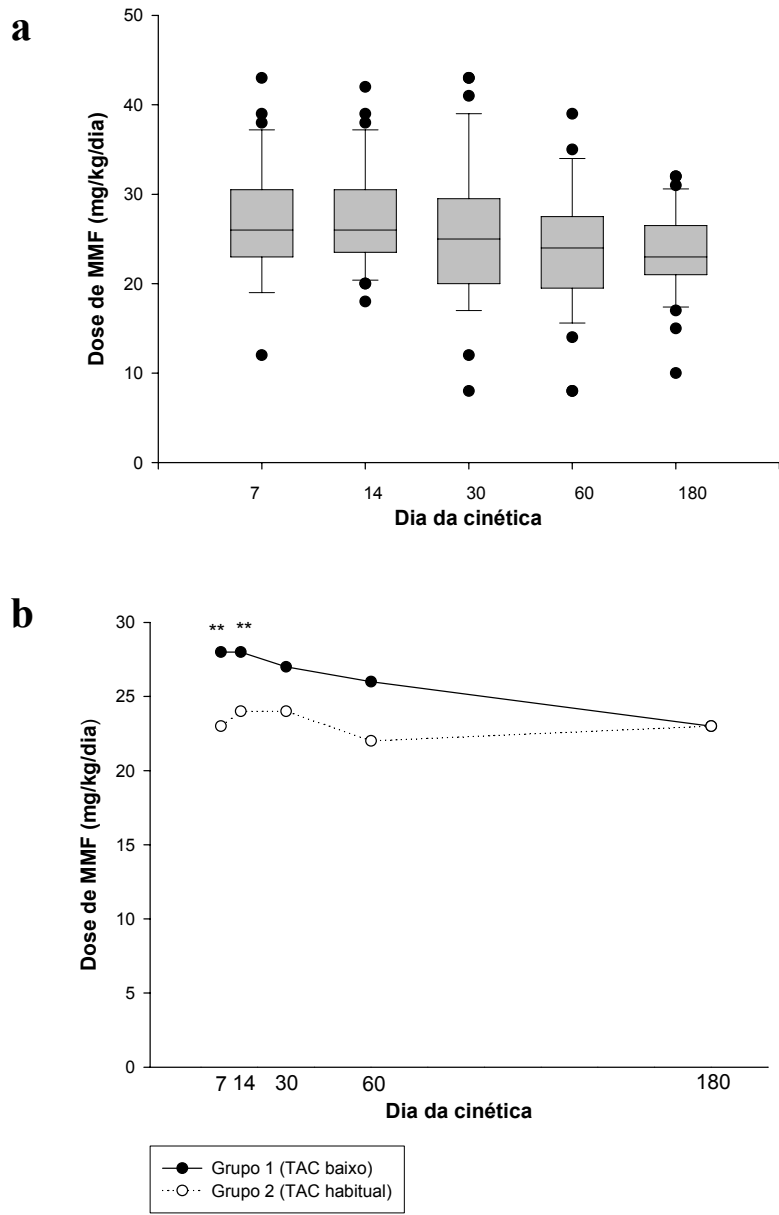
### 4.2.3 Ácido micofenólico

Todos os pacientes deste estudo receberam micofenolato mofetil em duas doses diárias com intervalo de 12 horas. Em virtude das potenciais interferências dos inibidores de calcineurina sobre o metabolismo de MPA, optou-se por analisar em separado a evolução dos indicadores farmacocinéticos de MPA quando empregado com TAC ou CSA e, na seqüência, a comparação entre esses dois grupos.

#### 4.2.3.1 Ácido micofenólico no grupo tacrolimo

A dose mediana de MMF do grupo TAC foi 26,0 (23,0 – 30,2) mg/kg/dia nos dias 7 e 14; nos dias 30, 60 e 180, a dose diminuiu, respectivamente, de 25,0 (20,0 – 29,2) mg/kg/dia para 24,0 (19,7 – 27,2) mg/kg/dia e 23,0 (21,0 – 26,2) mg/kg/dia (**Figura 8a**), embora sem diferença estatística.





**Figura 8** - Dose de MMF nos pacientes do grupo tacrolimo (a) e, separadamente, no Grupo 1 e Grupo 2 (b).

\*\* p<0,05

A dose de MMF no Grupo 1 (TAC baixo) diminuiu progressivamente do dia 7 ao dia 180 (ANOVA,  $p < 0,001$ ); no grupo 2, a dose de MMF não se modificou significativamente ao longo do tempo. Como pode ser visto na **Figura 8b**, a dose de MMF foi diferente entre os Grupos 1 e 2 nos dias 7 e 14 e esta diferença desapareceu no dia 180.

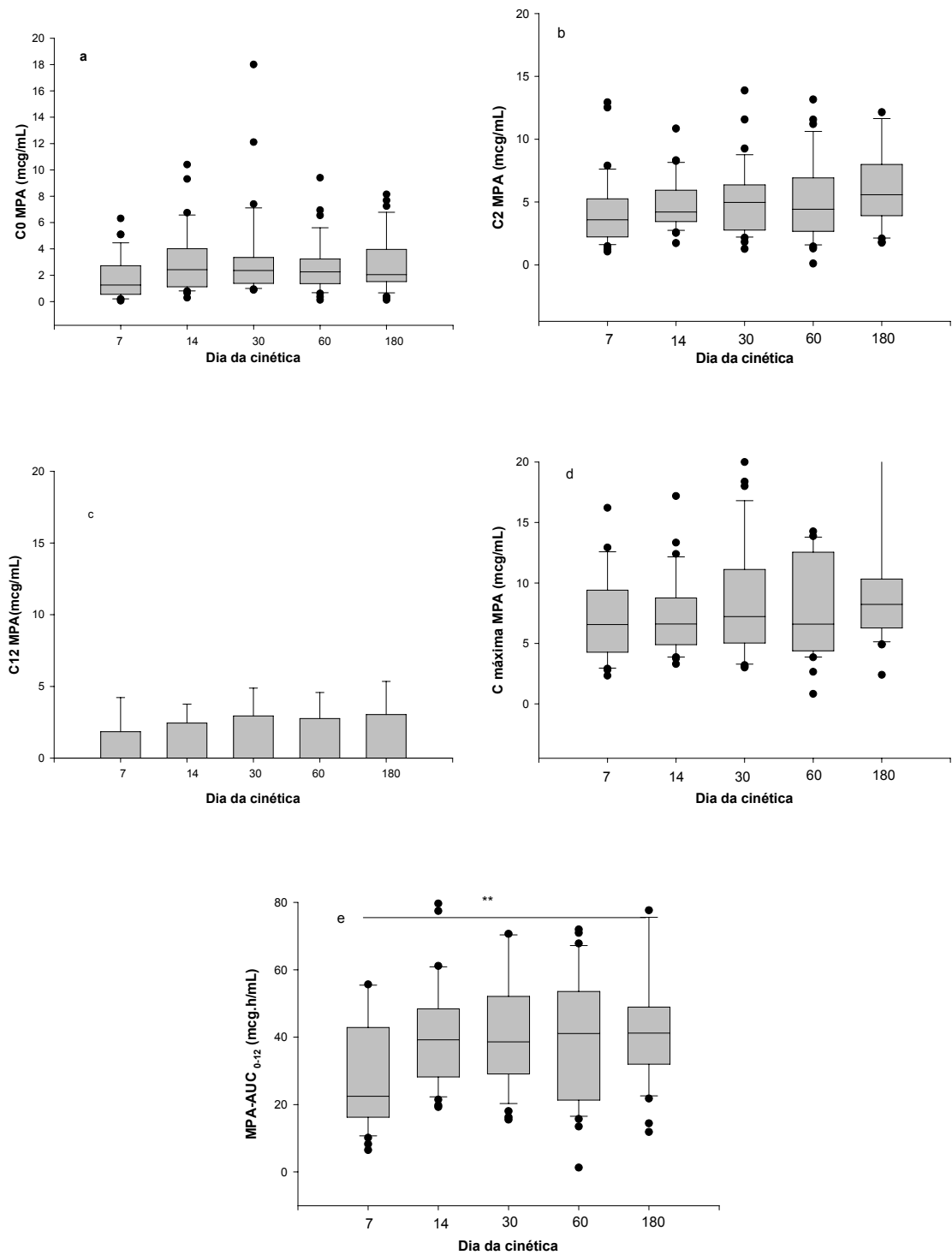
As concentrações pré-dose ( $C_0$  e  $C_{12}$ ) de MPA (**Figura 9a e 9c**) não apresentaram mudanças significativas do dia 7 ao dia 180 pós-transplante. O mesmo fenômeno ocorreu com as concentrações de pico,  $C_2$  e  $C_{max}$  (**Figura 9b e 9d**).

Quanto a  $AUC_{0-12}$ , existiu uma elevação progressiva do dia 7 ao dia 180 (**Figura 9e**). Na **Tabela 5** encontram-se todos os resultados dos indicadores farmacocinéticos de MPA no grupo TAC.

**Tabela 5** – Evolução dos indicadores farmacocinéticos de MPA em associação com TAC (n=165 curvas de MPA) dos dias 7 ao 180 pós-transplante renal.

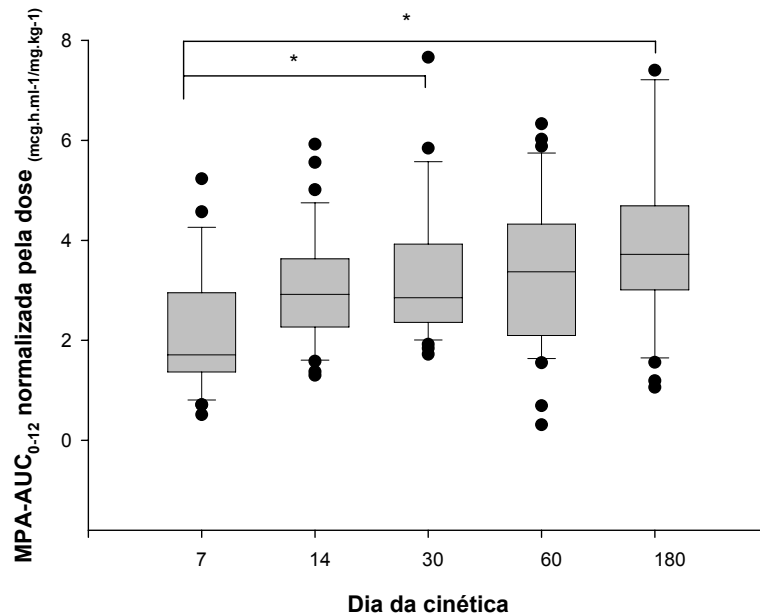
<b>Dia da cinética</b>	<b>7</b>	<b>14</b>	<b>30</b>	<b>60</b>	<b>180</b>
$C_0$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,26 (0,59-2,68)	2,42 (1,13-3,99)	2,36 (1,39-3,34)	2,25 (1,38-3,06)	2,05 (1,52-3,76)
$C_2$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	3,58 (2,22-5,06)	4,2 (3,45-5,91)	4,96 (2,78-6,29)	4,42 (2,76-6,87)	5,58 (3,94-7,87)
$C_{12}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,84 $\pm$ 2,38	2,44 $\pm$ 1,32	2,94 $\pm$ 1,94	2,75 $\pm$ 1,81	3 $\pm$ 2,32
$C_{max}$ ( $\mu\text{g/mL}$ )	6,56 (4,41-9,08)	6,6 (4,88-8,59)	7,21 (5,09-10,6)	6,59 (4,4-12,4)	8,22 (6,3-10,2)
$AUC_{0-12}$ ( $\mu\text{g.h/mL}$ )	22,4 (16,2-42,7)	39,2 (28,3-48,1)	38,6 (29,1-51,7)	41 (21,7-52,9)	41,2 (31,9-48,8)

$C_0$ : concentração sanguínea basal;  $C_2$ : concentração sanguínea na segunda hora;  $C_{12}$ : concentração sanguínea na 12<sup>a</sup> hora;  $C_{max}$ : concentração sanguínea máxima;  $AUC_{0-12}$ : área sob a curva concentração-tempo de 12 horas  
Valores expressos em média $\pm$ DP ou mediana (intervalo interquartil).



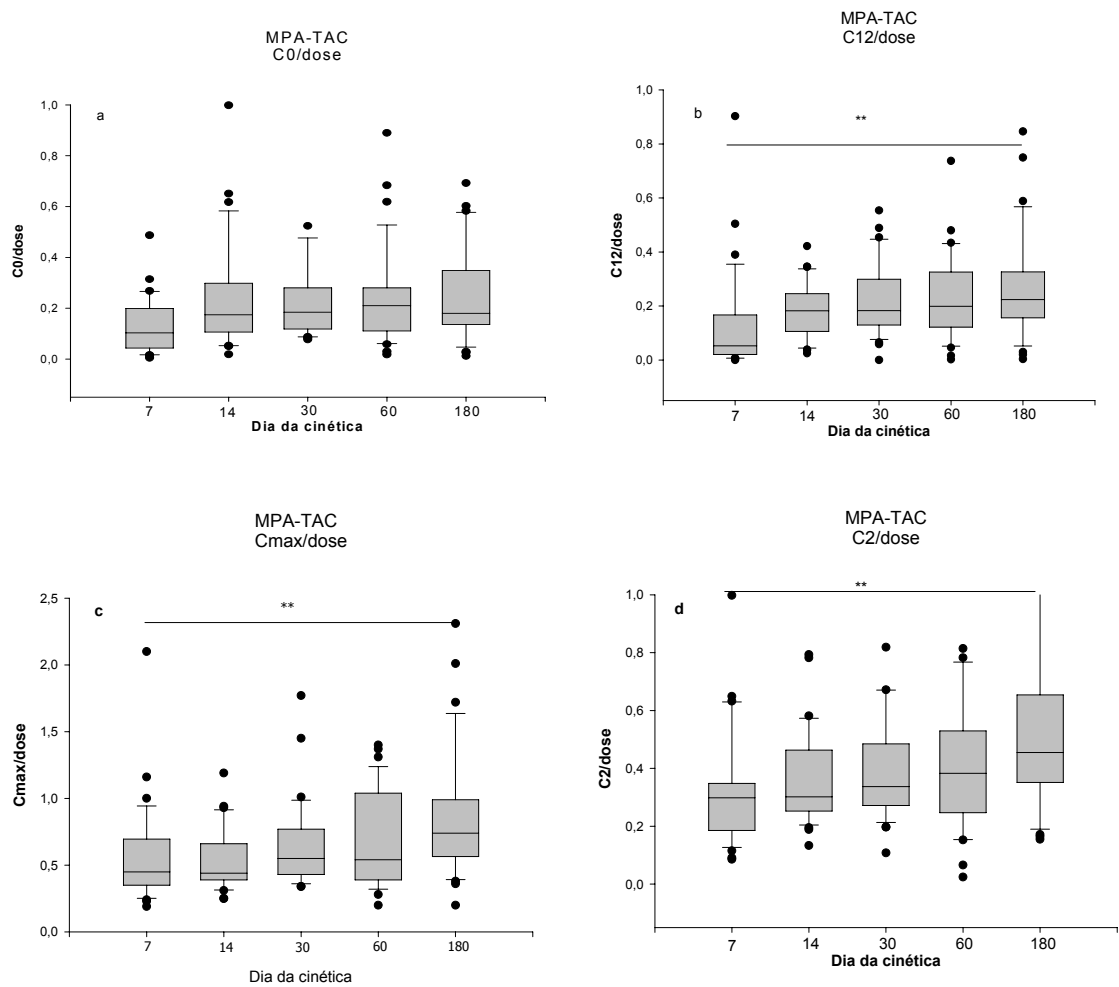
**Figura 9** - Evolução dos indicadores farmacocinéticos de MPA no grupo tacrolimo (n = 165 curvas de MPA) : C0 (a), C2 (b), C12 (c), C<sub>max</sub> (d) e AUC<sub>0-12</sub> (e). \*p<0,001 \*\*p<0,05

A mediana da  $AUC_{0-12}$  de MPA normalizada pela dose (**Figura 10**) aumentou significativamente de 1,7 (1,36-2,94)  $\mu\text{g.h.ml}^{-1}/\text{mg.kg}^{-1}$  no dia 7 para 3,72 (3,02-4,62)  $\mu\text{g.h.ml}^{-1}/\text{mg.kg}^{-1}$  no dia 180 ( $p < 0,001$ ).



