

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS**  
**MÉDICAS:NEFROLOGIA - MESTRADO E DOUTORADO**

**FARMACOCINÉTICA DA CICLOSPORINA EM PACIENTES**  
**ANTI-HCV POSITIVOS PRÉ E PÓS - TRANSPLANTE RENAL**

**Luciano Wolffenbüttel**

**Dissertação apresentada como requisito**  
**parcial para obtenção do grau de Mestre**  
**em Nefrologia**

**Orientador: Prof. Dr. Luiz Felipe Santos Gonçalves**

**Porto Alegre, dezembro de 2000**

## DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho à minha esposa, Sandra, incentivadora de todas as horas que, ao demonstrar seu orgulho de ser minha mulher, não me deixava outra saída a não ser seguir em frente.

Dedico àqueles que tornaram-me capaz de realizá-lo, os meus professores, desde o jardim de infância, e todos os que vieram a seguir, inclusive o mais recente, Prof. Dr. Luiz Felipe Santos Gonçalves, orientador e amigo.

Dedico também esta pequena parcela de minha vida à minha mãe, Tania, que doou boa parte da sua própria vida aos filhos, é uma mãe maravilhosa e merece mais do que ninguém esta homenagem.

Dedico enfim, ao inspirador desta aspiração acadêmica, meu pai, Raul, mestre em química de solos pela Faculdade de Agronomia da UFRGS, modelo e companheiro, que infelizmente não pode presenciar este momento.

## AGRADECIMENTOS

Esta dissertação é o resultado do trabalho de um conjunto de pessoas, às quais neste momento eu presto meus sinceros agradecimentos:

Primeiramente, agradeço aos pacientes, voluntários desta pesquisa, que, sem compensação alguma, doaram um pouco do seu tempo e do seu sangue para o progresso da ciência e para o bem de todos.

Agradeço aos acadêmicos de Medicina, Débora Dourado Poly e Cristiano Martins Blaya, pela inestimável cooperação.

Meu especial agradecimento à equipe do Laboratório de Radioimunoensaio do HCPA, Dr. Francisco Lhullier, Dra. Lígia Crossetti, Dr. José Romildo de Jesus, Sra. Dalva Camargo, Sra. Neiva Dias e Sra. Gislaíne Ângelo, que tão gentilmente executaram quase 600 dosagens de ciclosporina, possibilitando a realização desta pesquisa.

Agradeço também às Dras. Marisa Chesky e Rosana Scalco, bioquímicas farmacêuticas do Laboratório de Imunologia do HCPA, que executaram as reações em cadeia da polimerase.

Agradeço à Dra. Suzi Alves Camey, professora de estatística, pelo auxílio na análise dos dados.

Agradeço, por fim, ao Curso de Pós-Graduação em nefrologia, pelo apoio dele recebido.

## SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS	7
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE QUADROS E FIGURAS	13
RESUMO	14
ABSTRACT	16
1 Introdução	18
1.1 Ciclosporina	21
1.1.1 Farmacocinética da ciclosporina	22
1.1.2 Métodos de dosagem e monitorização terapêutica da ciclosporina	25
1.2 Hepatite C	28
1.2.1 Testes diagnósticos para infecção pelo vírus da hepatite C	29
1.2.2 Características clínicas da infecção pelo vírus da hepatite C	32
1.3 Farmacocinética da ciclosporina e infecção pelo vírus da hepatite C	34
1.4 Objetivos	36
1.5 Hipótese Conceitual	36
2 Pacientes e métodos	37
2.1 Pacientes	37
2.2 Métodos	39
2.2.1 Procedimento do estudo pré-transplante	39
2.2.2 Procedimento do estudo pós-transplante	40
2.2.3 Dosagens de ciclosporina	40

2.2.4	Testagem para anticorpos anti-VHC	41
2.2.5	Testagem para viremia	42
2.3	Variáveis	43
2.4	Análise estatística	47
3	Resultados	48
3.1	Estudo pré-transplante	48
3.1.1	Características da amostra	48
3.1.2	Parâmetros farmacocinéticos	50
3.1.3	Estratégia abreviada para estimativa da área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas	53
3.2	Estudo pós-transplante	55
3.2.1	Características da amostra	55
3.2.2	Parâmetros farmacocinéticos	58
3.2.3	Seguimento pós-transplante	61
3.2.4	Estratégia abreviada para estimativa da área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas	65
4	Discussão	67
4.1	Características da amostra	67
4.2	Correlações não-paramétricas das variáveis independentes com os parâmetros farmacocinéticos	69
4.2.1	Tempo para atingir a concentração máxima	69
4.2.2	Concentração máxima	71
4.2.3	Meia-vida de eliminação	72

4.2.4	Área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas	74
4.2.5	Concentração mínima	77
4.3	Comparação dos parâmetros farmacocinéticos entre os pacientes portadores do VHC e o grupo controle	79
4.3.1	Tempo para atingir a concentração máxima	79
4.3.2	Concentração máxima	82
4.3.3	Meia-vida de eliminação	84
4.3.4	Área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas	86
4.3.5	Concentração mínima	89
4.4	Seguimento pós-transplante	91
4.5	Estratégia abreviada para estimativa da área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas	93
5	Conclusões	96
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	97
	ANEXO 1	111
	ANEXO 2	114

## LISTA DE ABREVIATURAS

ALT – alanino aminotransferase

AST – aspartato aminotransferase

ASC – área sob a curva de concentração ao longo do tempo

ASC<sub>0-12</sub> – área sob a curva de concentração do tempo zero ao tempo 12 horas

AZA – azatioprina

C<sub>máx</sub> – concentração máxima

C<sub>min</sub> – concentração mínima

C<sub>min1</sub> – concentração mínima no final do 1º mês pós-transplante

C<sub>min12</sub> – concentração mínima no final do 12º mês pós-transplante

C<sub>min3</sub> – concentração mínima no final do 3º mês pós-transplante

C<sub>min6</sub> – concentração mínima no final do 6º mês pós-transplante

CMV – citomegalovírus

Col. - colaboradores

Cr – creatinina plasmática

CsA – ciclosporina

CsA-ME – ciclosporina em microemulsão

DCE – depuração da creatinina endógena

DP – desvio padrão

EDTA – ácido etileno diamino tetraacético

ELISA – método de imunoabsorção ligado a enzima

ELISA2 - método de imunoabsorção ligado a enzima de segunda geração

ELISA3 - método de imunoabsorção ligado a enzima de terceira geração

GGT – gamaglutamil transferase

HBsAg – antígeno de superfície do vírus da hepatite B

HCPA – Hospital de Clínicas de Porto Alegre

HDL – lipoproteína de alta densidade

VIH – vírus da imunodeficiência humana

Ht – hematócrito

IL-2 – interleucina 2

IMC – índice de massa corporal

IRC – insuficiência renal crônica

kD – quilodaltons

NS – não-significativo

NTA – necrose tubular aguda

PCR – reação em cadeia da polimerase

PO – pós-operatório

PRED – prednisona

r – grau de correlação

$r^2$  – coeficiente de determinação

RAC – rejeição aguda celular

Ref. – referência bibliográfica

RNA – ácido ribonucléico

$t_{1/2}$  - meia-vida de eliminação

$T_{máx}$  – tempo para atingir a concentração máxima

$V_d$  – volume de distribuição

VHB – vírus da hepatite B

VHC – vírus da hepatite C

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Características demográficas dos pacientes ELISA+ e ELISA- do estudo pré-transplante. \_\_\_\_\_ 49

Tabela 2. Parâmetros laboratoriais dos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pré-transplante. \_\_\_\_\_ 49

Tabela 3. Correlações de Spearman das variáveis independentes com as variáveis dependentes do estudo pré-transplante. \_\_\_\_\_ 50

Tabela 4. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pré-transplante. \_\_\_\_\_ 51

Tabela 5. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos PCR+ e ELISA- do estudo pré-transplante. \_\_\_\_\_ 52

Tabela 6. Efeito do sexo na  $ASC_{0-12}$  nos grupos PCR+ e ELISA-. \_\_\_\_\_ 53

Tabela 7. Correlação de Pearson dos 12 pontos da curva farmacocinética com a  $ASC_{0-12}$  dos pacientes do estudo pré-transplante

54

Tabela 8. Causas de exclusão de pacientes do estudo pós-transplante. \_\_\_\_\_ 55

Tabela 9. Características demográficas dos pacientes ELISA+ e ELISA- do estudo pós-transplante. \_\_\_\_\_ 56

Tabela 10. Distribuição das variáveis relacionadas ao transplante dos grupos ELISA+ e ELISA-. \_\_\_\_\_ 57

Tabela 11. Parâmetros laboratoriais dos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pós-transplante. \_\_\_\_\_ 58

Tabela 12. Correlação de Spearman das variáveis independentes com as variáveis dependentes do estudo pós-transplante. \_\_\_\_\_ 59

Tabela 13. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pós-transplante. \_\_\_\_\_ 60

Tabela 14. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos PCR+ e ELISA- do estudo pós-transplante. \_\_\_\_\_ 61

Tabela 15. Dose e nível de vale da CsA no 1º, 3º 6º e 12º mês pós-transplante nos grupos ELISA+ e ELISA-. \_\_\_\_\_ 64

Tabela 16. Dose e nível de vale da CsA no 1º, 3º 6º e 12º mês pós-transplante nos grupos PCR+ e ELISA-. \_\_\_\_\_ 65

Tabela 17. Correlação de Pearson dos 13 pontos da curva farmacocinética dos pacientes do estudo pós-transplante com a  $ASC_{0-12/dose}$ . \_\_\_\_\_ 66

Tabela 18. Parâmetros farmacocinéticos da CsA-ME em estudos com voluntários. \_\_\_\_\_ 81

Tabela 19. Parâmetros farmacocinéticos da CsA-ME em estudos com transplantados. \_\_\_\_\_ 82

Tabela 20. Algoritmos para cálculo aproximado da ASC da CsA-ME em transplantados renais. \_\_\_\_\_ 95

## LISTA DE QUADROS E FIGURAS

Quadro 1. Fármacos que interferem com a farmacocinética da CsA. \_\_\_\_\_24

Figura 1. Nível de vale corrigido para a dose de CsA administrada, no seguimento pós-transplante dos grupos ELISA+ e ELISA-. \_\_\_\_\_63

Figura 2. Nível de vale corrigido para a dose de CsA administrada, no seguimento pós-transplante dos grupos PCR+ e ELISA-. \_\_\_\_\_63

## RESUMO

A ciclosporina (CsA), a despeito da recente introdução de novas drogas imunossupressoras, permanece como a pedra angular da terapia antirejeição do receptor de enxerto renal. No Brasil, 30% dos pacientes em lista de espera para transplante renal são anti-VHC+, e observações prévias do nosso grupo sugerem uma farmacocinética da CsA alterada nesses pacientes. Com o objetivo de avaliar esta hipótese, dois estudos paralelos foram feitos: um estudo pré-transplante com 22 pacientes em hemodiálise aguardando transplante, 11 anti-VHC+ (ELISA3), 7 dos quais PCR+, e 11 anti-VHC-, que receberam uma dose única oral de 8 mg/kg de ciclosporina em microemulsão (CsA-ME); e um estudo no 15º dia pós-transplante, com 24 receptores consecutivos, 10 ELISA+ (6 PCR+) e 14 ELISA-, que receberam a dose oral de CsA em microemulsão indicada pela equipe assistente. Os parâmetros farmacocinéticos foram calculados a partir de 13 dosagens (tempo 0-12 h pós-dose) feitas por fluorimetria polarizada com anticorpos monoclonais (Abbot Laboratories, Illinois). Aqueles HbsAg+, com transaminases elevadas, diabéticos ou usando drogas que tivessem interação farmacocinética com a CsA foram excluídos. A análise estatística foi feita pelo teste t e Mann-Whitney. As variáveis demográficas com conhecida influência sobre a farmacocinética da CsA foram similares nos dois grupos. No estudo pré-transplante, , a  $C_{m\acute{a}x}$  foi 40% maior, a  $ASC_{0-12}$  42% maior ( $p<0,05$ ) e a  $C_{min}$  56% maior entre os pacientes ELISA+ comparados aos ELISA-. Essas diferenças foram acentuadas comparando o subgrupo PCR+ com os pacientes VHC- ( $C_{m\acute{a}x}$  58% maior - $p=0,05$ -,  $ASC_{0-12}$  69% maior - $p<0,01$ -, e  $C_{min}$  91% maior

- $p < 0,01$ -). No estudo pós-transplante a  $C_{\text{máx}}$ , a  $ASC_{0-12/\text{dose}}$  e a  $C_{\text{min}}$  não diferiram estatisticamente entre os grupo anti-VHC+ e anti-VHC- (21%, 23% e 2% maior, respectivamente). Ao avaliar apenas os pacientes PCR+, a  $C_{\text{máx}}$  foi 50% maior ( $p < 0,01$ ) e a  $ASC_{0-12/\text{dose}}$  45% maior ( $p < 0,05$ ) do que o grupo ELISA-. O nível de vale, acompanhado pelos 12 meses pós-transplante, foi sempre superior entre os pacientes ELISA+, a despeito de doses menores de CsA, atingindo significância aos seis meses. Concluímos que os pacientes anti-VHC+, principalmente aqueles com viremia (PCR+), têm a farmacocinética da CsA microemulsão alterada, com níveis de pico e  $ASC_{0-12/\text{dose}}$  maiores que os controles anti-VHC-.

## ABSTRACT

Cyclosporine (CsA), despite recent introduction of new immunosuppressive drugs, still remains the cornerstone of kidney transplant recipient immunosuppression. In Brazil, 30% of patients waiting for kidney transplantation are anti-HCV+, and previous observations of our group suggest an altered CsA pharmacokinetics in these patients. In order to evaluate that, two parallel studies were done: a pre-transplant study with 22 dialysis patients waiting for transplantation, 11 anti-HCV+ (ELISA third generation), 7 of them PCR+, and 11 anti-HCV-, which received a 8 mg/kg single oral dose of CsA microemulsion (CsA-ME); and a 15<sup>th</sup> day post-transplant study with 24 consecutive recipients, 10 ELISA+ (6 PCR+) and 14 ELISA-, which received the CsA microemulsion oral dose indicated by the assistants. Pharmacokinetics parameters were calculated from 13 dosages (time 0-12 hours post-dose) performed by fluorescence polarization immunoassay with monoclonal antibodies (Abbot Laboratories, Illinois). Those patients HbsAg+, with elevated transaminases, diabetics or using drugs interacting with CsA pharmacokinetics were excluded. Statistical analysis was done by t test and Mann-Whitney. Demographic variables with already known CsA pharmacokinetics influences were similar in both groups. In the pre-transplant study, C<sub>max</sub> was 40% higher, AUC<sub>0-12</sub> 42% higher (p< 0,05) and C<sub>min</sub> 56% higher for HCV+ patients in comparison to HCV- ones. These differences were accentuated comparing PCR+ with HCV- patients (C<sub>max</sub> 58% higher - p= 0,05 -, AUC<sub>0-12</sub> 69% higher - p< 0,01 -, and C<sub>min</sub> 91% higher- p< 0,01). In the post-transplant study C<sub>max</sub> was 21% higher,

AUC<sub>0-12/dose</sub> 23% higher and C<sub>min</sub> 2% higher for HCV+ patients. When evaluating only PCR+ patients, C<sub>max</sub> was 50% higher (p< 0,01) and AUC<sub>0-12/dose</sub> 45% higher (p< 0,05) than ELISA- group. Trough levels, followed for 12 months PO, remained higher in HCV+ patients, despite small doses of CsA. We conclude that anti-HCV+ patients, mainly those with viremia (PCR+), have altered CsA microemulsion pharmacokinetics, with higher peak levels and drug exposure than control patients anti-VHC-.

## 1 Introdução

A insuficiência renal crônica (IRC) em fase terminal, com necessidade permanente de terapia de substituição renal, incide em 80 a 90 pacientes por milhão de habitantes/ano<sup>85</sup>. Anualmente, portanto, aproximadamente 800 a 900 pacientes novos necessitam tratamento dialítico no Rio Grande do Sul, havendo em torno de 2200 pacientes em programa crônico de hemodiálise no estado (dados da Secretaria Estadual de Saúde). No Brasil, no ano de 1999, havia em torno de 37039 pacientes em hemodiálise, o que gerou um custo aproximado de R\$ 482.247.780,00, somente com a terapia renal substitutiva (dados do Ministério da Saúde).

As possibilidades terapêuticas para esta condição incluem a hemodiálise, a diálise peritoneal ambulatorial e o transplante renal. Este último, respeitadas as suas contra-indicações, é a melhor opção de tratamento para o renal crônico. Isto deve-se ao fato de, comparado à diálise, é mais barato, provê uma depuração sangüínea superior, mantém as outras funções renais (endócrina, metabólica e reguladora), permite uma melhor qualidade de vida e uma maior sobrevida. Estima-se que o custo do transplantado renal para o SUS, a partir de um ano livre de tratamento dialítico, passa a ser menor do que se o paciente permanecesse em diálise. Além disso, o

transplantado pode muitas vezes retornar ao mercado de trabalho, desonerando o INSS. A qualidade de vida do renal crônico transplantado é melhor do que a daqueles que permanecem em hemodiálise<sup>60, 69</sup>, pois o indivíduo deixa de depender de métodos dialíticos para a sobrevivência, possibilitando uma melhor reabilitação física, social e psicológica. Adicionalmente, as complicações decorrentes da IRC e da própria diálise, incidentes a longo prazo, são evitadas. O nível de habilidade funcional (Índice de Karnofsky)<sup>16</sup> foi significativamente superior entre os transplantados. Por fim, um grande estudo longitudinal<sup>93</sup>, prospectivo, com 228.532 pacientes em hemodiálise elegíveis para receber transplante renal demonstrou que, 18 meses após a cirurgia, o risco relativo de morte é significativamente menor entre os pacientes que submeteram-se ao transplante (risco relativo=0,32), comparados aos que permaneceram em lista de espera (risco relativo=1).

Desde a introdução da ciclosporina (CsA), houve uma importante melhora nos resultados do transplante renal, com taxas médias de sucesso ao final do primeiro ano de 90% em alguns centros transplantadores<sup>15, 68</sup>. Nos Estados Unidos, no período de 1991-1997, a sobrevida do paciente e do enxerto em 5 anos foi, respectivamente, 82% e 63%<sup>9</sup>. O transplante traz associadas, portanto, taxas de morbidade, mortalidade e risco de perda do enxerto. As perdas precoces ocorrem em geral por motivos técnico-cirúrgicos (trombose arterial), por necrose cortical devido à isquemia prolongada, ou por uma das formas de rejeição precoce (hiperaguda, acelerada ou aguda).

As perdas tardias constituem-se, atualmente, no maior empecilho para o sucesso a longo prazo do transplante renal. O principal fator causal das perdas tardias é a rejeição crônica, mesmo após a introdução da CsA<sup>5</sup>. Alguns centros reportam que

de 50 a 80% dos pacientes transplantados retornam à diálise em decorrência desta patologia<sup>78</sup>. A rejeição crônica tem etiopatogenia e fisiopatologia ainda mal entendidas. Fatores hemodinâmicos (hipertensão glomerular), metabólicos (dislipidemia) e imunológicos (episódios anteriores de rejeição aguda, imunossupressão insuficiente, incompatibilidade do complexo maior de histocompatibilidade) estão envolvidos, levando a um resultado final de atrofia tubular, fibrose intersticial e glomerulopatia crônica do enxerto<sup>32</sup>.

Em suma, a insuficiência renal crônica é uma condição de grande impacto individual e social, que gera um elevado custo, decorrente do seu tratamento e da perda da capacidade laboral dos pacientes afetados. O tratamento que possibilita melhores resultados e menor custo é o transplante renal, respeitadas as suas indicações. Todos os esforços, portanto, devem ser empregados no sentido de melhorar os resultados dessa modalidade terapêutica, que, embora tenha evoluído muito nos últimos anos, pode ainda ser aprimorada, principalmente no tocante à incidência de complicações associadas e de perdas tardias do enxerto.

