

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE CIÊNCIAS DA SAÚDE DE
PORTO ALEGRE – UFCSPA**

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PATOLOGIA

Natiana Nalin Vizioli

**Área sob a curva abaixo do alvo
do ácido micofenólico em
pacientes transplantados renais
no período tardio: prevalência e
avaliação de fatores associados.**

Universidade Federal de Ciências da Saúde
de Porto Alegre

Porto Alegre

2016

Natiana Nalin Vizioli

**Área sob a curva baixo do alvo do ácido micofenólico em
pacientes transplantados renais no período tardio: prevalência
e avaliação de fatores associados.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-Graduação em Patologia da Fundação Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, com requisito para a obtenção do grau de Mestre.

Orientadora: Profa. Dra. Elizete Keitel

Porto Alegre

2016

Catálogo na Publicação

Vizioli, Natiana Nalin

Área sob a curva abaixo do alvo do ácido micofenólico em pacientes transplantados renais no período tardio: prevalência e avaliação de fatores associados / Natiana Nalin Vizioli. -- 2016.

38 f. : graf., tab. ; 30 cm.

Dissertação (mestrado) -- Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre, Programa de Pós-Graduação em Patologia, 2016.

Orientador(a): Elizete Keitel.

1. Área sob a curva. 2. Ácido micofenólico. 3. Micofenolato de mofetil. 4. Micofenolato de sódio. 5. Transplante renal. I. Título.

Agradecimentos

A minha orientadora Dra. Elizete Keitel, que é um exemplo de pessoa e de profissional. Obrigada pela confiança, compreensão, oportunidades proporcionadas, dedicação e acima de tudo, pela amizade e pelas contribuições que me fazem ser melhor a cada dia.

A meus pais e a meu irmão que sempre me apoiaram, incentivaram e ensinaram a importância da verdade, da honestidade e da amizade.

Aos meus colegas Ronivan Dal Prá, Bruna Doleys, Helen Zanetti e Larissa Pacheco, que tem seriedade e amor na condução de estudos de grande relevância científica. Obrigada pela amizade, pela competência profissional e por estarem sempre prontos para ouvir, tirar dúvidas e ajudar.

Aos médicos do Serviço de Nefrologia, em especial ao Dr. Valter Duro Garcia por toda ajuda para que esse trabalho se realizasse e ao meu primo Dr. Fabiano Klaus por todo incentivo.

Aos professores e funcionários do Programa de Pós-Graduação em Patologia da Universidade Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre e a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste projeto.

Sumário

1. Introdução	1
1.1 Doença Renal Crônica	1
1.2 Transplante Renal	2
1.3 Imunossupressores Pós Transplante Renal	2
1.4 Ácido Micofenólico.....	4
1.4.1 Micofenolato de Mofetila	6
1.4.2 Micofenolato de Sódio	7
1.5 Interferências com Inibidor da Bomba de Prótons	7
1.6 Monitoramento Terapêutico do Ácido Micofenólico.....	9
1.7 Referências Bibliográficas	14
2. Objetivos	18
2.1 Objetivo Primário.....	18
2.2 Objetivos Secundários.....	18
3. Artigo Científico Redigido em Inglês	19
4. Considerações Finais	38
5. Anexos	39

Lista de abreviaturas utilizadas em português

ASC: Área Sob a Curva

IBP: Inibidores de Bomba de Próton

IC: Inibidor da Calcineurina

IRC: Insuficiência Renal Crônica

MFM: Micofenolato de Mofetil

AMF: Ácido Micofenólico

MFS: Micofenolato de Sódio

TFG: Taxa de Filtração Glomerular

Lista de abreviaturas utilizadas em inglês

AUC: *Area Under the Curve*

DBS: *Dried Blood Spots*

DSA: *Donor Specific Antibody*

HLA: *Human leukocyte antigen*

MDRD: *Modification of Diet in Renal Disease*

MMF: *Mycophenolate Mofetil*

MPA: *Mycophenolic Acid*

MPS: *Mycophenolate Sodium*

PPI: *Proton Pump Inhibitors*

SPSS: *“Statistical Software Package”*

Resumo da Dissertação

Introdução: Micofenolato de mofetil (MFM) e de sódio (MFS) são utilizados na terapia de imunossupressão em transplantes. O nível recomendado de ácido micofenólico (AMF) na área sob a curva (ASC) é de 30-60 mcg*h ml⁻¹. O AMF não tem sido monitorado na rotina clínica. **Objetivos:** Avaliar a prevalência da ASC do AMF abaixo do alvo em receptores de transplante renal recebendo MFM ou MFS, bem como a influência do tipo do inibidor da calcineurina (IC), da interação com o omeprazol e da função renal. **Métodos:** Estudo transversal com adultos fazendo uso de AMF, IC e corticosteroide. As concentrações plasmáticas de AMF foram medidas por meio da cromatografia líquida de alta eficiência. A coleta de sangue foi realizada 20 minutos pré-dose, 1 e 3 horas após a dose da manhã do MFM e 2 e 4 horas com uso de MFS. A ASC de 0-12 horas foi calculada através das ferramentas descritas previamente. **Resultados:** Cem pacientes foram incluídos. Doze pacientes usavam MFM e 88 MFS. Vinte pacientes apresentaram a ASC abaixo do alvo, 63 dentro e 17 acima do mesmo. O MFM não mostrou correlação entre a dose e a exposição ao AMF ($P=0,800$), diferentemente do MFS ($P<0,001$). Houve uma correlação negativa entre os níveis de ciclosporina e a ASC de AMF ($r=0,666$, $P<0,003$). Não foi verificada uma correlação entre os níveis de tacrolimo e a ASC ($r=0,096$ $P=0,386$). A ASC abaixo do alvo foi associada ao uso de omeprazol em 18,3% dos pacientes fazendo uso de MFS e em 42,9% usando MFM ($P=0,038$). Não houve correlação entre a função renal e a ASC. **Conclusão:** A prevalência de pacientes com ASC-AMF abaixo do alvo foi de 20%. Houve correlação negativa entre o nível de ciclosporina e a ASC-AMF. O omeprazol

influenciou a ASC associada o uso de MFM. A função renal não interferiu sobre a ASC-AMF.

Palavras-chave: Transplante renal, micofenolato de mofetil, micofenolato de sódio, área sob a curva.

1. Introdução

1.1 Doença Renal Crônica

A insuficiência renal crônica (IRC) é considerada uma doença de elevada morbidade e mortalidade. Nos últimos anos, sua incidência e prevalência em estágio avançado têm aumentado consideravelmente no Brasil e em todo mundo (Alvares e cols., 2013). As principais etiologias da IRC são hipertensão arterial sistêmica (35,1%), diabetes (28,4%), glomerulopatias (11,4%). No nosso meio um grande número de pacientes (9,3%) tem o diagnóstico no estágio final, chamado rins contraídos, sem ser possível determinar a etiologia (Sesso e cols., 2012).

A IRC é considerada um diagnóstico sindrômico, definida pela taxa de filtração glomerular (TFG) inferior a 60 ml/min/1,73m², mantida por pelo menos três meses. No estágio final, ou seja, quando a TFG encontra-se abaixo de 10ml/min/1,73 m², há necessidade de terapia de substituição da função renal, que pode ser realizada através de diálise peritoneal, de hemodiálise ou de transplante renal (Grimoldi e cols., 2008). O procedimento mais utilizado é a diálise, mas o transplante é o que oferece melhor qualidade de vida para o paciente e uma redução do risco de mortalidade (Cunha e cols., 2007).

1.2 Transplante Renal

O transplante renal é reconhecido como o maior avanço da medicina moderna. O primeiro transplante de órgão bem sucedido foi o de rim, realizado entre gêmeos univitelinos em 1954, na cidade de Boston. Os transplantes renais começaram a ser realizados no Brasil a partir da década de 1960 (Guerra e cols., 2010). Desde então, a melhora na sobrevida do enxerto no primeiro ano tem aumentado progressivamente, chegando a mais de 90% (Garcia e cols., 2012).

Atualmente, o Brasil possui o maior sistema público de transplantes de órgãos do mundo e está em segundo lugar (atrás apenas dos Estados Unidos da América) no número absoluto de cirurgias desse porte, com destaque para o transplante renal (Costa e cols., 2014).

A alocação dos órgãos do doador falecido é controlada pelas centrais estaduais, sendo o rim distribuído de acordo com a melhor compatibilidade HLA (*human leukocyte antigen*) (Medina-Pestana e cols., 2011).

1.3 Imunossupressores pós transplante renal

A terapia de imunossupressão tem o objetivo de aumentar a sobrevida do enxerto, evitando as rejeições agudas e crônicas do órgão transplantado.

No Brasil, o esquema de imunossupressão iniciado na década de 60 baseava-se na associação entre azatioprina e prednisona. Porém, essa imunossupressão era insuficiente, ocorrendo um elevado número de rejeições agudas. A partir daí, surgiu como opção terapêutica a globulina antilinfocitária,

usada profilaticamente para reduzir a frequência e a intensidade da rejeição aguda (Garcia e cols., 2012). Entretanto, o grande avanço na área dos transplantes deu-se somente na década de 80, com a introdução do primeiro inibidor de calcineurina, a ciclosporina, que aumentou para 80% a sobrevivência do rim transplantado no primeiro ano após a cirurgia devido à sua eficácia em evitar episódios de rejeição aguda (Halloran, 2004).

A combinação entre ciclosporina, azatioprina e corticoides tornou-se a base da terapia de manutenção. Na década de 90, o tacrolimo, também inibidor de calcineurina, foi utilizado pela primeira vez em transplante de fígado, e o seu uso foi depois expandido para todos os transplantes de órgãos sólidos (Tantravahi e cols., 2007).