**Figura 10** - MPA- $AUC_{0-12}$  normalizada pela dose ao longo do tempo em 165 curvas no grupo tacrolimo \* $p < 0,001$

Para determinar qual componente foi responsável pela elevação da MPA- $AUC_{0-12}$  normalizada pela dose, analisaram-se as evoluções das concentrações pré-dose ( $C_0$  e  $C_{12}$ ) e das concentrações de pico ( $C_{max}$  e  $C_2$ ), todas ajustadas pela dose de MMF.  $C_0/\text{dose}$  não aumentou ao longo do tempo (**Figura 11a**).  $C_{12}/\text{dose}$  apresentou um aumento significativo do dia 7 ao dia 180 ( $p < 0,05$ ) - **Figura 11b**.  $C_{max}/\text{dose}$  (**Figura 11c**) e  $C_2/\text{dose}$  elevaram-se significativamente do dia 7 ao dia 180 ( $p < 0,05$ ) - **Figura 11d**.

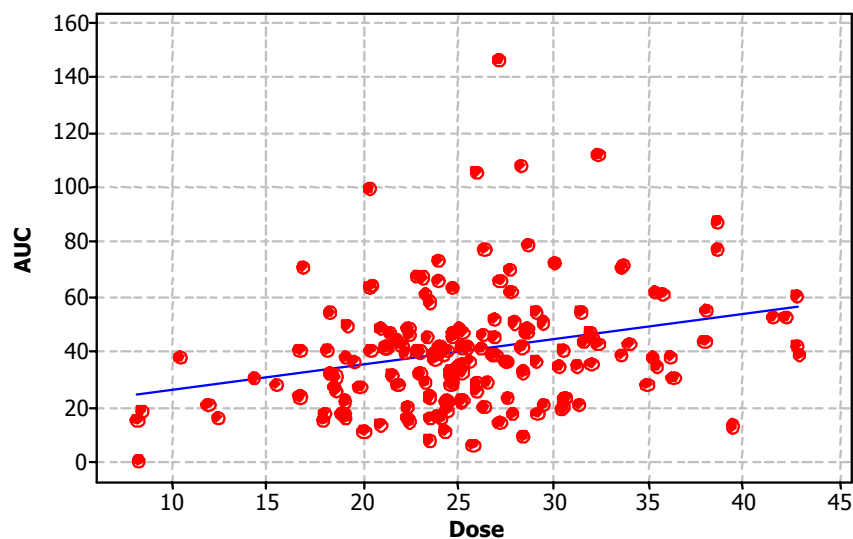


**Figura 11** - Concentrações de MPA normalizadas pela dose ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ): C0 (a), C12 (b),  $C_{\text{max}}$  (c) e C2 (d). \*\* $p < 0,05$

Houve ocorrência de segundo pico de MPA em 142 das 165 curvas do grupo TAC: 3 no tempo 0, 8 no tempo 3h, 14 no tempo 4h, 16 no tempo 6h, 16 no tempo 8h, 45 no tempo 10h e 40 no tempo 12h.

Verificou-se que, no grupo TAC, o segundo pico de MPA ocorreu na 12<sup>a</sup> hora em 36% (dia 7), 23% (dia 14), 25% (dia 30), 24% (dia 60) e 27,5% (dia 180) das vezes. A ocorrência de segundo pico de MPA no tempo zero foi desprezível.

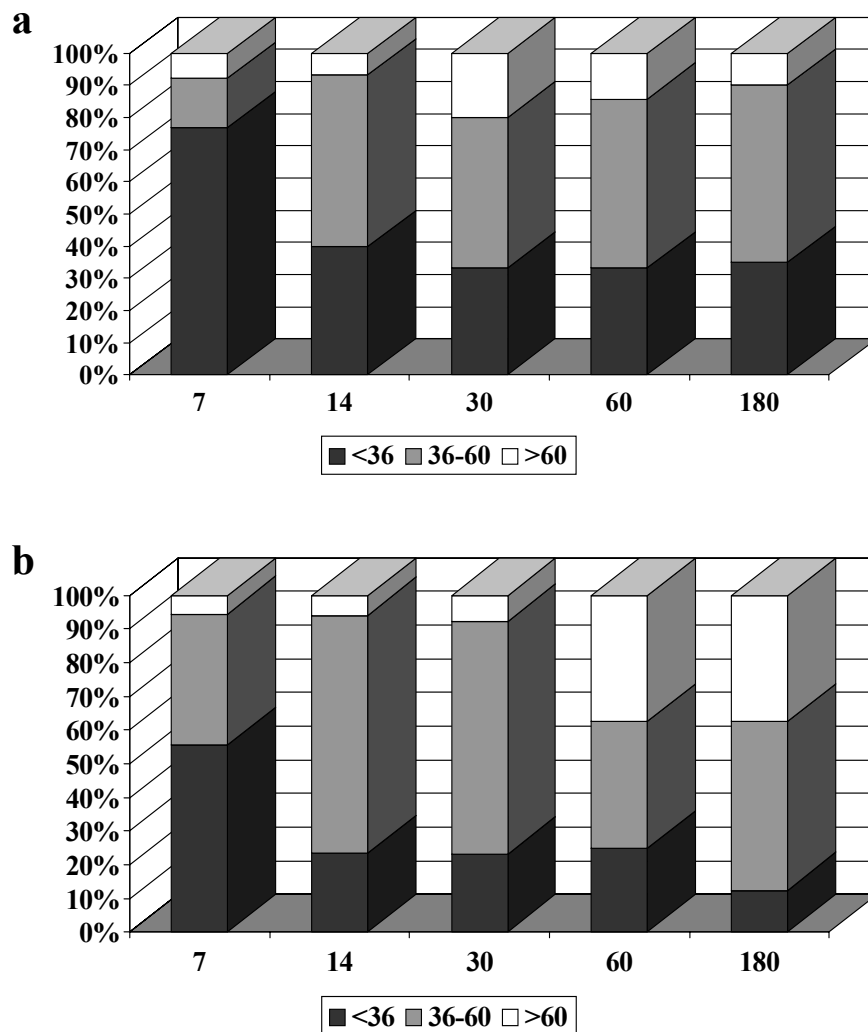
A **Figura 12** mostra a correlação entre a dose de MMF e a  $AUC_{0-12}$  de MPA. Nota-se que a AUC aumenta quando se aumenta a dose, porém a correlação é baixa (0,275 com índice descritivo 0,000) com grande dispersão dos valores de AUC para determinada dose.



**Figura 12** - Dispersão entre dose de MMF e  $AUC_{0-12}$  de MPA em 33 pacientes que receberam MMF em associação com tacrolimo ( $r^2=0,275$ )

Os pacientes do grupo TAC receberam 1500 mg/dia (Grupo 2) ou 2000 mg/dia (Grupo 1) de MMF de acordo com a randomização inicial do

Projeto Temático. A **Figura 13** mostra o percentual de indivíduos que atingiram a faixa terapêutica de MPA-AUC<sub>0-12</sub> em cada momento do estudo de acordo com a dose de MMF. No dia 7, houve uma sub-exposição ao MPA em 77% dos pacientes que receberam dose inicial de 1500 mg/dia e 55,5% dos pacientes que receberam 2000 mg/dia. No dia 180, estas porcentagens caíram para 35% e 12,5% para os que receberam 1500 mg/dia e 2000 mg/dia, respectivamente.



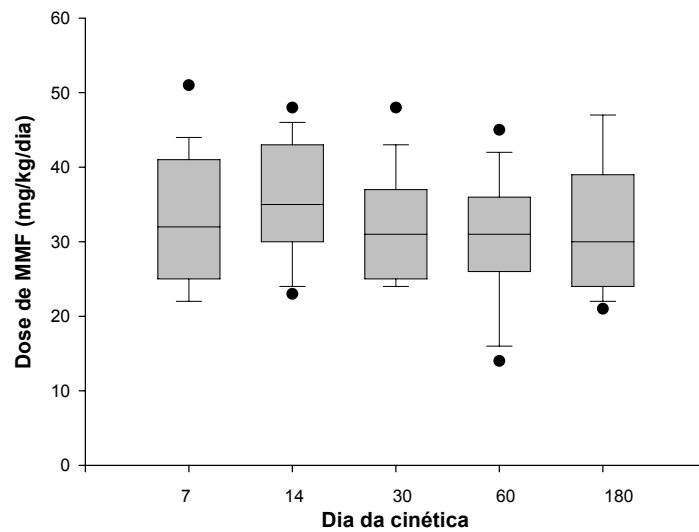
**Figura 13** - Porcentagem de MPA-AUC<sub>0-12</sub> ( $\mu\text{g.h/mL}$ ) dentro da faixa terapêutica de 36 a 60  $\mu\text{g.h/mL}$  nos pacientes do grupo TAC que receberam 1500 mg/dia (a) ou 2000 (b) mg/dia de MMF

Em resumo, no grupo TAC, a dose de MMF diminuiu progressivamente do dia 7 ao dia 180 pós-transplante. A dose foi mais elevada no Grupo 1 (TAC baixo) do que no Grupo 2 (TAC habitual) nos dias 7 e 14; no dia 180, a dose foi semelhante nesses dois grupos. Houve um aumento progressivo na MPA-AUC<sub>0-12</sub>, no entanto C<sub>0</sub>, C<sub>2</sub>, C<sub>12</sub> e C<sub>max</sub> não apresentaram aumento significativo ao longo dos 180 dias. A MPA-AUC<sub>0-12</sub> normalizada pela dose aumentou progressivamente nos seis meses pós-transplante, e o mesmo fenômeno ocorreu com as concentrações de pico, C<sub>max</sub>/dose e C<sub>2</sub>/dose. As concentrações pré-dose, C<sub>0</sub>/dose e C<sub>12</sub>/dose, apresentaram evoluções diferentes entre si. Cerca de um quarto da incidência de segundo pico de MPA ocorreu na décima segunda hora em todos os dias de cinética. A correlação entre a dose de MMF e a MPA-AUC<sub>0-12</sub> foi fraca. Quando se empregou MMF na dose de 1500 mg/dia, a sub-exposição foi maior do que com 2000 mg/dia em todos os momentos do estudo até o dia 180 pós-transplante.

#### 4.2.3.2 Ácido micofenólico no grupo ciclosporina

A dose mediana de MMF desse grupo foi 32,0 (25,5 – 40,7) mg/kg/dia no dia 7 e 35,0 (30,2 – 42,2) no dia 14. Nos dias 30, 60 e 180, a dose foi, respectivamente, 31,0 (26,2 – 37), 31,0 (26,5 – 37,5) e 30,0 (24 - 37,5) mg/kg/dia (**Figura 13**). A dose de MMF não se modificou significativamente ao longo dos 180 dias pós-transplante no grupo CSA.



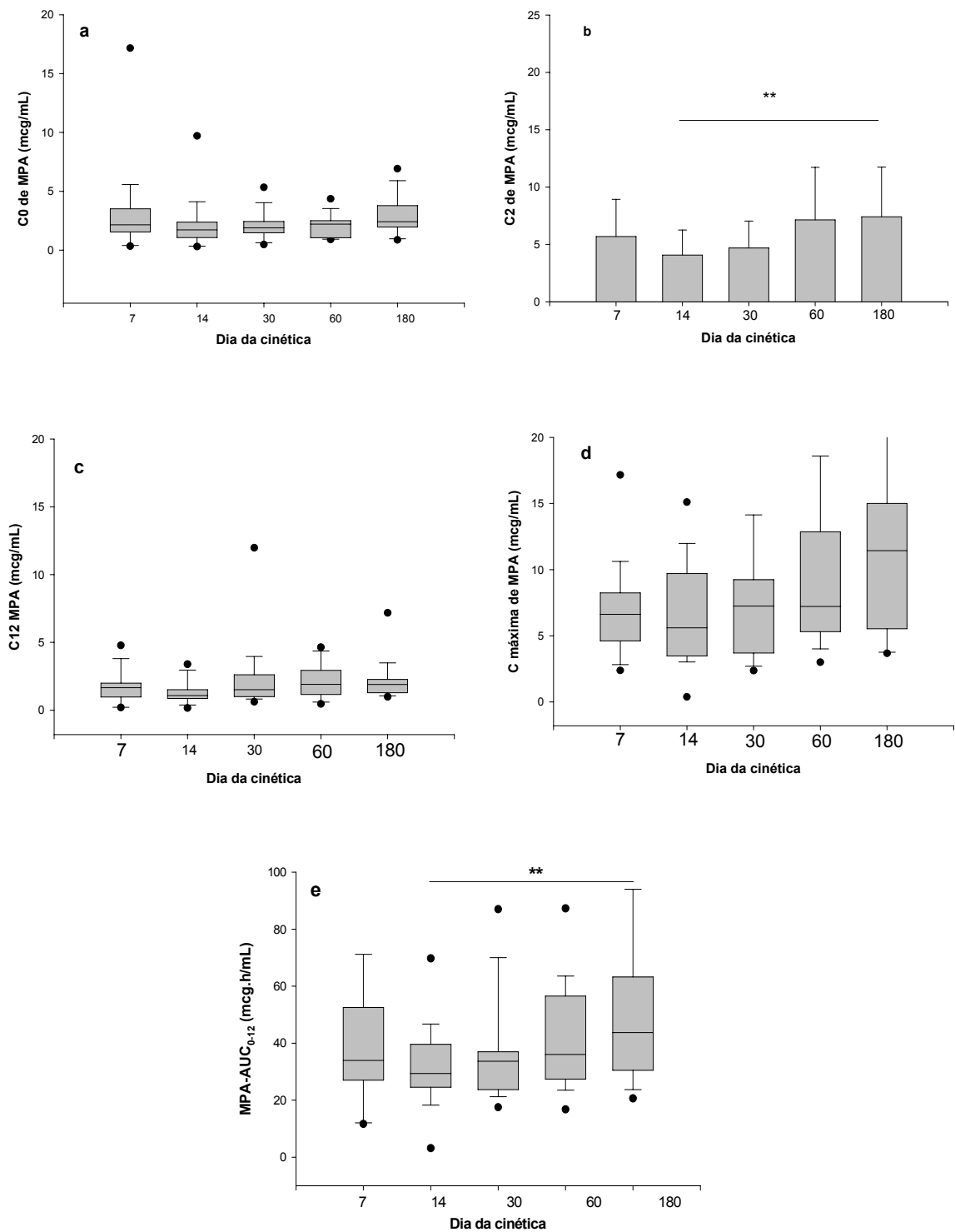


**Figura 14** - Dose de MMF (mg/kg/dia) nos 19 pacientes do grupo ciclosporina

A MPA-AUC<sub>0-12</sub>, no grupo CSA apresentou aumento significativo do dia 14 ao dia 180 ( $p < 0,05$ ) – **Figura 15e**. O mesmo fenômeno ocorreu com C2 (**Figura 15b**). As concentrações C<sub>0</sub>, C<sub>12</sub> e C<sub>max</sub> apresentaram aumento ao longo do período de 180 dias, porém não significativo (**Figura 15a, 15c e 15d**).

