

Documento del Gruppo di Lavoro Società Italiana di Nefrologia – Società Italiana di Farmacologia – Società Italiana Trapianti d’Organo e con il patrocinio dell’ dell’International Association for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology

Raccomandazioni sul TDM degli immunosoppressori nel trapianto di rene negli adulti

Componenti del Gruppo di Lavoro

Per la SIN (Presidente: Antonio Santoro): Alessandro Amore, Umberto Maggiore, Silvio Sandrini

Per la SIF (Presidente: Francesco Rossi): Annalisa Capuano, Dario Cattaneo, Emilio Clementi, Romano Danesi

Per la SITO (Presidente: Franco Citterio): Franco Citterio

Per la IATDMCT (Presidente: Pierre Wallemacq): Maria Shipkova (Stuttgart, D), Dennis Hesselink (Rotterdam, NL)

Premessa

L’immunosoppressione richiede una terapia individualizzata, basata su molteplici fattori di ordine clinico, biochimico e farmacologico in quanto la terapia immunosoppressiva non è senza rischi e deve essere monitorata attentamente. Il Monitoraggio Terapeutico dei Farmaci (TDM) rappresenta una parte integrale della terapia immunosoppressiva nel trapianto di organi solidi e quindi anche nel trapianto di rene. Occorre comunque sottolineare che le concentrazioni di farmaco all’interno dell’intervallo terapeutico non garantiscono l’assenza di rigetto o evitano la tossicità. L’obiettivo del TDM va oltre la semplice determinazione della quantità del farmaco nella circolazione sistemica del paziente, e richiede l’interpretazione dei risultati alla luce di considerazioni cliniche e farmacologiche. Alla luce di questo è stato proposto di sostituire il termine di TDM con quello più completo di therapeutic drug management. Inoltre il TDM dei farmaci immunosoppressori sta evolvendo verso una maggiore complessità avendo oggi disponibili metodi di analisi farmacocinetiche, farmacogenetiche e farmacodinamiche che devono prendere in considerazione le diverse variabili che determinano la risposta al farmaco nel singolo individuo.

A fronte di queste complessità, che devono essere affrontate integrando le esperienze professionali disponibili, la Società Italiana di Nefrologia, la Società Italiana di Farmacologia e la Società Italiana di Trapianti d’Organo con il patrocinio dell’International Association for Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT) hanno elaborato un documento che possa semplificare le procedure di monitoraggio e, soprattutto, eliminare le disomogeneità di approccio al TDM nei diversi centri clinici.

Argomento*	Raccomandazione
1) Indicazioni cliniche del monitoraggio terapeutico (TDM) di tacrolimus (TAC),	Il TDM degli immunosoppressori si applica secondo la normale pratica clinica di follow-up del paziente trapiantato e in condizioni clinicamente rilevanti come, ad esempio, le seguenti: 1) se esiste il sospetto di reazioni avverse farmaco-specifiche;

<p>everolimus (EVE), micofenolato sodico compresse gastroprotette (ECMPS), micofenolato mofetile (MMF), ciclosporina A (CsA) e sirolimus (SIR)</p>	<p>2) se viene iniziato un trattamento con un secondo farmaco che interferisce sul metabolismo e l'eliminazione dell'immunosoppressore (tra cui antiepilettici, antifungini, fitoterapici); 3) se si manifesta deterioramento della funzione renale e/o epatica; 4) per valutare l'aderenza alla terapia a breve termine; 5) per variazioni di posologia o conversioni da farmaco <i>originator</i> a generico; 6) se vengono riferiti disturbi gastroenterici acuti (vomito, diarrea) e nel corso di ricoveri per complicanze o comorbidità.</p>
<p>2) Modulo richiesta</p>	<p>Il modulo dovrebbe contenere:</p> <ul style="list-style-type: none"> • nome/cognome del paziente, data di nascita, sesso • valori di creatinina e Cl_{creat} • farmaco/i da sottoporre a TDM e dosi/die • data e orario dell'ultima dose assunta • altre terapie in corso
<p>3) Matrice biologica su cui effettuare le analisi, modalità di conservazione del campione prima dell'analisi</p>	<p>Raccogliere il sangue in provette contenenti, preferibilmente, EDTA come anticoagulante (per informazioni dettagliate su raccolta del campione si rimanda alle specifiche del laboratorio di riferimento). La matrice è sangue intero per dosaggio di CsA, EVE, TAC e SIR e plasma per MMF/ECMPS. Il plasma si ottiene per centrifugazione oppure per sedimentazione per 4-5 ore a 4°C e prelievo del plasma sovranatante. Se l'analisi viene effettuata immediatamente il campione viene conservato a temperatura ambiente. Se l'analisi è differita il campione viene conservato a -20°C (NB: per il dosaggio di MPA è fondamentale separare il plasma dalla parte corpuscolata prima del congelamento) e successivamente scongelato, se analisi viene svolta presso lo stesso laboratorio, oppure spedito preferibilmente in ghiaccio secco, se l'analisi viene svolta presso un laboratorio remoto.</p>
<p>4) Metodo di analisi e laboratori abilitati ad eseguire i tests</p>	<p>Metodo immunometrico (per CsA, EVE, SIR e TAC è preferibile il pretrattamento del campione per liberare i farmaci dagli eritrociti) o tecniche cromatografiche (es., LC/MS o HPLC/UV) validate in accordo con le linee guida di EMA per Bioanalytical Methods validation o utilizzando kits CE-IVD in laboratorio accreditato/certificato/partecipante a controllo di qualità (preferibilmente Holt-UK o VEQ) È importante ricordare che le metodiche bioanalitiche prevedono una variabilità intrinseca ($\leq 15\%$) e che l'esecuzione del TDM anche nello stesso paziente ma presso laboratori diversi o, più in generale, con metodi di analisi diversi, può determinare variazioni significative</p>