A terapia de manutenção em geral é uma combinação do inibidor da calcineurina (ciclosporina ou tacrolimo) com agentes antiproliferativos (azatioprina ou ácido micofenólico) e esteroides (Sarangi e cols., 2012). A possibilidade dos imunossupressores atuarem em diferentes sítios faz com que a associação de várias drogas resulte em efeitos sinérgicos. O sinergismo possibilita a utilização de doses menores de cada medicamento, contribuindo para a diminuição dos efeitos adversos e para amplificar seus efeitos benéficos (Halloran, 2004).

Em 2002, foram estabelecidos protocolos clínicos e diretrizes terapêuticas para uso dos medicamentos excepcionais e de alto custo no Sistema Único de Saúde (SUS). É recomendado pelos protocolos clínicos a adoção do esquema de ciclosporina com azatioprina e corticosteroides, permitindo, alternativamente, substituir a ciclosporina por tacrolimo ou a

azatioprina por micofenolato de mofetil ou sirolimo, para a manutenção no transplante renal (Guerra e cols., 2010).

1.4 Ácido Micofenólico

O ácido micofenólico (AMF) foi isolado a partir da cultura do *Penicillium glaucum* e foi inicialmente estudado como antibiótico e antifúngico (Del Tacca, 2004). O AMF é um potente inibidor da enzima inosina monofosfato desidrogenase, sendo seletivo, não competitivo e reversível. Essa enzima é considerada um fator limitante da reação de síntese de nucleotídeos da guanossina, tendo como principal metabólito o glicuronídeo fenólico. A ação do MPA difere do mecanismo de ação dos inibidores da calcineurina e do sirolimo, não afetando eventos que seguem o reconhecimento de antígeno. *In vitro*, o AMF bloqueia a proliferação dos linfócitos T e B, inibe a formação de anticorpos e a geração de células T citotóxicas. O AMF também diminui a expressão de moléculas de adesão em linfócitos, o que consequentemente impede a sua ligação às células endoteliais e o afluxo para os tecidos (Mele e Halloran, 2000; Hesselink e cols., 2005).

No início dos anos 1990, foram realizados os primeiros ensaios clínicos com o micofenolato de mofetila (MFM) em transplante renal, obtendo-se ótimos resultados em modelos animais. Após estudos clínicos multicêntricos realizados a partir de 1995, o uso do MFM passou a ser usado em larga escala em transplantes. Esses estudos mostraram sua superioridade em relação à azatioprina e ao placebo na prevenção de rejeição aguda nos primeiros meses

pós-transplante, quando associados ao uso da ciclosporina e do corticosteroide (Mele e Halloran, 2000).

Atualmente, a terapia com o AMF é amplamente utilizada em combinação com os inibidores da calcineurina como imunossupressão de manutenção de receptores de transplante (Mele e Halloran, 2000; Hesselink e cols., 2005).

O AMF pode ser comercializado na forma de MFM em formulação de comprimidos de liberação imediata e na forma de micofenolato de sódio (MFS) em formulação de comprimidos gastrorresistentes. No entanto, devido à toxicidade dependente da dose, frequentemente é necessária a redução ou interrupção da dosagem, o que conseqüentemente pode estar associada com um aumento na incidência de rejeição aguda e conseqüente perda do enxerto. Dados retrospectivos indicam que a leucopenia é o principal motivo para a redução da dose de AMF, seguido de eventos adversos gastrointestinais e de infecções (Langone e cols., 2012).

Na prática clínica, os pacientes rotineiramente administram doses fixas padrões de 1000 mg duas vezes ao dia de MFM ou de dose equivalente de 720 mg duas vezes por dia de MFS, o que pode levar a uma diferença de pelo menos 10 vezes na exposição à droga ativa entre receptores de transplantes de órgãos sólidos (Sommerer e cols., 2010; Tett e cols., 2011).

A farmacocinética do AMF possui uma grande variabilidade interindividual e intraindividual, sendo influenciada pela função do enxerto, pela concentração sérica de albumina, pela função hepática e pelo tipo de imunossupressor associado (Staatz e Tett, 2007).

1.4.1 Micofenolato de Mofetila

O MFM é amplamente empregado na profilaxia e tratamento da rejeição em pacientes submetidos ao transplante renal, hepático e cardíaco (Staatz e Tett, 2007). Ele foi produzido pelo laboratório Hoffman La Roche, com o nome comercial de CellCept®. A pró-droga micofenolato de mofetil aumenta a biodisponibilidade oral do AMF (Bullingham e cols., 1996). Atualmente, várias apresentações genéricas são comercializadas.

O MFM, após sua administração oral, é rapidamente absorvido no estômago e metabolizado em AMF pelo fígado, distribui-se amplamente no plasma ligado à albumina, alcançando sua concentração plasmática máxima após 1 hora e um pico secundário entre 6 a 12 horas (Annapandian e cols., 2010). A metabolização do AMF ocorre através da enzima uridina difosfato glicuroniltransferase, formando o 7-O-glucuronídeo AMF, sendo esse um metabólito inativo que está presente no plasma em concentrações 20 a 100 vezes maiores que o AMF. O AMF biliar entra no trato gastrointestinal e é hidrolisado novamente a AMF sofrendo circulação entero hepática (Van Hest e cols., 2006). Apresenta uma estreita janela terapêutica, com um alto grau de variabilidade farmacocinética e farmacodinâmica inter e intrapaciente. A administração junto à alimentação pode diminuir a velocidade de absorção (Jeong e Kaplan, 2007).

A biodisponibilidade do MFM é em média de 94%, e sua eliminação ocorre principalmente através da urina. Apresenta meia vida de aproximadamente 12 horas. O AMF não é dialisável (Saavedras e cols., 2011).

1.4.2 Micofenolato de Sódio

Com o objetivo de reduzir os efeitos adversos gastrointestinais, o Laboratório Novartis desenvolveu uma formulação de micofenolato de sódio (MFS) com o nome comercial de Myfortic[®]. Esta consiste de comprimidos de revestimento entérico com a finalidade de retardar a absorção do AMF, de maneira que a liberação do princípio ativo ocorra no intestino e diminua a incidência dos efeitos gastrointestinais. Após a administração oral de MFS, a molécula ativa é absorvida no intestino delgado. Dessa forma, a biodisponibilidade absoluta é maior que 71%, sendo a concentração plasmática máxima atingida entre 1,5 e 2 horas (Jeong e Kaplan, 2007).

O MFS não é bioequivalente ao MFM, contudo, a área sob a curva é semelhante e ambos são semelhantes em eficácia e segurança. Em comparação com o MFM, o uso do MFS apresenta menos mudança de dose, interrupções e descontinuações. Um estudo recente concluiu que a conversão do MFM para o MFS foi associada com uma redução significativa dos efeitos gastrointestinais e com melhoria da qualidade de vida dos pacientes (Manger e cols., 2015).

1.5 Interferência com inibidores da bomba de prótons

A doença péptica é uma complicação comum entre os receptores de transplante renal de significativa morbidade, que pode ocorrer tanto em estágios iniciais quanto em fases tardias após o transplante. Por essa razão, a administração prolongada de inibidores da bomba de prótons (IBP) é frequente

nesses pacientes, tanto para prevenir como para tratar a doença péptica (Miura e cols., 2008).

Inibidores da bomba de prótons (IBPs) inibem a secreção ácida gástrica através da interação com o H^+ / K^+ -ATPase nas células parietais gástricas. Embora interações medicamentosas entre tacrolimo e IBP tenham sido relatadas, pouco se sabe sobre a interação entre o AMF e os IBPs (Miura e cols., 2008).

Estudos com voluntários sadios demonstraram que a administração concomitante de MFM e de omeprazol baixou significativamente a concentração máxima e a área sob a curva (ASC) (12h) de AMF. A farmacocinética do MFS não foi afetada. A absorção deficiente de MFM na presença de inibidores da bomba de prótons tem sido atribuída à dissolução incompleta do MFM no estômago em pH elevado (Kees e cols., 2012).

Em outro estudo realizado, analisou-se o efeito do omeprazol com o AMF em 77 pacientes transplantados renais que faziam uso de inibidor da calcineurina juntamente com MFM. Verificou-se que o IBP diminuiu a exposição de MFM, principalmente quando associado à ciclosporina (David-Neto e cols., 2012).

Um estudo brasileiro com 103 pacientes transplantados renais avaliou a dosagem do nível de vale, que é o nível imediatamente anterior da administração da dose, do AMF em pacientes utilizando IBP. Contudo, não se observou influência do mesmo (Oliveira, 2012). No entanto, tem sido descrita uma baixa correlação entre o nível de vale com a ASC do ácido micofenólico (Pawinski e cols., 2006).

1.6 Monitoramento Terapêutico do Ácido Micofenólico

Atualmente, a monitorização sérica do ácido micofenólico não é amplamente utilizada na prática clínica. Alguns centros médicos têm utilizado, em virtude da alta variabilidade farmacocinética intra e inter pacientes, e por apresentar um estreito índice terapêutico. Apresenta concentração máxima de aproximadamente 30% a 50%, sendo menor em recém-transplantados do que em pacientes transplantados estáveis (tempo de transplante >6 meses) (Pawinski e cols., 2006). A elevação das concentrações séricas relaciona-se com redução da depuração do ácido micofenólico. Isto ocorre devido a uma série de fatores como, por exemplo, a melhora da taxa de filtração glomerular e a elevação dos níveis séricos de albumina e de hemoglobina (Hest e cols., 2007). Além de variabilidade, várias interações medicamentosas com AMF têm sido relatadas, incluindo aquelas com a ciclosporina, os corticosteroides, a rifampicina, o sevelamer, o policarbofil de cálcio, o aciclovir, a norfloxacina, o metronidazol e os antiácidos (Miura e cols., 2008). Observou-se que a interação com a ciclosporina diminui a exposição ao AMF, deixando a área sob a curva mais baixa. Por outro lado, a exposição concomitante com tacrolimo tem efeito sinérgico, aumentado a área de exposição, tanto do tacrolimo como do micofenolato (Fillere cols., 2000; Sugioka e cols., 2006).