No grupo CSA, houve ocorrência de segundo pico de MPA em 73 das 95 curvas: 3 no tempo 0h, 7 no tempo 3h, 12 no tempo 4h, 6 no tempo 6h, 11 no tempo 8h, 17 no tempo 10h e 17 no tempo 12h.

De acordo com o período, o segundo pico de MPA ocorreu na 12<sup>a</sup> hora em 38% (dia 7), 12% (dia 14), 27% (dia 30), 23% (dia 60) e 20% (dia 180) das vezes.



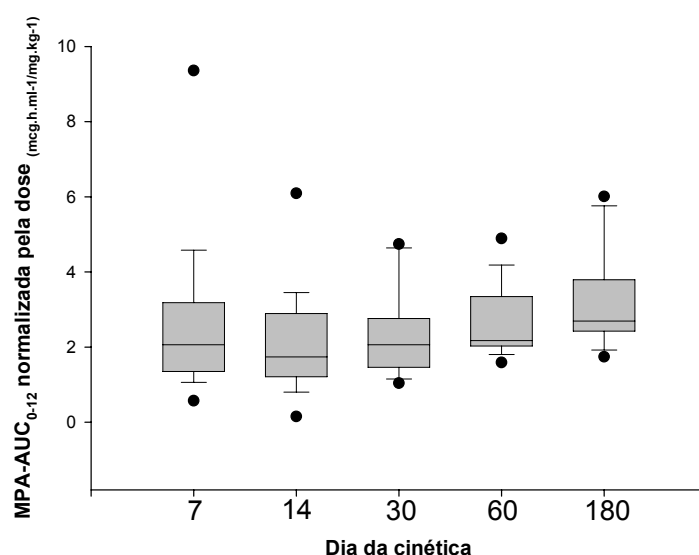
**Figura 15** - Evolução da concentração de MPA no grupo ciclosporina (n = 95 curvas de MPA): C0 (a), C2 (b), C12 (c),  $C_{max}$  (d) e MPA-AUC<sub>0-12</sub> (e). \*\*p<0,05

**Tabela 6** - Evolução dos indicadores farmacocinéticos de MPA quando MMF foi empregado em associação com CSA (n=95 curvas de MPA).

Dia da cinética	7	14	30	60	180
C0 ( $\mu\text{g/mL}$ )	2,15 (1,58-3,48)	1,73 (1,09-2,3)	1,89 (1,48-2,37)	2,21 (1,08-2,49)	2,41 (1,96-3,76)
C2 ( $\mu\text{g/mL}$ )	5,69 $\pm$ 3,22	4,07 $\pm$ 2,17	4,69 $\pm$ 2,34	7,13 $\pm$ 4,58	7,41 $\pm$ 4,32
C12 ( $\mu\text{g/mL}$ )	1,66 (0,98-1,98)	1,08 (0,87-1,52)	1,52 (1,03-2,54)	1,91 (1,16-2,9)	1,9 (1,9-2,25)
C <sub>máx</sub> ( $\mu\text{g/mL}$ )	6,62 (4,69-8,14)	5,6 (3,66-9,51)	7,24 (3,78-8,92)	7,21 (5,38-12,8)	11,4 (5,8-15)
AUC <sub>0-12</sub> ( $\mu\text{g.h/mL}$ )	33,9 (27,5-52,3)	29,3 (24,5-39,1)	33,6 (24,11-36,5)	36 (27,4-56,3)	43,7 (31,9-63)

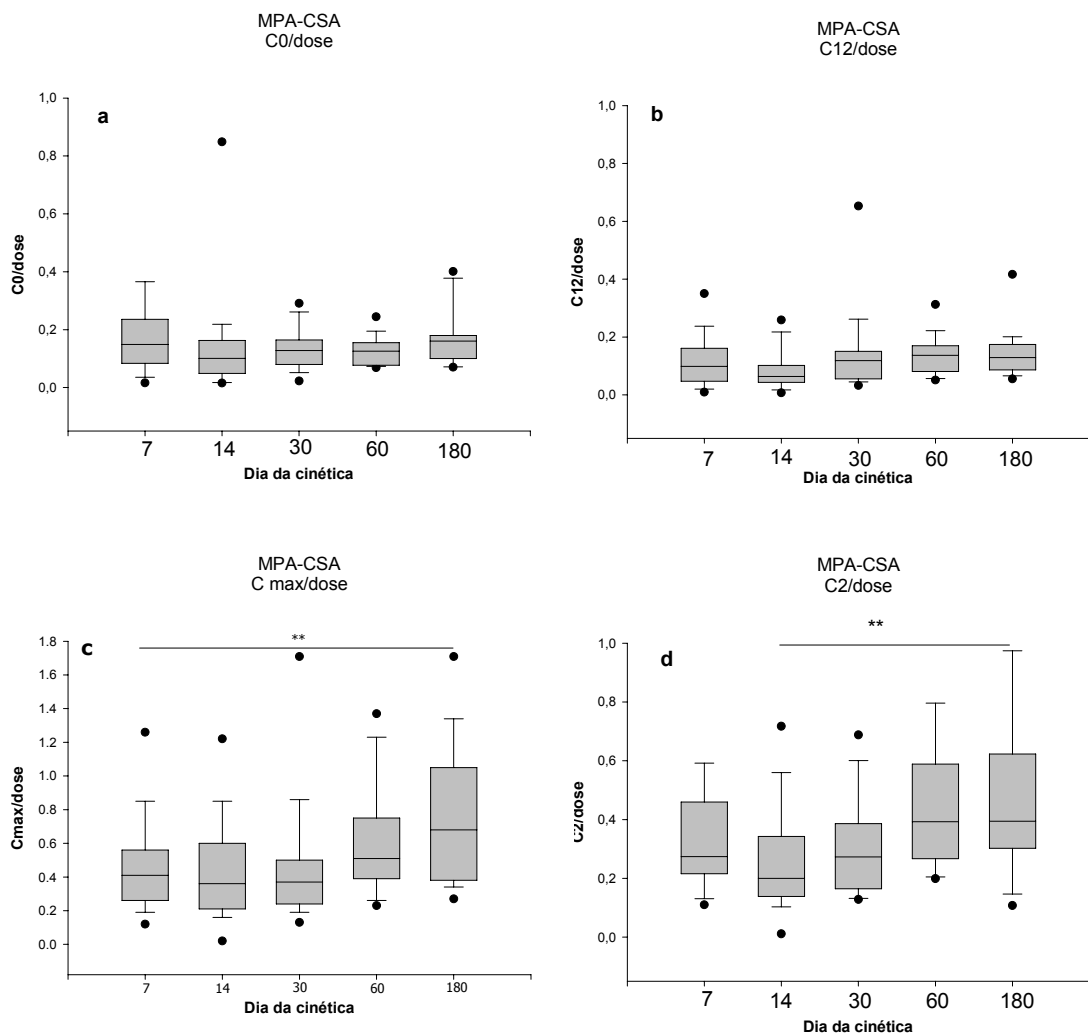
C0 : concentração sanguínea basal; C2 : concentração sanguínea na segunda hora; C12 : concentração sanguínea na 12<sup>a</sup> hora; C<sub>máx</sub> : concentração sanguínea máxima; AUC<sub>0-12</sub> : área sob a curva concentração-tempo de 12 horas  
Valores expressos em média $\pm$ DP ou mediana (intervalo interquartil)

A MPA-AUC<sub>0-12</sub> normalizada pela dose de MMF, no grupo CSA, não apresentou mudança significativa entre os dias das cinéticas (ANOVA,  $p = 0,143$ ) - **Figura 16**.



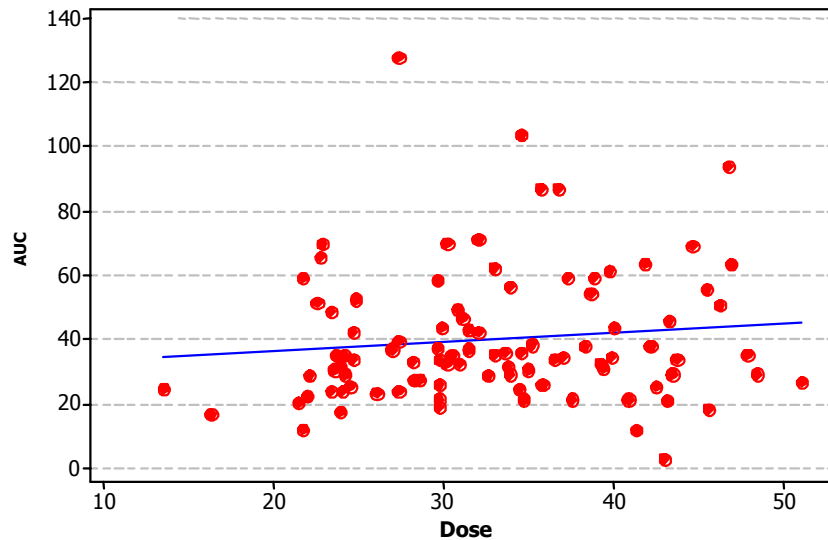
**Figura 16** - MPA-AUC<sub>0-12</sub> normalizada pela dose de MMF ( $\mu\text{g.mL}^{-1}/\text{mg.kg}^{-1}$ ) em 95 curvas em todos os dias de cinéticas no grupo ciclosporina.

As concentrações basais, C0 e C12, quando ajustadas pela dose, não apresentaram mudanças significativas entre o dia 7 e o dia 180 (**Figura 17a e 17b**).  $C_{max}$  ajustada pela dose aumentou do dia 7 ao dia 180 ( $p < 0,05$ ) – **Figura 17c**. C2 ajustada pela dose apresentou aumento progressivo do dia 14 ao dia 180 ( $p < 0,05$ ) – **Figura 17d**.



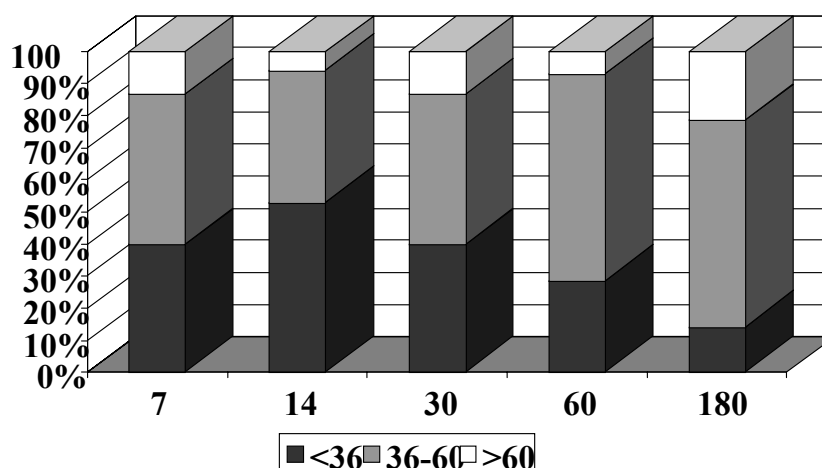
**Figura 17** - Evolução das concentrações sanguíneas de MPA normalizadas pela dose ( $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) no grupo ciclosporina : C0 (a), C12 (b),  $C_{max}$  (c) e C2 (d). \*\* $p < 0,05$

A correlação entre dose de MMF e  $AUC_{0-12}$  de MPA foi pouco significativa ( $r^2$  foi de 0,114). Esse evento mostra que houve uma grande dispersão (variação) entre os dados (**Figura 18**).



**Figura 18** - Dispersão entre dose de MMF e  $AUC_{0-12}$  de MPA em 19 pacientes do grupo ciclosporina ( $r^2=0,114$ )

Os pacientes randomizados para o grupo CSA receberam 2000 mg/dia de MMF. Entre 40 e 50% das curvas estiveram abaixo do limite inferior da normalidade para MPA nos dias 7 e 14 pós-transplante. Esta porcentagem caiu progressivamente e, no dia 180, 14,3% das curvas estavam abaixo do nível terapêutico (**Figura 19**).



**Figura 19** - Porcentagem de curvas que atingiram a faixa terapêutica de MPA-AUC<sub>0-12</sub> (µg.h/mL) em cada momento do estudo no grupo CSA (MMF 2000 mg/dia)

Em resumo, a dose de MMF no grupo ciclosporina não apresentou variações significativas nos primeiros 180 dias pós-transplante. A MPA-AUC<sub>0-12</sub> aumentou do dia 14 ao dia 180, o mesmo ocorrendo com C<sub>2</sub>. Não ocorreram mudanças significativas em C<sub>0</sub>, C<sub>12</sub> e C<sub>max</sub> ao longo do tempo. Quando os indicadores farmacocinéticos foram normalizados pela dose de MMF, não se detectou mudanças na MPA-AUC<sub>0-12</sub>, C<sub>0</sub> e C<sub>12</sub>. Entretanto, C<sub>2</sub>/dose e C<sub>max</sub>/dose apresentaram elevação significativa do dia 14 ao dia 180. A correlação entre a dose de MMF e a MPA-AUC<sub>0-12</sub> foi fraca. No grupo CSA, MMF foi administrado na dose de 2000 mg/dia; 40% das curvas no dia 7 e 14% no dia 180 estiveram abaixo da faixa terapêutica.