## 1.1 Ciclosporina

A melhora dos resultados do transplante renal ocorrida na última década deveu-se, principalmente, ao refinamento da tipagem tecidual e das provas cruzadas pré-transplante, à evolução das técnicas cirúrgicas e do manejo peri-operatório, e à introdução de terapias imunossupressoras mais efetivas<sup>86</sup>. Nesse item, a ciclosporina foi a droga com maior impacto na prevenção da rejeição aguda e, desde a década de 80, faz parte do protocolo de imunossupressão da maioria dos centros de transplante renal do mundo.

A ciclosporina é obtida a partir de um fungo (*Tolypocladium inflatum*), possui peso molecular de 1200 kD, sendo composta por 11 aminoácidos, a maioria dos quais hidrofóbicos<sup>91</sup>. Trata-se de um potente imunossupressor, cujos efeitos farmacológicos e processos farmacodinâmicos *in vivo* e *in vitro* foram extensamente estudados<sup>6</sup>. Em contraste com os imunossupressores clássicos, a CsA exerce seus efeitos especificamente nos linfócitos T. De maneira simplificada, a droga induz imunossupressão prevenindo a ativação dos linfócitos não estimulados num estágio inicial do ciclo celular (transição G0-G1). Esse efeito é mediado pela calmodulina e produzido principalmente pela inibição da síntese e liberação de interleucina-2 (IL-2) e de outras linfocinas pelos linfócitos T-auxiliares<sup>26</sup>.

### 1.1.1 Farmacocinética da ciclosporina

.A ciclosporina é um composto hidrofóbico, solúvel em lipídios e solventes orgânicos, cuja farmacocinética já foi profundamente estudada<sup>25, 54</sup>. Sua absorção oral é incompleta, ocorrendo na porção proximal do intestino delgado. A fração absorvida da droga varia amplamente entre pacientes urêmicos e transplantados renais, dentro de uma faixa de 2 a 89% em um estudo<sup>72</sup>, porém com valores ao redor de 30% na maioria dos pacientes em vários outros estudos<sup>4, 24, 51, 62, 71, 75</sup>. Os principais fatores envolvidos na absorção da CsA são a presença de sais biliares na luz intestinal (a qual depende de uma boa função hepática e de um adequado fluxo biliar) e a ausência de estados de má-absorção (diarréia, lesão epitelial difusa, intestino curto). Recentemente a atividade intestinal da glicoproteína P foi responsabilizada por 30% da variabilidade interindividual da concentração máxima (C<sub>máx</sub>) da CsA<sup>57</sup>. Fatores de menor importância são a presença de alimentos, diabetes melito e tempo após o transplante (atingindo um máximo em 2 a 4 semanas, e retornando aos níveis iniciais de absorção após seis meses)<sup>35, 87</sup>.

O C<sub>máx</sub> é atingido em 1 a 6 horas (T<sub>máx</sub>) após a ingestão do fármaco. A CsA se distribui ampla e rapidamente nos tecidos, num volume que varia de 1,8 a 13,8 l/kg, atingindo em média um volume aparente de distribuição de 600 litros (semelhante ao da digoxina). A meia-vida de distribuição é de 1,2 h<sup>35</sup>. A droga concentra-se no fígado, no pâncreas, no tecido adiposo e nos tecidos linfóides. A porcentagem de gordura corporal teoricamente poderia influenciar o volume de distribuição (V<sub>d</sub>) da droga, pois a CsA é lipossolúvel. Yee e colaboradores<sup>96</sup>, porém,

não demonstraram diferenças no Vd da CsA entre sete obesos e 39 não obesos transplantados de medula óssea, e Flechner e colaboradores<sup>22</sup> chegaram a mesma conclusão ao estudar 10 obesos e 35 não obesos urêmicos. A distribuição da CsA no sangue depende de sua concentração, do hematócrito, do nível de lipoproteínas plasmáticas e da temperatura corporal. Aproximadamente 58% circula ligada aos glóbulos vermelhos, e 9% aos leucócitos. Quase a totalidade dos 33% restantes circula no plasma ligada à lipoproteínas, ficando uma fração livre entre 0,5 e 4,2%<sup>50</sup>.

A depuração da CsA tem variação interindividual de até 20 vezes<sup>35</sup>. Menos de 1% da CsA é excretada inalterada, e os metabólitos são praticamente inativos, sendo o composto original responsável pela quase totalidade da atividade biológica do fármaco. O metabólito mais ativo, AM1, possui apenas 5% da atividade da droga mãe. A excreção urinária da CsA é desprezível, sendo menor do que 1% de uma determinada dose<sup>59</sup>. A droga sofre extensa metabolização pelas isoenzimas do citocromo P450-3A, as quais são encontradas principalmente no fígado, mas também no epitélio intestinal<sup>44</sup>. Através de hidroxilação e da N-desmetilação são gerados mais de 30 metabólitos, que por sua vez são excretados na bile. Os principais fatores envolvidos na variabilidade da metabolização da CsA são: genéticos, idade (maior nas crianças e menor em adultos após os 45 anos) e doença hepática<sup>54</sup>. Além desses fatores pessoais, outras drogas administradas concomitantemente podem ter uma influência marcada na metabolização da CsA, induzindo ou inibindo o sistema P450 (quadro 1).

Quadro 1. Fármacos que interferem com a farmacocinética da CsA.

<b>Fármacos que aumentam o nível sanguíneo da CsA</b>
Esteróides androgênicos
Antagonistas do canal do cálcio
Corticoesteróides (em altas doses)
Danazol
Doxiciclina
Antibióticos macrolídeos
Fluconazole
Cetoconazole
Ticarcilina
Quinolonas
Tamoxifen
Anticoncepcionais orais
<b>Fármacos que diminuem o nível sanguíneo da CsA</b>
Anticonvulsivantes
Isoniazida
Rifampicina
Metimazole
Nafcilina
Octreotide
Probucol
Warfarim

A CsA pode causar uma série de efeitos adversos clinicamente significativos. Como a faixa terapêutica é estreita, muitos pacientes apresentam efeitos indesejáveis importantes. Os principais efeitos adversos são: nefrotoxicidade; hepatotoxicidade; distúrbios neurológicos (tremores, convulsões, neuropatia periférica, depressão); cardiovasculares (retenção hidrossalina, fenômeno de Raynaud, tendência trombótica); metabólicos (dislipidemia, hipercalcemia, hiperuricemia, hiperglicemia); imunológicos (predisposição às neoplasias e infecções)<sup>19</sup>.

### 1.1.2 Métodos de dosagem e monitorização terapêutica da ciclosporina

A mensuração da concentração da CsA pode ser feita no sangue total ou no plasma. Como a droga concentra-se nos glóbulos vermelhos e nos leucócitos, os níveis séricos podem estar abaixo do limite de detecção mesmo com imunossupressão eficaz<sup>43</sup>. Além disso, o equilíbrio químico da CsA entre os compartimentos intra e extracelular do sangue é altamente dependente da temperatura<sup>66</sup>. Esses fatores tornam a dosagem no sangue total mais útil e prática.

Existem três métodos principais para a determinação do nível sanguíneo, a saber: cromatografia líquida de alta pressão, fluorimetria polarizada e radioimunoensaio<sup>53</sup>. A cromatografia mede diretamente a concentração da CsA, sendo o método mais preciso. Trata-se, porém, de técnica laboriosa, que requer várias horas para uma única dosagem, e por isso não é empregada em nível clínico. Os outros dois métodos são indiretos, baseados em reação antígeno-anticorpo revelada por fluorescência ou radioatividade. Nos ensaios iniciais, os anticorpos utilizados eram de natureza policlonal e apresentavam reatividade cruzada com os diversos metabólitos da CsA. Mais recentemente, foram disponibilizados ensaios com anticorpos monoclonais específicos para a droga mãe. Estes ensaios produzem resultados que guardam alta correlação com os níveis determinados através da cromatografia ( $r=0,96$ ), sendo atualmente os mais usados na prática clínica<sup>42</sup>.

A monitorização terapêutica da CsA é mandatória no transplante de órgãos, desde que foi demonstrada uma associação entre a concentração sanguínea total da droga e eventos clínicos como nefrotoxicidade e rejeição do enxerto<sup>39</sup>. Há três modelos principais para determinação da dose ideal de um determinado fármaco:

- a) ajuste baseado no objetivo terapêutico final. É o método ideal de ajuste, pois a dose é titulada levando em conta diretamente o desfecho pretendido (por exemplo, dose de paracetamol para alívio da cefaléia). Na situação de uso da CsA em transplantados renais, o objetivo é a prevenção da perda do enxerto, medida por anos de sobrevida. Portanto, não é possível utilizar este parâmetro para ajustes na dose de CsA, devido ao seu caráter irreversível e ao longo tempo de latência.
- b) ajuste baseado em objetivos terapêuticos intermediários. Exemplo deste método é o ajuste da dose de coumarínicos baseados no tempo de protrombina, em pacientes com trombose venosa profunda. Neste caso, o ajuste é feito levando em conta apenas um valor-alvo para o TP, mas o objetivo terapêutico real é evitar tromboembolismo. Como a CsA exerce seus efeitos imunossupressores principalmente através da inibição da produção e liberação da IL-2, a qual é quase completamente bloqueada em cultura mista de linfócitos por concentrações de CsA acima de 100 ng/ml<sup>7</sup>, um objetivo terapêutico intermediário potencial seria a mensuração da produção da IL-2 pelos linfócitos do receptor. É, no entanto, um procedimento caro e demorado, e não há, no momento, definição sobre quando essas concentrações devem ser atingidas *in vivo* (no pico, na média ou no vale), por quanto tempo elas devem ser mantidas, e qual a correlação entre a concentração sanguínea total e a concentração nos tecidos-alvo (enxerto e órgãos linfóides). Paralelamente, não se definiu uma correlação entre a inibição da produção de IL-2 pelos linfócitos do receptor com a sobrevida renal,

sendo necessários maiores estudos nesta área.

- c) ajuste baseado diretamente na concentração sangüínea da droga. Este método pode ser empregado caso haja algum tipo de correlação conhecida entre determinada faixa de concentração da droga em questão e o objetivo terapêutico pretendido. Algumas características da CsA, favorecem esta estratégia. Primeiro, existe uma clara associação de efeitos adversos com concentrações sangüíneas de vale acima de 400 ng/ml, e de ocorrência de rejeição aguda com concentrações no vale abaixo de 150 ng/ml durante o primeiro mês pós-transplante<sup>30, 52, 63</sup>. Segundo, a droga mantém seu efeito constante ao longo do tempo. Terceiro, a concentração da CsA no sítio de ação está diretamente relacionada com o seu efeito farmacodinâmico *in vitro*. Quarto, a concentração sangüínea total da CsA é facilmente medida com as técnicas atuais.

O nível sangüíneo de CsA é rotineiramente obtido na 12<sup>a</sup> hora pós-dose (nível de vale), porque este tende a ser o nível mais reprodutível e menos provavelmente influenciado por alterações de absorção. Adicionalmente, foi demonstrado que a manutenção dos níveis de vale dentro de uma determinada faixa (150 a 300 ng/ml) reduz a incidência de rejeição aguda e de nefrotoxicidade<sup>20</sup>. Muitas vezes, no entanto, ocorre uma superposição de eventos tóxicos e rejeição aguda, a qual incide em até 50% dos pacientes, mesmo que os níveis sejam mantidos dentro dos valores-alvo. Esta inconsistência é explicada pela estreita faixa terapêutica da droga, pela correlação imperfeita entre os níveis de vale e a área sob a curva de concentração ao longo do tempo, e pelas diferenças entre a concentração

sangüínea e a concentração nos sítios de ação da droga.

Tendo em vista as limitações da monitorização terapêutica da ciclosporina baseada apenas no nível de vale, várias outras estratégias foram estudadas. A área sob a curva de concentração de CsA ao longo do tempo (ASC) é uma medida mais precisa da exposição total do paciente ao fármaco, e foi um parâmetro preditivo sensível de episódios de rejeição aguda e de perda do enxerto no primeiro mês e ao final do primeiro ano, em três estudos separados<sup>55, 77, 79</sup>. Devido à pouca praticidade e ao alto custo deste método, estratégias baseadas em algoritmos, com amostragem em ou dois pontos (tempo 2h e 6h por exemplo) para estimativa da ASC, foram desenvolvidos e estão sendo testados prospectivamente<sup>42</sup>. Tais algoritmos, simplificando a estimativa da ASC e tornando possível a sua realização de maneira seriada, prometem ser um método mais preciso de monitorização do que apenas o nível de vale. Neste trabalho os autores se propõe a criar uma estratégia abreviada para estimativa da ASC.

## 1.2 Hepatite C

Em 1989, o Vírus da Hepatite C (VHC) foi clonado e identificado como a maior causa de hepatite não-A-não-B transmitida de forma parenteral<sup>11</sup>. A prevalência da infecção na população em geral varia em diferentes países e áreas geográficas. Entre doadores de sangue, ela oscila entre 0,5 e 1,4% nos Estados

Unidos, 1,2% na América do Sul, Europa e Ásia, 2,2% na África e 0,5% na Nova Zelândia. em certas regiões, como o Vietnã e a Tailândia, a doença é endêmica, com prevalência de até 22%<sup>70</sup>. Na população em hemodiálise no Rio Grande do Sul, a prevalência de pacientes anti-VHC+ atingiu 28,8% em um estudo<sup>38</sup>. Esta elevada prevalência é explicada pelo fato destes pacientes receberem maior número de transfusões de hemoderivados do que a população em geral, e de se submeterem à um procedimento com potencial para transmissão viral, como já demonstrado para a hepatite B. Paralelamente, nos pacientes transplantados renais de Porto Alegre a prevalência da infecção foi 39,5%<sup>58</sup>.

O VHC é um vírus RNA com aproximadamente 9400 nucleotídeos, que codificam um nucleocapsídeo (C), um envelope (E1), um segundo envelope (E2) e mais cinco genes não estruturais (NE1-5 respectivamente). Cada um destes genes possui uma certa variabilidade. Recentemente, foi definida uma classificação baseada na homologia genotípica dos vírus isolados. A nomenclatura define *tipos* de VHC (VHC 1 a 6, respectivamente, com homologia média de 65% entre si), cada tipo com seus *subtipos* (a, b, c, etc.), com homologia média de 80%<sup>70</sup>.

### 1.2.1 Testes diagnósticos para infecção pelo vírus da hepatite C

Atualmente existem várias métodos diagnósticos para a infecção pelo VHC. A detecção do RNA viral por técnicas de reação em cadeia da polimerase (PCR) tem

sido usada como padrão-ouro para identificar infecção atual. Tendo em vista que a seqüência de nucleotídeos 5' terminal é altamente conservada e compartilhada por quase todos os subtipos de VHC, as sondas direcionadas para esta região podem ser usadas para a pesquisa da presença deste vírus<sup>90</sup>. Apesar disso, a confiabilidade do teste é limitada por resultados falso-positivo e falso-negativo. Busch e colegas<sup>8</sup>, demonstraram que manipulação e/ou armazenamento inadequado do sangue pode causar resultado falso-negativo em até 40% das amostras. A extrema sensibilidade do PCR (capaz de detectar níveis sanguíneos tão baixos como 2000 cópias/ml) pode facilmente levar a resultados falso-positivos por contaminação<sup>47</sup>.

Os testes para a detecção de anticorpos para antígenos do VHC são os mais usados na prática clínica. O método de imunoabsorção ligado a enzima (ELISA) usado atualmente (de segunda ou terceira geração) detecta simultaneamente vários destes anticorpos, cada qual com especificidades antigênicas distintas, o que, em relação aos ensaios de primeira geração, aumentou muito a sensibilidade e a especificidade do método. Existe um período de janela, variável de 4 a 8 semanas, entre a contaminação e o desenvolvimento de anticorpos. Apenas 70 a 90% dos pacientes com anticorpos anti-VHC (anti-VHC+) possuem RNA viral (PCR+) no sangue, num determinado momento<sup>70</sup>. Várias possibilidades podem explicar este hiato: o VHC pode estar seqüestrado em outros sítios que não o plasma, por exemplo no fígado ou nas células mononucleares do sangue periférico<sup>92</sup>. A viremia pode ser intermitente, pois como já demonstrado pacientes com hepatite C pós-transfusional apresentam níveis sanguíneos flutuantes de viremia e esta pode mesmo estar ausente ou abaixo do nível detectável em alguns momentos<sup>18</sup>. O paciente pode permanecer com anticorpos apesar de ter erradicado completamente o vírus (cicatriz sorológica),

uma situação aparentemente rara e difícil de comprovar, pois seria necessária amostragem de vários tecidos para pesquisa do RNA viral. No entanto, resultado falso-positivo do ELISA devido a reações inespecíficas pode ser descartado com os atuais testes sorológicos<sup>70</sup>, devido à alta especificidade do ensaio.

Mais de 90% dos indivíduos com PCR+ têm também um teste positivo para anticorpos anti-VHC<sup>2</sup>, restando portanto 10% dos pacientes infectados sem anticorpos demonstráveis. Possíveis explicações para esses casos incluem:

(1) O teste anti-VHC pode não ser sensível o suficiente (paciente com baixos títulos de anticorpos), ou o antígeno usado no ensaio não é capaz de reagir com os anticorpos do paciente devido ao genótipo viral específico<sup>65</sup>.

(2) Conforme já discutido, o teste de PCR pode apresentar resultados falso-positivos por contaminação.

(3) Os pacientes podem estar na janela entre infecção e seroconversão, que varia de duas a oito semanas com os testes ELISA2.

(4) A produção de anticorpos pode estar suprimida em pacientes imunodeficientes. Entre pacientes em hemodiálise, aproximadamente 85% daqueles com PCR positivo são também anti-VHC+, e 2,5 a 12% dos anti-VHC negativos têm um PCR positivo. Entre transplantados renais, somente 70% dos pacientes com PCR positivo tinham ELISA2 positivo<sup>70</sup>.

(5) O título de anticorpos anti-VHC em alguns pacientes tende a diminuir e pode mesmo desaparecer ao longo dos anos, mesmo com persistência da viremia<sup>18</sup>.

Adicionalmente, foi demonstrada a presença de RNA viral apenas nas células mononucleares do sangue periférico em pacientes com PCR e ELISA2

negativos no soro<sup>67</sup>.

Todas essas possibilidades discutidas acima dificultam a interpretação dos testes diagnósticos para o VHC. Para fins práticos, quando há concordância dos testes (ELISA2 ou 3 e PCR), a infecção viral é considerada confirmada ou excluída. Em 10 a 30% dos casos o teste ELISA2 ou 3 é reagente e o PCR negativo. Nestes casos a interpretação é complexa, havendo várias possibilidades, mas a probabilidade de infecção viral é elevada, e o paciente considerado portador. De 2,5 a 12% dos pacientes em hemodiálise ELISA2 negativos são PCR positivos<sup>70</sup>. Nestes, a interpretação dos testes também é complexa, sendo mais provável uma infecção aguda (paciente na janela de seroconversão), um erro técnico em um dos testes (mais provavelmente um resultado falso positivo do PCR), ou, mais remotamente, uma real infecção viral porém com ausência de produção de anticorpos.