Estudos multicêntricos internacionais avaliaram a expectativa da monitorização do AMF sobre a evolução do transplante renal. Van Gelder (2005) sugeriu que as doses devem ser ajustadas com base na monitorização terapêutica, principalmente no período recente pós-transplante, o que pode

melhorar os desfechos, especialmente em pacientes com elevado risco de rejeição.

A utilidade do acompanhamento para determinar a dose foi demonstrada em 2005, por van Hest e cols., através de um modelo de simulação computacional. Observou-se que a exposição adequada ao AMF é mais rapidamente obtida quando se monitora a concentração sanguínea do que quando são ofertadas doses fixas de MFM ou MFS (van Hest e cols, 2005).

Evidências crescentes têm mostrado que pacientes tratados com MFM necessitam de uma avaliação da exposição ao AMF e de um ajuste da dose para adequar a exposição. No entanto, a informação sobre a relação dose-efeito e a exposição da formulação de micofenolato sódico com revestimento entérico que tem diferentes propriedades físico-químicas é limitada (Tett e cols., 2011).

O alvo proposto da janela terapêutica do AMF são valores entre 30 e 60 mg/hr/L. Contudo, aproximadamente 35% dos transplantados renais que recebem uma dose fixa de MPA têm os valores fora do esperado. Essa variabilidade é clinicamente importante porque a baixa exposição ao AMF aumenta o risco de rejeição, ao mesmo tempo em que a superexposição aumenta os efeitos adversos. Assim, a segurança e a eficácia podem ser melhoradas pelo controle da dose administrada, tomando como base a monitorização terapêutica do AMF, comparado com um regime de dose fixa (Wang e cols., 2013).

Em um estudo transversal com 71 pacientes com Lúpus Eritematoso Sistêmico (LES) em uso de MFM observou-se uma correlação fraca entre a dose ingerida de MFM e a ASC (r^2 0.33, $P = 0.005$). A média da ASC de AMF

do grupo com doença ativa foi significativamente mais baixa que o grupo com doença inativa ($26.8 \pm 13.6 \mu\text{g/h/ml}$ vs $46.5 \pm 16.3 \mu\text{g/h/ml}$, $P < 0.0001$). O ponto de corte da ASC de $35 \mu\text{g/h/ml}$ obteve a maior sensibilidade e especificidade para o LES inativo (Zahr e cols., 2010).

A ASC concentração de tempo do nível do medicamento de zero até 12 horas (ASC -12) é o método padrão ouro para avaliar a exposição ao AMF. Entretanto, o cálculo da ASC -12 é um método invasivo, de alto custo e que requer múltiplas coletas de sangue, gerando limitações para a análise do AMF. Nesse método, as concentrações plasmáticas do AMF são medidas por cromatografia líquida de alta eficiência e as amostras são coletadas em tempos distintos para cada formulação do AMF. Nos pacientes que fazem uso do MFM, o sangue é coletado em pré-dose, 20 minutos, 1 hora e 3 horas após a administração da dose. Para os pacientes que utilizam o MFS, as concentrações são medidas em amostras colhidas em pré-dose, 20 minutos, 1, 2, 3 e 4 horas após a ingestão da dose (Premaud e cols., 2005; Antunes e cols., 2009; Sommerer e cols., 2010).

Na prática clínica, estratégias de amostragem limitadas a partir da concentração versus o tempo de um medicamento em coletas de múltiplos pontos pode ser um método mais prático para avaliar a ASC do AMF nas primeiras horas após a ingestão da droga. Embora ambas as formulações do AMF demonstrem eficácia equivalente em receptores de transplante renal, o MFS apresenta absorção intestinal atrasada e prolongada, e, por esse motivo, estratégias de amostragem limitadas podem não ser precisas para avaliar sua ASC (Hougardy e cols., 2016).

Alternativamente, outra estratégia de amostragem limitada mais simples foi desenvolvida para analisar a ASC das duas formulações do AMF. O método *Dried Blood Spots* (DBS) é uma alternativa útil devido à possibilidade de coleta domiciliar, do transporte sem refrigeração e, principalmente, pelo tempo de coleta flexível, que é muito importante quando se realiza uma estratégia de amostragem limitada para analisar a ASC. Arpini e cols. (2013) avaliaram a aplicação clínica do DBS, comparando-o com as medições no plasma. No DBS, o sangue foi coletado através de uma picada no dedo, usando lancetas especiais Medlance® Plus de HTL-STREFA. O sangue foi aplicado no papel de amostragem Whatman 903® e os pontos de sangue ficaram secando durante 2 horas em temperatura ambiente. Posteriormente, os papéis foram embalados e armazenados em temperatura ambiente até a análise, que foi realizada em até 48 horas. Nos dois métodos o AMF foi medido por cromatografia líquida de alta eficiência. As amostras no método DBS e as amostras do AMF medidas no plasma apresentaram uma diferença atribuível ao efeito da diluição das células sanguíneas, já que o AMF está presente quase que exclusivamente no plasma. Setenta e uma das 77 concentrações medidas no plasma e estimadas com base na medição DBS estavam dentro da faixa de 1,96 desvios-padrões, indicando uma elevada concordância entre as concentrações medidas em ambas as matrizes depois da correção matemática (Arpini e cols., 2013).

Apesar do uso frequente do AMF em pacientes transplantados renais, as concentrações do AMF não são rotineiramente medidas, e a administração da sua dose é fixada ou ajustada de acordo com os eventos adversos. Desta forma, elaboramos este estudo para avaliar a exposição ao AMF no período

tardio após o transplante em pacientes atendidos no Serviço de Transplante Renal da Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre.

1.8 Referências Bibliográficas

Alvares J, Almeida AM, Szuster DA, Gomes IC, Andrade EI, Acurcio FA, et al. Fatores associados à qualidade de vida de pacientes em terapia renal substitutiva no Brasil. *Cien Saude Colet*. 2013;18(7):1903-10.

Annapandian VM, Fleming DH, Mathew BS, John GT. Mycophenolic acid area under the curve recovery time following rifampicin withdrawal. *Indian J Nephrol*. 2010;20(1):51-3.

Antunes MV, Paris C, Thiele KO, Keitel E, Garcia VD, Linden R. Determinação de ácido micofenólico em plasma por cromatografia líquida de alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). *Latin American Journal of Pharmacy*. 2009;28(4):495-500.

Arpini J, Antunes MV, Pacheco LS, Gnatta D, Rodrigues MF, Keitel E, et al. Clinical evaluation of a dried blood spot method for determination of mycophenolic acid in renal transplant patients. 2013;46(18):1905-8.

Bullingham R, Monroe S, Nicholls A, Hale M. Pharmacokinetics and bioavailability of mycophenolate mofetil in healthy subjects after single-dose oral and intravenous administration. *J Clin Pharmacol*. 1996;36(4):315-24.

Costa CK, Neto GB, Sampaio LM. Eficiência dos estados brasileiros e do Distrito Federal no sistema público de transplante renal: uma análise usando método DEA (Análise Envolvória de Dados) e índice de Malmquist. *Cad Saúde Pública*, Rio de Janeiro. 2014;30(8):1667-79.

Cunha CB, León AC, Schramm JM, Carvalho MS, Souza PR, Chain R. Tempo até o transplante e sobrevida em pacientes com insuficiência renal crônica no Estado do Rio de Janeiro, Brasil, 1998-2002. *Cad Saúde Pública do Rio de Janeiro*. 2007;23(4):805-13.

David-Neto E, Takaki K, Agena F, Romano P, Sumita N, Mendes M, et al. Diminished Mycophenolic Acid Exposure Caused by Omeprazole May Be Clinically Relevant in the First Week Posttransplantation. *Therapeutic Drug Monitoring*. 2012;34(3):331-6.

Del Tacca M. Prospects for personalized immunosuppression: pharmacologic tolls – a review. *Transplant Proc*. 2004;36(3):687-9.

Filler G, Zimmering M, Mai I. Pharmacokinetics of mycophenolate mofetil are influenced by concomitant immunosuppression. *Pediatr Nephrol*. 2000;14(2):100-4.

García-García G, Harden P, Chapman J. El papel global del trasplante renal. *Rev Nefrol.* 2012;32(1):1-6.

Garcia GG, Harden P, Chapman J. O papel global do transplante renal. *J Bras Nefrol.* 2012;34(1):1-7.

Grimoldi IA, Briones LM, Ferraris JR, Rodríguez Rilo L, Sojo E, Turconi A, et al. Enfermedad renal crónica, diálisis y trasplante. Estudio multicéntrico: 1996-2003. *Arch Argent Pediatr.* 2008;106(6):552-9.

Guerra AA, Acúrcio FA, Andrade EI, Cherchiglia ML, Cesar CC, Queiroz OV, et al. Ciclosporina *versus* tacrolimus no transplante renal no Brasil: uma comparação de custos. *Cad Saúde Pública, Rio de Janeiro.* 2010;26(1):163-74.