#### 4.3 Comparação dos indicadores farmacocinéticos de MPA entre os grupos tacrolimo e ciclosporina

Tendo-se em vista a descrição na literatura de diferença nas concentrações sanguíneas de MPA de acordo com o inibidor de

calcineurina, associado aos dados farmacocinéticos encontrados até o momento neste estudo, optou-se pela comparação dos indicadores farmacocinéticos entre os grupos CSA e TAC.

#### 4.3.1 Dose de micofenolato mofetil

No desenho do Projeto Temático, os pacientes dos grupos 1 (TAC baixo) e 3 (CSA) recebiam 2000 mg/dia de MMF, ajustados posteriormente de acordo com MPA-AUC<sub>0-12</sub> e eventos adversos. Os pacientes do grupo 2 (TAC habitual) foram destinados para receber 1500 mg/dia de MMF. Desse modo, era esperado que a dose de MMF no grupo TAC fosse inferior a do grupo CSA, conforme mostrado na **Tabela 7**.

**Tabela 7** – Comparação das doses de MMF entre os grupos TAC e CSA (mg/kg/d)

Dia da cinética	Grupo TAC (n=33)	Grupo CSA (n=19)	p
7	26 (23 – 30,2)	32 (25,5 – 40,7)	0,004
14	27 (23 – 30,2)	35 (30,2 – 42,2)	<0,001
30	26 (20 – 29,2)	31 (26,2 – 37)	0,005
60	24 (19,7 – 27,2)	31 (26,5 – 37,5)	0,002
180	23 (21 – 26,2)	30 (24 – 37,5)	<0,001

Valores expressos em mediana (intervalo interquartil)

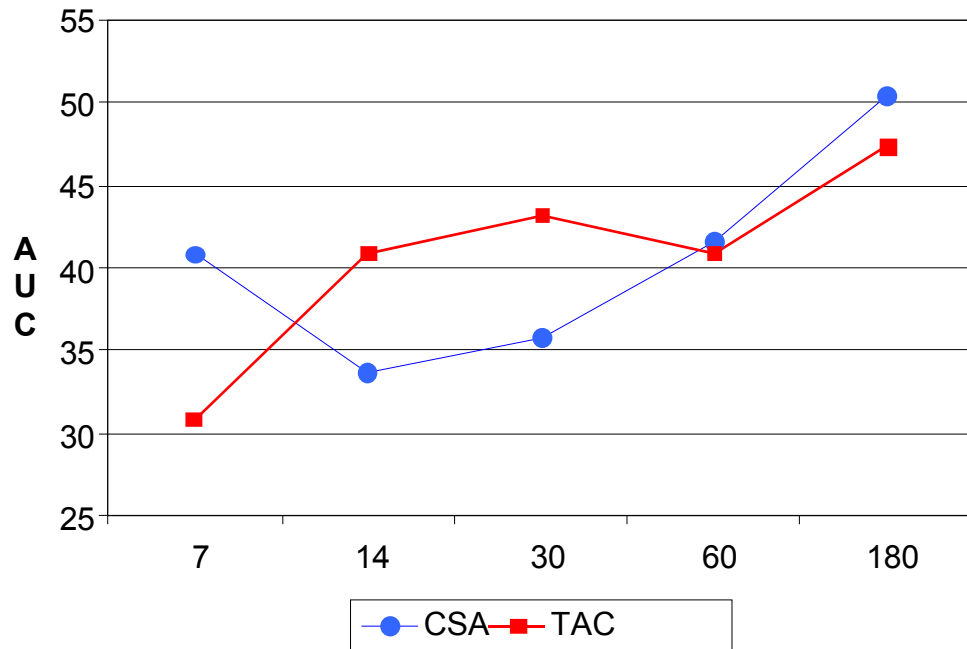
### 4.3.2 Área sob a curva concentração-tempo de MPA (MPA-AUC<sub>0-12</sub>)

Tanto para o grupo TAC, quanto para o grupo CSA, notou-se um aumento da MPA-AUC<sub>0-12</sub> ao longo do tempo, com algumas diferenças entre os dois grupos nas cinéticas do dia 7 ao dia 30. Quanto à variabilidade, houve valores maiores em alguns grupos. Na análise geral, as variações dentro das cinéticas foram grandes (**Tabela 8** e **Figuras 20** e **21**) e o coeficiente de variação médio esteve entre 55% e 88%.

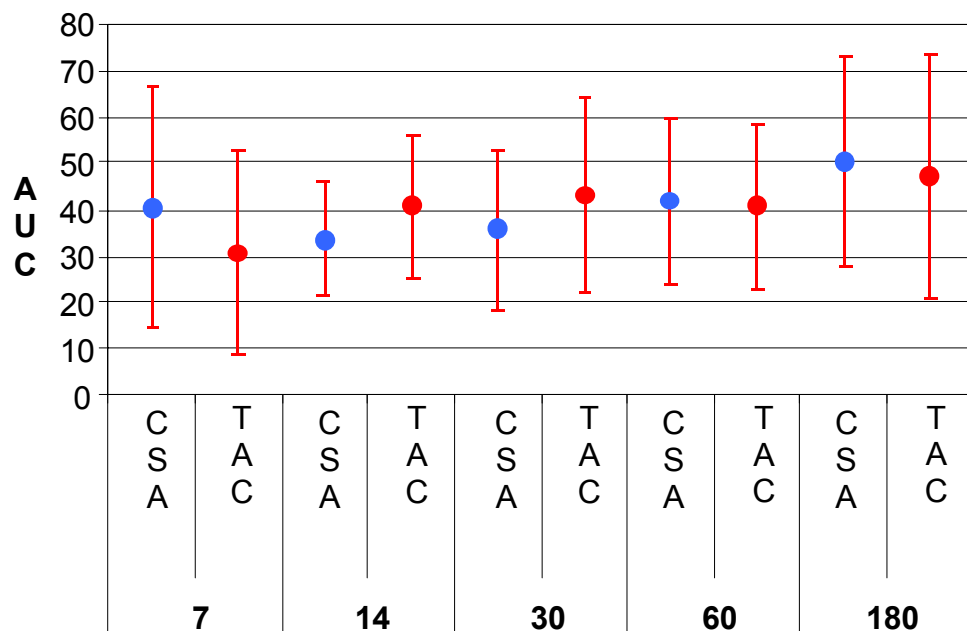
**Tabela 8** – Medidas resumo para MPA-AUC<sub>0-12</sub> nos grupos TAC e CSA

Grupo	Dia cinética	Média	Desvio Padrão	Mínimo	Máximo	Quantidade
CSA	7	40,8	26,3	11,7	127,9	19
	14	33,7	12,2	18,3	69,7	19
	30	35,9	17,4	17,5	87,0	19
	60	41,7	18,1	16,8	87,3	19
	180	50,4	22,8	20,6	103,7	19
CSA Total		40,6	20,4	11,7	127,9	95
TAC	7	30,9	22,2	6,5	105,8	33
	14	41,0	15,4	19,3	79,6	33
	30	43,3	21,4	15,5	108,2	33
	60	40,9	18,0	13,5	71,9	33
	180	47,4	26,4	11,9	146,6	33
TAC Total		40,7	21,5	6,5	146,6	165





**Figura 20** - Médias para MPA-AUC<sub>0-12</sub> nos grupos TAC e CSA em cada dia de cinética (7, 14, 30, 60 e 180)



**Figura 21** - Médias±desvios-padrão para MPA-AUC<sub>0-12</sub> nos grupos TAC e CSA em todas as cinéticas

A Análise de Variância dos dados de MPA-AUC<sub>0-12</sub> permitiu concluir que:

- A diferença entre as médias dos dois grupos não se modifica ao longo das cinéticas ( $p = 0,063$ );
- O fator Grupo não foi significativo, ou seja, não existe diferença na MPA-AUC<sub>0-12</sub> entre a associação com CSA ou com TAC ( $p = 0,731$ );
- O fator dia da cinética foi significativo, ou seja, existe uma diferença significativa na MPA-AUC<sub>0-12</sub> entre as cinéticas ( $p = 0,003$ ). Observou-se diferença significativa apenas entre a média da cinética do dia 7 com a do dia 180 ( $p = 0,006$ ).

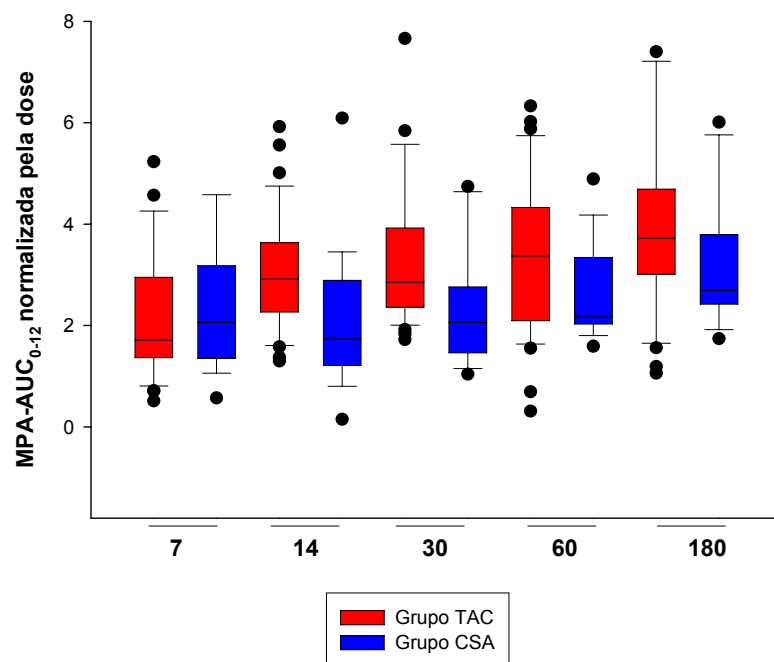
#### **4.3.3 Área sob a curva concentração-tempo de MPA (MPA-AUC<sub>0-12</sub>) ajustada pela dose de MMF**

Como os pacientes do grupo TAC receberam doses diferentes de MMF de acordo com a randomização para Grupo 1 (MMF 2000 mg/d) ou Grupo 2 (MMF 1500 mg/d), todos os indicadores farmacocinéticos foram ajustados para a dose de MMF (mg/kg/dose), excluindo-se, desta forma, a dose como fator de confusão.

A comparação dentro de um mesmo grupo através de Análise de Variância mostrou que as curvas de MPA aumentaram progressivamente do dia 7 ao dia 180 no grupo TAC ( $p < 0,001$ ). No grupo CSA, os valores ficaram estáveis nos primeiros 30 dias, ocorrendo um aumento significativo somente a partir do dia 30 até o dia 180 ( $p = 0,015$ ).

A comparação entre os grupos TAC e CSA (**Tabela 9**) mostrou que no dia 7 não houve diferença entre os grupos para nenhum dos indicadores farmacocinéticos. Nos dias 14 e 30, a MPA-AUC<sub>0-12</sub> foi significativamente maior no grupo TAC. Nos dias 60 e 180, não houve diferença na MPA-AUC<sub>0-12</sub> entre os grupos TAC e CSA.

A **Figura 22** mostra a evolução da MPA-AUC<sub>0-12</sub> ajustada pela dose nos grupos TAC e CSA em todas as datas das cinéticas.



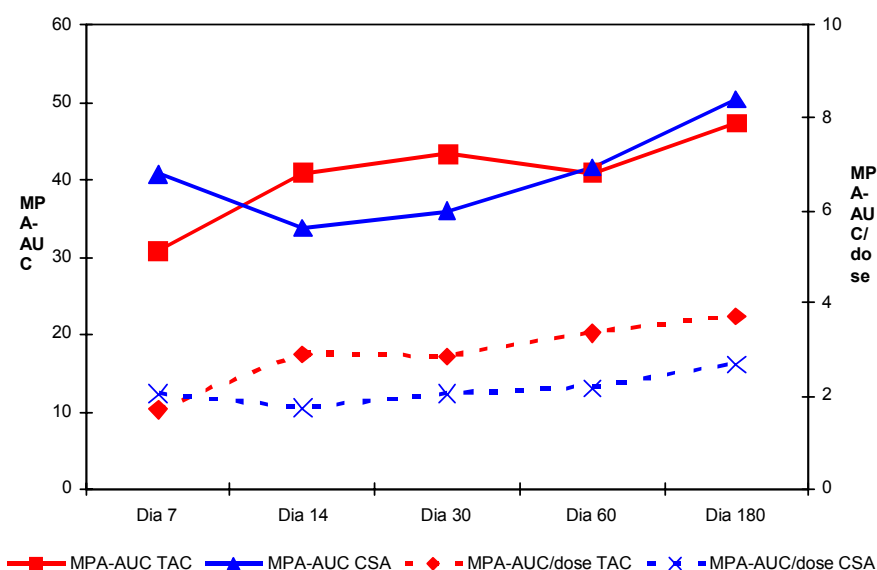
**Figura 22** - Comparação de MPA-AUC<sub>0-12</sub> ajustada pela dose ( $\mu\text{g}\cdot\text{h}\cdot\text{ml}^{-1}/\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ ) entre grupos TAC e CSA nos dias 7, 14, 30, 60 e 180 pós-transplante. \*\*  $p < 0,05$

**Tabela 9** – Comparação das médias de C0, C2, C<sub>max</sub> e AUC de MPA (ajustados pela dose) nos grupos TAC e CSA do dia 7 ao dia 180 pós-transplante

Conc.	Dia 7			Dia 14			Dia 30			Dia 60			Dia 180		
	TAC	CSA	p	TAC	CSA	p	TAC	CSA	p	TAC	CSA	p	TAC	CSA	p
C0	0,13±0,10	0,21±0,27	NS	0,23±0,21	0,14±0,18	NS	0,27±0,32	0,13±0,07	0,06	0,23±0,19	0,13±0,05	0,02	0,24±0,18	0,18±0,10	NS
C2	0,32±0,19	0,36±0,24	NS	0,36±0,16	0,25±0,17	0,03	0,41±0,23	0,3±0,17	NS	0,41±0,24	0,46±0,26	NS	0,57±0,37	0,46±0,26	NS
C <sub>max</sub>	0,53±0,36	0,44±0,26	NS	0,54±0,22	0,42±0,30	NS	0,65±0,31	0,48±0,37	NS	0,68±0,36	0,62±0,31	NS	0,86±0,48	0,77±0,41	NS
AUC	2,28±1,55	2,64±0,20	NS	3,03±1,12	2,01±1,29	0,004	3,44±1,64	2,26±1,03	0,007	3,31±1,50	2,7±0,93	NS	4,11±2,06	3,18±1,27	NS