### 1.2.2 Características clínicas da infecção pelo vírus da hepatite C

A evolução da infecção pelo VHC é bastante variável. Alguns pacientes nunca desenvolvem sintomas, porém a maioria apresenta um quadro de hepatite viral algumas semanas após a contaminação, com elevação das transaminases. A hepatite C em pacientes com insuficiência renal crônica caracteriza-se por elevada taxa de cronificação após um período assintomático inicial<sup>70</sup>. Ao longo deste período, o paciente pode ou não ter elevações das transaminases hepáticas, e mais

freqüentemente estas elevações são esporádicas. Aproximadamente 50% terão elevação persistente ou flutuante das enzimas, e 60% destes terão hepatite crônica ativa ou cirrose, como demonstrado em estudos com biópsia<sup>82</sup>. Foi demonstrada também correlação da hepatite C crônica com carcinoma hepatocelular<sup>13</sup>. Os níveis de aspartato aminotransferase (AST) e alanina aminotransferase (ALT) não prognosticam acuradamente nem a existência e nem o grau de lesão histológica<sup>70, 88</sup>. Entre pacientes em hemodiálise a AST e a ALT estão elevadas em somente 30% daqueles com hepatite comprovada histologicamente<sup>70</sup>. Entre transplantados renais, alguma evidência bioquímica de dano hepático está presente em 42 a 52% dos pacientes<sup>28</sup>. A inconsistência entre os níveis de transaminases e a presença do VHC pode ser atribuída a várias razões: a hepatite C crônica caracteristicamente tem níveis de transaminases flutuantes, com alternância entre picos e níveis normais<sup>18</sup>, sendo que pacientes com lesão histológica severa podem ter AST e ALT normais; a infecção pelo VHC pode não causar hepatite, mesmo em pacientes PCR+<sup>1</sup>; alguns pacientes possuem apenas anticorpos anti-VHC, mas não o vírus. Como consequência, a biópsia é o único método confiável para confirmar e avaliar a severidade da doença hepática em pacientes com infecção pelo VHC. A histologia hepática em um dado momento é capaz de prever a evolução clínica da hepatopatia a médio e longo prazo em pacientes transplantados<sup>74</sup>. Em 6 anos, insuficiência hepática franca ou morte foi rara em pacientes com lesões histológicas leves (esteatose e hepatite persistente), porém atingiu 35% daqueles com hepatite crônica ativa inicial e 60% dos com hepatite crônica ativa avançada.

### 1.3 Farmacocinética da ciclosporina e infecção pelo vírus da hepatite C

Poucos dados são disponíveis na literatura quanto a possíveis alterações nos níveis sanguíneos de CsA em transplantados renais anti-VHC+. Aqueles pacientes com franca insuficiência hepática apresentam uma marcada elevação nos níveis de vale da CsA. A infecção pelo VHC foi implicada como um fator predisponente à hepatite medicamentosa pela CsA. Horina e colaboradores<sup>31</sup> analisaram 128 pacientes transplantados renais que estavam usando baixas doses de CsA oral devido à necessidade de ajustes baseados nos níveis de vale. Dos 128 pacientes, três apresentaram uma farmacocinética da CsA alterada, com níveis elevados dos metabólitos, porém níveis normais da droga mãe. Todos os três pacientes tinham definida infecção pelo VHC (ELISA2 e PCR+), e a análise histológica revelou alterações sugestivas de hepatite medicamentosa. Foi excluída a possibilidade de outras drogas, que não a CsA, estarem causando a hepatotoxicidade, e a retirada da CsA resultou em normalização das enzimas e da histologia hepática nos três casos. Os autores especulam que a infecção dos hepatócitos pelo VHC induza o citocromo P-450 e/ou interfira com o transporte transmembrana da CsA. Ambos os mecanismos resultariam em níveis intracelulares elevados de metabólitos, levando a uma captação reduzida da droga mãe. Tanto a CsA como os seus metabólitos são hepatotóxicos e induzem colestase independente da lesão hepática<sup>84</sup>. Os autores concluem destes achados que os pacientes anti-VHC+ têm um risco aumentado de hepatotoxicidade pela CsA e que há indícios de uma interação específica do VHC com a expressão das enzimas do citocromo P450-3A e por conseguinte com a farmacocinética da CsA<sup>31</sup>.

Em 1995 realizamos um estudo retrospectivo baseado nos dados dos pacientes transplantados renais no HCPA desde a introdução rotineira da testagem para anti-VHC (ELISA2) em 1992<sup>94</sup>. Foram estudados 23 pacientes anti-VHC+ e 31 anti-VHC-, todos sem evidência bioquímica de lesão hepatocelular. Concluiu-se que os pacientes anti-VHC positivos apresentavam um nível de vale de ciclosporina elevado em relação aos pacientes anti-VHC negativos, sugerindo um efeito da infecção crônica pelo VHC na farmacocinética da CsA.

Tendo em vista a importância de conhecer os fatores que influenciam a farmacocinética da CsA (já que subgrupos com a farmacocinética alterada apresentam sobrevida do enxerto menor<sup>21</sup>) e a alta prevalência (39,5%) da infecção pelo VHC entre pacientes transplantados renais em Porto Alegre<sup>58</sup>, torna-se relevante determinar a existência e a natureza de uma possível influência da infecção pelo VHC na farmacocinética da CsA.

## 1.4 Objetivos

### Objetivo geral

- Estudar a farmacocinética da ciclosporina em pacientes transplantados renais e em hemodiálise crônica portadores assintomáticos de anti-VHC.

### Objetivos específicos

- Comparar a farmacocinética da CsA de pacientes anti-VHC+ com pacientes anti-VHC-.

- Identificar subgrupos de pacientes com a farmacocinética alterada.

- Criar uma estratégia abreviada para estimativa da área sob a curva de concentração da CsA ao longo do tempo.

## 1.5 Hipótese conceitual

- a exposição ao vírus da hepatite C implica em alterações na ASC da CsA.

## **2 Pacientes e Métodos**

### 2.1 Delineamento

Foram delineados dois estudos separados: estudo pré-transplante e estudo pós-transplante. O estudo pré-transplante é um estudo transversal controlado. O estudo pós-transplante é um estudo transversal, seriado e controlado na sua primeira fase, com um coorte posterior.

### 2.2 Pacientes

#### Estudo pré-transplante

Avaliamos todos os pacientes em hemodiálise crônica há mais de 12 meses e em lista de espera para transplante renal no HCPA. Foram excluídos os pacientes diabéticos, HBsAg reagentes, Anti-VIH reagentes, com menos de 18 ou com mais de

60 anos, com passado de abuso de álcool ou drogas, que estivessem ingerindo fármacos que sabidamente interferem com a farmacocinética da CsA (quadro 1), que apresentassem evidência clínica ou bioquímica de dano hepático, ou que se negassem a assinar o Termo de Consentimento Pós-Informação (anexo 1). Foram considerados casos aqueles pacientes com pelo menos um teste para anti-VHC reagente (ELISA de 2ª ou 3ª geração), realizado há mais de seis meses. Para cada caso foi selecionado um paciente controle anti-VHC negativo que preenchesse os critérios de inclusão e exclusão e que fosse do mesmo gênero e raça e tivesse idade, índice de massa corporal (IMC) e tempo em hemodiálise semelhantes.

#### Estudo pós-transplante

Foram selecionados todos os pacientes que se submeteram a transplante renal no HCPA de dezembro de 1996 a agosto de 1998. Foram excluídos os pacientes HBsAg reagentes, os diabéticos, e os que não estivessem usando CsA. Também foram excluídos os pacientes usando algum fármaco com interação farmacocinética com a CsA, que tivessem alteração nas transaminases, bilirrubinas ou albumina sérica, que tivessem um passado de abuso de álcool ou drogas, ou que se negassem a assinar o Termo de Consentimento Pós-Informação (anexo 2).

## 2.3 Métodos

### 2.3.1 Procedimento do estudo pré-transplante

No dia seguinte ao da realização rotineira de hemodiálise, o paciente comparecia ao HCPA em jejum de 8 h. Era colocado um abocath nº 20 ou 22 para a coleta de sangue de uma veia superficial do membro superior contralateral ao da fístula artério-venosa. O voluntário recebia uma dose de 8 mg/kg por via oral de CsA em microemulsão (CsA-ME) na forma líquida, em copo de vidro e dissolvida em 100 ml de leite com 3% de gordura, e permanecia em jejum por mais duas horas. As amostras de sangue foram coletadas nos tempos 0`, 30`, 60`, 90`, 2h, 3h, 4h, 6h, 7h, 8h, 9h, 10h e 12h. A cada coleta foram aspirados e desprezados 0,5 ml de sangue, retirados 2 ml para a dosagem de CsA, e injetados no abocath 0,5 ml de uma solução de 1000 U/ml de heparina. A amostra de sangue era colocada em frascos com EDTA e as dosagens feitas no mesmo dia, com exceção da amostra da 12<sup>a</sup> h, que ficava armazenada em geladeira entre 2 e 4°C para processamento na manhã seguinte.

### 2.3.2 Procedimento do estudo pós-transplante

O procedimento foi semelhante ao do estudo pré-transplante. O paciente permanecia em jejum de 8h e na manhã do 15º dia pós-transplante, com o paciente ainda internado, era feita a curva farmacocinética de 13 pontos.

### 2.3.3 Dosagens de ciclosporina

A concentração de CsA foi determinada no sangue total pelo analisador TDx®, utilizando um imunoensaio baseado em reação da amostra com anticorpos monoclonais específicos, quantificada através da fluorescência da radioatividade (Abbot Laboratories, Illinois). Inicialmente pipeta-se 50µL da amostra, à qual adiciona-se um reagente solubilizador (surfactante) e um reagente de precipitação das proteínas. A amostra é então centrifugada a 9500 rpm por cinco minutos, e 150µL do sobrenadante são transferidos aos cartuchos do analisador TDx®, que automaticamente executa a incubação com solução de anti-soro e fluoresceína, bem como a leitura final do resultado. O controle de qualidade e a calibração do analisador foi feita conforme recomendações do fabricante. A reatividade cruzada do ensaio com metabólitos da CsA é mínima: 6,7% com AM1 e 19,4% com AM9 (nomenclatura do “Consensus Document: Hawk’s Cay meeting on therapeutic drug monitoring of cyclosporine”<sup>14</sup>) e o grau de correlação com a cromatografia líquida de

alta pressão elevada ( $r=0.9$  em 1170 análises). A acurácia do método (testada misturando quantidades conhecidas da CsA em sangue livre da droga) foi 99% em níveis baixos (150 ng/ml), 98% em níveis médios (400 ng/ml) e 95% em níveis elevados (800 ng/ml). A reprodutibilidade foi testada pelo fabricante nas três faixas de concentração em 10 laboratórios, com 11 analisadores TDx® diferentes em 5 replicatas, num total de 550 dosagens. O coeficiente de variação médio intra-ensaio, entre ensaios e entre laboratórios foi sempre menor que 4,7%. As drogas comumente usadas pelos pacientes do estudo (azatioprina, prednisona, metilprednisolona e furosemida, entre outras) e o EDTA usado como anticoagulante também foram testadas pelo fabricante e não interferiram com a precisão do método.

#### 2.3.4 Testagem para anticorpos anti-VHC

Todos os pacientes tiveram seu soro novamente testados para a presença de anti-VHC no dia da realização da curva farmacocinética. O teste empregado foi o método de enzima imunoenensaio (ELISA) de terceira geração (Hepanostica UBI® HCV 4.0, United Biomedical Inc., Beijing). Este ensaio utiliza peptídeos correspondentes a segmentos altamente antigênicos das porções estrutural e não-estrutural do vírus da hepatite C (core, NS3, NS4 e NS5), capazes de reagir com os anticorpos porventura existentes na amostra testada.

### 2.3.5 Testagem para viremia

No dia da curva farmacocinética foi coletada uma amostra de sangue dos pacientes anti-VHC+, a qual era imediatamente encaminhada e processada pelo Laboratório de Imunologia do HCPA. Para detecção de viremia foi realizada dupla reação em cadeia da polimerase (duas reações de amplificação com dois pares de *primers* distintos), o que aumenta a sensibilidade e especificidade do exame, conforme técnica já descrita<sup>10</sup>. Primeiramente o RNA viral é transcrito em DNA complementar pela enzima transcriptase reversa, que serve de matriz para posterior síntese exponencial de uma seqüência específica do material genético produzido pela enzima Taq polimerase. Os *primers* utilizados foram altamente específicos para a região 5'NTR terminal do VHC, uma porção constante do RNA viral. Os produtos da amplificação foram detectados em gel de agarose a 2% com brometo de etídio, por iluminação ultravioleta.

## 2.4 Variáveis

### Variáveis dependentes

-ASC<sub>0-12</sub> - área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas. Calculada pela teoria trapezoidal - unidade: ng.h<sup>-1</sup>/ml.

-ASC<sub>0-12</sub>/dose - área sob a curva dividida pela dose de CsA administrada, ajustada para o peso do paciente - unidade: (ng.h<sup>-1</sup>/ml) / (mg/kg).

-t<sub>1/2</sub> - meia-vida de eliminação da CsA. Representa o tempo necessário para a eliminação de metade da concentração da droga presente no sangue se nenhuma dose adicional for administrada. Este parâmetro representa o ritmo de metabolização e excreção da droga, sendo obtida pela equação  $0,693/Ke$ , onde Ke é a constante de eliminação (valor negativo do coeficiente angular da reta formada pelos pontos da porção terminal da curva farmacocinética, calculada mediante regressão linear do logaritmo natural da concentração sangüínea de CsA em função do tempo)<sup>81</sup>.  
Unidade: minutos.

-C<sub>máx</sub> - concentração máxima de CsA atingida no sangue total, retirada diretamente das medidas efetuadas. Unidade: ng/ml.

-T<sub>máx</sub> - tempo no qual a concentração máxima de CsA foi atingida.  
Unidade: minutos.

-C<sub>min</sub> - concentração mínima de CsA atingida no sangue total. Unidade:

ng/ml.

- Cmin1 - nível de vale ao final do primeiro mês pós-transplante.
- Cmin3 - nível de vale ao final do terceiro mês pós-transplante.
- Cmin6 - nível de vale ao final do sexto mês pós-transplante.
- Cmin12- nível de vale ao final do décimo-segundo mês pós-transplante.

#### Variáveis independentes

As determinações bioquímicas foram feitas através de um analisador automático computadorizado Mega da Bayer®.

-Cr - creatinina. Nível plasmático de creatinina, medido através do método de Jaffé sem desproteinização. Unidade: mg/dl. Valores normais: 0,6-1,2 mg/dl.

-DCE - depuração da creatinina endógena. Estimada através da equação de Cockcroft/Gault, onde  $DCE = [(140 - idade) \cdot peso / 72 \cdot Cr]$  ( $\times 0,85$  se indivíduo do sexo feminino). Unidade: ml/min.

-Bilirrubinas - nível plasmático de bilirrubinas, medido pelo método colorimétrico de Jendrassik. Unidade: mg/dl. Valores normais: até 1,2 mg/dl.

-Albumina - nível de albumina plasmática, medido através do verde de bromocresol. Unidade: g/l. Valores normais: 3,5-5,0 g/l.

-AST - aspartato aminotransferase, medido pelo método ultravioleta

cinético. Unidade: U/l. Valores normais: 11-41 U/l (homens), 11-36 U/l (mulheres).

-ALT - alanino aminotransferase, medido pelo método ultravioleta cinético.

Unidade: U/l. Valores normais: 9-43 U/l (homens), 9-36 U/l (mulheres).

-GGT - gama glutamil transferase, medido pelo método cinético colorimétrico. Unidade: U/l. Valores normais: 11-50 U/l (homens), 9-32 U/l (mulheres).

-Ht - hematócrito. Percentagem de glóbulos vermelhos no sangue total. Valores normais: 44±4 % (homens), 42±4 % (mulheres).

-Colesterol - nível plasmático de colesterol total, medido pelo método enzimático oxidativo. Unidade: mg/dl. Valores desejáveis: abaixo de 200 mg/dl.

-Dose - dose de CsA-ME relativa ao peso do paciente administrada no momento da dosagem do nível sanguíneo correspondente. Unidade: mg/Kg.

-Massa corporal ou peso - massa corporal do paciente medida em jejum imediatamente antes da realização da curva farmacocinética. Unidade: Kg.

-IMC - índice de massa corporal. Calculada dividindo-se o peso pelo quadrado da altura. Unidade: kg/m<sup>2</sup>.

-tempo em hemodiálise: período de tempo que o paciente se submeteu a realização de hemodiálise antes de participar do estudo. Unidade: meses.

-idade - idade do paciente no dia da realização da curva farmacocinética. Unidade: anos.

-sexo - gênero fenotípico do paciente.

-raça - caracterizada como negróide ou caucasóide através de caracteres

fenotípicos do paciente.

-RAC - rejeição aguda celular. Evento caracterizado por disfunção do rim transplantado. Foram considerados episódios de RAC aqueles diagnosticados pela equipe assistente baseados em características clínicas e resposta ao tratamento e/ou biopsia do enxerto.

-NTA - necrose tubular aguda. Evento caracterizado por ausência de função inicial do enxerto com necessidade de hemodiálise na primeira semana pós-transplante.

## 2.5 Análise estatística

Para verificação da normalidade da distribuição das variáveis contínuas foi aplicado o teste de Kolmogorov-Smirnov, e para verificação da igualdade de variâncias o teste de Levene. Para verificar diferenças entre médias, foi utilizado o teste t e, quando necessário, o teste de Mann-Whitney. Para variáveis categóricas foi empregado o qui-quadrado com o teste Exato de Fisher. A análise de correlação de Spearman foi aplicada para correlacionar as variáveis independentes às dependentes. A reta de regressão da porção terminal da curva farmacocinética foi calculada pela regra dos mínimos quadrados, e os coeficientes angular e linear por regressão linear simples. A análise de correlação desses pontos foi feita pelo coeficiente de correlação produto-momento de Pearson. Para análise da evolução da C<sub>min</sub> ao longo do seguimento pós-transplante, foi utilizada a análise de variância para medidas repetidas. A regressão linear passo-a-passo (“stepwise”), considerando as 13 dosagens de CsA da curva farmacocinética como co-variáveis, foi empregada para definir a equação de regressão com melhor grau de correlação com a ASC<sub>0-12</sub>. O cálculo do tamanho da amostra foi feito considerando dados da literatura de média e variância da AUC<sub>0-12</sub> em estudos com pacientes e protocolos semelhantes ao do presente estudo. Para detectar uma diferença de 20% com um erro beta de 0,80, o tamanho da amostra seria de 10 pacientes em cada grupo. O nível de significância utilizado foi sempre um  $p < 0,05$  para testes bi-caudais. Todos os testes estatísticos foram executados pelo programa “SPSS 8.0 for windows”.

## **3 RESULTADOS**

### 3.1 Estudo pré-transplante

#### 3.1.1 Características da amostra

Dentre os 130 pacientes em lista de espera para transplante renal no HCPA, foram selecionados 11 pacientes anti-VHC+ e 11 pacientes controles, anti-VHC-. Devido ao próprio processo de seleção, as principais variáveis demográficas apresentaram semelhança entre os dois grupos (tabela 1), não diferindo estatisticamente (teste t).

Tabela 1. Características demográficas dos pacientes ELISA+ e ELISA- do estudo pré-transplante.

	ELISA+	ELISA-	Diferença (%)	P
Número de pactes.	11	11	-	
Idade (anos) - média (DP)	43 (11)	45 (12)	-4%	0,77*
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) - média (DP)	24,9 (3,3)	25,9 (4,6)	-4%	0,56*
Peso (kg) - média (DP)	68 (17)	69 (18)	-1%	0,96*
raça (caucasóide/negróide)	6/5	6/5	-	1,00**
sexo (homem/mulher)	6/5	6/5	-	1,00**
tempo em hemodiálise (meses) - média (DP)	35 (16)	34(22)	3%	0,89*

\*teste t

\*\*Teste Exato de Fisher

Os resultados dos exames laboratoriais estão descritos na tabela 2. Note-se que os principais indicadores de dano hepático (transaminases e bilirrubinas) situaram-se dentro dos limites da normalidade, além de não terem apresentado diferenças estatisticamente significativa entre os grupos.

Tabela 2. Parâmetros bioquímicos dos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pré-transplante.