Halloran PF. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med.* 2004; 351(26):2715-29.

Hesselink DA, van Hest RM, Mathot RA, Bonthuis F, Weimar W, de Bruin RW et al. Cyclosporine interacts with mycophenolic acid by inhibiting the multidrug resistance-associated protein 2. *AM J Transplant.* 2005;5(5):987-94.

Hest RM, Gelder TV, Bouw R, Goggin T, Gordon R, Mamelok R, et al. Time-dependent clearance of mycophenolic acid in renal transplant recipients. *J Clin Pharmacol.* 2007;63(6):741-52.

Hougardy JM, Maufort L, Cotton F, Coussement J, Mikhalski D, Wissing KM, et al. Therapeutic drug monitoring of enteric-coated mycophenolate sodium by limited sampling strategies is associated with a high rate of failure. *Clin Kid J* 2016;9(2):319-23.

Jeong H, Kaplan B. Therapeutic Monitoring of Mycophenolate Mofetil. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2007;2(1):184-91.

Kees MG, Steinke T, Mortiz S, Rupprecht K, Paulus EM, Kees F, et al. Omeprazole Impairs the Absorption of Mycophenolate Mofetil But Not of Enteric-Coated Mycophenolate Sodium in Healthy Volunteers. *J Clin Pharmacol.* 2012;52(8):1265-72.

Langone A, Doria C, Greenstein S, Narayanan KU, Sankari B, Pankewycz O, et al. Does reduction in mycophenolic acid dose compromise efficacy regardless of tacrolimus exposure level? An analysis of prospective data from the Mycophenolic Renal Transplant (MORE) Registry. *Clin Transplant.* 2012;27(1):15-24.

Manger B, Hiepe F, Schneider M, Worm M, Wimmer P, Paulus EM et al. Impact of switching from mycophenolate mofetil to enteric-coated mycophenolate sodium on gastrointestinal side effects in patients with autoimmune disease: a Phase III, open-label, single-arm, multicenter study. *Clin Exp Gastroenterol*. 2015;8(1):205-13.

Medina-Pestana JO, Galante NZ, Silva HT, Harada KM, Garcia VD, Filho MA, et al. O contexto do transplante renal no Brasil e sua disparidade geográfica. *J Bras de Nefrol*. 2011;33(4):472-84.

Mele TS, Halloran PF. The use of mycophenolate mofetil in transplant recipients. *Immunopharmacology*. 2000;47(2):215-45.

Miura M, Satoh S, Innoue K, Kagaya H, Saito M, Suzuki T, et al. Influence of Lansoprazole and Rabeprazole on Mycophenolic Acid Pharmacokinetics One Year After Renal Transplantation. *The Drug Monit*. 2008;30(1):46-51.

Oliveira CS. Monitoramento terapêutico do ácido micofenólico: validação de método e análise de interação com omeprazol [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2012.

Pawinski T, Durlík M, Szlaska I, Urbanowicz A, Majchrnak J, Gralak B, et al. Comparison of mycophenolic acid pharmacokinetic parameters in kidney transplant patients within the first 3 months post-transplant. *J Clin Phar Ther*. 2006;31(1):27-34.

Prémaud A, Le Meur Y, Debord J, Szélag JC, Rousseau A, Hoizey G, et al. *Ther Drug Monit*. 2005;27:354-61.

Saavedras I, Sasso J, Quiñones L, Saavedra M, Gaete L, Boza I, et al. Estudio de biodisponibilidad relativa entre dos formulaciones orales de micofenolato mofetilo en voluntarios sanos. *Rev Med Chile*. 2011;139(7):902-8.

Sarangi SC, Reeta KH, Agarwal SK, Kaleekal T, Guleria SGupta YK. A pilot study on area under curve of mycophenolic acid as a guide for its optimal use in renal transplant recipients. *Indian J of Med Res*. 2012;135(1):84-91.

Sesso RC, Lopes AA, Thomé FS, Lugon JR, Watanabe Y, Santos DR. Chronic Dialysis in Brazil - Report of the Brazilian Dialysis Census, 2011. *J Bras Nefrol*. 2012;34(3):272-7.

Sommerer C, Muller-Krebs S, Schaier M, Glander P, Budde K, Schwenger V, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of enteric-coated mycophenolate sodium: limited sampling strategies and clinical outcome in renal transplant patients. *Brit Jour of Clin Pharmacol*. 2010;69(4):346–57.

Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet.* 2007; 46(1):13-58.

Sugioka N, Sasaki T, Kokuhu T, Ito Y, Shibata N, Okamoto M, et al. Clinical Pharmacokinetics of Mycophenolate Mofetil in Japanese Renal Transplant Recipients: a Retrospective Cohort Study in a Single Center. *Biol Pharm Bull* 2006;29(10):2099-105.

Tantravahi J, Womer KL, Kaplan B. Why hasn't eliminating acute rejection improves graft survival. *Rev Med.* 2007;58(1):369-85.

Tett SE, Saint-Marcoux F, Staatz CE, Brunet M, Vinks AA, Miura M, et al. Mycophenolate, clinical pharmacokinetics, formulations, and methods for assessing drug exposure. *Transplant Rev (Orlando).* 2011;25(2):47-57.

Van Gelder T. Mycophenolate mofetil: How to further improve using an already successful drug? *Am J Transplant.* 2005;5(2):199-200.

Van Hest R, Mathot R, Vulto A, Weimar W, van Gelder T. Predicting the usefulness of therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid: a computer simulation. *Ther Drug Monit.* 2005;27(2):163-7.

Wang X, Qin X, Wang Y, Huang Z, Li X, Zeng Q, et al. Controlled-Dose Versus Fixed-Dose Mycophenolate Mofetil for Kidney Transplant Recipient: A Systemic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Transplantation* 2013;96(4):361-7.

Zahr N, Laurent A, Marquet P, Haroche J, Chalumeau N, Hulot J et al. Mycophenolic Acid Area Under the Curve Correlates With Disease Activity in Lupus Patients Treated With Mycophenolate Mofetil. *Arthritis Rheum.* 2010;62(7):2047-54.

2. Objetivos

2.1 Objetivo Primário:

Avaliar a frequência de receptores de transplantes renais em uso de ácido micofenólico (MFM ou MFS) com área sob a curva do ácido micofenólico abaixo do nível alvo ($<30\text{mcg}\cdot\text{h ml}^{-1}$).

2.2. Objetivos Secundários:

- Avaliar a ASC de acordo com a dose plena ou reduzida de MFM e MFS;
- Avaliar a interação entre o MFM ou o MFS e o tipo de inibidor de calcineurina;
- Avaliar a interação entre o MFM ou o MFS e inibidor de bomba de próton (omeprazol);
- Avaliar a associação da ASC do AMF com a função renal estimada pela fórmula *Modification of Diet in Renal Disease* (MDRD).

3. Artigo científico redigido em inglês

Area under the curve below the target of mycophenolic acid in late period of renal transplant patients: frequency and associated factors.

Natiana Nalin Vizioli², Valter Duro Garcia¹, Ronivan Luis Dal Prá¹, Bruna Doleys Cardoso^{1,2},
Helen Kris Zanetti^{1,2}, Larissa Sgaria Pacheco^{1,2}, Rafael Linden³, Marina Venzon Antunes³,
Elizete Keitel^{1,2}

Institutional

1. Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre. Nephrology Service. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.
2. University Federal de Ciências da Saúde de Porto Alegre. Pathology Postgraduation Program. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil.
3. University FEEVALE. Pharmacology Laboratory. Novo Hamburgo, Rio Grande do Sul, Brazil.

Authorship

NNV: designed study, collected data, analyzed data and wrote paper. RLP, BDC, HKZ, LSP and RLP: design study, collected data. EK: design study, analyzed data and wrote paper. VDG: design study and reviewed paper.

Work funded by: This academic study is financially supported by Novartis and CAPES. The authors do not receive any reimbursement or financial benefits and declare that they have no competing interests. Novartis played no role in the design, methods, data management or analysis or in the decision to publish.

Correspondence: Elizete Keitel. Av. Independência, 155 - Hospital Dom Vicente Scherer – 6º andar. CEP: 90035 – 074. Porto Alegre, Rio Grande do Sul, Brasil. Tel/Fax: (51) 32148640/ (51) 32253998.

E-mail: keitel@ufcspa.edu.br

Running Title: AUC-MPA below target in stable renal transplant recipients

A ser submetido à Transplant International

Abstract

Introduction: Mycophenolate mofetil (MMF) and sodium (MPS) are widely used in transplants. The recommended target of Mycophenolic acid (MPA) area under the curve (AUC_{0-12}) is 30-60 mcg*h mL⁻¹. **Aims:** Evaluate the frequency of MPA- AUC_{0-12} below target in renal transplant recipients and to analyze the influence of the calcineurin inhibitor (CNI) type, the omeprazole interaction and renal function. **Methods:** A cross sectional study of adults at least 6 months after transplant taking MPA, CNI and corticosteroids. The MPA plasma concentrations were measured by high performance liquid chromatography. **Results:** One hundred recipients were included, 12 taking MMF and 88 MPS. Twenty patients presented MPA- AUC_{0-12} below target, 63 inside and 17 above. There was an association between MPS dose ($p < 0.001$) and exposition, but no with MMF ($p = 0.800$). There was a negative correlation between MPA- AUC_{0-12} and cyclosporine (CsA) levels ($r = -0.666$ $P < 0.003$) but not with tacrolimus levels ($r = 0.096$ $p = 0.386$). The MPA- AUC_{0-12} below target was associated to omeprazole use in 18.3% of patients taking MPS and in 42.9% in use of MMF ($p = 0.038$). There was no correlation between renal function and AUC. **Conclusion:** Twenty per cent had MPA- AUC_{0-12} below target, with a negative correlation with CsA level. The interaction between omeprazole and MMF decreased MPA- AUC.