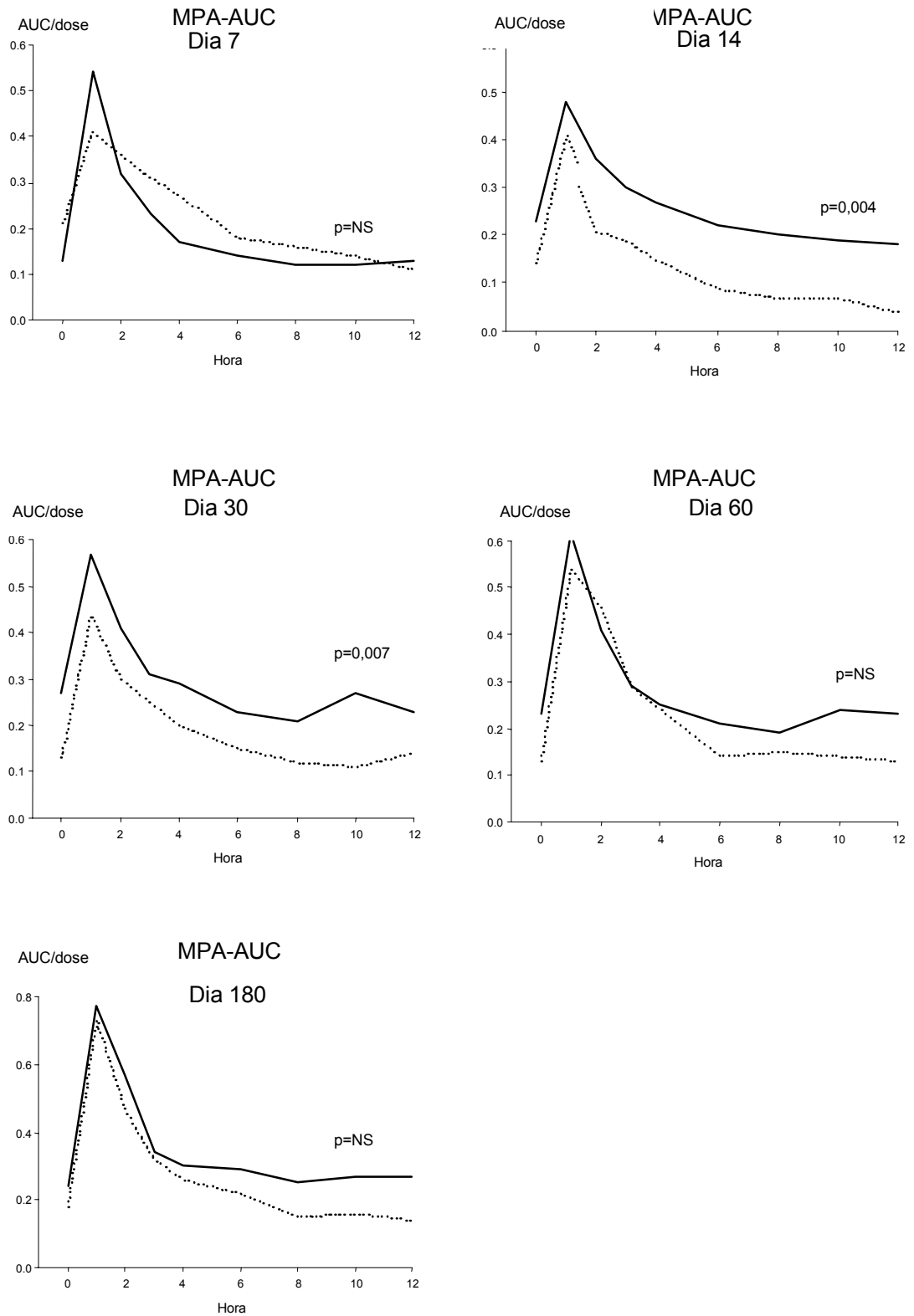
C0: concentração pré-dose; C2: concentração na 2ª hora; C<sub>max</sub>: concentração máxima; AUC: área sob a curva.

Na **Figura 23**, pode-se visualizar a evolução tanto da MPA-AUC<sub>0-12</sub> quanto da MPA-AUC<sub>0-12</sub> normalizada pela dose nos grupos TAC e CSA. A MPA-AUC<sub>0-12</sub> apresentou variações ao longo do tempo. Com relação à MPA-AUC<sub>0-12</sub> corrigida pela dose, a diferença apareceu após o dia 7.



**Figura 23** - Evolução da MPA-AUC<sub>0-12</sub> ( $\mu\text{g.h/mL}$ ) e da MPA-AUC<sub>0-12</sub> ajustada pela dose ( $\mu\text{g.h.mL}^{-1}/\text{mg.kg}^{-1}$ ) nos grupos TAC e CSA ao longo do tempo

Uma análise mais detalhada das MPA-AUC<sub>0-12</sub> ajustadas pela dose nos dois grupos foi feita observando-se as curvas médias em cada momento do estudo (**Figura 24**). Conforme descrito anteriormente, não houve diferença estatística entre os grupos TAC e CSA no dia 7. No dia 14 e no dia 30, a curva foi significativamente maior no grupo TAC ( $p = 0,004$  no dia 14 e  $p = 0,007$  no dia 30). No dia 60 e no dia 180, embora não houvesse diferença estatística entre as curvas, pôde-se notar que a segunda parte da curva (entre 4 e 12 horas) foi mais elevada no grupo TAC do que no grupo CSA.



**Figura 24** - Comparação de MPA-AUC<sub>0-12</sub> ajustada pela dose entre os grupos TAC (linha inteira) e CSA (linha pontilhada) em cada dia de cinética

Tendo em vista a diferença visual das curvas (**Figura 24**) ao longo dos primeiros 180 dias pós-transplante, optou-se por dividi-las em duas partes: entre 0 e 4 h (MPA-AUC<sub>0-4</sub>), que reflete a absorção e distribuição do fármaco, e entre 4 e 12 h (MPA-AUC<sub>4-12</sub>), que reflete a metabolização, recirculação e excreção do MPA. No dia 7, não houve diferença entre os grupos. Nos dias 14 e 30, tanto MPA-AUC<sub>0-4</sub> quanto MPA-AUC<sub>4-12</sub> foram maiores no grupo TAC. Nos dias 30 e 180, a diferença na MPA-AUC<sub>0-4</sub> desapareceu, porém a MPA-AUC<sub>4-12</sub> persistiu mais elevada no grupo TAC (**Tabela 10**).

**Tabela 10** – Comparação de MPA-AUC<sub>0-4</sub> e MPA-AUC<sub>4-12</sub> ajustadas pela dose entre os grupos TAC e CSA em todos os dias de cinética.

Dia da cinética	MPA-AUC <sub>0-4</sub>			MPA-AUC <sub>4-12</sub>		
	Grupo TAC	Grupo CSA	p	Grupo TAC	Grupo CSA	p
7	1,23±0,68	1,30±0,95	NS	1,06±1	1,33±1,09	NS
14	1,39±0,56	1,06±0,72	0,013	1,66±0,74	0,96±0,66	<0,001
30	1,56±0,82	1,15±0,65	0,013	1,91±1	1,11±0,52	<0,001
60	1,57±0,77	1,47±0,64	NS	1,76±0,84	1,22±0,37	0,01
180	1,95±0,18	1,72±0,79	NS	2,17±1,16	1,46±0,65	0,006

Tendo-se em vista a diferença na segunda parte da curva a partir do dia 7, procurou-se então comparar o segundo pico de MPA entre os grupos TAC e CSA.

Por causa do padrão evolutivo da MPA-AUC<sub>0-12</sub> ajustada pela dose nos momentos do estudo, a frequência e a amplitude do segundo pico de MPA foram determinadas em três períodos (**Tabela 11**): imediato (dia 7), precoce (dias 14 e 30) e tardio (dias 60 e 180).

**Tabela 11** – Comparação da amplitude e frequência do segundo pico de MPA (ajustado pela dose) entre os grupos TAC e CSA nos períodos imediato, precoce e tardio pós-transplante.

	Imediato (D7)			Precoce (D14+30)			Tardio (D60+180)		
	TAC	CSA	p	TAC	CSA	p	TAC	CSA	p
Amplitude	0,22±0,2	0,27±0,33	NS	0,32±0,21	0,22±0,18	0,03	0,37±0,21	0,26±0,14	0,02
Frequência (%)	23/33 (70)	13/19 (68)	NS	62/66 (94)	32/38 (84)	NS	58/66 (88)	28/38 (74)	NS

Não houve diferença na frequência do segundo pico de MPA entre os grupos TAC e CSA em nenhum período. A amplitude do segundo pico não foi diferente entre os grupos TAC e CSA no dia 7; no entanto, foi maior no grupo TAC, tanto no período precoce quanto no tardio pós-transplante.

A distribuição do tempo de ocorrência do segundo pico também foi diferente. No grupo TAC, 15% ocorreu nas primeiras 4 horas enquanto essa porcentagem foi de 30% no grupo CSA.

Em resumo, a dose de MMF foi maior no grupo CSA do que no grupo TAC em todos os momentos do estudo. A MPA-AUC<sub>0-12</sub> aumentou ao longo



do tempo mas não foi diferente entre os grupos TAC e CSA ( $p = 0,731$ ). A MPA-AUC<sub>0-12</sub>, quando normalizada pela dose de MMF, foi maior no grupo TAC do que no grupo CSA após o dia 7, principalmente às custas de uma maior amplitude do segundo pico de MPA e maior AUC<sub>4-12</sub>.

#### **4.4 Estratégia para simplificar a monitoração de ácido micofenólico**

Considerando-se as modificações na cinética de MPA apresentadas neste estudo, as principais questões passaram a ser:

1) há necessidade de diferentes estratégias de monitoração de MPA de acordo com o período pós-transplante?

2) há necessidade de diferentes estratégias de monitoração de MPA de acordo com o inibidor de calcineurina empregado?

Os dados do dia 7 pós-transplante foram analisados separadamente tendo-se em vista que não houve diferença na MPA-AUC<sub>0-12</sub> ajustada pela dose entre os grupos TAC e CSA nesse dia, tanto para AUC<sub>0-4</sub>, quanto para AUC<sub>4-12</sub>. Este período foi denominado Imediato.

Após o dia 7, optou-se por agrupar as curvas do dia 14 com as do dia 30 (período Recente) e as curvas do dia 60 com as do dia 180 (período Tardio). Essa divisão foi feita levando-se em consideração o padrão semelhante das curvas nos grupos TAC e CSA nos respectivos períodos.

#### 4.4.1 Pós-transplante imediato

Cinquenta e duas curvas de MPA colhidas no dia 7 estavam disponíveis, provenientes tanto do grupo TAC, quanto do grupo CSA. Dessas 52 curvas, 39 foram randomizadas para a fazer parte da Regressão Linear que teve a AUC como variável dependente e as concentrações sangüíneas isoladas como variáveis independentes. O coeficiente de explicação ( $r^2$ ) foi satisfatória com várias concentrações, porém o erro de concordância foi demasiado elevado (**Tabela 12**).

**Tabela 12** – Coeficiente de explicação da regressão ( $r^2$ ) e erro de concordância das 39 curvas de MPA do dia 7

Concentração	$r^{2*}$	Erro de concordância ( $\mu\text{g.h/mL}$ )
C0	0,752	$\pm 25,5$
C1	0,412	NA
C2	0,857	$\pm 19,3$
C3	0,871	$\pm 18,4$
C4	0,875	$\pm 18$
C6	0,753	$\pm 25,3$
C8	0,785	$\pm 23,7$
C10	0,820	$\pm 22,3$
C12	0,606	NA

\* $p < 0,001$  NA: não se aplica

Foram então testadas várias combinações de duas, três ou quatro concentrações sanguíneas entre 0 a 4 horas, com a exceção de C1, cujo  $r^2$  foi muito baixo. O uso da AUC abreviada empregando-se C0/C2/C3/C4 apresentou  $r^2$  de 0,96, porém existiu multicolinearidade entre duas variáveis, o mesmo acontecendo com as combinações C0/C2/C4, C0/C4, C2/C3 e C3/C4. Restaram as combinações C0/C2 e C2/C4, que apresentaram boa correlação com AUC (**Tabela 13**).

As equações com C0/C2 e com C2/C4 foram usadas para calcular a MPA-AUC<sub>calc</sub> das 13 curvas que não haviam sido empregadas na Regressão Linear. A diferença (mediana e intervalo interquartil) entre a MPA-AUC<sub>calc</sub> e a MPA-AUC<sub>0-12</sub> trapezoidal foi de 0,076 (-6,5 a 4,01) para a combinação C0/C2 e -1,24 (-12,7 a 1,77) para a combinação C2/C4. O intervalo interquartil de C0/ C2 permaneceu dentro da faixa do erro de concordância, o que não ocorreu com C2/C4 (**Tabela 13**).

**Tabela 13** – Descritores estatísticos das combinações C0/C2 e C2/C4 para cálculo da MPA-AUC<sub>0-12</sub> no dia 7 pós-transplante

Combinação de concentrações	$r^2$	p	Equação	Erro de concordância (µg.h/mL)	Diferença AUC <sub>trap</sub> e AUC <sub>calc</sub> *
C0/C2	0,904	<0,001	$1,84+(3,23*C0)+(5,21*C2)$	±7,9	0,076 (-6,5 a 4,01)
C2/C4	0,952	<0,001	$-0,2+(3,94*C2)+(5,07*C4)$	±5,6	-1,24 (-12,7 a 1,77)

\*mediana (intervalo interquartil)

Em resumo, no dia 7 pós-transplante, a equação que empregou C0/C2 para calcular a MPA-AUC<sub>0-12</sub> apresentou  $r^2$  de 0,904 ( $p < 0,001$ ), erro de concordância de  $\pm 7,9$   $\mu\text{g.h/mL}$  e diferença mediana de 0,076 (-6,5 a 4,01)  $\mu\text{g.h/mL}$  com a MPA-AUC<sub>0-12</sub> trapezoidal.

#### 4.4.2 Pós-transplante recente e tardio

Do dia 14 ao dia 180, 208 curvas de MPA estavam disponíveis para análise (132 do grupo TAC e 76 do grupo CSA), das quais 156 (99 TAC/57 CSA) foram randomizadas para a Regressão Linear. C2 foi a concentração que teve o melhor coeficiente de explicação ( $r^2 = 0,719$ ) com a AUC e a equação  $\text{MPA-AUC}_{\text{calc}} = 15,93 + (4,78 * C2)$  apresentou erro de concordância de  $\pm 10,8$   $\mu\text{g.h/mL}$  (**Tabela 14**). O índice de concordância entre a MPA-AUC<sub>0-12</sub> calculada por C2 e a MPA-AUC<sub>0-12</sub> trapezoidal foi 0,911.