	ELISA+	ELISA-	Diferença	p*
	Média (DP)	Média (DP)	(%)	
Colesterol	187 (64)	210 (52)	-11%	0,37
Albumina	4,3 (0,6)	4,6 (0,3)	-7%	0,21
AST	28 (19)	24 (16)	16%	0,61
ALT	29 (23)	19 (16)	53%	0,23
GGT	56 (47)	34 (30)	65%	0,21
Bilirrubinas	1,4 (0,5)	1,2 (0,3)	17%	0,17
Ht	32 (6)	31 (4)	3%	0,76

\*teste t

### 3.1.2 Parâmetros farmacocinéticos

Foi utilizada a correlação de Spearman (não-paramétrica), com o objetivo de determinar quais variáveis independentes se correlacionaram com os parâmetros farmacocinéticos. Na tabela 3, pode-se observar uma correlação positiva entre a idade e a meia-vida da CsA ( $r=0,44$ ,  $p=0,04$ ), do peso com a área sob a curva ( $r=0,5$ ,  $p=0,02$ ) e com a Cmin ( $r=0,50$ ,  $p=0,02$ ) e da GGT com o Tmáx ( $r=0,52$ ,  $p=0,01$ ). Como a distribuição destas variáveis foi semelhante nos grupos ELISA+ e ELISA-, pode-se assumir que as mesmas não influenciaram os resultados.

Tabela 3. Correlações de Spearman das variáveis independentes com as variáveis dependentes do estudo pré-transplante.<sup>(1)</sup>

	Tmáx	Cmáx	T1/2	ASC <sub>0-12</sub>	Cmin
Idade	-0,12	0,26	0,44*	-0,03	0,04
IMC	0,23	0,07	0,28	0,35	0,38
Peso	0,29	0,26	0,29	0,50*	0,50*
Tempo em hemodiálise	-0,12	0,04	0,22	0,08	0,21
Colesterol	-0,02	-0,05	-0,19	-0,06	-0,18
AST	0,33	0,10	-0,20	0,17	0,15
ALT	0,35	0,31	-0,15	0,32	0,25
GGT	0,52*	0,01	-0,21	0,22	0,26
Bilirrubinas	0,35	-0,08	-0,19	0,02	0,10
Albumina	0,04	0,17	0,11	0,24	0,16
Ht	0,19	0,07	0,09	0,22	0,19

<sup>(1)</sup> (n=22)

\* $p<0,05$

Na tabela 4 pode ser vista a estatística dos parâmetros farmacocinéticos dos grupos ELISA+ e ELISA-. A concentração máxima atingida, bem como o nível de

vale, não diferiram entre os grupos (40% e 56% maior nos ELISA+,  $p=0,06$  e  $0,09$  respectivamente). A meia-vida de eliminação foi semelhante (ELISA+ 8% menor,  $p=0,23$ ), reforçando o pressuposto de que a metabolização hepática da CsA estava preservada entre os pacientes portadores do VHC no estudo. Já o principal indicador da exposição total do paciente ao fármaco, a  $ASC_{0-12}$ , foi 42% ( $p<0,05$ ) superior entre os portadores do VHC.

Tabela 4. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pré-transplante.

	ELISA+ (n=11)	ELISA- (n=11)	Diferença	p
	Média (DP)	Média (DP)		
T <sub>máx</sub> (min)	136 (45)	109 (39)	25%	0,14*
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	2954 (1273)	2103 (506)	40%	0,06**
meia-vida (min)	265 (43)	289 (46)	-8%	0,23*
$ASC_{0-12}$ (ng/ml/h)	13323 (5109)	9350 (3326)	42%	0,04*
C <sub>min</sub> (ng/ml)	366 (205)	235 (126)	56%	0,09*

\*teste t

\*\*Mann-Whitney

A comparação do subgrupo de pacientes com viremia (ELISA e PCR+), com o grupo controle (ELISA-), pode ser analisada na tabela 5. Neste grupo, houve uma acentuação das diferenças previamente observadas na C<sub>máx</sub> (58% maior,  $p=0,05$ ), na  $ASC_{0-12}$  (69% maior,  $p<0,01$ ) e na C<sub>min</sub> (91% maior,  $p<0,01$ ). Já a meia-vida de eliminação permaneceu semelhante (-7%,  $p=0,36$ ).

Tabela 5. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos PCR+ e ELISA- do estudo pré-transplante.

	PCR+ (n=7)	ELISA- (n=11)	Diferença	p
	Média (DP)	Média (DP)		
T <sub>máx</sub> (min)	141 (51)	109 (39)	29%	0,15*
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	3328 (1327)	2103 (506)	58%	0,05**
meia-vida (min)	268 (46)	289 (46)	-7%	0,36*
ASC <sub>0-12</sub> (ng/ml/h)	15814 (4407)	9350 (3326)	69%	<0,01*
C <sub>min</sub> (ng/ml)	449 (175)	235 (126)	91%	<0,01*

\*teste t

\*\*Mann-Whitney

Foi realizada também a análise de variância, com o objetivo de verificar diferenças entre as médias de ASC<sub>0-12</sub> por sexo e grupo (PCR+ e ELISA-). Na tabela 6, observa-se que a presença do VHC teve um impacto maior entre os indivíduos do sexo feminino. A ASC<sub>0-12</sub> foi, em média, 41% menor entre as mulheres anti-VHC-, do que entre os homens do mesmo grupo. Porém, dentro do grupo PCR+, a ASC<sub>0-12</sub> foi 17% superior entre as mulheres em relação aos homens. Analisando apenas as mulheres, a média da ASC<sub>0-12</sub> entre aquelas anti-VHC- foi 6752 ng/ml/h, e entre as PCR+ 17680 ng/ml/h (+162%). Comparando, por outro lado, a mesma variável entre os homens, o grupo anti-VHC- atingiu 11520 ng/ml/h e o grupo PCR+ 15064 ng/ml/h, apenas 31% superior (p<0,05 para uma interação entre sexo e grupo).

Tabela 6. Efeito do sexo na  $ASC_{0-12}$  nos grupos PCR+ e ELISA-\*

	$ASC_{0-12}$ (ng.h <sup>-1</sup> /ml)		
	Média (DP)		
	ELISA-	PCR+	Diferença (%)
Mulheres	6752 (2192) n=5	17680 (1384) n=2	162%
Homens	11520 (2416) n=6	15064 (5120) n=5	31%
Diferença (%)	-41%	+17%	

\*p<0,05 para um efeito do sexo (análise de variância).

### 3.1.3 Estratégia abreviada para estimativa da área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas

O grau de correlação ( $r$ ) e o coeficiente de determinação ( $r^2$ ) de cada um dos 12 pontos da curva farmacocinética com a  $ASC_{0-12}$  estão expressos na tabela 7. Todas as medidas de CsA realizadas após 60 minutos de ingestão da droga atingiram correlação estatisticamente significativa com a  $ASC_{0-12}$ . A partir das 4 h, esta correlação sempre foi de magnitude forte. ( $r>0.8$ ). Note, porém, que o coeficiente de determinação do nível de vale para a variável dependente  $ASC_{0-12}$ , apesar de significativa, foi apenas 0,76.

Tabela 7. Correlação de Pearson dos 12 pontos da curva farmacocinética com a  $ASC_{0-12}$  dos pacientes do estudo pré-transplante.

	30'	60'	90'	2 h	3 h	4 h	6 h	7 h	8 h	9 h	10 h	12 h
r	0,14	0,19	0,50	0,74	0,73	0,90	0,88	0,91	0,89	0,88	0,82	0,87
r <sup>2</sup>	0,02	0,04	0,25	0,55	0,53	0,81	0,77	0,83	0,79	0,77	0,67	0,76
p	0,54	0,39	0,02	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Foi realizada, então, a regressão pelo método passo-a-passo (*stepwise*) para definição da variável dependente  $ASC_{0-12}$ , incluindo como co-variáveis os 12 pontos da curva farmacocinética (do tempo 0' ao tempo 12 h). O modelo que incluiu os tempos 2h e 6h (equação 1) como variáveis explanatórias atingiu um  $r^2$  ajustado de 0,91 ( $p<0,001$ ).

Equação 1

$$ASC_{0-12} = 747,45 + 2,03(CsA\ 2h) + 8,03(CsA\ 6h)$$

Já o modelo que inclui 3 pontos (equação 2) atingiu um  $r^2$  ajustado de 0,98 ( $p<0,001$ ).

Equação 2

$$ASC_{0-12} = 602,34 + 1,78(CsA\ 2h) + 1,20(CsA\ 3h) + 5,64(CsA\ 6h)$$

## 3.2 Estudo pós-transplante

### 3.2.1 Características da amostra

Sessenta e sete pacientes submeteram-se a transplante renal no HCPA no período de dezembro de 96 a agosto de 98. Dentre estes, 24 foram incluídos no estudo. Na tabela 8 estão descritos os motivos para exclusão do estudo. Os principais fatores foram a não utilização de CsA e a co-administração de fármacos que interferissem com a sua farmacocinética.

Tabela 8. Causas de exclusão de pacientes do estudo pós-transplante.

	Anti-VHC+	Anti-VHC-
Número inicial	20	47
Uso de fármacos com interação farmacocinética com a CsA	3	11
Não uso de CsA	3	12
Diabete melito	2	3
Hepatopatia franca	1	2
Óbito	1	2
Negar-se a participar do estudo	0	2
HbsAg+	0	1
Número final	10	14

Na tabela 9 estão descritas as características demográficas de cada grupo (ELISA+, e ELISA-). A maioria dos parâmetros foi semelhante entre os grupos. Exceção a isso foi a idade, pois os pacientes anti-VHC+ apresentaram uma tendência a serem mais velhos ( $p=0,07$ ), e a estarem mais tempo em hemodiálise ( $p=0,03$ ).

Tabela 9. Características demográficas dos pacientes ELISA+ e ELISA- do estudo pós-transplante.

	ELISA+	ELISA-	Diferença	P
	Média (DP)	Média (DP)	(%)	
N	10	14	-	-
Idade (anos) – média (DP)	41 (11)	32(12)	28%	0,07*
IMC (kg/m <sup>2</sup> ) – média (DP)	24,3 (4,4)	22(3,4)	10%	0,18*
Peso (kg) – média (DP)	67 (13)	63(10)	6%	0,38*
Raça (branco/negro)	10/0	13/1	-	1,00**
Sexo (masculino/feminino)	5/5	7/7	-	1,00**
Tempo em hemodiálise (meses) – média (DP)	39(17)	17(15)	129%	0,03*

\*teste t

\*\*Teste Exato de Fisher

As principais características relacionadas ao transplante renal estão descritas na tabela 10. A incidência de rejeição aguda celular e necrose tubular foi igualmente distribuída entre os grupos. Analogamente, as doses de CsA, prednisona e azatioprina no dia do estudo farmacocinético se assemelharam bastante. Os níveis de creatinina, apesar de discretamente mais elevados entre os portadores do anti-VHC, não diferiram estatisticamente.

Tabela 10. Distribuição das variáveis relacionadas ao transplante dos grupos ELISA+ e ELISA-.

	ELISA+	ELISA-	Diferença (%)	P
N	10	14	-	-
Doador (cadáver/vivo)	7/3	8/6	-	1,00**
RAC (S/N)	3/7	5/9	-	1,00**
NTA (S/N)	3/7	5/9	-	1,00**
Dose de CsA -mg/kg- 12/12 h - média (DP)	3,6 (0,8)	3,8(0,5)	-5%	0,8*
Dose de PRED (mg/kg) – média (DP)	0,65 (0,34)	0,81 (0,60)	-20%	0,46*
Dose de AZA (mg/kg) - média (DP)	1,7 (0,68)	1,4 (0,9)	21%	0,35*
Cr - média (DP)	3,5 (3,2)	2,6 (1,6)	35%	0,43*
DCE - média (DP)	36 (27)	44 (24)	-18%	0,47*

\*teste t

\*\*Teste Exato de Fisher

Os resultados dos exames laboratoriais (médias) dos pacientes do estudo pós-transplante constam na tabela 11. Não houve diferenças estatisticamente significativas entre os grupos com respeito à distribuição destas variáveis. Similarmente ao estudo pré-transplante, os parâmetros de dano hepatocelular e de síntese hepática se situaram dentro da faixa da normalidade, e não apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre os dois grupos, bem como o Ht e as lipoproteínas.

Tabela 11. Parâmetros laboratoriais dos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pós-transplante.

	ELISA+	ELISA-	Diferença	p*
	Média (DP)	Média (DP)	(%)	
Colesterol (mg/dl)	261 (61)	254 (55)	3%	0,77
Albumina (g/l)	3,8 (0,4)	4,0 (0,4)	-5%	0,17
AST (U/l)	15 (5)	16 (7)	-6%	0,79
ALT (U/l)	30 (16)	41 (31)	-27%	0,29
GGT (U/l)	56 (34)	47 (25)	20%	0,44
Bilirrubinas (mg/dl)	0,7 (0,2)	0,7 (0,2)	0%	0,75
Ht (%)	24 (3)	24 (3)	0%	0,87

\*teste t

### 3.2.2 Parâmetros farmacocinéticos

A tabela 12 expressa as correlações de Spearman (não-paramétricas) das variáveis independentes com os parâmetros farmacocinéticos. O peso se correlacionou negativamente com a meia vida ( $r=-0,51$ ,  $p<0,05$ ) e com a  $C_{min}$  ( $r=-0,43$ ,  $p<0,05$ ). A dose de prednisona ( $r=0,49$ ,  $p<0,05$ ) e o nível de creatinina ( $r=0,59$ ,  $p<0,01$ ) se correlacionaram positivamente com o  $T_{máx}$ . O nível de creatinina esteve relacionado, também, de maneira inversa com os demais parâmetros farmacocinéticos ( $C_{máx}$ ,  $T_{1/2}$ ,  $ASC_{0-12}/dose$  e  $C_{min}$ ,  $p<0,01$ ). A ALT se correlacionou positivamente ( $r=0,41$ ,  $p<0,05$ ) com a  $ASC_{0-12}$ , mas não com a  $ASC_{0-12}/dose$ . Finalmente, o colesterol se correlacionou negativamente com a  $C_{máx}$  ( $r=-0,42$ ,  $p<0,05$ ), com a  $C_{min}$  ( $r=-0,49$ ,  $p<0,05$ ) e com a  $ASC_{0-12}$  ( $r=-0,51$ ,  $p<0,05$ ), mas não com a  $ASC_{0-12}/dose$ .

Tabela 12. Correlação de Spearman das variáveis independentes com as variáveis dependentes do estudo pós-transplante.<sup>(1)</sup>

	T <sub>máx</sub>	C <sub>máx</sub>	T <sub>1/2</sub>	ASC <sub>0-12</sub>	ASC <sub>0-12/dose</sub>	C <sub>min</sub>
Idade	-0,23	0,23	-0,21	-0,23	-0,07	-0,29
IMC	0,13	-0,29	-0,35	-0,19	0,02	-0,25
Peso	0,33	-0,28	-0,51*	-0,19	-0,02	-0,43*
Tempo em hemodiálise	-0,04	-0,22	0,01	-0,09	0,08	0,03
Dose de PRED	0,49*	-0,09	-0,30	0,12	-0,1	-0,08
Dose de AZA	-0,22	0,03	-0,36	0,15	-0,03	0,05
Creatinina	0,59**	-0,64**	-0,62**	-0,47*	-0,6**	-0,55**
DCE	-0,45*	0,61**	0,55**	0,49*	0,6**	0,55**
Colesterol	-0,17	-0,42*	-0,20	-0,51*	-0,22	-0,43*
TGO	-0,03	0,26	0,02	0,24	0,07	0,27
TGP	0,27	0,40	0,22	0,41*	0,27	0,32
GGT	0,32	0,26	-0,12	0,32	0,09	0,12
Bilirrubinas	-0,09	-0,11	-0,11	0,04	-0,18	0,16
Albumina	0,13	0,24	0,09	0,21	0,09	0,24
Ht	-0,03	-0,13	0,04	0,01	0,13	0,31

<sup>(1)</sup> n=24

\*p<0,05

\*\*p<0,01

Na tabela 13 pode ser vista a estatística comparativa dos parâmetros farmacocinéticos entre os grupos ELISA+ e ELISA-. Nenhuma média diferiu estatisticamente. Analogamente ao estudo pré-transplante, porém, observamos que a C<sub>máx</sub> foi discretamente (21%) maior (p=NS) e a meia-vida de eliminação foi semelhante (347 e 389 minutos, respectivamente). A ASC<sub>0-12</sub> e a ASC<sub>0-12/dose</sub>, também não atingiram significância estatística, e portanto temos que aceitar a

hipótese de nulidade.

Tabela 13. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos ELISA+ e ELISA- do estudo pós-transplante.

	ELISA+ (n=10)	ELISA- (n=14)	Diferença	p*
	Média (DP)	Média (DP)	(%)	
T <sub>máx</sub> (min)	75 (26)	90 (26)	-17%	0,18
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	1952 (793)	1617 (537)	21%	0,23
meia-vida (min)	347 (124)	389 (101)	-11%	0,37
ASC <sub>0-12</sub> (ng/ml/h)	7865 (2504)	6964 (1335)	13%	0,27
ASC <sub>0-12</sub> /dose	2307 (843)	1869 (365)	23%	0,15
C <sub>min</sub> (ng/ml)	224 (82)	219 (70)	2%	0,89

\*teste t

Na tabela 14 é analisado o subgrupo de pacientes ELISA+ que apresentavam viremia (PCR+), comparando-os ao grupo controle (ELISA-). Como no estudo pré-transplante, neste subgrupo as diferenças em relação ao grupo controle foram mais acentuadas, tendo atingido significância estatística. A C<sub>máx</sub> foi 50% maior (p<0,01), a ASC<sub>0-12</sub> 33% maior (p<0,01), e a ASC<sub>0-12</sub> /dose 45% maior (p=0,03).

Tabela 14. Comparações dos parâmetros farmacocinéticos nos grupos PCR+ e ELISA- do estudo pós-transplante.

	PCR+ (n=6)	ELISA- (n=14)	Diferença	p*
	Média (DP)	Média (DP)	(%)	
T <sub>máx</sub> (min)	70 (24)	90 (26)	-22%	0,13
C <sub>máx</sub> (ng/ml)	2426 (576)	1617 (537)	50%	<0,01
meia-vida (min)	396 (140)	389 (101)	2%	0,90
ASC <sub>0-12</sub> (ng/ml/h)	9235 (1982)	6964 (1335)	33%	<0,01
ASC <sub>0-12</sub> /dose	2716 (711)	1869 (365)	45%	0,03
C <sub>min</sub> (ng/ml)	271 (60)	219 (70)	24%	0,14

\*teste t

Como no estudo pré-transplante, aqui também as mulheres sofreram um efeito mais acentuado do VHC, ainda que sem alcançar significância estatística: a ASC<sub>0-12</sub>/dose foi em média 1894 ng/ml/h entre os homens ELISA- e 2443 ng/ml/h / mg/kg entre os PCR+ (+29%); já entre as mulheres a diferença foi mais acentuada: 1844 e 2989 ng/ml/h / mg/kg, respectivamente, (+62%, p=0,23).

### 3.2.3 Seguimento pós-transplante

Os resultados do seguimento pós-transplante estão expressos nas figuras 1 e 2, e nas tabelas 15 e 16, onde os valores de nível de vale da CsA, a dose de CsA e o quociente destas variáveis ao longo dos meses de seguimento podem ser observados. Como faz parte do protocolo de imunossupressão a diminuição progressiva da dose

de CsA, naturalmente isto foi verificado ao longo do tempo de seguimento, com conseqüente diminuição do nível de vale de CsA. Considerando o grupo de pacientes ELISA+, o nível de vale corrigido para a dose administrada (mg/kg) foi sempre superior ao grupo ELISA- (figura 1). Através de análise de variância para medidas repetidas ao longo do tempo, o efeito do grupo não foi estatisticamente significativo ( $p=0,11$ ). Aos 6 meses, porém, o grupo ELISA+ apresentou o valor médio de 159 ng/ml / mg/kg, significativamente superior ao do grupo controle (98 ng/ml / mg/kg,  $p<0,05$ , teste t).