Keywords: Kidney transplantation, mycophenolic acid, mycophenolate mofetil, mycophenolate sodium, area under the curve.

Introduction

Currently the mycophenolic acid (MPA) based maintenance immunosuppressive therapy is widely used in combination with calcineurin inhibitors in renal transplant recipients [1]. The MPA is available as mofetil mycophenolate (MMF), in immediate release tablet formula and sodium mycophenolate (MPS), a gastroresistent tablet. However, due to dose dependent toxicity, frequently dosage reduction or interruption is needed and may increase the incidence of acute rejection and graft loss. Retrospective data showed that leukopenia is the main reason for MPA dose reduction followed by gastrointestinal side effects and infections [2].

The MPA pharmacokinetics has wide intra and inter-individual variability. It can be influenced by graft function, serum albumin concentration, liver function and type of associated immunosuppression [3]. The proton pump inhibitor (PPI), specially omeprazole, widely used by transplant recipients, also can contribute for this variability [4].

The monitoring of the MPA area under the curve (AUC) has not been routinely used in renal transplant recipients care, despite of some authors advise it [3]. The main reason is the difficulty of many time points collection to perform it. The trough level has not a good correlation with drug exposure [5].

The primary aim of this study was to evaluate the frequency of renal transplant recipients under mycophenolic acid use (MMF or MPS) presenting the AUC below the recommended target of $30 \text{ mcg}\cdot\text{h ml}^{-1}$. The secondary aims were to evaluate the influence of the mycophenolate dose, the MPA interaction type with calcineurin inhibitor (CNI), omeprazole use and renal function on AUC.

Patients and Methods

Recipients above 17 years old were selected with minimum 6 months follow-up after renal transplantation under triple immunosuppression therapy, including mofetil or sodium mycophenolate, calcineurin inhibitors and steroids. The exclusion criteria were: recipients of multiple organs; glomerular filtration rate below 30mL/min estimated by Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) abbreviated formula; white blood cells $<2,000/\text{mm}^3$, hemoglobin $\leq 10\text{g/dL}$ and platelet count $\leq 100,000/\text{mm}^3$; liver transaminases (ALT, AST) and bilirubine above three times the reference values; positive serology for human deficiency virus (HIV). The patients who signed the consent term and fulfilled the inclusion and exclusion criteria were evaluated. The project was approved by local Ethical Committee, process number 187314.

Mycophenolic acid plasma concentrations were measured by high-performance liquid chromatography as described by Antunes *et al.* (2009) [6]. Briefly, an aliquot of 250 μL of plasma was added with internal standard (carboxy butoxy ether of mycophenolic acid 50 $\mu\text{g/mL}$) and 450 $\mu\text{g/mL}$ of acetonitrile. After mixing and centrifugation, the supernatant was diluted 1:1 with phosphate buffer pH 2.3 and 50 μL of the resulting mixture was injected into the HPLC system (Class VP, Shimadzu, Japan). The chromatographic separation was performed in a Lichrospher Merck RP 8ec (250 x 4.0 mm, p.d. 5 μm) column, obtained from Merck (Darmstadt, Germany), eluted isocratically with at 1 mL min^{-1} with a mobile phase composed of phosphate buffer pH 2.3 and acetonitrile (50:50, v/v). Chromatograms were monitored at 250 nm. The method was linear between 0.1 to 50 $\mu\text{g mL}^{-1}$, with accuracy in the range of 95 to 102% and precision in the range of 2.57 to 8.58%.

The values of the area under the curve from time zero to 12 h (AUC_{0-12}) for MPA were calculated using limited sampling strategies. In patients taking MMF, MPA concentrations were measured in plasma samples obtained from venous blood collected at pre-dose, 20 min, 1 h and 3 h after the oral dose, according to Premaud *et al.* (2005) [7]. For these patients, the AUC_{0-12} was calculated using the online tool Immunosuppressant Bayesian Dose Adjustment (ISBA), available at <https://pharmaco.chu-limoges.fr>. Patients taking MPS had MPA concentrations measured in plasma samples obtained from venous blood collected at pre-dose, 1, 2, 3 and 4 h after oral intake of the drug. For MPS patients, AUC_{0-12} was calculated using the algorithm described by Sommerer *et al.* (2010) [8], which used the following equation: $AUC_{0-12} = 11.5 + 0.99 C_0 + 1.56 C_1 + 0.74 C_2 + 0.87 C_3 + 2.09 C_4$.

The Cyclosporine trough levels were measured in the local laboratory by automated enzymatic immunoassay (Siemens) and Tacrolimus trough levels were measured by chemiluminescent microparticle immunoassay (Abbott).

The continuum variables were presented as median (minimum and maximum) or mean and standard deviation. The categorical variables were shown as frequency and percentage. The data normality was verified by Shapiro-Wilk test. Spearman correlation test, Student t test, one and two-way ANOVA and Qui-Squared test were used as appropriated. P values less than 0.05 were considered statistically significant.

Results

One hundred patients were included in the study from September 2013 to August 2014. The mean patient age was 48.7 ± 12.8 years old, 46% were female and 62% were recipients of deceased donors.

The median time after transplantation at selection was 29.7 months, ranging from 6.1 to 242 months. The patient demographics data are presented in Table 1.

Among 100 selected patients, 12 were under MMF, 6 of them using full dose (3 with cyclosporine and 3 with tacrolimus). The other 6 used reduced dose associated with tacrolimus.

The other 88 patients were under MPS, 30 patients (33%) using full dose (7 with cyclosporine and 23 with tacrolimus). The other 58 patients (67%) patients were using reduced dose, 52 with tacrolimus and 6 with cyclosporine. There was no significant difference between the frequency of MMF and MPS related to full dose (50% and 33%, respectively).

Among the 100 patients studied, 20% presented the AUC_{0-12} below $30 \text{ mcg} \cdot \text{h mL}^{-1}$, 63% were into the target ($30-60 \text{ mcg} \cdot \text{h mL}^{-1}$) and 17% were above $60 \text{ mcg} \cdot \text{h mL}^{-1}$. Considering the 36 patients using full dose of MPA, 8.6% presented AUC_{0-12} below $30 \text{ mcg} \cdot \text{h mL}^{-1}$, 60% were into the target and 31.4% were above the target. From 64 patients using reduced dose of MPA, in 26.2% the AUC_{0-12} was below target, in 64.6% the AUC_{0-12} was into the target and in 9.2% was above target ($p=0.003$).

Considering the total number of patients taking MMF and MPS, the MPA- AUC were into the target in 50% e 64%, respectively ($p=ns$). Data presented in Figure 1.

The MPS use showed association between dose and exposition to MPA, differently from MMF (Figure 2 and 3).

The variability coefficient of MPA-AUC was 42.46% in the total group. In patients taking MMF it was 39.65% and MPS it was 42.95%.

There was no significant effect of race ($p=0.781$) and gender ($p=0.510$) or an interaction between them ($p=0.351$) on MPA-AUC₀₋₁₂ analyzed by two way ANOVA. The mean MPA-AUC₀₋₁₂ measured in Caucasian [female (n: 36) = 51.09 (95% CI: 44.69-57.49) and male (n: 49) = 42.29 (95% CI 36.80-47.78) and non-Caucasian [female (n: 9) = 44.41 (95% 31.60-57.21) and male (n: 6) = 45.89 (95% CI: 30.21-61-58)].

The mycophenolic acid interaction with CNI showed a negative correlation between the cyclosporine levels and MPA-AUC₀₋₁₂ ($r=-0.666$ $P<0.003$). There was no significant correlation between tacrolimus levels and MPA-AUC₀₋₁₂ ($r=0.096$ $P=0.386$) (Figure 4 and 5).

The mean MPA-AUC₀₋₁₂ was 47.56 ± 17.45 mcg*h ml⁻¹ in patients with cyclosporine trough level up to 100 ng/ml and 24.06 ± 5.21 mcg*h ml⁻¹ above 100ng/mL ($p=0.04$). Patients taking cyclosporine presented similar MPA-AUC₀₋₁₂ independently of full or reduced dose of MPA (46.01 ± 20.51 vs $38.4+ 13.71$, respectively, $p= 0.431$).

The concomitant use of tacrolimus showed a significantly higher MPA-AUC mean with full dose compared with reduced dose of MPA (60.28 ± 24.02 vs 40.73 ± 14.54 respectively, $p<0.001$).

The interaction between tacrolimus trough levels and MPA dose was analyzed. In patients with tacrolimus trough level up to 5ng/mL the MPA-AUC₀₋

$_{12}$ with MPA reduced dose (n=23) was 37.00 ± 12.20 and with full dose (n=10) it was 59.54 ± 30.54 ; $p=0.04$. In patients with tacrolimus trough levels above 5ng/ml, the mean MPA-AUC $_{0-12}$ with reduced dose (n=36) was 43.11 ± 15.54 and full dose (n=14) it was 60.82 ± 19.34 ; $p < 0.001$. Looking in the other way, patients with tacrolimus trough levels up to 5ng/mL (n=33) or above 5ng/mL (n=50), presented similar MPA-AUC $_{0-12}$ (43.83 ± 21.8 vs 48.07 ± 18.34 ; $p=0.343$). These findings suggest that the interaction between tacrolimus and MPA is more related to MPA dose to increase its exposition.