**Tabela 14** – Coeficiente de explicação da regressão ( $r^2$ ) e erro de concordância das 156 curvas de MPA dos dias 14 a 180

Concentração	$r^2$ *	Erro de concordância ( $\mu\text{g.h/mL}$ )
C0	0,493	NA
C1	0,467	NA
C2	0,719	$\pm 10,8$
C3	0,595	NA
C4	0,576	NA
C6	0,565	NA
C8	0,581	NA
C10	0,548	NA
C12	0,583	NA

\* $p < 0,001$  NA: não se aplica

Para testar a aplicabilidade da equação para os grupos TAC e CSA, a  $MPA-AUC_{calc}$  foi comparada com 33  $MPA-AUC_{0-12}$  trapezoidais do grupo TAC e 19  $MPA-AUC_{0-12}$  trapezoidais do grupo CSA que não haviam sido empregadas na Regressão Linear. A diferença (mediana e intervalo interquartil) entre a  $MPA-AUC_{0-12}$  trapezoidal e a calculada foi de -4,16 (-6,5 a 4,32)  $\mu\text{g.h/mL}$  para o grupo TAC e -5,21 (-10,8 a -2,9)  $\mu\text{g.h/mL}$  para o grupo CSA. Em ambos os grupos, os intervalos interquartis permaneceram dentro da faixa do erro de concordância de  $\pm 10,8 \mu\text{g.h/mL}$ .

Para checar a aplicabilidade da equação para o período pós-transplante, a  $MPA-AUC_{calc}$  foi comparada com as  $MPA-AUC_{0-12}$  trapezoidais não utilizadas na Regressão Linear, tanto no período precoce (24 curvas) quanto no período tardio (28 curvas). A diferença (mediana e intervalo interquartil) entre a  $MPA-AUC_{0-12}$  trapezoidal e calculada foi de -5,59 (-10 a 1,27)  $\mu\text{g.h/mL}$  para o período precoce e -4,12 (-5,7 a 0,40)  $\mu\text{g.h/mL}$  para o período tardio. Nos dois períodos, os intervalos interquartis permaneceram dentro da faixa do erro de concordância de  $\pm 10,8 \mu\text{g.h/mL}$ .

Um resumo dos melhores indicadores estatísticos da monitoração de MPA na fase imediata, precoce e tardia, obtidos neste estudo, é mostrado na **Tabela 15**.

**Tabela 15** – Resumo dos indicadores estatísticos da monitoração de MPA

Dia da cinética	Indicador	Equação	$r^2$	Erro de concordância ( $\mu\text{g.h/mL}$ )	$d^*$	Diferença $\text{AUC}_{\text{trap}}$ e $\text{AUC}_{\text{calç}}$ ** ( $\mu\text{g.h/mL}$ )
7	C0/ C2	$1,84+(3,23*C0)+(5,21*C2)$	0,904	$\pm 7,9$	0,974	0,076 (-6,5 a 4,01)
14 a 180	C2	$15,93+(4,78*C2)$	0,719	$\pm 10,8$	0,911	TAC: $-4,16_{(-6,5 \text{ a } 4,32)}$ CSA: $-5,21_{(-10,9 \text{ a } -2,9)}$ Precoce: $-5,59_{(-10 \text{ a } 1,27)}$ Tardio: $-4,12_{(-5,7 \text{ a } 0,4)}$

\*Índice de concordância \*\*Mediana (intervalo interquartil)

Tendo-se em vista que uma única equação no período imediato e outra no período recente/tardio satisfizeram os critérios de aplicabilidade clínica, não houve necessidade de se determinar equações diferentes de acordo com o inibidor de calcineurina empregado em associação com MMF.

## 5. DISCUSSÃO

---

Este estudo reporta:

- 1) a dinâmica da farmacocinética de MPA e dos inibidores de calcineurina nos primeiros seis meses de transplante renal;
- 2) o efeito da co-administração de inibidores de calcineurina no metabolismo de MPA;
- 3) a porcentagem de pacientes que atingem o nível terapêutico de MPA quando doses fixas de MMF são administradas;
- 4) uma estratégia fidedigna para monitoração do MPA.

Existem evidências de que determinados níveis sanguíneos de imunossuppressores, já na primeira semana após o transplante renal, estão associados com melhor evolução do enxerto<sup>62</sup>. Kuypers *et al* mostraram que uma AUC de tacrolimo de 150 ng.h/mL simultaneamente com uma AUC de ácido micofenólico de 45 µg.h/mL, no sétimo dia pós-transplante, está associada a uma baixa incidência de rejeição aguda<sup>34</sup>. Desde que Weber *et al*<sup>48</sup> propuseram um intervalo para AUC de ácido micofenólico de 36 a 60 µg.h/mL (EMIT) na fase precoce após transplante, temos utilizado esses valores como pilares para adequação de exposição ao MPA. Como a taxa de albumina sérica dos pacientes deste estudo é normal, o uso do



imunoensaio (EMIT) para dosagem de MPA reflete a fração livre de MPA no plasma <sup>63</sup> e é uma alternativa mais prática ao uso da cromatografia líquida (HPLC) <sup>58</sup>. Tanto a função renal quanto a concentração de hemoglobina da população do estudo foi a habitual para os períodos pós-transplante.

Em nosso estudo, a AUC média de tacrolimo ficou muito próxima ou acima de 150 ng.h/mL em todos os tempos de coleta, tanto no Grupo 1 (TAC baixo) quanto no grupo 2 (TAC habitual). No Grupo 3 (ciclosporina), C2 ficou dentro da faixa preconizada *a priori* no desenho do Projeto Temático para cada período do estudo, e esses dados conferem excelência ao trabalho, pois parecem refletir o que ocorre na prática diária com a monitoração freqüente dessas duas drogas. No entanto, em relação ao ácido micofenólico, cerca de 80% dos valores de AUC estiveram abaixo do limite de 36 µg.h/mL no dia 7 quando a dose de 1500 mg/dia de MMF foi empregada; apenas 12% dos valores estiveram no intervalo terapêutico naquele momento. No dia 180, ainda 35% das curvas estavam abaixo de 36 µg.h/mL. Quando se empregou a dose de 2000 mg/dia de MMF, menos de 15% das curvas estavam abaixo do limite inferior no dia 180, tanto no grupo TAC quanto CSA. Esses achados nos fazem demonstrar que a proposta de empregar doses menores de MMF quando tacrolimo é usado <sup>51, 64</sup> deve ser revista. A baixa correlação entre dose de MMF e nível de ácido micofenólico é conhecida e ficou comprovada em nosso estudo. Portanto, propomos que uma dose de 2000 mg/dia de MMF, acompanhada de monitoração dos níveis de MPA, seja usada nos primeiros seis meses após o transplante renal, quando combinado tanto com tacrolimo quanto com ciclosporina.

Há trabalhos, no entanto, que apontam para a necessidade de se dobrar a dose de MMF quando a ciclosporina é co-administrada em vez do tacrolimo. Isto tem sido atribuído tanto a inibição do ciclo entero-hepático pela ciclosporina (diminuindo a segunda parte da curva, isto é, diminuindo a metabolização/excreção) quanto a inibição da glucoronidação do MPA ao MPA glucoronídeo (MPAG) pelo tacrolimo (aumentando a segunda parte da curva) <sup>65</sup>. Alguns estudos clínicos de farmacocinética mostraram que a ciclosporina, mas não o sirolimo, reduz a exposição ao MPA através da inibição da circulação entero-hepática <sup>66, 67</sup> e que a exposição ao MPA é menor quando micofenolato sódico é usado com ciclosporina em comparação com tacrolimo <sup>68</sup>.

Nosso estudo mostrou que a exposição ao MPA ajustada pela dose aumenta progressivamente após o transplante. Isso reflete o aumento tempo-dependente da biodisponibilidade da droga.

No grupo TAC, o aumento na exposição ao MPA foi mais precoce e maior do que no grupo CSA. Entre os dois grupos, a diferença variou de acordo com o dia da cinética. A MPA-AUC<sub>0-12</sub> não foi diferente no dia 7. Nos dias 14 e 30, tanto a fase de absorção/distribuição (AUC<sub>0-4</sub>) quanto a metabolização/eliminação (AUC<sub>4-12</sub>) foram maiores no grupo TAC. Nos dias 60 e 180, a AUC<sub>0-4</sub> no grupo CSA se igualou à do grupo TAC e a diferença nessa parte da curva desapareceu. Permaneceu, entretanto, a diferença na AUC<sub>4-12</sub> entre os dois grupos. Esses achados devem refletir tanto a diminuição na metabolização de MPA a MPAG pelo tacrolimo quanto a diminuição da excreção biliar de MPAG pela ciclosporina.

Em um elegante estudo em ratos, Hesselink *et al*<sup>8</sup> demonstraram que a inibição da proteína 2 associada a resistência a múltiplas drogas (MRP2, *multidrug resistance-associated protein 2*) pela ciclosporina impede a excreção biliar do MPAG e, portanto, a circulação entero-hepática, levando a ausência de segundo pico de concentração sanguínea de MPA. Em nosso estudo, a frequência de aparecimento do segundo pico foi semelhante sob TAC e CSA. A principal diferença foi quanto à amplitude do segundo pico, que foi maior no grupo TAC que no grupo CSA. Possivelmente, a explicação para isso está na definição que adotamos para segundo pico, que deve ter alta sensibilidade, pois, recentemente, Cattaneo *et al.* definiram segundo pico como sendo a  $MPA-AUC_{4-12}$ <sup>66</sup>. Essa sugestão, no entanto, parece confundir a fase de metabolização de MPA para MPAG com o ciclo entero-hepático de MPA, o que impossibilitaria a explicação da interferência do tacrolimo sobre o metabolismo do MPA. Contudo, tanto o trabalho de Cattaneo quanto o nosso concluem que a exposição ao MPA é maior sob TAC pelo aumento da segunda parte da curva ( $MPA-AUC_{4-12}$ ).

A necessidade de doses maiores de MMF no pós-transplante imediato, o aumento progressivo da exposição ao MPA ao longo do tempo, a diferença na evolução da farmacocinética de MPA de acordo com o inibidor de calcineurina e a demora para se atingir a faixa terapêutica tornam a monitoração de MPA importante.

A monitoração de drogas é uma ferramenta para identificar fatores ambientais e não-genéticos que podem influenciar a exposição às mesmas durante o curso de um tratamento. Uma abordagem farmacocinética permite

a individualização da exposição à droga e pode reduzir disparidades étnicas na evolução de um enxerto renal. Ao contrário do que ocorre com o tacrolimo<sup>69</sup>, a exposição ao ácido micofenólico não parece ser influenciada por diferenças de cor da população<sup>70</sup>, dados também encontrados neste estudo quando se comparou a população branca com a não-branca (dados não mostrados). Quanto à ciclosporina, existem evidências do impacto da miscigenação sobre a sua exposição<sup>71</sup>, porém em nosso estudo isso não se confirmou, possivelmente pelo número reduzido de não-brancos do grupo CSA (dados não mostrados).

Uma estratégia de monitoração que seja ao mesmo tempo de fácil execução e confiável é o ideal, uma vez que se tornaria prática para o paciente e econômica para a instituição. A variabilidade inter-paciente dos níveis sanguíneos de MPA poderia ser uma desvantagem para a simplificação da monitoração, mas um estudo recente publicado por van Hest *et al*<sup>72</sup> mostrou que nos primeiros cinco meses pós-transplante a variabilidade inter-paciente é relativamente baixa, principalmente para AUC. Anteriormente, nós também demonstramos que, após a estabilização, a determinação freqüente da exposição ao MPA pode não ser necessária se a dose de MMF permanecer inalterada<sup>73, 74</sup>.

Com o crescente número de protocolos de minimização ou eliminação de inibidores de calcineurina e esteróides, o interesse na monitoração de MPA tem aumentado para assegurar um adequado grau de imunossupressão. Propostas de monitoração na literatura incluem desde o uso de AUC completa<sup>75</sup> ou abreviada<sup>49, 76-78</sup> até o uso de níveis basais (C0)<sup>79</sup> ou

concentração sangüínea na segunda hora (C2)<sup>80</sup> em receptores de rim, fígado ou coração. A maior parte desses estudos foi realizada em condições específicas, tais como população pediátrica, uso concomitante de tacrolimo ou ciclosporina (sem comparar os dois grupos), população de pacientes na fase estável (com mais de um ano) do transplante, correlação de níveis sangüíneos com desfechos clínicos. Poucos estudos foram desenhados com o propósito de comparar estratégias de monitoração de MPA entre pacientes sob tacrolimo ou ciclosporina na fase precoce do transplante renal.

Na Unidade de Transplante Renal do Hospital das Clínicas da FMUSP, estudos prévios com ciclosporina tornaram familiar a sua monitoração através de uma única concentração, C2, tanto em adultos<sup>11, 13</sup> quanto em crianças<sup>81</sup>. O uso de C2 é mais prático (para pacientes e profissionais) e econômico do que o uso da AUC abreviada e, em trabalho anterior, propusemos o uso de C2 para unificar a monitoração de tacrolimo, ciclosporina e MPA<sup>82</sup>.

Em vez de correlacionar um determinado nível sangüíneo com a evolução clínica, nosso estudo faz uma avaliação farmacocinética pura. Regressões foram feitas entre MPA-AUC<sub>0-12</sub> e concentrações sangüíneas isoladas com o objetivo de se identificar qual concentração teria o melhor coeficiente de explicação da regressão.

Além do uso da Regressão Linear, determinamos o erro de concordância pelo método de Bland&Altman<sup>60</sup> e introduzimos aqui um modelo matemático descrito em 1981 por Willmott *et al*<sup>61</sup>, até o presente pouco empregado em trabalhos da área da saúde, que consiste na

determinação do Índice de Concordância entre um modelo padrão e um teste, que neste estudo são a AUC trapezoidal e a AUC calculada, respectivamente. Quanto mais próximo de 1, mais livre de erro estará a AUC calculada. O uso dessas ferramentas permitiu averiguar a precisão das equações obtidas nas regressões.

No período pós-transplante imediato (dia 7), a despeito de correlação excelente com várias concentrações isoladas, o erro de concordância foi muito elevado (18,4-25,5  $\mu\text{g.h/mL}$ ), comprometendo a precisão da AUC calculada. Por esse motivo, testamos todas as combinações de duas, três ou quatro concentrações entre 0 e 4 horas e verificamos que a combinação C0/C2 permitiu calcular a AUC com elevada precisão e baixo erro de concordância, ou seja, se a MPA-AUC calculada atingir o valor de 44  $\mu\text{g.h/mL}$ , a verdadeira AUC estará no intervalo 36 – 52  $\mu\text{g.h/mL}$ , que é a faixa terapêutica de MPA-AUC<sub>0-12</sub> preconizada até o presente. Nos primeiros sete dias pós-transplante, o paciente quase sempre se encontra hospitalizado, o que torna estas coletas de fácil realização.

Do dia 14 ao dia 180, C2 apresentou a melhor correlação com a AUC, sendo o único indicador com  $r^2 > 0,700$ . A equação que emprega C2 teve elevada precisão e um baixo erro de concordância, o que significa que se obtivermos uma AUC calculada de 50  $\mu\text{g.h/mL}$ , a verdadeira AUC estará entre 40 e 60  $\mu\text{g.h/mL}$ . A equação foi testada e mostrou-se válida para quaisquer dos inibidores de calcineurina e dos períodos pós-transplante, o que simplifica sobremaneira a monitoração de MPA. Uma única equação pode ser empregada em qualquer circunstância após a primeira semana de transplante.