Considerando-se o subgrupo PCR+, a análise de variância para medidas repetidas detectou uma interação da presença viral, com níveis de vale de CsA elevados nas 4 medidas realizadas ao longo do tempo ( $p=0,02$ ). Na comparação de pontos isolados, novamente a diferença atingiu significância somente aos seis meses (figura 2). Pode-se observar uma tendência à acentuação das diferenças até o 6° mês, com uma posterior aproximação dos valores no 12° mês.

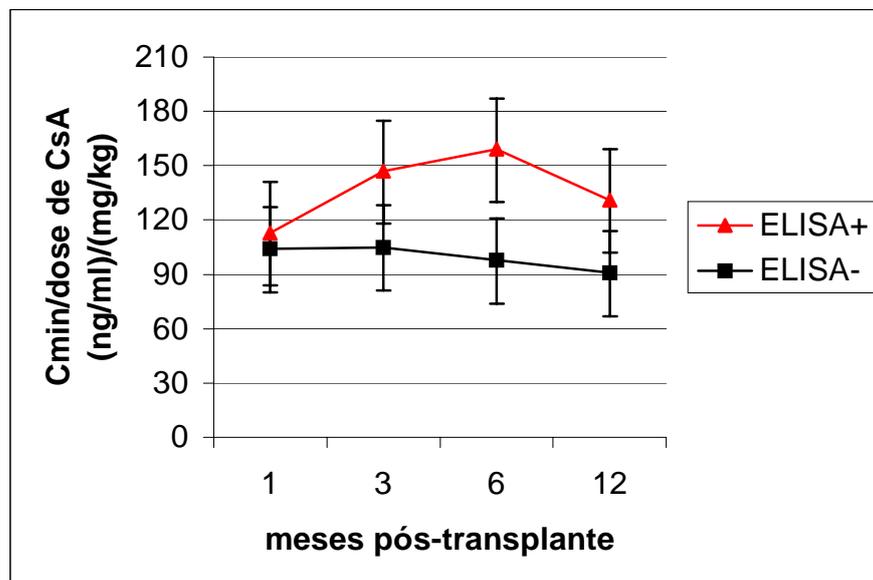


Figura 1. Nível de vale corrigido para a dose de CsA administrada, no seguimento pós-transplante dos grupos ELISA+ e ELISA-.

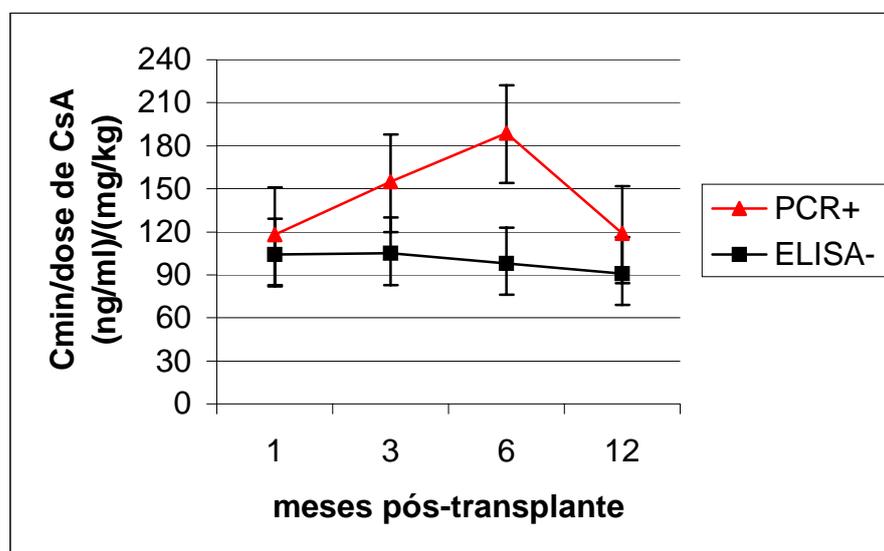


Figura 2. Nível de vale corrigido para a dose de CsA administrada, no seguimento pós-transplante dos grupos PCR+ e ELISA- ( $p=0,02$ -análise de variância para medidas repetidas).

Na tabela 15 verifica-se a evolução da dose média de CsA prescrita e do nível de vale ao longo do tempo, para os grupos ELISA+ e ELISA-. Note-se que já no 3º mês os pacientes ELISA+ apresentavam um nível médio de CsA 40% maior ( $p<0,05$ ), apesar de estarem recebendo a mesma dose de CsA. Aos seis meses, houve redução da dose de CsA da ordem de 40% no grupo ELISA+ e de apenas 5% no grupo ELISA-, acarretando uma diferença significativa de dose entre os grupos. No entanto, os níveis de CsA permaneceram 40% maiores nos portadores de anti-VHC ( $p<0,05$ ). Tais diferenças diminuíram para 23% no 12º mês ( $p=NS$ ).

Tabela 15. Dose e nível de vale da CsA no 1º, 3º 6º e 12º mês pós-transplante nos grupos ELISA+ e ELISA-.

	1º mês*		3º mês		6º mês		12º mês	
	ELISA+	ELISA-	ELISA+	ELISA-	ELISA+	ELISA-	ELISA+	ELISA-
Dose <sup>1</sup> (mg/kg)	3,08 (0,62)	2,98 (0,72)	2,36 (0,36)	2,38 (0,41)	1,90* (0,16)	2,27 (0,46)	1,83 (0,12)	2,13 (0,54)
Nível <sup>2</sup> (ng/ml)	324 (100)	292 (113)	337* (105)	241 (77)	302* (89)	215 (51)	237 (50)	193 (71)

<sup>1</sup>Dose média(DP) de CsA prescrita no momento da determinação do nível correspondente.

<sup>2</sup>Nível de vale médio(DP) coletado ambulatorialmente.

\* $p<0,05$ , teste t para comparação entre os grupos ELISA+ e ELISA- dentro do mês de seguimento.

Os valores correspondentes para os pacientes com viremia estão na tabela 16. Note que a os níveis de CsA sempre foram maiores para os pacientes PCR+, atingindo significância estatística no 6º mês, apesar de doses de CsA menores (resultados semelhantes ao do grupo ELISA+).

Tabela 16. Dose e nível de vale da CsA no 1º, 3º 6º e 12º mês pós-transplante nos grupos PCR+ e ELISA-.

	1º mês		3º mês		6º mês		12º mês	
	PCR+	ELISA-	PCR+	ELISA-	PCR+	ELISA-	PCR+	ELISA-
Dose <sup>(1)</sup> (mg/kg)	3,33 (0,52)	2,98 (0,72)	2,32 (0,42)	2,38 (0,41)	1,85* (0,19)	2,27 (0,46)	1,78 (0,05)	2,13 (0,54)
Nível <sup>(2)</sup> (ng/ml)	355 (94)	292 (113)	331 (79)	241 (77)	352* (96)	215 (51)	211 (209)	193 (71)

<sup>(1)</sup>Dose média(DP) de CsA prescrita no momento da determinação do nível sanguíneo correspondente.

<sup>(2)</sup>Nível de vale médio(DP) coletado ambulatorialmente.

\* $p < 0,05$ , teste t para comparação entre os grupos ELISA+ e ELISA- dentro do mês de seguimento.

### 3.2.4 Estratégia abreviada para estimativa da área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas

O grau de correlação de cada um dos 13 pontos da curva farmacocinética com a  $ASC_{0-12/dose}$  do estudo pós-transplante está expresso na tabela 17. Neste estudo, também houve correlação estatisticamente significativa de cada um dos pontos da curva farmacocinética com a  $ASC_{0-12/dose}$ . Aqui, no entanto, as associações foram de magnitude média ( $r$  de 0,40 a 0,66). Note que o coeficiente de determinação do nível de vale (tempo 12h) foi de apenas 0,24.

Tabela 17. Correlação de Pearson dos 13 pontos da curva farmacocinética dos pacientes do estudo pós-transplante com a  $ASC_{0-12/dose}$ .

	0'	30'	60'	90'	2 h	3 h	4 h	6 h	7 h	8 h	9 h	10 h	12 h
r	0,40	0,64	0,54	0,57	0,49	0,48	0,44	0,49	0,66	0,65	0,54	0,66	0,49
r <sup>2</sup>	0,16	0,41	0,29	0,32	0,24	0,23	0,19	0,24	0,44	0,42	0,29	0,44	0,24
p	0,05	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	0,02	<0,05	<0,02	<0,02	<0,02	<0,01	<0,01	<0,02

Como no estudo pré-transplante, foi utilizado o método de regressão passo-a-passo, com o intuito de construir uma equação que combinasse duas ou mais dosagens e que fornecesse uma estimativa mais precisa da  $ASC_{0-12/dose}$ . Como resultado, a melhor aproximação foi obtida a partir dos pontos 90' e 7 h (equação 3), com um  $r^2$  ajustado de 0,98 ( $p < 0,001$ ).

Equação 3:

$$ASC_{0-12/dose} = 380,04 + 1,84(CsA\ 90) + 10,41(CsA\ 7h)$$

## 4 Discussão

### 4.1 Características das amostras

Os critérios de exclusão (diabete melito, HbsAg+, evidência clínica ou bioquímica de dano hepático ou ingestão de fármacos com conhecida interação farmacocinética com a CsA), afastaram metodologicamente a possibilidade de erros de confusão em virtude destas variáveis. O tamanho da amostra obtida permitiu atingir um poder de 84% para o estudo pré transplante (n=11) e de 80% para o estudo pós-transplante (n=10 no menor grupo), para detectar diferenças na ASC de 20%.

#### Estudo pré-transplante

Conforme descrito na tabela 1, o estudo pré-transplante abarcou 22 pacientes, 11 anti-VHC+ e 11 anti-VHC-. As principais características demográficas (idade, IMC, raça, sexo e tempo em hemodiálise) foram semelhantes entre os grupos.

Paralelamente, também os parâmetros bioquímicos de função de síntese e de biotransformação hepática (albumina e bilirrubinas séricas), bem como os marcadores de dano hepatocelular (AST, ALT e GGT), se assemelharam e ficaram dentro dos limites da normalidade, tornando os grupos comparáveis e ao mesmo tempo eliminando possíveis vieses de confusão decorrentes de insuficiência hepática franca.

#### Estudo pós-transplante

As características da amostra do estudo pós-transplante permitem tecer alguns comentários. Durante os 21 meses do estudo foram efetuados 67 transplantes no HCPA (em média 3,2 transplantes/mês). Destes, 20 pacientes eram anti-VHC+ (30%), prevalência semelhante à previamente descrita na população em hemodiálise no nosso meio<sup>38</sup>. Houve um maior número de exclusões entre os pacientes anti-VHC- (33 casos ou 70%) do que entre os anti-VHC+ (10 casos ou 50%). Os motivos de exclusão foram semelhantes nos dois grupos. Note-se que hepatopatia clinicamente manifesta esteve presente em dois pacientes anti-VHC-. As origens desta hepatopatia foram provável doença pelo CMV e/ou hepatite medicamentosa em um dos casos, e hepatopatia pelo VHB e/ou hepatite medicamentosa no outro caso. As características demográficas dos pacientes do estudo pós-transplante (tabela 9), corroboraram o tempo em hemodiálise como fator de risco para infecção pelo VHC (39 meses nos ELISA+ versus 17 meses nos ELISA-,  $p=0,03$ )<sup>58</sup>. A idade média dos 10 pacientes

ELISA+ ( $41 \pm 11$  anos), apesar de ligeiramente superior à dos 14 pacientes ELISA- ( $32 \pm 12$  anos,  $p=0,07$ ), provavelmente não influenciou nos resultados, pois a depuração da CsA está diminuída somente nos pacientes com mais de 45 anos, conforme demonstrado por Kahan<sup>35</sup> a partir de 493 estudos farmacocinéticos em 212 pacientes, e é maior em crianças<sup>71, 95</sup>, as quais foram excluídas do estudo.

As principais características relacionadas ao transplante, como tipo de doador, incidência de rejeição aguda celular, necrose tubular, dose de prednisona, azatioprina e ciclosporina, bem como DCE, foram semelhantes nos dois grupos (tabela 10). Analogamente ao estudo pré-transplante, os parâmetros laboratoriais dos grupos foram semelhantes e dentro da normalidade (tabela 11), afastando a possibilidade de insuficiência hepática clinicamente manifesta.

## 4.2 Correlações não-paramétricas das variáveis independentes com os parâmetros farmacocinéticos

### 4.2.1 Tempo para atingir a concentração máxima

O tempo para atingir a concentração máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ) depende basicamente da velocidade de absorção do fármaco. A absorção da CsA se dá no intestino delgado

(jejuno e íleo)<sup>48</sup>, e é altamente dependente da presença de sais biliares<sup>73</sup> e de alimentos gordurosos na luz intestinal<sup>54</sup>. Recentemente foi descrita, na membrana do epitélio do intestino delgado, atividade do citocromo P450-3A e da glicoproteína P (também denominada *mdr1*), uma proteína envolvida no transporte da CsA. A atividade dessas proteínas foram responsáveis por 32% e 30%, respectivamente, da variabilidade do T<sub>máx</sub> da CsA<sup>57</sup>.

#### Estudo pré-transplante

O T<sub>máx</sub>, no estudo pré-transplante (tabela 3), esteve correlacionado positivamente com a GGT ( $r=0,52$ ,  $p<0,05$ ), mas não com outras variáveis indicativas de dano hepatocelular (AST, ALT, bilirrubinas). Não foram encontrados na literatura relatos de correlação da GGT com a T<sub>máx</sub> da ciclosporina. No entanto, tal correlação encontra um fundamento racional, se considerarmos a que a elevação da GGT pode sinalizar lesão hepatocelular, a qual culminaria em diminuição da atividade do citocromo P450-3A por insuficiência hepática subclínica.

## Estudo pós-transplante

No estudo pós-transplante (tabela 12), o  $T_{m\acute{a}x}$  correlacionou-se inversamente com a DCE ( $r=-0,45$ ,  $p<0,05$ ). O nívél de função do enxerto não foi diretamente implicado na variação do  $T_{m\acute{a}x}$ . No entanto, Kahan e colaboradores<sup>35</sup> demonstraram um nítido aumento da biodisponibilidade da CsA no primeiro mês pós-transplante, o qual permaneceu ao longo de todo o primeiro ano. Esse incremento da biodisponibilidade, que possivelmente está relacionado com o fim do estado urêmico, pode refletir-se numa diminuição do  $T_{m\acute{a}x}$ . Portanto, pacientes com maior DCE poderiam apresentar um  $T_{m\acute{a}x}$  menor, conforme identificado pelo presente estudo. Este achado corrobora os dados de Shibata e colaboradores<sup>80</sup>, que encontrou correlação positiva da DCE com a  $ASC_{0-12}$  da ciclosporina ao observar a farmacocinética da CsA e o curso clínico de 54 transplantes.

### 4.2.2 Concentração máxima

A concentração máxima ( $C_{m\acute{a}x}$ ), medida no sangue total, é uma variável complexa, resultado dinâmico da fração absorvida do fármaco, da extensão do seu metabolismo de primeira passagem e da velocidade de distribuição do compartimento sangüíneo para os outros compartimentos teciduais (principalmente tecido adiposo e órgãos ricos em gordura, como o fígado, pâncreas, rins e pele).

### Estudo pré-transplante

No estudo pré-transplante não foi constatada nenhuma correlação estatisticamente significativa com qualquer das variáveis aferidas (tabela 3).

### Estudo pós-transplante

No estudo pós-transplante (tabela 12), a creatinina, a depuração da creatinina endógena estimada, e também o colesterol plasmático total estiveram correlacionados com a  $C_{máx}$ . A DCE teve correlação positiva ( $r=0,61$ ,  $p<0,01$ ), interação coerente com a correlação negativa observada com o  $T_{máx}$ , correspondendo a uma provável maior biodisponibilidade em pacientes com DCE maior.

#### 4.2.3 Meia-vida de eliminação

A meia-vida de eliminação é o tempo necessário para que a concentração sangüínea de um determinado fármaco decline 50%. O seu cálculo é baseado na velocidade de decaimento após a completa absorção e distribuição da CsA pelos vários compartimentos teciduais. Idealmente, esta velocidade é constante, podendo

portanto ser representada por uma reta. Tal reta é extrapolada pela regra dos mínimos quadrados a partir dos pontos extraídos da porção terminal da curva farmacocinética. Calcula-se então o seu coeficiente angular, o qual é transposto para uma fórmula simples previamente apresentada na seção métodos. O grau de correlação dos pontos que compuseram a reta de cada paciente foi sempre superior a 0,95. A meia-vida de eliminação da CsA depende basicamente da atividade hepática do citocromo P450-3A, única via de depuração sanguínea da droga.

#### Estudo pré-transplante

No estudo pré-transplante (tabela 3), observamos uma correlação positiva estatisticamente significativa, de magnitude fraca ( $r=0,44$ ,  $p<0,05$ ), entre a idade e a meia-vida de eliminação ( $t_{1/2}$ ) da CsA. Esta correlação era esperada, pois estudos prévios demonstraram uma depuração da CsA menor a partir dos 45 anos<sup>35, 54</sup>. Tal correlação não foi demonstrada no estudo pós-transplante, talvez pelo pequeno número de pacientes. Como a idade dos pacientes foi semelhante entre os grupos, essa associação não constituiu-se em variável de confusão.

## Estudo pós-transplante

No estudo pós-transplante (tabela 12), foi evidenciada uma associação negativa ( $r=-0,51$ ,  $p<0,05$ ) entre a massa corporal e a  $t_{1/2}$ . Apesar da CsA ser altamente lipofílica<sup>22, 96</sup>, estudos prévios dedicados especificamente a avaliar o efeito da obesidade na farmacocinética da CsA falharam em demonstrar qualquer correlação. Nossos resultados, no entanto, sugerem uma meia-vida de eliminação da CsA menor entre os obesos. Paralelamente, a DCE estimada correlacionou-se positivamente com a  $t_{1/2}$  ( $r=0,55$ ,  $p<0,01$ ). Já que a metabolização e excreção do fármaco é realizada quase inteiramente pelo fígado, esse achado não era esperado. No entanto, como a DCE não diferiu entre os grupos anti-VHC+ e anti-VHC- (tabela 10), esta correlação não invalida comparações entre os mesmos.

### 4.2.4 Área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas

A área sob a curva da concentração sanguínea da CsA ao longo do tempo é um parâmetro farmacocinético relevante, pois é a medida factível na prática clínica que melhor se correlaciona com a magnitude da exposição do paciente ao fármaco. Tal exposição guarda, ainda que de maneira imperfeita, correlação com a magnitude dos efeitos da CsA no indivíduo. A área sob a curva da concentração sanguínea da CsA ao longo de 12 h (intervalo de administração do fármaco para pacientes com

farmacocinética normal da droga) foi calculada pelo método da soma dos trapézios. Tal método proporciona uma aproximação de  $\pm 95\%$  da área real, quer seja esta extrapolada através de modelos matemáticos, quer seja através de dosagens mais frequentes. O número de medidas de CsA efetuadas em cada paciente para cálculo da curva (13) e seus pontos no tempo (0', 30', 60', 90', 2h, 3h, 4h, 6h, 7h, 8h, 9h, 10h, 12h) permitiram uma boa estimativa dos vários parâmetros farmacocinéticos, tanto no que tange a porção inicial da curva ( $T_{m\acute{a}x}$ ,  $C_{m\acute{a}x}$ ) como no concernente a porção terminal ( $C_{min}$ , meia-vida de eliminação). Globalmente, a estimativa da  $ASC_{0-12}$  nos presentes estudos é bastante confiável, em virtude da distribuição das medidas no tempo e também do número elevado de pontos (na literatura as áreas sob as curvas, costumeiramente, são delineadas partindo-se de 7 a 13 pontos)<sup>12, 17, 20, 21, 33</sup>. Cumpro reassegurar a exatidão do método de dosagem da CsA, conforme já discutido, com acurácia sempre maior de 95%, em qualquer das faixas de concentração.