Sixty out of the 88 patients taking MPS were using PPI (omeprazole). The AUC-MPS was below target in 18.3% and into the target in 63.3% of them. Among those not taking PPI, 21.4% were below target and 67.9% into the target ($p=0.653$). The mean MPA-AUC $_{0-12}$ was similar in both cases (40.72 ± 14.63 vs 47.70 ± 21.25 ; $p=0.120$).

Seven out of the 12 patients taking MMF were using PPI. The MPA-AUC $_{0-12}$ was below target in 42.9% and into the target in 57.1% of them. None of the 5 patients without PPI had AUC below target, 40% were into and 60% above target ($p=0.038$). There was a tendency of the MPA-AUC $_{0-12}$ mean to be higher in patients not taking PPI compared to those taking PPI (60.13 ± 19.32 vs 40.51 ± 15.74 ; $p=0.081$, respectively).

The GFR estimated by MDRD was similar ($p=0.768$) among patients with AUC below target (46.44 ± 10.54 ml/min), on target (48.66 ± 12.43 ml/min) and above target (48.23 ml/min).

Discussion

The present study showed that 20% of a sample of renal transplant recipients above 6 months of follow-up presented MPA-AUC₀₋₁₂ below target, 63% into the target and 17% above it. Our data confirmed a high interindividual variability of MPA-AUC as previous described [3]. The recommended target has been based on studies performed in early phase post-transplantation. Kiberd *et al.* (2012) measured the MPA-AUC₀₋₁₂ in 30 patients, the mean was 63 ± 28 mcg*h mL⁻¹, at 5th day post-transplant, 13% were below 30mcg*h mL⁻¹ and 57% above 60mcg*h mL⁻¹. On day 14th the AUC₀₋₁₂ mean was 46 ± 17 mcg*h mL⁻¹, still 13% below 30mcg*h mL⁻¹, and 23% above 60mcg*h mL⁻¹ [9]. A recent study of 67 stable renal transplant taking sodium mycophenolate and tacrolimus for at least 6 months showed that 57% of the patients had AUC₀₋₁₂ above 60mg.h/L. The female presented higher exposition. There was an interaction between race and gender. African-American male had lower exposition [10]. Our data did not detect effect of race and gender or interaction between them. One possible explanation is that our patients are from mixed race.

In a prospective non-randomized study including renal transplant patients above 6 months follow-up and stable renal function not taking CNI and receiving standard doses of MMF (n=12) or MPS (n=11), the MPA dose was adjusted previously to achieve MPA trough level between 2-8mg/L. Using this strategy, the mean MPA-AUC₀₋₁₂ were 50.7 e 58.7 mcg*h mL⁻¹ with MMF and MPS, respectively (p=0.340). All patients presented MPA-AUC₀₋₁₂ higher than 30 mcg*h mL⁻¹ and 61% were above 50 mcg*h mL⁻¹. The fact of not take concomitant CNI could contribute for these results. Plasma concentrations of MPA are reduced by cyclosporine, which inhibits the biliary excretion of MPA 7-O-glucuronide (the inactive main MPA metabolite), leading to reduction of the

enterohepatic cycle of MPA and exposure up to 40% [11-14]. In our results, in patients taking cyclosporine the mean MPA-AUC₀₋₁₂ was not significantly different between those using full or reduced dose of MPA, however, the lower levels of cyclosporine were associated with higher MPA exposition. The interaction with tacrolimus showed no significant difference in MPA exposition between patients with trough levels below or above 5ng/ml. The MPA exposition was dose dependent.

We did not observe difference in the mean of MPA-AUC₀₋₁₂ in patients taking MMF or MPS. However, there was a significant association between dose of MPS and exposition, a finding not seen with MMF. This feature can be useful in clinical practice due to predictability of lower exposition with reduced dose of MPS. Patients using MMF to treat lupus nephritis also did not present a correlation between MMF dose and exposition, confirming the observed inter-individual variability of MMF [15].

Most of our patients were under MPS because it is the current standard MPA in our Hospital. The small number of patients under MMF may be a limitation of the study.

It has been showed that the increased gastric pH induced by PPI modifies the pharmacokinetics of MMF, decreasing the maximum exposition and disposability of MPA [16]. In our study, the patients taking MMF without PPI did not present MPA-AUC₀₋₁₂ below the target compared to 42.9% taking PPI. The same did not occur in patients taking MPS. These findings corroborate with the data of Kees *et al.* (2012) [4]. However, Oliveira *et al.* (2012) did not show influence of PPI in patients taking MMF or MPS, but they measured only the MPA trough level and the area under the curve exposition [17].

We performed MPA-AUC with limited samples with different time points for MMF and MPS according to strategies previously validated [7, 8]. However, Hougardy *et al.* (2016) showed a good strategy to monitor MMF but a weak performance for MPS; it could be because they use the last time point of plasma collection at 6 hours after ingestion instead of 4h [18].

We did not find influence of GFR on the MPA-AUC. We did not included patients with GFR below 30ml/min. Similar findings were seen in a study with 42 children in the late period after transplantation followed for 2 years. They showed no correlation between MPA exposure and GFR ($r = 0.03$, $p > 0.05$) [19].

Conclusion

This study showed a frequency of 20% of MPA-AUC below the target. There was an association between dose and exposure of MPA-AUC in patients taking MPS, but not with MMF. A negative correlation was seen between cyclosporine levels and MPA-AUC₀₋₁₂, but none with tacrolimus levels. The used of omeprazole was associated with MPA-AUC below target in patients taking MMF, but not in those taking MPS. The MPA-AUC₀₋₁₂ was not interfered by GFR.

Acknowledgements

We thank Cristiane Bündchen, Statistician, for his help and advice. CAPES for a scholarship grant to Natiana Nalin Vizioli and Novartis by financial support to perform the labs exams.

Bibliography

1. Pereira LM. Co-interferências da farmacocinética dos inibidores de calcineurina em associação com micofenolato de mofetil em pacientes transplantados renais [tese]. São Paulo: Universidade de São Paulo; 2006.
2. Langone A, Doria C, Greenstein S, et al. Does reduction in mycophenolic acid dose compromise efficacy regardless of tacrolimus exposure level? An analysis of prospective data from the Mycophenolic Renal Transplant (MORE) Registry. *Clinical Transplantation* 2012; **27**: 24.
3. Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of mycophenolate in solid organ transplant recipients. *Clin Pharmacokinet* 2007; **46**: 58.
4. Kees MG, Steinke T, Mortiz S, et al. Omeprazole Impairs the Absorption of Mycophenolate Mofetil But Not of Enteric-Coated Mycophenolate Sodium in Healthy Volunteers. *Journal Clinical Pharmacology* 2012; **52**: 1265.
5. Miura M, Satoh S, Innoue K, et al. Influence of Lansoprazole and Rabeprazole on Mycophenolic Acid Pharmacokinetics One Year After Renal Transplantation. *The Drug Monit* 2008; **30**: 51.
6. Antunes MV, Paris C, Thiele KO, Keitel E, Garcia VD, Linden R. Determinação de ácido micofenólico em plasma por cromatografia líquida de

alta eficiência com detector de arranjo de diodos (CLAE-DAD). *Latin American Journal of Pharmacy* 2009. **28**: 500.

7. Prémaud A, Le Meur Y, Debord J, et al. *Ther. Drug Monit* 2005; **27**: 354.

8. Sommerer C, Muller-Krebs S, Schaier M, et al. Pharmacokinetic and pharmacodynamic analysis of enteric-coated mycophenolate sodium: limited sampling strategies and clinical outcome in renal transplant patients. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2010; **69**: 346

9. Kiberd BA, Lawen J, Daley C. Limits to intensified mycophenolate mofetil dosing in kidney transplantation. *Ther Drug Monit* 2012; **34**: 736

10. Tornatore KM, Meaney CJ, Wilding GE, et al. Influence of Sex and Race on Mycophenolic Acid. Pharmacokinetics in Stable African American and Caucasian Renal Transplant Recipients. *Clin Pharmacokinet* 2015; **54**: 434.

11. Graff J, Scheuermann EH, Brandhorst G, Oellerich M, Gossmann J. Pharmacokinetic analysis of mycophenolate mofetil and enteric-coated mycophenolate sodium in calcineurin-inhibitor-free renal transplant recipients. *Ther Drug Monit* 2016; **38**: 388.

12. Sugioka N, Sasaki T, Kokuhu T, et al. Clinical Pharmacokinetics of Mycophenolate Mofetil in Japanese Renal Transplant Recipients: a

Retrospective Cohort Study in a Single Center. *Biol. Pharm. Bull* 2006; **29**: 2099.

13. Hesselink DA, van Hest RM, Mathot RA, et al. Cyclosporine interacts with mycophenolic acid by inhibiting the multidrug resistance-associated protein 2. *Am J Transplant* 2005; **5**: 987.

14. Kuypers DJ. Immunotherapy in Elderly Transplant Recipients A Guide to Clinically Significant Drug Interactions. *Drugs Aging* 2009; **26**: 737.

15. Zahr N, Laurent A, Marquet P, et al. Mycophenolic Acid Area Under the Curve Correlates With Disease Activity in Lupus Patients Treated With Mycophenolate Mofetil. *Arthritis Rheum* 2010; **62**: 2047

16. Wedemeyer RS, Blume H. Pharmacokinetic Drug Interaction Profiles of Proton Pump Inhibitors: An Update. *Drug Saf* 2014; **37**: 201

17. Oliveira CS. Monitoramento terapêutico do ácido micofenólico: validação de método e análise de interação com omeprazol [dissertação]. Porto Alegre (RS): Pontifícia Universidade Católica do Rio Grande do Sul; 2012.