A simplicidade da coleta 2 horas após a ingestão da medicação permite a monitoração simultânea das demais drogas (TAC e CSA), o que torna esse achado ainda mais interessante por sua logística facilmente aplicável.

Até o presente momento, não é de nosso conhecimento nenhum outro trabalho que tenha empregado uma metodologia estatística semelhante à que utilizamos neste estudo para determinar uma estratégia de monitoração de imunossupressores. Mesmo trabalhos bastante recentes empregaram apenas regressões na análise<sup>66</sup>.

Para a validação das duas equações (obtidas para o dia 7 e para os dias 14 -180, respectivamente), utilizamos as respectivas para calcular a  $MPA-AUC_{calc}$  de curvas que não haviam sido utilizadas para o desenvolvimento das equações. Os resultados comprovaram uma precisão bastante aceitável, tanto para o grupo, quanto para o período pós-transplante.

Ao contrário do que inicialmente imaginamos, não houve necessidade de se determinar uma equação diferente para o grupo TAC ou CSA, apenas para o período pós-transplante. Uma possível explicação é de que, embora a  $AUC_{4-12}$  seja maior quando se usa TAC, tanto no grupo TAC, quanto no grupo CSA, a  $AUC_{4-12}$  corresponda em média a 50% da  $AUC_{0-12}$  (dados não mostrados).

Desse modo, consideramos que os objetivos deste estudo foram atingidos e que conseguimos determinar uma estratégia de monitoração de MPA prática e fidedigna, passível de ser adotada na prática clínica e com perspectiva de possibilitar ainda melhores resultados em transplante renal.

## 6. CONCLUSÕES

---



1. O perfil farmacocinético do ácido micofenólico modificou-se ao longo dos primeiros seis meses após transplante renal e foi diferente de acordo com o inibidor de calcineurina empregado concomitantemente, isto é, tacrolimo ou ciclosporina.
2. Quando a dose de 1500 mg/dia micofenolato mofetil foi empregada, uma grande porcentagem de pacientes ficou sub-exposta ao ácido micofenólico nos primeiros seis meses após o transplante renal.
3. No dia 7 pós-transplante, os perfis farmacocinéticos de ácido micofenólico foram semelhantes no grupo tacrolimo e ciclosporina e a equação que emprega a concentração pré-dose ( $C_0$ ) e a concentração na segunda hora ( $C_2$ ) apresentou elevada precisão para se obter a área sob a curva calculada de ácido micofenólico.
4. Do dia 14 ao dia 180 pós-transplante, a equação que emprega  $C_2$  apresentou elevada precisão para se determinar a área sob a curva calculada de ácido micofenólico.
5. Não houve necessidade de equações diferentes para monitorar o ácido micofenólico de acordo com o inibidor de calcineurina empregado em associação com micofenolato mofetil.

## 7. REFERÊNCIAS

---

1. Danovitch G. *Handbook of Kidney Transplantation*. 4th. Philadelphia: Lippincott, Williams & Wilkins; 2005.
2. Kovarik JM, Mueller EA, Richard F, Niese D, Halloran PF, Jeffery J, Paul LC and Keown PA. Evidence for earlier stabilization of cyclosporine pharmacokinetics in de novo renal transplant patients receiving a microemulsion formulation. *Transplantation*. 1996; 62:759-63.
3. Vincenti F, Jensik SC, Filo RS, Miller J and Pirsch J. A long-term comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine in kidney transplantation: evidence for improved allograft survival at five years. *Transplantation*. 2002; 73:775-82.
4. Kramer BK, Montagnino G, Del Castillo D, Margreiter R, Sperschneider H, Olbricht CJ, Kruger B, Ortuno J, Kohler H, Kunzendorf U, Stummvoll HK, Taberero JM, Muhlbacher F, Rivero M and Arias M. Efficacy and safety of tacrolimus compared with cyclosporin A microemulsion in renal transplantation: 2 year follow-up results. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20:968-73.
5. Cai J, Terasaki PI, Bloom DD, Torrealba JR, Friedl A, Sollinger HW and Knechtle SJ. Correlation between human leukocyte antigen antibody production and serum creatinine in patients receiving sirolimus monotherapy after Campath-1H induction. *Transplantation*. 2004; 78:919-24.
6. Vincenti F, Ramos E, Brattstrom C, Cho S, Ekberg H, Grinyo J, Johnson R, Kuypers D, Stuart F, Khanna A, Navarro M and Nashan B. Multicenter trial exploring calcineurin inhibitors avoidance in renal transplantation. *Transplantation*. 2001; 71:1282-7.
7. Grinyo JM and Cruzado JM. Steroid or calcineurin inhibitor-sparing immunosuppressive protocols. *Contrib Nephrol*. 2005; 146:30-42.
8. Hesselink DA, van Hest RM, Mathot RA, Bonthuis F, Weimar W, de Bruin RW and van Gelder T. Cyclosporine interacts with mycophenolic acid by inhibiting the multidrug resistance-associated protein 2. *Am J Transplant*. 2005; 5:987-94.

9. Mahalati K, Belitsky P, Sketris I, West K and Panek R. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. *Transplantation*. 1999; 68:55-62.
10. Mahalati K, Belitsky P, West K, Kiberd B, Fraser A, Sketris I, Macdonald AS, McAlister V and Lawen J. Approaching the therapeutic window for cyclosporine in kidney transplantation: a prospective study. *J Am Soc Nephrol*. 2001; 12:828-33.
11. David-Neto E, Araujo LM, Brito ZM, Alves CF, Lemos FC, Yagyu EM, Nahas WC and Ianhez LE. Sampling strategy to calculate the cyclosporin-A area under the time-concentration curve. *Am J Transplant*. 2002; 2:546-50.
12. Randomized, international study of cyclosporine microemulsion absorption profiling in renal transplantation with basiliximab immunoprophylaxis. *Am J Transplant*. 2002; 2:157-66.
13. Britto ZM, David-Neto E, Lemos FC, Pereira LM, Castro MC, Fonseca JA, Alves CF, Nahas WC, Ianhez LE and David-Neto E. Identifying cyclosporine blood levels associated with the prevention of renal transplant rejection: a single-center, randomized prospective study. *Transplant Proc*. 2004; 36:2649-55.
14. Absorption profiling of cyclosporine microemulsion (neoral) during the first 2 weeks after renal transplantation. *Transplantation*. 2001; 72:1024-32.
15. Stefoni S, Midtved K, Cole E, Thervet E, Cockfield S, Buchler M, Toselli L, Pallardo LM, Schena FP, Pilmore H, Kessler M, Chadban S and Carreno CA. Efficacy and safety outcomes among de novo renal transplant recipients managed by C2 monitoring of cyclosporine a microemulsion: results of a 12-month, randomized, multicenter study. *Transplantation*. 2005; 79:577-83.
16. Thervet E, Pfeffer P, Scolari MP, Toselli L, Pallardo LM, Chadban S, Pilmore H, Connolly J, Buchler M, Schena FP, Carreno CA, Dandavino R and Cole E. Clinical outcomes during the first three months posttransplant in renal allograft recipients managed by C2 monitoring of cyclosporine microemulsion. *Transplantation*. 2003; 76:903-8.
17. Ferrareso M, Citterio F, Ghio L, Romagnoli J, Edefonti A, Berardinelli L and Castagneto M. C2 is an age-independent parameter for optimal cyclosporine exposure in long-term kidney transplant recipients. *Transplant Proc*. 2004; 36:2656-8.

18. Trompeter R, Fitzpatrick M, Hutchinson C and Johnston A. Longitudinal evaluation of the pharmacokinetics of cyclosporin microemulsion (Neoral) in pediatric renal transplant recipients and assessment of C2 level as a marker for absorption. *Pediatr Transplant*. 2003; 7:282-8.
19. Hardinger KL, Schnitzler MA, Koch MJ, Enkvetchakul D, Desai N, Jendrisak M, Lowell JA, Miller B, Shenoy S and Brennan DC. Cyclosporine minimization and cost reduction in renal transplant recipients receiving a C2-monitored, cyclosporine-based quadruple immunosuppressive regimen. *Transplantation*. 2004; 78:1198-203.
20. Halloran PF, Helms LM, Kung L and Noujaim J. The temporal profile of calcineurin inhibition by cyclosporine in vivo. *Transplantation*. 1999; 68:1356-61.
21. Pescovitz MD and Barbeito R. Two-hour post-dose cyclosporine level is a better predictor than trough level of acute rejection of renal allografts. *Clin Transplant*. 2002; 16:378-82.
22. Keown P, Kahan BD, Johnston A, Levy G, Dunn SP, Cittero F, Grino JM, Hoyer PF, Wolf P and Halloran PF. Optimization of cyclosporine therapy with new therapeutic drug monitoring strategies: report from the International Neoral TDM Advisory Consensus Meeting (Vancouver, November 1997). *Transplant Proc*. 1998; 30:1645-9.
23. Jorga A, Holt DW, Yaqoob M, Whittaker C and Johnston A. A survey to determine the blood concentration of cyclosporine 2 hours postdose in stable renal transplant patients. *Transplant Proc*. 2004; 36:3239-41.
24. Buchler M and Johnston A. Seeking optimal prescription of cyclosporine ME. *Ther Drug Monit*. 2005; 27:3-6.
25. Filler G, Feber J, Lepage N, Weiler G and Mai I. Universal approach to pharmacokinetic monitoring of immunosuppressive agents in children. *Pediatr Transplant*. 2002; 6:411-8.
26. Birsan T, Loinig C, Bodingbauer M, Wekerle T, Rockenschaub S, Berlakovich G, Soliman T, Muhlbacher F and Steininger R. Comparison between C0 and C2 monitoring in de novo renal transplant recipients: retrospective analysis of a single-center experience. *Transplantation*. 2004; 78:1787-91.
27. Midtvedt K. Is C0 better than C2 as a determinant of rejection in renal transplant recipients? *Kidney Int*. 2004; 66:869.
28. Perico N, Ruggenenti P, Gotti E, Gaspari F, Cattaneo D, Valente U, Salvadori M, Segoloni G, Donati D, Sandrini S, Ganeva M, Dimitrov BD and Remuzzi G. In renal transplantation blood cyclosporine levels

- soon after surgery act as a major determinant of rejection: insights from the MY.S.S. trial. *Kidney Int.* 2004; 65:1084-90.
29. Clase CM, Mahalati K, Kiberd BA, Lawen JG, West KA, Fraser AD and Belitsky P. Adequate early cyclosporin exposure is critical to prevent renal allograft rejection: patients monitored by absorption profiling. *Am J Transplant.* 2002; 2:789-95.
30. Levy GA. C2 monitoring strategy for optimising cyclosporin immunosuppression from the Neoral formulation. *BioDrugs.* 2001; 15:279-90.
31. Praditpornsilpa K, Avihingsanon Y, Nivatvong S, Kansanabuch T, Eiam-Ong S, Tiranathanagul K, Chusil S and Tungsanga K. Outcome of microemulsion cyclosporine C concentration monitoring in kidney transplantation. *Clin Transplant.* 2005; 19:335-9.
32. Jorgensen K, Povlsen J, Madsen S, Madsen M, Hansen H, Pedersen A, Heinsvig EM and Poulsen J. C2 (2-h) levels are not superior to trough levels as estimates of the area under the curve in tacrolimus-treated renal-transplant patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17:1487-90.
33. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, Maes B, Coosemans W, Pirenne J and Vanrenterghem Y. Time-related clinical determinants of long-term tacrolimus pharmacokinetics in combination therapy with mycophenolic acid and corticosteroids: a prospective study in one hundred de novo renal transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2004; 43:741-62.
34. Kuypers DR, Claes K, Evenepoel P, Maes B and Vanrenterghem Y. Clinical efficacy and toxicity profile of tacrolimus and mycophenolic acid in relation to combined long-term pharmacokinetics in de novo renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther.* 2004; 75:434-47.
35. Felipe CR, Silva HT, Machado PG, Garcia R, da Silva Moreira SR and Pestana JO. The impact of ethnic miscegenation on tacrolimus clinical pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring. *Clin Transplant.* 2002; 16:262-72.
36. Zhao Y, Song M, Guan D, Bi S, Meng J, Li Q and Wang W. Genetic polymorphisms of CYP3A5 genes and concentration of the cyclosporine and tacrolimus. *Transplant Proc.* 2005; 37:178-81.
37. Roy JN, Lajoie J, Zijenah LS, Barama A, Poirier C, Ward BJ and Roger M. CYP3A5 genetic polymorphisms in different ethnic populations. *Drug Metab Dispos.* 2005;

38. Macphee IA, Fredericks S, Mohamed M, Moreton M, Carter ND, Johnston A, Goldberg L and Holt DW. Tacrolimus pharmacogenetics: the CYP3A5\*1 allele predicts low dose-normalized tacrolimus blood concentrations in whites and South Asians. *Transplantation*. 2005; 79:499-502.
39. Mele TS and Halloran PF. The use of mycophenolate mofetil in transplant recipients. *Immunopharmacology*. 2000; 47:215-45.
40. Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combined with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. *Lancet*. 1995; 345:1321-5.
41. A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. *Transplantation*. 1996; 61:1029-37.
42. *Current and Future Immunosuppressive Therapies Following Transplantation*. 1st. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 2001.
43. Bullingham RE, Nicholls A and Hale M. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil (RS61443): a short review. *Transplant Proc*. 1996; 28:925-9.
44. Hale MD, Nicholls AJ, Bullingham RE, Hene R, Hoitsma A, Squifflet JP, Weimar W, Vanrenterghem Y, Van de Woude FJ and Verpooten GA. The pharmacokinetic-pharmacodynamic relationship for mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther*. 1998; 64:672-83.
45. Zucker K, Rosen A, Tsaroucha A, de Faria L, Roth D, Ciancio G, Esquenazi V, Burke G, Tzakis A and Miller J. Unexpected augmentation of mycophenolic acid pharmacokinetics in renal transplant patients receiving tacrolimus and mycophenolate mofetil in combination therapy, and analogous in vitro findings. *Transpl Immunol*. 1997; 5:225-32.
46. Smak Gregoor PJ, van Gelder T, Hesse CJ, van der Mast BJ, van Besouw NM and Weimar W. Mycophenolic acid plasma concentrations in kidney allograft recipients with or without cyclosporin: a cross-sectional study. *Nephrol Dial Transplant*. 1999; 14:706-8.