#### Estudo pré-transplante

No estudo pré-transplante (tabela 3), a única variável correlacionada com a  $ASC_{0-12}$  foi o peso ( $r=0,5$ ,  $p<0,05$ ). Essa observação é interessante, pois a dose de CsA foi ajustada para o peso (8 mg/kg), como de praxe no protocolo de imunossupressão do HCPA e da maioria dos centros transplantadores. A única outra correlação do peso foi com a  $C_{min}$ . Tratando-se de droga lipofílica, pode ser especulada uma distribuição inicial para o tecido adiposo, seguida por uma

redistribuição na porção terminal da curva, o que explicaria a maior  $ASC_{0-12}$ , e também a maior  $C_{min}$ . Como o peso dos pacientes foi pareado, esta variável não introduz efeito de confusão para comparações diretas entre os grupos anti-VHC+ e anti-VHC-.

### Estudo pós-transplante

No estudo pós-transplante (tabela 12), a  $ASC_{0-12}$  corrigida para a dose de CsA teve correlação apenas com a DCE ( $r=0,6$ ,  $p<0,01$ ), a única variável com correlação positiva com todos os parâmetros farmacocinéticos avaliados no estudo. Era esperada uma exposição total ao fármaco maior num paciente com maior biodisponibilidade (correlação positiva da DCE com a  $C_{máx}$ ) e provável menor taxa de excreção (correlação positiva da DCE com o  $t_{1/2}$ ). Shibata e colaboradores<sup>80</sup>, em estudo com 14 pacientes transplantados renais, encontrou a mesma correlação da função renal com a  $ASC_{0-12}$ .

#### 4.2.5 Concentração mínima

A  $C_{mín}$ , medida imediatamente antes da administração da próxima dose de CsA, é decorrente da  $C_{máx}$  atingida e da meia-vida de eliminação, reflexo da depuração sangüínea da droga.

#### Estudo pré-transplante

No estudo pré-transplante (tabela 3), a  $C_{min}$  esteve associada unicamente com o peso ( $r=0,5$ ,  $p<0,05$ ). Esse achado encontra um racional, conforme já discutido, na correlação encontrada do peso com a  $ASC_{0-12}$  e na possível redistribuição do fármaco a partir de depósitos no tecido adiposo, apesar dos estudos já discutidos não terem encontrado diferenças na biodisponibilidade e na taxa de metabolismo da CsA entre obesos. Novamente, cabe ressaltar o pareamento dos pacientes por peso, validando comparações entre os grupos estudados.

## Estudo pós-transplante

Paradoxalmente, no estudo pós-transplante (tabela 12), a correlação do peso com a  $C_{min}$  foi de natureza inversa ( $r=-0,43$ ,  $p<0,05$ ). Aqui, houve também associação positiva da DCE ( $r=0,55$ ,  $p<0,01$ ) e negativa do colesterol plasmático ( $r=-0,43$ ,  $p<0,05$ ) com a  $C_{min}$ . A DCE, devido as suas associações com a  $C_{máx}$  e com o  $t_{1/2}$ , supunha-se fosse correlacionar-se positivamente também com a  $C_{min}$ . O colesterol plasmático total é um dos ligantes da CsA no plasma, e sua concentração sabidamente tem implicações na distribuição da droga no sangue (alterando a fração livre no plasma) e na meia-vida de distribuição do fármaco. No presente estudo a concentração de CsA foi medida no sangue total, e portanto a sua distribuição no sangue não influenciou os resultados das dosagens. Uma correlação positiva entre a  $C_{min}$  e o colesterol plasmático já havia sido descrita por Lindholm e Henricsson<sup>53</sup> em 66 transplantados renais. Os resultados de Lithell e col.<sup>56</sup> apontavam para 78% da variabilidade da depuração da CsA explicada pela variabilidade do LDL e dos triglicerídeos séricos. Um estudo com sete voluntários sadios resultou em associações positivas entre os triglicerídeos, o HDL e a apolipoproteína A1 e a ASC, porém a magnitude das associações foram bem menores. Já Grevel e col.<sup>29</sup> não encontraram nenhuma associação entre os lipídios séricos e as variáveis farmacocinéticas da CsA em 30 pacientes urêmicos. Como os níveis de colesterol dos grupos estudados foram comparáveis, não foi introduzido viés de confusão.

### 4.3 Comparações dos parâmetros farmacocinéticos entre os pacientes portadores do VHC e o grupo controle

#### 4.3.1 Tempo para atingir a concentração máxima

##### Estudo pré-transplante

No estudo pré-transplante (tabela 4), o tempo para atingir a concentração máxima ( $T_{m\acute{a}x}$ ) foi  $136\pm 45$  minutos no grupo anti-VHC+, comparado com  $109\pm 39$  minutos no grupo controle, uma diferença de 25% ( $p=0,14$ , teste t). Analogamente, o subgrupo de 7 pacientes ELISA e PCR+ (tabela 5), mantiveram estes valores para o  $T_{m\acute{a}x}$  (141 minutos, com uma diferença para o grupo controle de 29%). É importante ressaltar nesse momento, e isto vale para discussões futuras dos outros parâmetros farmacocinéticos, que está sendo comparado um subgrupo de pacientes PCR+, com um grupo controle que não foi testado para viremia. Estamos assumindo que os controles, por serem repetidas vezes anti-VHC- e não apresentarem hepatopatia, são também PCR-. Podemos estimar que a probabilidade pré-teste de obter-se um resultado de PCR+ para VHC nesses pacientes do grupo controle é menor de 5%, face a nenhum deles apresentar evidência clínico-laboratorial de hepatite aguda, e de todos terem vários exames ELISA- em sucessivas oportunidades. O mesmo é válido para os pacientes do grupo controle do estudo pós-transplante. No laboratório de imunologia do HCPA, de maio de 1996 a julho de 1999, foram realizados 201 testes

de PCR para VHC em pacientes ELISA-, dos quais apenas oito foram positivos (4%). Destes oito, seis apresentavam evidência clínico-laboratorial de hepatite viral aguda, e os outros dois pacientes tornaram-se ELISA+ no seguimento.

Os valores encontrados para o  $T_{m\acute{a}x}$  se assemelham aqueles da literatura, a partir de protocolos semelhantes ao presentemente utilizado, conforme os estudos compilados na tabela 18. O hiato demonstrado entre os grupos, apesar de não ser estatisticamente significativo, pode não ser casual, devendo ser considerada a possibilidade de erro beta. Uma absorção do fármaco mais rápida (por parte dos pacientes anti-VHC-), ou ainda mais completa (por parte dos anti-VHC+), resultariam na diferença encontrada. Casual ou não, a pequena diferença encontrada no  $T_{m\acute{a}x}$  não é clinicamente relevante, não gerando implicações para o manejo do paciente. Não obstante, pode estar a sinalizar sutis dissimilaridades nas propriedades absorptivas da CsA entre os pacientes anti-VHC+.

Tabela 18. Parâmetros farmacocinéticos da CsA-ME em estudos com voluntários.

Autor (n° ref.)⇒	Wacke R (89)*	Mueller EA (64)**	Drewe J (17)**	Kovarik JM (45)**	Grupo anti- VHC+	Grupo anti- VHC-
N° pacientes	40	24	12	24	11	11
Dose	5 mg/kg	180 mg	150 mg	180 mg	8 mg/kg	8 mg/kg
T <sub>máx</sub> (min)	-	90	90	86,4	136	109
C <sub>máx</sub> (ng/ml) por mg/kg	-	404	441	415	369	263
t <sub>1/2</sub> (min)	757	151	61	468	265	289
ASC <sub>0-12</sub> (ng.h <sup>-1</sup> /ml) por mg/kg	2107	1406	1496***	1363****	1665	1169
C <sub>min</sub> (ng/ml)	-	52	-	-	366	235

\*pacientes em hemodiálise

\*\*voluntários sadios

\*\*\*ASC<sub>0-32</sub>, porém >95% da área sob a curva situa-se na porção 0-12

\*\*\*\*ASC<sub>0-48</sub>, porém >95% da área sob a curva situa-se na porção 0-12

#### Estudo pós-transplante

No estudo dos pacientes transplantados renais (tabela 13), contrariamente ao estudo pré-transplante, o T<sub>máx</sub> foi ligeiramente inferior nos pacientes anti-VHC+ (75 minutos) do que nos controles (90 minutos), -17%, p=0,18. Tal diferença sofreu discreto incremento ao avaliar-se separadamente os pacientes PCR+ (T<sub>máx</sub> 70 minutos, -22%, p=0,13). Novamente, o erro beta pode ser aqui invocado a justificar a não-significância da discrepância demonstrada, devida a grande variabilidade da variável em questão e a diferenças menores que 20%. Os valores obtidos em ambos os grupos são típicos para a CsA-ME em estudos com transplantados renais produzidos com protocolos parecidos com o presentemente discutido (tabela 19).

Tabela 19. Parâmetros farmacocinéticos da CsA-ME em estudos com transplantados.

Autor (n° ref.)⇒	Foradori AC (23)*	Kovarik JM (46)*	Sketris IS (83)*	Keown P (41)**	Grupo anti-VHC+	Grupo anti-VHC-
N° pacientes	15	55	11	86	10	14
Dose média (mg/kg dose)	1,35	1,60	3,57	4,3	3,6	3,8
T <sub>máx</sub> (min)	72	66	83	102	75	90
C <sub>máx</sub> (ng/ml) por mg/kg	507	647	403	334	542	425
t <sub>1/2</sub> (min)	84	-	328	-	347	389
ASC <sub>0-12</sub> (ng.h <sup>-1</sup> /ml) por mg/kg	2052	2178	1576	1664	2184	1832
C <sub>min</sub> (ng/ml)	-	100	152	239	224	219

\*estudo feito em transplantados renais há mais de seis meses pós-transplante.

\*\*curvas farmacocinéticos obtidas na 2ª semana pós-transplante.

#### 4.3.2 Concentração máxima

##### Estudo pré-transplante

A concentração máxima (C<sub>máx</sub>) da CsA atingida pelos pacientes do grupo anti-VHC+ foi 40% maior do que a do grupo controle (tabela 4), diferença que se alargou para 58% (tabela 5) se tomarmos apenas os pacientes PCR+ (p=0,06 e 0,05, respectivamente, Mann-Whitney). Estes dados sugerem uma maior biodisponibilidade oral da CsA-ME entre os pacientes portadores do VHC, principalmente aqueles com viremia. Tal achado pode ser explicado por alterações

em qualquer dos passos percorridos pela CsA desde a sua ingestão até o seu aparecimento no sangue venoso sistêmico.

A primeira etapa é a absorção da droga pelo intestino delgado. As variáveis com influência conhecida sobre a absorção da CsA (como a presença de sais biliares na luz intestinal, lesão epitelial difusa, intestino curto, ingesta com alimentos, tempo após o transplante), não diferiram entre os grupos. Os diabéticos, que por vezes sofrem de mal-absorção da CsA, foram excluídos. A atividade da glicoproteína-P (mdr1) nos enterócitos é um fator com definida influência na absorção e na  $C_{\text{máx}}$  da CsA<sup>37, 57</sup>. O presente estudo, no entanto, não avaliou diretamente essa variável, sendo possível a existência de uma diferença no sentido de uma maior atividade dessa glicoproteína entre os portadores do VHC, causando uma maior absorção da droga. Estudos com biópsia intestinal poderiam esclarecer melhor a questão.

A segunda etapa seria a biotransformação durante a primeira passagem pela circulação êntero-hepática. No caso da CsA, a atividade do citocromo P450-3A é responsável por esta biotransformação, e a mesma ocorre em dois sítios: na própria parede intestinal e no hepatócito. Novamente o delineamento experimental não contemplou a avaliação desta variável. Uma menor atividade do citocromo, em qualquer desses níveis, acarretaria maiores picos da CsA. A interação viral específica com a expressão enzimática, ou ainda um dano hepatocelular subclínico possibilitariam tal efeito. Estudos específicos de avaliação da atividade deste citocromo em pacientes portadores do VHC, tanto em nível intestinal como hepático, elucidariam estas hipóteses, mas não são disponíveis na literatura.

## Estudo pós-transplante

A  $C_{\text{máx}}$  diferiu em +21% no grupo ELISA+ ( $p=0,23$  – tabela 13). A concentração de pico foi significativamente maior apenas nos pacientes com viremia (+50%,  $p<0,01$  – tabela 14). Tal resultado é concordante com o estudo pré-transplante e aponta novamente para uma diferença na farmacocinética da CsA nessa subpopulação de transplantados renais. A discussão desenvolvida nos parágrafos anteriores se aplica neste sub-item.

### 4.3.3 Meia-vida de eliminação

## Estudo pré-transplante

A meia-vida de eliminação da CsA encontrada (tabela 4) (4,4 h no grupo anti-VHC+ e 4,8 h no grupo anti-VHC-, -8%,  $p=0,23$ ) situa-se dentro da faixa descrita para a droga em voluntários (tabela 18). A meia-vida da CsA é determinada basicamente pela atividade hepática do citocromo P450-3A. Baseado na semelhança deste parâmetro entre os grupos, podemos inferir que o seu principal determinante (a atividade hepática do citocromo), também se justapõe. É interessante notar que o fato da meia-vida da CsA situar-se dentro da faixa esperada não significa que a função

hepática de detoxificação seja normal na população estudada, nem que não haja dano hepatocelular subclínico, haja visto que o sistema P450-3A é apenas um dentre vários existentes, e que o dado extraído é indireto. No entanto, sugere que diferenças encontradas na exposição total à droga entre os grupos não podem ser explicadas por uma maior meia-vida do fármaco.

#### Estudo pós-transplante

A meia-vida de eliminação da CsA nos pacientes transplantados renais (tabela 13), corroborando o estudo com pacientes em hemodiálise, não diferiu entre os grupos anti-VHC+ e anti-VHC- (5,8 h e 6,5 h, respectivamente, -11%,  $p=0,37$ ). Os valores encontrados condizem com aqueles da literatura (tabela 19).

#### 4.3.4 Área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas

##### Estudo pré-transplante

Na tabela 4, observa-se que a  $ASC_{0-12}$  foi 42% maior, em média, no grupo de pacientes anti-VHC+ ( $p=0,04$ , teste t). Tal discrepância estabeleceu-se nas porções iniciais da curva, onde a  $C_{máx}$  atingida foi 40% superior no grupo em questão. A meia-vida de eliminação foi superponível, porém como os indivíduos anti-VHC+ partiram de um valor mais elevado, a  $C_{min}$  entre estes também foi maior. A análise do subgrupo de pacientes PCR+ (tabela 5) revelou uma diferença ainda maior, de 69% ( $p<0,01$ , teste t). Foram, em realidade, estes os pacientes que apresentaram  $ASC_{0-12}$  superiores à do grupo controle. A ausência de viremia, conforme já discutido na introdução, não significa a ausência de infecção atual, posto que o vírus pode existir intacto no sistema retículo-endotelial e nos hepatócitos. Além disso, em muitos casos a viremia é intermitente. Nos estudos presentemente discutidos, a presença de viremia no momento da realização da avaliação foi um fator fortemente associado à alteração farmacocinética da CsA. Esse achado pode indicar que uma maior carga ou replicação viral seja necessária para induzir as alterações na farmacocinética da CsA. A coincidência de estas alterações farmacocinéticas aparentemente serem mais marcadas nos primeiros meses pós-transplante (figuras 1 e 2), poderia ser explicada pela simultaneidade de uma maior imunossupressão, a qual predispõe a uma maior replicação viral.

Na tabela 6 está relatado um interessante achado, obtido por análise de variância: a magnitude do efeito da presença do VHC na  $ASC_{0-12}$  foi mais intenso entre as mulheres (incremento de 162% na  $ASC_{0-12}$ , 2,6 vezes maior) do que entre os homens (incremento de 31% ou 1,3 vezes). Coincidentemente, Christians e col.<sup>12</sup> ao estudarem especificamente o efeito do diltiazem (um inibidor competitivo do metabolismo hepático da CsA) em 12 transplantados renais (seis homens e seis mulheres), identificou um efeito deste bloqueador do cálcio na  $ASC_{0-12}$  mais pronunciado entre as mulheres (incremento de 1,98 vezes) do que entre os homens (incremento de 1,19 vezes,  $p < 0,01$ ). Os autores também analisaram amostras de intestino delgado de 4 mulheres e de 10 homens submetidos à cirurgia para retirada de tumor (portanto não portadores de insuficiência renal), e avaliaram a atividade do citocromo P450-3A através da incubação com CsA e posterior medida dos metabólitos formados. Os resultados indicaram uma atividade duas vezes maior entre as mulheres. Por outro lado, Hunt e col.<sup>33</sup> descreveram, através de quantificação *in vitro* da N-desmetilação da eritromicina por hepatócitos, uma atividade do citocromo apenas 24% maior nas mulheres ( $p = 0,027$ ). Tais achados formariam uma base teórica para explicar o efeito mais pronunciado, presentemente verificado, do VHC na  $ASC_{0-12}$  entre as mulheres: caso as diferenças farmacocinéticas da CsA fossem causadas justamente pela biotransformação intestinal dependente da atividade do citocromo P450-3A, uma inibição viral deste sistema afetaria mais marcadamente os indivíduos com maior atividade das enzimas em tela, (as mulheres). Por conseguinte, o mecanismo mais provável para explicar esses resultados, é um menor metabolismo em nível intestinal da ciclosporina, ou ainda uma maior absorção da droga devida a uma maior expressão da glicoproteína P no epitélio enteral, mecanismo esse que

necessita estudos voltados especificamente a avaliação destes sistemas para sua completa elucidação.

Qual a importância destes achados? O significado principal é a demonstração de que um subgrupo de pacientes, os portadores assintomáticos do VHC, potencialmente transplantáveis e prevalentes no Brasil (até 30 % dos pacientes em lista de espera para receber um enxerto renal), sofrem uma exposição maior à CsA mediante uma dose habitual do fármaco, em relação aqueles sem essa condição. Tal exposição pode ou não estar correlacionada com maior incidência de desfechos clínicos (nefrotoxicidade pela CsA, rejeição, perda de enxertos, hepatite medicamentosa). Tais associações, porém, fogem ao escopo do presente estudo. No entanto, Legendre e col.<sup>49</sup> em estudo prospectivo com 499 pacientes, 22% dos quais anti-VHC+, demonstrou uma menor sobrevida do enxerto nos portadores do VHC (40% versus 65% aos 150 meses,  $p < 0,01$ ).

#### Estudo pós-transplante

Corroborando o estudo pré-transplante, os pacientes transplantados anti-VHC+ (tabela 13) também apresentaram uma  $ASC_{0-12}$  /dose 23% maior, mas sem atingir significância estatística ( $p=0,15$ ). Ao separar os pacientes com viremia (tabela 14), a diferença novamente acentuou-se (45%) e atingiu significado ( $p < 0,05$ ). A confirmação dos resultados do estudo pré-transplante, aliado à demonstração de uma diferença na exposição ao fármaco entre pacientes efetivamente transplantados e

fazendo uso das doses de CsA indicadas clinicamente para a indução de imunossupressão, confere relevância clínica aos resultados. A repercussão clínica das diferenças presentemente demonstradas (traduzida em sobrevida do enxerto e do paciente, incidência de rejeição e infecções ou efeitos adversos da ciclosporina) nessa prevalente parcela da população de transplantados renais, necessita, portanto, ser melhor estudada.

A análise da interação com o sexo não resultou significativa, contrariamente aos estudo pré-transplante. No entanto, o incremento na  $ASC_{0-12}$  também foi mais marcado entre as mulheres (62%) do que entre os homens (29%,  $p=0,23$ ), sendo possível a ausência de interação estatística devido ao pequeno número de pacientes nos subgrupos.