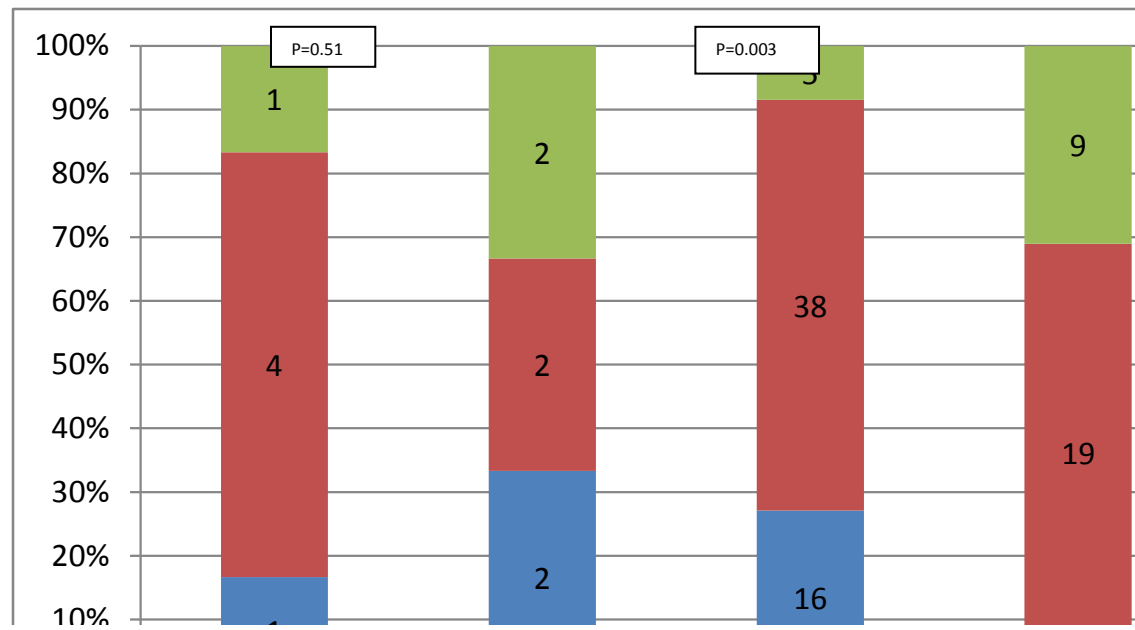
18. Hougardy JM, Maufort L, Cotton F, et al. Therapeutic drug monitoring of enteric-coated mycophenolate sodium by limited sampling strategies is associated with a high rate of failure. *Clin Kid J* 2016; **9**: 323.

19. Pape L, Ehrich JH, Offner G. Long-term follow-up of pediatric transplant recipients: mycophenolic acid trough levels are not a good indicator for long-term graft function. *Clin Transplant* 2004; **18**: 579.

Table 1. Baseline demographic data.

	MMF	MPS	P
	N=12	N=88	
Mean age (years)	44.1 ± 13.8	49.4 ± 12.7	0.176
Female gender	4 (33,3%)	41 (46.6%)	0.387
Body Mass Index (BMI)	26.4 ± 3.8	27.3 ± 4.7	0.51
Recipient of kidney from deceased donor	8 (66.7%)	62 (70.5%)	0.788
Ethnicity (Caucasian)	10 (83.3%)	75 (85.2%)	0.863
Diabetes Mellitus original disease	0	18 (21.5%)	0.079
Tacrolimus	9 (75%)	74 (84.1%)	0.424
Cyclosporine	3 (25%)	14 (15.9%)	
MPA Full Dose	6 (50%)	29 (33%)	0.246
Median (range) post transplant follow-up (month)	56.30 (13.4-150.8)	29.76 (6.03-242)	0.091
Mean (SD) Estimated GFR	49.09 ± 15.20	48.11± 11.87	0.797

MMF: mycophenolate mofetil; MPS: mycophenolate sodium, MPA: mycophenolic acid GFR= glomerular filtration rate , SD = standard deviation



MMF= Mofetil Mycophenolate, MPS= Sodium Mycophenolate, FD= full dose RD= reduced dose

Figure 1: Frequency of patients with MPA-AUC exposition related to recommended target according to full or reduced MPA dose.

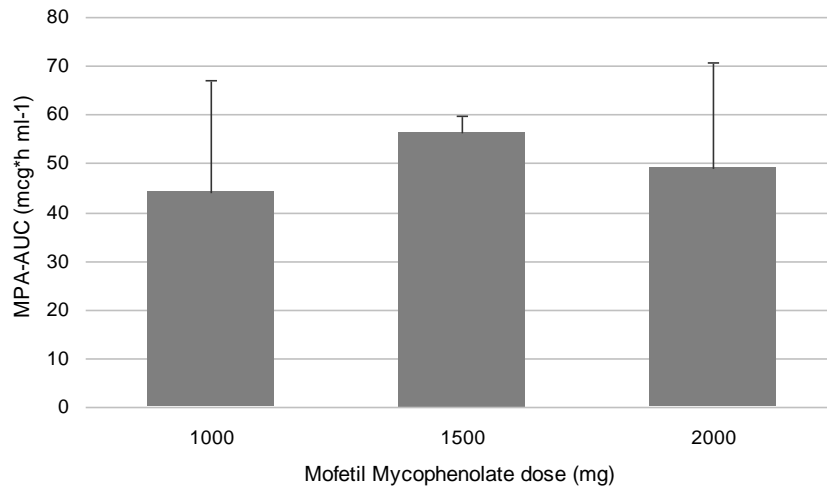


Figure 2. The mean of the area under the curve according to the mofetil mycophenolate dose.

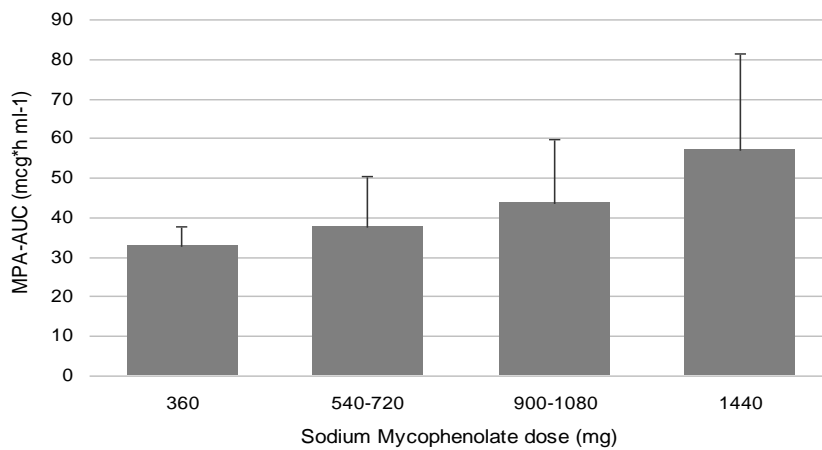


Figure 3. The mean of the area under the curve according to the sodium mycophenolate dose.

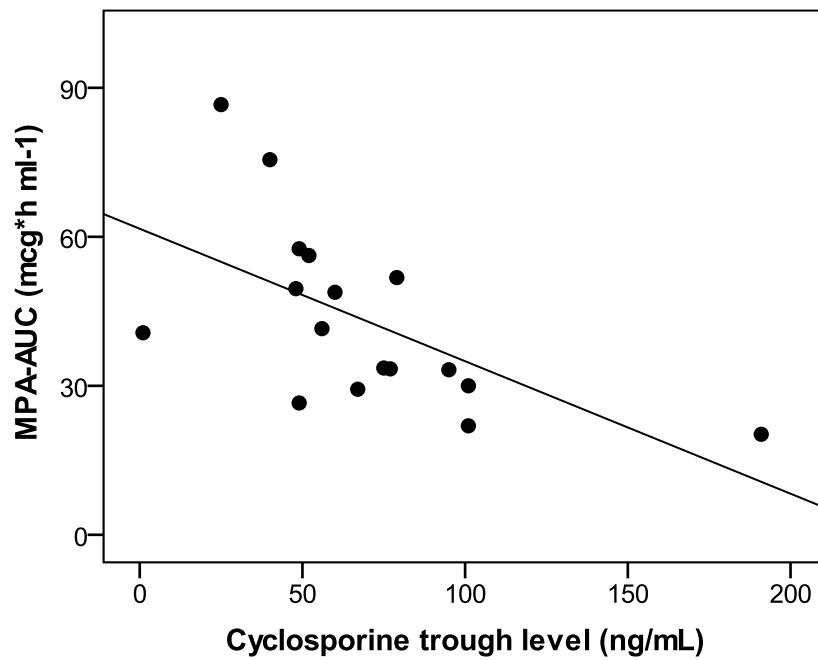


Figure 4. The correlation between trough level of cyclosporine and area under the curve of mycophenolic acid.