47. van Gelder T, Klupp J, Barten MJ, Christians U and Morris RE. Comparison of the effects of tacrolimus and cyclosporine on the pharmacokinetics of mycophenolic acid. *Ther Drug Monit.* 2001; 23:119-28.
48. Weber LT, Shipkova M, Armstrong VW, Wagner N, Schutz E, Mehls O, Zimmerhackl LB, Oellerich M and Tonshoff 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; 13:759-68.
49. Filler G. Abbreviated mycophenolic acid AUC from C0, C1, C2, and C4 is preferable in children after renal transplantation on mycophenolate mofetil and tacrolimus therapy. *Transpl Int.* 2004; 17:120-5.
50. van Hest R, Mathot R, Vulto A, Weimar W and van Gelder T. Predicting the Usefulness of Therapeutic Drug Monitoring of Mycophenolic Acid: A Computer Simulation. *Ther Drug Monit.* 2005; 27:163-7.
51. Filler G, Zimmering M and Mai I. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression. *Pediatr Nephrol.* 2000; 14:100-4.
52. van Gelder T. Mycophenolate mofetil: how to further improve using an already successful drug? *Am J Transplant.* 2005; 5:199-200.
53. Shaw LM, Holt DW, Keown P, Venkataramanan R and Yatscoff RW. Current opinions on therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. *Clin Ther.* 1999; 21:1632-52; discussion 1.
54. David-Neto E PL, Castro MCR de, Ventura CG, de Mattos RM, Sumita NM *et al.* Interim analysis of the MoDIFY study in renal transplantation (Modification of Doses to Improve function through the Years). *Transplantation.* 2004; 78:278.
55. Dirks NL, Huth B, Yates CR and Meibohm B. Pharmacokinetics of immunosuppressants: a perspective on ethnic differences. *Int J Clin Pharmacol Ther.* 2004; 42:701-18.
56. Chocair PR, Duley JA, Sabbaga E, Arap S, Simmonds HA and Cameron JS. Fast and slow methylators: do racial differences influence risk of allograft rejection? *Q J Med.* 1993; 86:359-63.
57. Hosotsubo H, Takahara S, Imamura R, Kyakuno M, Tanaka T, Yazawa K, Hanafusa T, Matsumiya K, Nonomura N, Okuyama A and Sugimoto H. Analytic validation of the enzyme multiplied



- immunoassay technique for the determination of mycophenolic acid in plasma from renal transplant recipients compared with a high-performance liquid chromatographic assay. *Ther Drug Monit.* 2001; 23:669-74.
58. Weber LT, Shipkova M, Armstrong VW, Wagner N, Schutz E, Mehls O, Zimmerhackl LB, Oellerich M and Tonshoff B. Comparison of the Emit immunoassay with HPLC for therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in pediatric renal-transplant recipients on mycophenolate mofetil therapy. *Clin Chem.* 2002; 48:517-25.
59. Dalere GM, Lum BL, Cooney GF and Wong-Chin M. Comparison of three methods for cyclosporine area under the curve monitoring calculations. *Ther Drug Monit.* 1995; 17:305-7.
60. Bland JM and Altman DG. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *Lancet.* 1986; 1:307-10.
61. Willmott C. On the validation of models. *Phys Geogr.* 1981; 2:184 - 94.
62. Kiberd BA, Lawen J, Fraser AD, Keough-Ryan T and Belitsky P. Early adequate mycophenolic acid exposure is associated with less rejection in kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2004; 4:1079-83.
63. Atcheson BA, Taylor PJ, Kirkpatrick CM, Duffull SB, Mudge DW, Pillans PI, Johnson DW and Tett SE. Free mycophenolic acid should be monitored in renal transplant recipients with hypoalbuminemia. *Ther Drug Monit.* 2004; 26:284-6.
64. Squifflet JP, Backman L, Claesson K, Dietl KH, Ekberg H, Forsythe JL, Kundendorf U, Heemann U, Land W, Morales JM, Muhlbacher F, Talbot D, Taube D, Tyden G, van Hooff J, Schleichner S and Vanrenterghem Y. Dose optimization of mycophenolate mofetil when administered with a low dose of tacrolimus in cadaveric renal transplant recipients. *Transplantation.* 2001; 72:63-9.
65. Cremers S, Schoemaker R, Scholten E, den Hartigh J, Konig-Quartel J, van Kan E, Paul L and de Fijter J. Characterizing the role of enterohepatic recycling in the interactions between mycophenolate mofetil and calcineurin inhibitors in renal transplant patients by pharmacokinetic modelling. *Br J Clin Pharmacol.* 2005; 60:249-56.
66. Cattaneo D, Merlini S, Zenoni S, Baldelli S, Gotti E, Remuzzi G and Perico N. Influence of co-medication with sirolimus or cyclosporine on mycophenolic acid pharmacokinetics in kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2005; 5:2937-44.

67. El Haggan W, Ficheux M, Debruyne D, Rognant N, Lobbedez T, Allard C, Coquerel A, Ryckelynck JP and Hurault de Ligny B. Pharmacokinetics of mycophenolic acid in kidney transplant patients receiving sirolimus versus cyclosporine. *Transplant Proc.* 2005; 37:864-6.
68. Kaplan B, Meier-Kriesche HU, Minnick P, Bastien MC, Sechaud R, Yeh CM, Balez S, Picard F and Schmourer R. Randomized calcineurin inhibitor cross over study to measure the pharmacokinetics of co-administered enteric-coated mycophenolate sodium. *Clin Transplant.* 2005; 19:551-8.
69. Tedesco-Silva H, Bastien MC, Choi L, Felipe C, Campestrini J, Picard F and Schmourer R. Mycophenolic acid metabolite profile in renal transplant patients receiving enteric-coated mycophenolate sodium or mycophenolate mofetil. *Transplant Proc.* 2005; 37:852-5.
70. Pescovitz MD, Guasch A, Gaston R, Rajagopalan P, Tomlanovich S, Weinstein S, Bumgardner GL, Melton L, Ducray PS, Banken L, Hall J and Boutouyrie BX. Equivalent pharmacokinetics of mycophenolate mofetil in African-American and Caucasian male and female stable renal allograft recipients. *Am J Transplant.* 2003; 3:1581-6.
71. Min DI, Ellingrod VL, Marsh S and McLeod H. CYP3A5 polymorphism and the ethnic differences in cyclosporine pharmacokinetics in healthy subjects. *Ther Drug Monit.* 2004; 26:524-8.
72. van Hest RM, Mathot RA, Vulto AG, Ijzermans JN and Gelder TV. Within-Patient Variability of Mycophenolic Acid Exposure: Therapeutic Drug Monitoring From a Clinical Point of View. *Ther Drug Monit.* 2006; 28:31-4.
73. David-Neto E, Pereira LM, Kakehashi E, Sumita NM, Mendes ME, Castro MC, Romano P, Mattos RM, Batista VR, Nahas WC and Ianhez LE. The need of mycophenolic acid monitoring in long-term renal transplants. *Clin Transplant.* 2005; 19:19-25.
74. David-Neto E, Pereira Araujo LM, Sumita NM, Mendes ME, Ribeiro Castro MC, Alves CF, Kakehashi E, Romano P, Yagyu EM, Queiroga M, Nahas WC and Ianhez LE. Mycophenolic acid pharmacokinetics in stable pediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol.* 2003; 18:266-72.
75. Kuypers DR, Vanrenterghem Y, Squifflet JP, Mourad M, Abramowicz D, Oellerich M, Armstrong V, Shipkova M and Daems J. Twelve-month evaluation of the clinical pharmacokinetics of total and free mycophenolic acid and its glucuronide metabolites in renal allograft recipients on low dose tacrolimus in combination with mycophenolate mofetil. *Ther Drug Monit.* 2003; 25:609-22.

- 
76. Le Guellec C, Bourgoïn H, Buchler M, Le Meur Y, Lebranchu Y, Marquet P and Paintaud G. Population pharmacokinetics and Bayesian estimation of mycophenolic acid concentrations in stable renal transplant patients. *Clin Pharmacokinet.* 2004; 43:253-66.
77. Mardigyan V, Tchervenkov J, Metrakos P, Barkun J, Deschenes M and Cantarovich M. Best single time points as surrogates to the tacrolimus and mycophenolic acid area under the curve in adult liver transplant patients beyond 12 months of transplantation. *Clin Ther.* 2005; 27:463-9.
78. van Hest RM, Mathot RA, Vulto AG, Le Meur Y and van Gelder T. Mycophenolic acid in diabetic renal transplant recipients: pharmacokinetics and application of a limited sampling strategy. *Ther Drug Monit.* 2004; 26:620-5.
79. Tredger JM, Brown NW, Adams J, Gonde CE, Dhawan A, Rela M and Heaton N. Monitoring mycophenolate in liver transplant recipients: toward a therapeutic range. *Liver Transpl.* 2004; 10:492-502.
80. Mardigyan V, Giannetti N, Cecere R, Besner JG and Cantarovich M. Best single time points to predict the area-under-the-curve in long-term heart transplant patients taking mycophenolate mofetil in combination with cyclosporine or tacrolimus. *J Heart Lung Transplant.* 2005; 24:1614-8.
81. David-Neto E, Araujo LP, Feres Alves C, Sumita N, Romano P, Yagyu EM, Nahas WC and Ianhez LE. A strategy to calculate cyclosporin A area under the time-concentration curve in pediatric renal transplantation. *Pediatr Transplant.* 2002; 6:313-8.
82. David-Neto E PL, Castro MCR de, Ventura CG, de Mattos RM, Sumita NM *et al.* C2 monitoring for tacrolimus, MPA and CyA. A single approach for therapeutic drug monitoring. *Transplantation.* 2004; 72:279.
- 83.

## Apêndices

---

**Apêndice 1**

FARMACOCINÉTICA DE:

 MPA       TAC      CSA 

Visita de Protocolo: \_\_\_\_\_

Paciente: \_\_\_\_\_ RGHC : \_\_\_\_\_

Data do transplante renal : \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

 Medicações: \_\_\_\_\_ dose : \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ dose: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_ dose: \_\_\_\_\_

Data da coleta: \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_

Peso: \_\_\_\_\_ kg      Estatura : \_\_\_\_\_ cm

Data e hora da última medicação (Noite): \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ \_\_\_:\_\_\_ Dose : \_\_\_\_\_ mg

Data e hora da medicação (Manhã): \_\_\_/\_\_\_/\_\_\_ \_\_\_:\_\_\_ Dose : \_\_\_\_\_ mg

Curva de dosagem sérica

Tempo (h)	Hora da coleta	Nível sérico
0		
1		
2		
3		
4		
6		
8		
10		
12		

AUC (para uso do pesquisador):

Método de dosagem (para uso do laboratório):

## Apêndice 2

### Orientações para a remessa de amostras ao laboratório Central

Os pacientes incluídos no protocolo de estudo serão submetidos a coletas seriadas de sangue, conforme desenho do estudo, pelos auxiliares do grupo de pesquisa. As amostras coletadas, tanto para análise bioquímica, hematológica, sorológica ou de controle de nível sérico de drogas imunossupressoras no período da manhã (7-12 horas), deverão ser encaminhadas até as 12:30 horas ao Laboratório Central, localizado no segundo andar do Prédio dos Ambulatórios do Hospital das Clínicas da FMUSP, setor de Bioquímica. Os tubos coletados deverão estar identificados através de etiquetas as quais devem conter número do registro do hospital, nome completo, idade, data de nascimento.

Nas etiquetas dos tubos que contêm material para dosagem do nível sérico das drogas imunossupressoras, CSA (CSA), TAC (FK) e MMF (MPA), deverá haver também a sigla do imunossupressor, o tempo ao qual corresponde o material coletado e a hora exata em que foi feita tal coleta.

Exemplo:

FK T0 = 08:05 hrs.

CSA T2 = 10:07 hrs.

MPA T4 = 12:00 hrs.

As coletas realizadas entre as 12:00 até as 16:30 horas também deverão ser encaminhadas Laboratório Central, até as 17:00 horas do mesmo dia. As amostras que forem coletadas após as 16:30 serão armazenadas sob refrigeração e encaminhadas na manhã seguinte ao Laboratório Central.

Durante todo o período da coleta e do trajeto até o laboratório, não é necessário manter as amostras sob refrigeração. As amostras serão encaminhadas pelo auxiliar do grupo de pesquisa em recipiente adequado ao transporte e sua entrega será protocolada em livro destinado para este fim.

### Apêndice 3

#### Orientações para coleta de amostras para estudo de farmacocinética de MPA, TAC e CSA.

O paciente que for participar do estudo de farmacocinética será internado na enfermaria do Transplante Renal ou da Urologia no dia anterior ao exame. Na noite anterior às coletas, o auxiliar do grupo de pesquisa será responsável por administrar os medicamentos imunossupressores e anotar no prontuário e na ficha de controle do paciente (apêndice 1) a hora exata em que foi administrado o medicamento, como também a dose.

No dia da coleta, o auxiliar deverá pesar o paciente em jejum, aferir sua estatura, sua Pressão Arterial, Pulso Periférico, Temperatura e Frequência Respiratória. Esses dados deverão ser devidamente anotados na ficha de controle do paciente. Após, deverá puncionar um acesso venoso periférico (de preferência calibroso) com scalp ou jelco e coletar o tempo ZERO do medicamento imunossupressor em estudo, isto é, coletar uma amostra de sangue exatamente 12 horas após sua última administração. Poderão ser coletados exames de bioquímica ou hematologia concomitantemente à farmacocinética se necessário for.

Após a coleta, o auxiliar de enfermagem deverá administrar os imunossupressores e anotar o horário exato da sua administração. Após uma hora da administração dos imunossupressores, o auxiliar deverá coletar nova amostra de sangue para dosagem do imunossupressor em estudo, TEMPO UM, que significa uma hora após a tomada do medicamento.

Deverão ser coletados os tempos T0, T1, T2, T3, T4, T6, T8, T10 e T12 da farmacocinética do Ácido Micofenólico e os mesmos tempos da farmacocinética do inibidor de calcineurina (TAC ou CSA).

Em cada tempo, serão coletadas duas amostras de sangue total em tubos de 2,0 mL contendo EDTA. Uma amostra será destinada à dosagem de MPA plasmático; a outra à dosagem do inibidor de calcineurina do qual o paciente estiver fazendo uso (FK ou CSA, de acordo com sua randomização).

As coletas subsequentes deverão seguir a mesma rotina, com o cuidado de identificar corretamente os tubos conforme explicado no Apêndice 2.

Todas as coletas serão anotadas na ficha de controle do paciente com seus respectivos horários.

Após cada coleta, o acesso venoso deve ser lavado com 10 mL de Soro Fisiológico e após, um mL de solução de heparina contendo 100 unidades por mL para garantir a permeabilidade do acesso. Antes da nova coleta, três mL de sangue deverão ser desprezados para evitar hemodiluição e alteração no resultado da amostra.

Ao total de 12 horas de exame, estima-se uma coleta de aproximadamente 70 mL de sangue, incluindo o sangue desprezado e as amostras para outras dosagens como bioquímica e hematologia.

Os pacientes que apresentarem difícil acesso venoso e possuírem Fístula Artério-Venosa funcional, poderão ser puncionados pela Enfermeira do Grupo de Pesquisa, se concordarem com o procedimento.

O paciente pode se recusar a prosseguir com o exame a qualquer momento se assim desejar.

Após o término das coletas, o paciente receberá novamente suas medicações e poderá ter alta hospitalar no mesmo dia ou no dia seguinte, conforme avaliação médica.