#### 4.3.5 Concentração mínima

##### Estudo pré-transplante

A concentração mínima foi 56% superior ( $p=0,09$ ) entre os pacientes anti-VHC+ (tabela 4). Esta diferença foi o resultado de um nível de pico 40% maior neste grupo, e não de uma depuração hepática menor, já que a meia vida de eliminação foi muito semelhante entre os grupos. A importância deste achado reside apenas no uso corriqueiro da  $C_{min}$  como parâmetro indicativo da exposição do paciente ao

fármaco. Como medida de exposição, porém, a  $ASC_{0-12}$  é muito mais precisa, e foi também 42% maior, confirmando o achado. Quando foram analisados separadamente os pacientes PCR+ (tabela 5), a diferença da  $C_{min}$  aumentou acentuadamente, sendo praticamente o dobro (91% maior) do que o grupo controle ( $p < 0,01$ ), e adquirindo significância estatística. Este resultado está em consonância com os demais já discutidos, demonstrando que de alguma maneira a viremia no momento da aferição é condição importante para indução das alterações farmacocinéticas verificadas.

#### Estudo pós-transplante

No estudo pós-transplante a  $C_{min}$  foi praticamente igual nos grupos ELISA+ (224 ng/ml) e ELISA- (219 ng/ml) apesar de uma  $ASC_{0-12}/dose$  23% maior naquele grupo (tabela 13). Note que, como a curva farmacocinética foi obtida no 15° PO, os pacientes já haviam atingido o estado de equilíbrio e as doses de CsA empregadas eram as usuais, mimetizando as condições reais atuais de emprego e monitorização terapêutica da droga. Isto confirma a precariedade da estimativa da exposição do paciente ao fármaco a partir da  $C_{min}$ . Analogamente ao estudo pré-transplante, a  $C_{min}$  foi maior (24%) entre os pacientes virêmicos, às custas também de uma  $C_{max}$  50% maior, e não de diferenças de depuração, já que a meia-vida permaneceu igual (tabela 14). Estes dados mais uma vez estão em uníssono a apontar para a mesma direção: a da importância da viremia na produção das diferenças farmacocinéticas percebidas.

#### 4.4 Seguimento pós-transplante

Os vinte e quatro pacientes do estudo pós-transplante foram seguidos ao longo de doze meses, a fim de avaliar possíveis diferenças no nível de vale e na dose de CsA prescrita. Durante todo o período de seguimento o grupo de pacientes ELISA+, bem como o subgrupo PCR+, sempre apresentou níveis de vale maiores do que o grupo controle, com uma acentuação da diferença no sexto mês, onde foi atingida significância estatística (tabelas 15 e 16). Adicionalmente, o grupo ELISA+ necessitou uma redução maior da dose de CsA do 3º para o 6º mês, porém mesmo assim permaneceu com níveis sanguíneos mais elevados neste momento, sendo, portanto, mais exposto ao fármaco que o grupo ELISA-. O quociente nível/dose de CsA, expresso nas figuras 1 e 2, demonstra mais claramente como, para uma mesma dose de CsA, o grupo portador do VHC apresenta níveis de vale maiores. Interessante notar a tendência de um pico do efeito viral no 6º mês, com posterior reversão desse efeito ao final do primeiro ano. A magnitude da absorção da CsA também se comporta variavelmente ao longo do tempo pós-transplante, atingindo um máximo em 2 a 4 semanas, e retornando aos níveis iniciais de absorção após os seis meses<sup>35, 87</sup>. A razão para tal observação permanece obscura, sendo no mínimo curiosa esta coincidência, além de mais um indício concordante com um efeito viral na atividade do citocromo P450-3A e/ou da glicoproteína P em nível intestinal como causa para as diferenças farmacocinéticas verificadas. Pode-se especular ainda, que a maior replicação e/ou carga viral neste período, induzida pelas doses maiores de

imunossupressores, esteja envolvida no efeito observado ao longo do tempo.

A possibilidade de haver algum impacto clínico da presença do VHC no transplantado renal que usa ciclosporina foi reforçada com a demonstração de níveis de vale maiores nestes pacientes, haja visto que o presente estudo foi prospectivo, controlado, e com os fatores de confusão excluídos *a priori* pelos critérios de seleção empregados. Resta claro que os resultados aqui discutidos sugerem fortemente diferenças farmacocinéticas da CsA neste subgrupo prevalente de transplantados renais. Não obstante, quedam obscuras questões relevantes. A primeira delas diz respeito ao prognóstico do enxerto deste subgrupo de pacientes. Legendre et al<sup>49</sup> numa coorte de 499 pacientes receptores renais, demonstrou menor sobrevida do enxerto nos portadores do VHC. Os pacientes deste estudo, no entanto, não são superponíveis ao subgrupo em tela, pois muitos não usavam CsA, e vários desenvolveram hepatopatia clinicamente manifesta, não existindo na literatura estudos de seguimento que abarquem transplantados renais com as características dos pacientes presentemente estudados. A segunda questão é se a monitorização terapêutica da CsA, seja através da realização de curvas farmacocinéticas pré e pós-transplante<sup>42</sup>, seja através da predição da  $ASC_{0-12}$  por modelos matemáticos<sup>3</sup>, ou ainda por estratégia de concentração-alvo<sup>61</sup>, terá capacidade para reverter o hipotético efeito desfavorável *per se* do VHC na sobrevida do enxerto. Tal assertiva é verdadeira para subgrupos expostos a outros fatores, como a raça (negros) ou a presença de diabetes melito<sup>21</sup>, que também levam a menor absorção da CsA. Porém nos estudos que demonstram o benefício de uma monitorização farmacocinética mais rigorosa, a preparação de CsA empregada não foi a microemulsão, correntemente em uso, e o desfecho medido não foi a sobrevida do enxerto. Conclui-se, do exposto, que

os resultados do presente estudo sugerem, no mínimo, um cuidado maior no seguimento de doses e níveis de CsA em transplantados renais anti-VHC+, principalmente naqueles com viremia.

#### 4.5 Estratégia abreviada para estimativa da área sob a curva de concentração da CsA do tempo zero até o tempo 12 horas

##### Estudo pré-transplante

O grau de correlação dos níveis de vale com a  $ASC_{0-12}$  ( $r=0,867$ ) apesar de elevado (tabela 7), gera um coeficiente de determinação de apenas 0,75. Portanto, torna-se interessante valer-se de uma estratégia melhor para uma estimativa mais precisa da  $ASC_{0-12}$ . Já que é laborioso e dispendioso efetuar as 13 dosagens de CsA para medi-la com exatidão, um modelo matemático que inclua duas ou três dosagens apenas seria um método mais prático. No estudo pré-transplante, a  $ASC_{0-12}$  pôde ser estimada (equação 2) a partir de apenas três medidas de CsA, as 2, 3 e 6 horas, com excelente precisão ( $r^2=0,98$ ). Utilizando apenas dois pontos (2 e 6h) o  $r^2$  ajustado permaneceu acima de 0,9 (equação 1). Nenhum dos estudos já realizados, efetuados com pacientes urêmicos aguardando transplante e utilizando dose única de CsA-ME, objetivou encontrar um modelo matemático para estimativa da  $ASC_{0-12}$ . No entanto, os pontos selecionados concordam com aqueles dos estudos com transplantados

renais. A alta variabilidade interindividual das características absorptivas da CsA não microemulsificada torna clinicamente relevante a avaliação de sua farmacocinética previamente ao transplante renal. Vários autores<sup>35, 36, 76</sup>, inclusive, criaram modelos para cálculo da dose inicial individualizada da CsA. Em virtude da preparação comumente usada (Neoral®) apresentar características absorptivas mais previsíveis, tal necessidade não parece justificada. No entanto, caso se demonstre útil para o manejo da imunossupressão pós-transplante, os modelos aqui desenvolvidos demonstram a possibilidade da criação deste tipo de modelo.

#### Estudo pós-transplante

Mais importante, do ponto-de-vista prático, são os algoritmos gerados a partir de curvas farmacocinéticas realizadas sob utilização contínua do fármaco com as doses habitualmente indicadas. No estudo pós-transplante o algoritmo que incluiu a concentração da CsA nos tempos 90' e 7 h foi o que melhor estimou a  $ASC_{0-12/dose}$  ( $r^2 = 0,98$ , equação 3). Devido a sua simplicidade de execução (apenas duas medidas), e a sua alta correlação com a ASC, tal extrapolação reveste-se de praticidade. Vários modelos já foram propostos na literatura, a maioria baseados em um ponto nas primeiras duas horas, e mais um ponto entre 4,5 e 8h pós-dose (tabela 20). O resultado da análise de regressão presentemente discutida corrobora esses dados. Notavelmente, as dosagens isoladas de CsA do estudo pós-transplante atingiram um grau de correlação bem menor com a  $ASC_{0-12/dose}$ , do que no estudo

pré-transplante, demonstrando a precariedade ( $r^2=0,24$ ) da informação prestada pelos níveis de vale como medida de exposição à droga na situação real de uso do fármaco.

Tabela 20. Algoritmos para cálculo aproximado da  $ASC_{0-12}$  da CsA-ME em transplantados renais.

Algoritmo	Referência
$ASC = 380,04 + 1,84 (CsA\ 90') + 10,41 (CsA\ 7h)$	Estudo atual
$ASC = 176,92 + 5,19(CsA\ 0') + 1,27(CsA\ 1h) + 4,15(CsA\ 3h)$	Gaspari F <sup>27</sup>
$ASC = 355,20 + 1,96 (CsA\ 2h) + 11,50 (CsA\ 8h)$	Johnston A <sup>34</sup>
$ASC = 312,66 + 1,84 (CsA\ 0') + 4,39 (CsA\ 2h)$	Keown PA <sup>40</sup>
$ASC = 195,80 + 2,40 (CsA\ 2h) + 7,70 (CsA\ 6h)$	Amante AJ <sup>3</sup>

Uma medida com elevado grau de correlação com a  $ASC_{0-12}$ , de fácil execução e de baixo custo, tornaria factível o estabelecimento de parâmetros-alvo para essa medida. A partir da definição destes parâmetros, seria possível a criação de uma estratégia de monitorização terapêutica para a CsA mais precisa do que o método comumente empregado, baseado somente no nível sanguíneo de vale.

## 5 Conclusões

A farmacocinética da ciclosporina microemulsão dos pacientes portadores assintomáticos do vírus da hepatite C, tanto pré como pós-transplante, apresenta diferenças em relação a população controle, não portadora do vírus.

As principais diferenças são os níveis de pico e a área sob a curva maiores, para uma mesma dose da droga.

Os pacientes com viremia, bem como aqueles do gênero feminino, são os que apresentam um efeito mais acentuado da infecção viral na área sob a curva.

A área sob a curva de concentração da ciclosporina do tempo 0 ao tempo 12 horas é melhor estimada a partir de extrapolações matemáticas baseadas em duas dosagens (nos tempos 2 e 6 h para pacientes em hemodiálise e nos tempos 90 minutos e 7 h pós-dose para pacientes transplantados), do que a partir de dosagens no nível de vale.

Os níveis de vale da ciclosporina no primeiro ano pós-transplante são maiores entre os pacientes PCR+ para VHC do que entre os pacientes ELISA-.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Alberti A, Morsica G, Chemello L, et al.** Hepatitis C viraemia and liver disease in symptom-free individuals with anti-HCV. *Lancet* 340:697-698, 1992.
2. **Alter MJ; Margolis HS; Krawczynski K et al.** The natural history of community-acquired hepatitis C in the United States. The Sentinel Counties Chronic non-A, non-B Hepatitis Study Team. *N Engl J Med* 327(27):1899-1905, 1992.
3. **Amante AJ, Kahan BD.** Abbreviated ASC strategy for monitoring cyclosporine microemulsion therapy in the immediate posttransplant period. *Transplant Proc* 28(4):2162-2163, 1996.
4. **Awni WM, Kasiske BL, Heim-Duthoy K, Rao KV.** Long-term cyclosporine pharmacokinetic changes in renal transplant recipients: effects of binding and metabolism. *Clin Pharmacol Ther* 45:41-48, 1989.
5. **Beckingham IJ, O'Rourke JS, Stubington SR, Hinwood M, Bishop MC, Rigg KM.** Impact of cyclosporin on the incidence of chronic rejection in renal transplants. *Ann R Coll Surg Engl* 79(2):138-42, 1997.
6. **Borel JF, Baumann G, Chapman I et al.** In vivo pharmacological effects of ciclosporin and some analogues. *Advances in pharmacology* 35:115-246, 1996.

7. **Bunjes D, Hardt C, Röllinghoff M, Wagner H.** Cyclosporin A mediates immunosuppression of primary cytotoxic T cell responses by impairing the release of interleukin 1 and interleukin 2. *European Journal of Immunology* 11:657-661, 1981.
8. **Bush MP, Wilber JC, Johnson PJ, Tobler L, Evans CS.** Impact of specimen handling and storage on detection of hepatitis C virus RNA. *Transfusion* 32:420-425, 1992.
9. **Cecka JM.** The UNOS Scientific Renal Transplant Registry. *Clin Transpl* 12(1):1-16, 1998.
10. **Chesky M, Scalco R, Failace L, Read S, Jobim LF.** Diagnóstico molecular das infecções do sistema nervoso central pela reação em cadeia da polimerase (PCR). *RBAC*, 30(3):131-136, 1998.
11. **Choo Q, Kuo G, Weiner AJ, Overby LR, Bradley DW, Houghton M.** Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A, non-B, viral hepatitis genomen. *Science* 244:358-362, 1989.
12. **Christians U, Bleck JS, Lampen A, et al.** Are cytochrome P450 3A enzymes in the small intestine responsible for different cyclosporine metabolite patterns in stable male and female renal allograft recipients after co-administration of diltiazem? *Transpl Proc* 28(4):2159-2161, 1996.

13. **Colombo M, Kuo G, Choo QL, et al.** Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in Italian patients with hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2(8670):1006-1008, 1989.
14. Consensus document: Hawk`s Cay meeting on therapeutic drug monitoring of cyclosporine. *Transplant Proc* 22:1357-61, 1990.
15. **de Mattos AM, Bennett WM, Barry JM, Norman DJ.** HLA-identical sibling renal transplantation – a 21-yr single-center experience. *Clin Transplant* 13(2), 158-167, 1999.
16. **Disney APS,** editor: Eighteenth report of Australian and New Zeland Combined Dialysis and Transplant Registry (ANZDATA): Adelaide. Adelaide: ANZDATA, 1995.
17. **Drewe J, Meier R, Vonderscher J, et al.** Enhancement of the oral absorption of cyclosporin in man. *Br J Clin Pharmac* 34:60-64, 1992.
18. **Farci P, Alter HJ, Wong D, et al.** A long term-study of hepatitis C virus replication in non-A, non-B hepatitis. *N Engl J Med* 325:98-104, 1991.
19. **Faulds D, Goa KL, Benfield P.** Cyclosporin: a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs* 45:953-1040, 1993.
20. **Faynor SN, Moyer TP, Sterioff S et al.** Therapeutic drug monitoring of cyclosporine. *Mayo Clin Proc* 59:571-572, 1984.

21. **First MR, Schroeder TJ, Monaco AP, Simpson MA, Curtis JJ, Armenti VT.** Cyclosporine bioavailability: dosing implications and impact on clinical outcomes in select transplantation subpopulations. *Clin Transplantation* 10:55-59, 1996.
22. **Flechner SM, Kolbeisson ME, Tam J, Lum B:** The impact of body weight on cyclosporine pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Transplantation* 47:806-10, 1989.
23. **Foradori AC, Martinez L, Elberg A, Vaccarezza A, Loveluck A Pinto C.** Preliminary pharmacokinetic evaluation of a new galenical formulation of oral cyclosporine A: Neoral TM. *Transplant Proc* 27:1813:1814, 1995.
24. **Frey FJ, Horber FF, Frey BM.** Trough levels and concentration time curves of cyclosporine in patients undergoing renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 43:55-62, 1988.
25. **Frey FJ.** Pharmacokinetic determinants of cyclosporine and prednisone in renal transplant patients. *Kidney International* 39:1034-50, 1991.
26. **Fruman DA, Burakoff SJ, Bierer BE.** Molecular actions of cyclosporin A, FK 506 and rapamycin. In "Imunosuppressive drugs. Developments in Anti-rejection Therapy". Thomson AW and Starlz TE eds., pp. 14-35., E Arnold, London, 1994.

27. **Gaspari F, Anedda F, Signorini O, et al.** Prediction of cyclosporine area under the curve using a three-point sampling strategy after Neoral administration. *J Am Soc Nephrol* 8(4):647-52, 1997.
28. **Genesca J, Vila J, Córdoba J, et al.** Hepatitis C virus infection in renal transplant recipients: epidemiology, clinical impact, serological confirmation and viral replication. *J Hepatol* 22:272-277, 1995.
29. **Grevel J, Reynolds KL, Rutzky LP, Kahan BD.** Influence of demographic factors on cyclosporine pharmacokinetics in adult uremic patients. *J Clin Pharmacol* 29:261-266, 1989.
30. **Holt DW, Marsden JT, Johnston A, Taube DH.** Cyclosporine monitoring with polyclonal and specific monoclonal antibodies during episodes of renal allograft dysfunction. *Transplant Proc* 21:1482-1484, 1989.
31. **Horina JH, Wirnsberger GH, Kenner L, Holzer H, Krejs GJ.** Increased susceptibility for CsA-induced hepatotoxicity in kidney graft recipients with chronic viral hepatitis C. *Transplantation* 56(5):1091-1094, 1993.
32. **Hostetter TH.** Chronic transplant rejection. *Kidney International* 46:266-79, 1994.
33. **Hunt CM, Westerkam WR, Stave GM, et al.** Effect of age and gender on the activity of human hepatic CYP3A. *Biochem Pharmacol* 44(2):275-283, 1992.
34. **Johnston A, Kovarik JM, Mueller EA, et al.** Predicting patients exposure to cyclosporine. *Transpl Int* 9(S1):S305-S307, 1996.

35. **Kahan BD, Kramer WG, Wideman C, Flechner SM, Lorber MI, Van Buren CT.** Demographic factors affecting the pharmacokinetics of cyclosporine estimated by radioimmunoassay. *Transplantation* 41(4):459-464, 1986.
36. **Kahan BD.** Individualization of cyclosporine therapy using pharmacokinetic and pharmacodynamic parameters. *Transplantation* 40(5):457-76, 1985.
37. **Kaplan B, Lown K, Craig R, et al.** Low bioavailability of cyclosporine microemulsion and tacrolimus in a small bowel transplant recipient: possible relationship to intestinal P-glycoprotein activity. *Transplantation* 67(2):333-335, 1999.
38. **Karohl C, Manfro RC, Gonçalves LF, et al.** Prevalência de anticorpos anti-vírus da hepatite C em pacientes em hemodiálise crônica de Porto Alegre. *J Bras Nefrol* 17(1):40-46, 1995.
39. **Keown PA, Ulan RA, Wall WJ, et al.** Immunological and pharmacological monitoring in the clinical use of cyclosporin A. *Lancet* i, 686-689, 1981.
40. **Keown PA, Landsberg D, Halloran P, et al.** A randomized, prospective multicenter pharmacoepidemiologic study of cyclosporine microemulsion in stable renal graft recipients. *Transplantation* 62(12):1744-1752, 1996.
41. **Keown PA, Niese D.** Cyclosporine microemulsion increases drug exposure and reduces acute rejection without incremental toxicity in de novo renal transplantation. *Kidney Intern* 54(3):938-944, 1998.