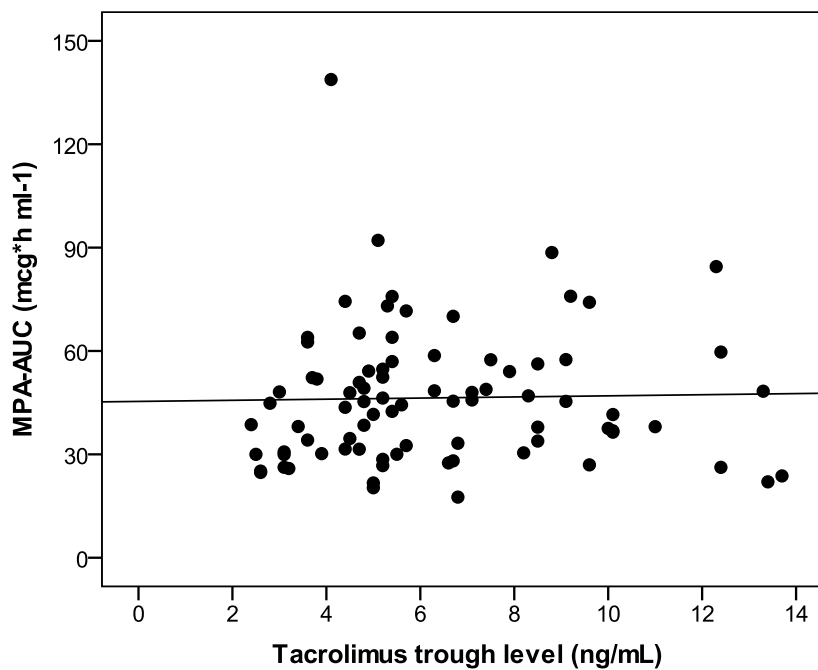


Figure 5. The correlation between trough level of tacrolimus and area under the curve of mycophenolic acid.

4. Considerações Finais

O AMF é amplamente empregado na prática clínica por sua potente ação imunossupressora. Embora as suas concentrações não sejam rotineiramente medidas e a administração da dose seja fixada ou ajustada de acordo com os eventos adversos, um número de estudos mais recentes preconizam a monitorização terapêutica do AMF, a fim de aperfeiçoar a terapia. A maioria dos estudos realizados mostra a exposição do período precoce após o transplante. Nosso estudo transversal contribuiu para o conhecimento da exposição do AMF no período tardio após o transplante renal, demonstrando que 20% dos pacientes estavam com a ASC abaixo do alvo.

Nossos dados também contribuíram para o melhor entendimento da interação da ciclosporina e do tacrolimo com o AMF, e a diferença de exposição entre os dois tipos comercializados no nosso meio, bem como para confirmar a interação dos IBPs com o MFM.

Através dos dados obtidos com esse trabalho estamos avaliando se o ajuste de dose do AMF através da monitorização pela ASC modifica os desfechos de rejeição aguda tardia e de rejeição crônica, bem como a formação de anticorpos específicos contra os antígenos do doador.

5. Anexos

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: "Um estudo prospectivo para avaliar a exposição do ácido micofenólico (MPA), através da área sob a curva(AUC), em receptores de transplantes renais recebendo micofenolato de mofetila (MMF) e após conversão para micofenolato de sódio(MPS)".

Pesquisador: VALTER DURO GARCIA

Área Temática: Área 3. Fármacos, medicamentos, vacinas e testes diagnósticos novos (fases I, II e III) ou não registrados no país (ainda que fase IV), ou quando a pesquisa for referente a seu uso com modalidades, indicações, doses ou vias de administração diferentes daquelas estabelecidas, incluindo seu emprego em combinações.

Versão: 4

CAAE: 09232812.1.0000.5335

Instituição Proponente: Irmandade da Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre - ISCMPA

Patrocinador Principal: NOVARTIS BIOCIENTIAS SA

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 350.521

Data da Relatoria: 19/07/2013

Apresentação do Projeto:

Estudo prospectivo em um único centro de pesquisa, exploratório e de farmacocinética. Os sujeitos de pesquisa serão selecionados para o estudo após o sexto mês pós-transplante renal. Os indivíduos que assinarem o termo de consentimento livre e esclarecido e preencherem os critérios de inclusão/ exclusão serão randomizados para o estudo e serão acompanhados por 6 meses. Após recrutados, os pacientes que recebem micofenolato de mofetila (MMF) irão realizar uma área sobre a curva (AUC) do ácido micofenólico (MPA) e serão estratificados em dois grupos:

Grupo 1 - Pacientes com AUC do MPA abaixo de 30mcg*h ml-1 e

Grupo 2- Pacientes com AUC do MPA entre 30 e 60mcg*h ml-1 ou acima de 60mcg*h ml-1

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário

- Avaliar a frequência de receptores de transplantes renais tomando MMF ácido micofenólico (MMF)

Endereço: R. Profº Annes Dias,285 Hosp.Dom Vicente Scherer

Bairro: 6º andar - Centro

CEP: 90.020-090

UF: RS

Município: PORTO ALEGRE

Telefone: 5132-1485

Fax: 5132-1485

E-mail: cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 350.521

ou EC- MPS) com área sobre a curva do ácido micofenólico abaixo do nível alvo (30mcg*h ml-1).

Objetivos Secundários

- Avaliar a AUC do MPA após a conversão para micofenolato de sódio com revestimento entérico (EC-MPS) com doses equivalentes de MMF e MPS;
- Avaliar a associação da AUC do MPA em receptores de transplante renal com anticorpos específicos contra o doador (DSA);
- Avaliar a interação entre MMF ou EC-MPS e inibidor de bomba de próton como omeprazol.
- Avaliar a associação da AUC do MPA com função renal estimada pela fórmula MDRD.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos: Os efeitos secundários mais comuns do micofenolato de sódio e do micofenolato de mofetila são: anemia (diminuição do número de células vermelhas), diarreia, mudanças na função do fígado, tosse, dor abdominal, fadiga (cansaço), leucopenia (redução anormal do número de leucócitos no sangue) e trombocitopenia (diminuição do número de plaquetas no sangue). O micofenolato de mofetila demonstrou ser eficaz para profilaxia da rejeição aguda ao transplante, entretanto, o uso deste agente é dificultado pelos efeitos colaterais como toxicidade gastrointestinal (GI) que pode ser em parte relacionada à formulação. Redução de dose ou interrupções podem levar à exposição sub-terapêutica ao MPA. Alguns medicamentos podem afetar as concentrações sanguíneas do micofenolato de sódio e micofenolato de mofetila aumentando os efeitos colaterais. As medicações utilizadas neste estudo também podem envolver riscos ainda não conhecidos. Os riscos associados à coleta de sangue são: hemorragia, lesão com hematoma, inchaço ou infecção no local de onde o sangue foi colhido. A biópsia renal pode ser dolorida e causar um hematoma no local, podendo ocorrer sangramento devido a inserção da agulha no rim, fazendo com que esse sangue apareça na urina.

Benefícios: Melhorar o manejo de terapias já existentes através da determinação da área sob a curva (AUC) dos medicamentos que contém ácido micofenólico (MPA). Estabelecer uma associação através da AUC entre o MPA e a formação de anticorpos específicos contra o doador sirolimo durante a manutenção da imunossupressão após transplante de rim. Eles sugeriram que a influência do tacrolimo sobre a farmacocinética do MPA reflete uma interação dos dois agentes ao nível da sua absorção intestinal (Braun et al., 2009). Os efeitos colaterais do micofenolato são bem conhecidos e incluem depressão da medula óssea (anemia, leucopenia e trombocitopenia) e intolerabilidade gastrointestinal (dor abdominal,

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: 5132-1485 **Fax:** 5132-1485 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 350.521

náuseas, diarreia, constipação, vômitos, dispepsia e anorexia). Muitos pacientes acabam tomando doses baixas de micofenolato por causa dos efeitos colaterais. Cerca da metade dos pacientes que recebem tacrolimo e MMF necessitam uma redução da dose de MMF. Embora as concentrações de MPA não são rotineiramente medidas e a administração da dose é fixada ou ajustada de acordo com os eventos adversos, um número de estudos mais recentes concentraram-se na monitorização terapêutica de MPA, a fim de otimizar a terapia

(Miura et al., 2008). Entre os benefícios da monitorização terapêutica do MPA está a avaliação da interação entre MPA e IBPs e a associação da redução de anticorpos específicos contra doador.

Tamanho da Amostra no Brasil: 100 Data do Primeiro 09/07/13 00:00, a longo prazo, podem prejudicar a função renal e ocasionar a perda do enxerto renal.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Enviado a Emenda 2 no protocolo de 16 maio 2013.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Após reanálise do projeto acima descrito e da Emenda 2, recomenda-se aos pesquisadores realçar as alterações realizadas no projeto. O projeto enviado, no formato Plataforma, Brasil, não contém nenhuma alteração e não faz referências a nova Emenda.

Recomendações:

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Após análise do projeto acima descrito recomenda-se aprovar. A pesquisa atende as exigências, em seus aspectos éticos e metodológicos, as Diretrizes Normas, especialmente as Resoluções 196/96, 251/97, 292/99, 346/05, 347/05 do Conselho Nacional de Saúde.

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Após avaliação das alterações efetuadas no estudo acima descrito, o presente Comitê não encontrou óbices quanto à implementação das mesmas.

Emenda ao Protocolo - versão 2 datada de 16/Maio/2013.

Endereço: R. Profº Annes Dias, 285 Hosp. Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: 5132-1485 **Fax:** 5132-1485 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br

IRMANDADE DA SANTA CASA
DE MISERICORDIA DE PORTO
ALEGRE - ISCMPA



Continuação do Parecer: 350.521

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - versão 02 datada de 11/Jun./2013.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido - versão 03 datada de 11/Jun./2013.

PORTO ALEGRE, 06 de Agosto de 2013

Assinador por:
Claudio Teloken
(Coordenador)

Endereço: R. Profº Annes Dias,285 Hosp.Dom Vicente Scherer
Bairro: 6º andar - Centro **CEP:** 90.020-090
UF: RS **Município:** PORTO ALEGRE
Telefone: 5132-1485 **Fax:** 5132-1485 **E-mail:** cep@santacasa.tche.br