42. **Keown PA, Kahan BD, Johnston A, et al.** Optimization of cyclosporine therapy with new Therapeutic Drug Monitoring Strategies: report from the International Neoral® TDM Advisory Consensus Meeting. *Transplant Proc* 30:1645-1649, 1998.
43. **Klintmalm G, Säve J, Ringdén O, von Bahr C, Magnusson A.** Cyclosporine plasma levels in renal transplant patients: association with renal toxicity and allograft rejection. *Transplantation* 39:132-137, 1985.
44. **Kolars JC, Awni WM, Merion RM, et al.** First-pass metabolism of cyclosporin by the gut. *Lancet* 338(8781):1488-90 1991.
45. **Kovarik JM, Mueller EA, Van Bree JB, Tetzloff W, Kutz K.** Reduced inter- and intraindividual variability in cyclosporine pharmacokinetics from a microemulsion formulation. *J Pharm Sci* 83(3):444-446, 1994.
46. **Kovarik JM, Mueller EA, Van Bree JB, et al.** Cyclosporine pharmacokinetics and variability from a microemulsion formulation - a multicenter investigation in kidney transplant patients. *Transplantation* 58(6):658-663, 1994.
47. **Kwok S, Higuchi R.** Avoiding false positives with PCR. *Nature* 339:237-238, 1989.
48. **LaRosa CA, Kimura K, Dresner LS, Birnbaum E, Jaffe BM.** Cyclosporine absorption by transplanted rat small intestine. *Transplantation* 47:736-738, 1989.

49. **Legendre C, Garrigue V, Le Bihan C, et al.** Harmful long-term impact of hepatitis C virus infection in kidney transplant recipients. *Transplantation* 65(5):667-70, 1998.
50. **Lemaire M, Tillement JP.** Role of lipoproteins and erythrocytes in the in vitro binding and distribution of cyclosporin A in the blood. *J Pharm Pharmacol* 34:715-718, 1982.
51. **Lindberg A, Odland B, Tufveson G, Lindström B, Gabrielsson J:** The pharmacokinetics of cyclosporine A in uremic patients. *Transplant Proc* 18(suppl 5):144-52, 1986.
52. **Lindholm A, Henricsson S, Groth CG, Sjöqvist F.** A prospective study of cyclosporin concentration in relation to its therapeutic effect and toxicity after renal transplantation. *Brit J Clin Pharmacol* 30:443-452, 1990.
53. **Lindholm A, Hericsson S.** Comparative analyses of cyclosporine in whole blood and plasma by radioimmunoassay, fluorescence polarization immunoassay, and high-pressure liquid chromatography. *Ther Drug Monit* 12:344-352, 1990.
54. **Lindholm A.** Factors Influencing the Pharmacokinetics of Cyclosporine in Man. *Ther Drug Monit* 13(6):465-477, 1991.
55. **Lindholm A, Kahan BD.** Influence of cyclosporine pharmacokinetics, trough concentrations, and ASC monitoring on outcome after kidney transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 54:205-218, 1993.

56. **Lithell H, Odland B, Selinus I, Lindberg A, Lindström B, Frödin L.** Is the plasma lipoprotein pattern of importance for treatment with cyclosporine? *Transplant Proc* 18(S5):50-51, 1986.
57. **Lown KS, Mayo RR, Leichtman AB, et al.** Role of intestinal P-glycoprotein (mdr1) in interpatient variation in the oral bioavailability of cyclosporine. *Clin Pharmacol Therap* 62(3):248-260, 1997.
58. **Manfro RC, Karohl C, Gonçalves LF, et al.** Liver function tests in hepatitis C virus infected kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 27(2):1821-1822, 1995.
59. **Maurer G.** Metabolism of Cyclosporine. *Transplant Proc* 17:19-26, 1985.
60. **Morris PLP, Jones B.** Transplantation versus dialysis: a study of quality of life. *Transplant Proc* 20(1):23-6, 1988.
61. **Morris RG.** Target concentration strategy for cyclosporin monitoring. *Clin Pharmacokinet* 32(3):175-179, 1997.
62. **Morse GD, Holdsworth MY, Venuto RC, Gerbasi J, Walshe JJ.** Pharmacokinetics and clinical tolerance of intravenous and oral cyclosporine in the immediate postoperative period. *Clin Pharmacol Ther* 44:654-664, 1988.
63. **Moyer TP, Post GR, Sterioff S, Anderson CF.** Cyclosporine nephrotoxicity is minimized by adjusting dosage on the basis of drug concentration in blood. *Mayo Clin Proc* 63:241-247, 1988.

64. **Mueller EA, Kovarik JM, Van Bree JB, Grevel J, Lücker PW, Kutz K.** Influence of a fat-rich meal on the pharmacokinetics of a new oral formulation of cyclosporine in a crossover comparison with the market formulation. *Pharm Res* 11:151-155, 1994.
65. **Nagayama R Tsuda F, Okamoto H, et al.** Genotype dependence of hepatitis C virus antibodies detectable by the first generation enzyme-linked immunosorbent assay with C100-3 protein. *J Clin Invest* 1529-1533, 1993.
66. **Niedeberger W, Lemaire M, Maurer G, Nussbaumer K, Wagner A.** Distribution and binding of cyclosporine in blood and tissues. *Transplant Proc* 15:203-205, 1983.
67. **Oesterreicher C, Hammer J, Koch U, et al.** HBV and HCV genome in peripheral blood mononuclear cells in patients undergoing hemodialysis. *Kidney Int* 48:1967-1971, 1995.
68. **Parsons DA, Tracy SE, Handa KA, Greig PD.** An update of the Canadian Organ Replacement Register (1998). *Clin Transpl* 12(1):97-106, 1998.
69. **Parsons DS, Harris DHC.** A review of quality of life in chronic renal failure. *Pharmacoeconomics* 12(2 pt 1):140-60, 1997.
70. **Pereira BJG, Levey AS.** Hepatitis C virus infection in dialysis and renal transplantation. *Kidney Int* 51:981-999, 1997.
71. **Ptachcinski RJ, Burckart GJ, Rosenthal JT et al.** Cyclosporine pharmacokinetics in children following cadaveric renal transplantation. *Transplant Proc* 18:766-767, 1986.

72. **Ptachcinski RJ, Venkataramanam R, Rosenthal JT, Burckart GJ, Taylor RJ, Hakala TR.** Cyclosporine kinetics in renal transplantation. *Clin Pharmacol Ther* 38:296-300, 1985.
73. **Ptachcinski RJ, Venkataramanam R, Burckart GJ.** Clinical pharmacokinetics of cyclosporin. *Clin Pharmacokinet* 11:107-132, 1986.
74. **Rao KV, Anderson RW, Kasiske BL, Dahl DC.** Value of liver biopsy in the evaluation and management of chronic liver disease in renal transplant recipients. *Am J Med* 94:241-250, 1993.
75. **Reynolds KL, Grevel J, Gibbons SY, Welsh MS, Rutzky LP, Kahan BD.** Cyclosporine pharmacokinetics in uremic patients: influence of different assay methods. *Transplant Proc* 20(suppl 2):462-465, 1988.
76. **Savoldi S; Kahan BD.** Relationship of cyclosporine pharmacokinetic parameters to clinical events in human renal transplantation. *Transplant Proc* 18(6) Suppl 5:120-8,1986.
77. **Schroeder TJ, Hariharan S, First MR.** Relationship between cyclosporine bioavailability and clinical outcome in renal transplant recipients. *Transplant Proc* 26(5):2787-90, 1994.
78. **Schweitzer EJ, Matas AJ, Gillingham KJ, et al. :** Causes of renal allograft loss. *Ann Surg* 214:679-688, 1991.
79. **Senel MF, Van Buren CT, Welsh M, Kahan BD.** Impact of early cyclosporin average blood concentration on early kidney transplant failure. *Tranplant Int* 11:46-52, 1998.

80. **Shibata N, Hoshino N, Minouchi T, et al.** Relationship between area under the concentration versus time curve of cyclosporin A, creatinine clearance, hematocrit value, and other clinical factors in Japanese renal transplant patients. *Int J Clin Pharmacol Ther* 36(4):202-209, 1998.
81. **Silva Júnior HT, Pereira AB, Ajzen H, Pestana JOM.** Farmacocinética da ciclosporina e de seus metabólitos em pacientes submetidos a transplante renal. *Rev Ass Med Brasil* 40(3):159-71, 1994.
82. **Simon N, Coroucé AM, Lemarrec N, Trepo C, Ducamp S.** A twelve year natural history of hepatitis C virus infection in hemodialysed patient. *Kidney Int* 46:504-511, 1994.
83. **Sketris IS, Lawen JG, Zollinger-Beauregard L, et al.** Comparison of the pharmacokinetics of cyclosporine Sandimmune with Sandimmune Neoral in stable renal transplant patient. *Transplant Proc* 26:2961-2963, 1994.
84. **Stone BG, Udani M, Sanghvi A, et al.** Cyclosporin A-induced cholestasis: the mechanism in a rat model. *Gastroenterology* 93(2):344-351, 1987.
85. **Thomé FS.** Prevenção das Doenças Renais in Barros E, Manfro RC, Thomé FS e Gonçalves LF: *Nefrologia: rotinas diagnóstico e tratamento*, cap 1, pp. 1-10. Porto Alegre: Artes Médicas Sul, 1994.
86. **Tilney NL, Whitley WD, Diamond JR, Kupiec-Weglinski JW, Adams DH.** Chronic rejection - an undefined conundrum. *Transplantation* 52(3):389-398, 1991.

87. **Tufveson G, Odland B, Sjöberg O et al.** A longitudinal study of pharmacokinetics of cyclosporine A and in vitro lymphocyte responses in renal transplant patients. *Transplant Proc* 18(suppl 5):16-24, 1986.
88. **Vasile A, Allegra V, Canciani D, Forchi G, Mengozzi G.** Prospective and retrospective assessment of clinical and laboratory parameters in maintenance haemodialysis patients with and without HCV antibodies. *Nephron* 61:318-319, 1992.
89. **Wacke R, Bast R, Rohde B, Prall F, Seiter H, Drewelow B.** Pharmacokinetic studies of oral and intravenous cyclosporine in prekidney transplant patient. *Transplant Proc* 30:1663, 1998.
90. **Weiner AJ, Kuo G, Bradley DW, et al.** Detection of hepatitis C viral sequences in non-A, non-B hepatitis. *Lancet* 335:1-3, 1990.
91. **Wenger RM.** Synthesis of cyclosporine and analogues: structure, activity, relationships of new cyclosporine derivatives. *Transplant Proc* 15:22-30, 1983.
92. **Willems M, Peerlink K, Moshage H, et al.** Hepatitis C virus-RNAs in plasma and in peripheral blood mononuclear cells of hemophiliacs with chronic hepatitis C: evidence for viral replication in peripheral blood mononuclear cells. *J Med Virol* 42:272-278, 1994.
93. **Wolfe RA, Ashby VB, Milford EL et al.** Comparison of mortality in all patients on dialysis, patients on dialysis awaiting transplantation, and recipients of a first cadaveric transplant. *N Engl J Med* 341(23):1725-1730, 1999.

94. **Wolffenbüttel L, Giugliane E, Zambonato T, Veronese FV e Gonçalves LF.** Ciclosporinemia em transplantados renais HCV positivos. *Nefrologia Latinoamericana* 3(3):271, 1996.
95. **Yee GC, Lennon TP, Gmar DJ, Kennedy MS, Deeg HJ.** Effect of age on cyclosporine kinetics in marrow transplant recipients. *Transplant Proc* 19:1704-1705, 1987.
96. **Yee GC, McGuire TR, Gmar DJ, Lennon TP, Deeg HJ.** Blood cyclosporine pharmacokinetics in patients undergoing marrow transplantation. *Transplantation* 46:399-402, 1988.

## **ANEXO 1 – TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS- INFORMAÇÃO DO ESTUDO PRÉ-TRANSPLANTE**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO**

Nome do paciente \_\_\_\_\_

Título da pesquisa: Perfil farmacocinético da ciclosporina em pacientes portadores do vírus da hepatite C

Investigador principal: Dr. Luciano Wolffenbüttel

#### 1. Objetivo do estudo:

Estudar a farmacocinética da ciclosporina em pacientes em hemodiálise portadores do vírus da hepatite C.

#### 2. Procedimento:

Você tomará uma dose de ciclosporina (medicação usada pelos pacientes transplantados para evitar rejeição) e será submetido a treze coletas de sangue, (20ml na primeira coleta e 2 ml nas doze coletas seguintes), durante as doze horas subsequentes. Para coletar o sangue será feita somente uma punção venosa com abocath número 20, com o qual você vai permanecer durante as 12 horas do estudo. O sangue será retirado através do abocath, que será heparinizado novamente a cada coleta.

#### 3. Riscos e desconfortos

Você ficará em jejum após a meia-noite do dia anterior ao do estudo. Pela manhã, ao redor das 7:00h, você será pesado e medido. Receberá então uma dose de 8mg/Kg de ciclosporina (dose habitualmente usada pelas pessoas que fazem transplante). A ciclosporina usada em dose única não causa efeitos colaterais clinicamente significativos. Você sofrerá o desconforto de uma punção venosa com abocath, que permanecerá por 12 horas e que servirá para a retirada das 13 amostras

de sangue -aproximadamente às 7, 7:30, 8, 8:30, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17 e 19h- . A dor gerada pela punção é semelhante à de uma punção para coleta de exames de sangue. Durante este período você deverá permanecer no HCPA. O volume total de sangue retirado será de aproximadamente 40 ml. Você poderá se alimentar normalmente depois de passadas 2 h do horário da tomada da ciclosporina,. A alimentação será fornecida pelo pesquisador responsável.

#### 4.Benefícios

O estudo farmacocinético da ciclosporina é um procedimento realizado apenas para os fins do estudo, o qual tem a finalidade de demonstrar a necessidade deste tipo de avaliação em portadores do vírus da hepatite C. Caso o estudo forneça resultados positivos, o melhor ajuste da dose pode trazer benefícios ao diminuir a incidência de efeitos colaterais da ciclosporina, os quais podem ser sérios (perda precoce do rim transplantado, risco aumentado de derrame, infarto, câncer e infecções). O conhecimento gerado pelo presente estudo não trará nenhum benefício direto para você. Poderá, isto sim, beneficiar as pessoas que futuramente venham a fazer transplante renal.

#### 5.Custo/pagamento:

Se você optar por participar deste estudo, não existe custo ou pagamento de qualquer espécie pela sua participação. O pesquisador fornecerá, a título de indenização com as despesas de transporte e alimentação durante as doze horas do estudo, o valor de R\$ 10,00 ao paciente no dia da coleta das amostras.

#### 6.Confidencialidade:

Os seus exames serão identificados por um código (número de registro), e o seu nome nunca será citado em nenhuma publicação deste estudo.

Pelo presente **Termo de Consentimento Pós-Informação**, declaro que fui informado de forma clara e detalhada dos objetivos, da justificativa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos riscos, desconfortos e benefícios do presente Projeto de Pesquisa. Fui igualmente informado:

-da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;

-da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de

participar deste estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;

-do compromisso dos autores de me proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade em continuar participando;

-da disponibilidade de tratamento médico e de indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos a minha saúde, diretamente causados por esta pesquisa;

-de que se existirem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

O Pesquisador Responsável por este Projeto de Pesquisa é o Dr. Luciano Wolffenbüttel, cujo telefone é 312.1193, tendo este documento sido revisado e aprovado pelo Comitê de Ética Científica desta instituição de atenção à saúde em 16/09/96.

Data: \_\_/\_\_/\_\_

Nome e assinatura do Voluntário

---

Assinatura do Pesquisador Responsável

---

Observação: o presente documento, baseado nos artigos 10 a 16 das Normas de Pesquisa em Saúde, do Conselho Nacional de Saúde, será assinado em duas vias de igual teor, ficando uma via em poder do Voluntário e a outra com o Pesquisador Responsável.

## **ANEXO 2 – TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS- INFORMAÇÃO DO ESTUDO PÓS-TRANSPLANTE**

### **TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO**

Nome do paciente \_\_\_\_\_

Título da pesquisa: Perfil farmacocinético da ciclosporina em pacientes portadores do vírus da hepatite C

Investigador principal: Dr. Luciano Wolffenbüttel

#### 1. Objetivo do estudo:

Estudar a farmacocinética da ciclosporina em pacientes transplantados renais portadores do vírus da hepatite C.

#### 2. Procedimento:

Você tomará a mesma dose de ciclosporina indicada pelo seu médico para evitar rejeição e será submetido a treze coletas de sangue, (20 ml na primeira coleta, 2 ml nas 12 últimas) durante as doze horas subseqüentes. Para coletar o sangue será feita somente uma punção venosa com abocath número 22, com o qual você vai permanecer durante as 12 horas do estudo. O sangue será retirado através do abocath, que será heparinizado novamente a cada coleta.

#### 3. Riscos e desconfortos

Você ficará em jejum após a meia-noite do dia anterior ao do estudo. Pela manhã, ao redor das 7:00h, você será pesado e medido. Receberá então a mesma dose de ciclosporina indicada pelo seu médico para impedir a rejeição, evitando portanto qualquer modificação no seu tratamento e qualquer risco adicional. Você sofrerá o desconforto de uma punção venosa com abocath, que permanecerá por 12 horas e que servirá para a retirada das 13 amostras de sangue -aproximadamente às 7, 7:30, 8, 8:30, 9, 10, 11, 13, 14, 15, 16, 17 e 19h-. A dor gerada pela punção é

semelhante à de uma punção para coleta de exames de sangue. Durante este período você deverá permanecer no HCPA. O volume total de sangue retirado será de aproximadamente 40 ml

#### 4. Benefícios

O estudo farmacocinético da ciclosporina é um procedimento realizado apenas para os fins do estudo, o qual tem a finalidade de demonstrar a necessidade deste tipo de avaliação em portadores do vírus da hepatite C. Caso a pesquisa mostre resultados positivos, o melhor ajuste da dose pode trazer benefícios ao diminuir a incidência de efeitos colaterais da ciclosporina. O conhecimento gerado pelo presente estudo não trará nenhum benefício direto para você. Poderá, isto sim, beneficiar as pessoas que futuramente venham a fazer transplante renal.

#### 5. Custo/pagamento:

Se você optar por participar deste estudo, não existe custo ou pagamento de qualquer espécie pela sua participação. O pesquisador fornecerá, a título de ressarcimento com as despesas de transporte e alimentação durante as 12 h do estudo, a quantia de R\$ 10,00, pagos no dia do estudo.

#### 6. Confidencialidade:

Os seus exames serão identificados por um código (número de registro), e o seu nome nunca será citado em nenhuma publicação deste estudo.

Pelo presente **Termo de Consentimento Pós-Informação**, declaro que fui informado de forma clara e detalhada dos objetivos, da justificativa, dos procedimentos aos quais serei submetido, dos riscos, desconfortos e benefícios do presente Projeto de Pesquisa. Fui igualmente informado:

-da garantia de receber resposta a qualquer pergunta ou esclarecimento a qualquer dúvida acerca dos procedimentos, riscos, benefícios e outros assuntos relacionados com a pesquisa;

-da liberdade de retirar meu consentimento, a qualquer momento, e deixar de participar deste estudo, sem que isto traga prejuízo à continuação do meu cuidado e tratamento;

-do compromisso dos autores de me proporcionar informação atualizada obtida durante o estudo, ainda que esta possa afetar a minha vontade em continuar

participando;

-da disponibilidade de tratamento médico e de indenização, conforme estabelece a legislação, caso existam danos a minha saúde, diretamente causados por esta pesquisa;

-de que se existirem gastos adicionais, estes serão absorvidos pelo orçamento da pesquisa.

O Pesquisador Responsável por este Projeto de Pesquisa é o Dr. Luciano Wolffenbüttel, cujo telefone é 312.1193, tendo sido este documento revisado e aprovado pelo Comitê de Ética Científica desta instituição de atenção à saúde em 16/09/96.

Data: \_\_/\_\_/\_\_

Nome e assinatura do Voluntário

---

Assinatura do Pesquisador Responsável

---

Observação: o presente documento, baseado nos artigos 10 a 16 das Normas de Pesquisa em Saúde, do Conselho Nacional de Saúde, será assinado em duas vias de igual teor, ficando uma via em poder do Voluntário ou de seu Responsável Legal e a outra com o Pesquisador Responsável.