	<p>dei risultati dell'analisi. Come indicazione generale in presenza di un valore di TDM apparentemente aberrante si consiglia di ripetere il dosaggio su un prelievo diverso. Se il dato aberrante è stato ottenuto con un metodo immunometrico sarebbe opportuno confermare il dato con una metodica cromatografica.</p> <p>Nota: è importante sottolineare che tutti i metodi immunometrici utilizzati per la quantificazione di SIR danno una reattività crociata significativa con campioni contenenti EVE (e viceversa). Per questo motivo tali metodiche non possono essere utilizzate per il TDM di mTORi in pazienti sottoposti recentemente ad uno shift da SIR a EVE o viceversa.</p>
<p>5) Informazioni contenute nel referto</p>	<p>Il referto deve riportare:</p> <ul style="list-style-type: none"> • valore di concentrazione • matrice utilizzata • metodo analitico • range terapeutico indicativo nel paziente stabile trascorsi 3 mesi dal trapianto. <p>È opportuno fare presente che il dato deve essere interpretato tenendo in considerazione la variabilità causata dalle eventuali terapie concomitanti, distanza dal trapianto, condizione clinica del paziente, funzionalità epatica e renale. In questo senso è necessario lo scambio di informazioni tra clinico e farmacologo.</p> <p>I valori di riferimento comunemente considerati sono:</p> <ul style="list-style-type: none"> • MMF AUC: 30 – 60 mg×h/L; C₀: 1.6-3.5 mg/L; è da tenere presente che alte concentrazioni di MMF (≥3.5 mg/L) non sono necessariamente un indicatore di rischio di tossicità mentre basse concentrazioni (o, più precisamente, un basso valore di AUC) suggeriscono un aumento del rischio di rigetto. In sintesi, nei primi tre mesi dopo il trapianto, quando è massimo il rischio di rigetto acuto, è utile mantenere un valore di AUC ≥30 mg/L×h, idealmente 45 mg/L×h o C₀ ≥1.6 mg/L (il valore di 1,6 mg/L corrisponde, approssimativamente, al target medio di AUC 45 mg/L×h). • ECMPs: il TDM non è comunemente richiesto ed in ogni caso non si possono applicare i valori di C₀ proposti per MMF (mentre possono essere eventualmente applicati i valori di AUC) • CsA C₀: 50-250 µg/L (C₀: 50-100 µg/L nella sindrome nefrosica) • CsA C₂: 200-1000 µg/L

	<ul style="list-style-type: none"> • CsA quando associata ad inibitore mTOR: C₀: 50-100 µg/L; C₂: 200-400 µg/L • EVE C₀: 3-8 µg/L - in caso di sospensione della CsA: 6-10 µg/L • SIR C₀: 3-15 µg/L (in associazione a tacrolimus non scendere al di sotto di 3 µg/L e sirolimus da solo non eccedere 15 µg/L) • TAC C₀: 4-10 µg/L - quando associato ad inibitore mTOR: 3-7 µg/L <p>È opportuno sottolineare che i valori riportati sono indicativi e che il target di concentrazione da raggiungere dipende da una serie di fattori da considerare per ogni paziente, tra cui rischio immunologico, terapie concomitanti con farmaci immunosoppressori o con altri farmaci che possono influenzare la risposta immunologica. Più in generale, la dose di farmaco da somministrare dipende dai risultati del TDM nonché dalla valutazione clinica complessiva del paziente.</p> <p>Nota: ng/mL e µg/L sono unità di misura equivalenti.</p>
6) Figura professionale abilitata alla refertazione	Il farmacologo clinico o, in sua assenza, figure professionali con competenza documentata nella farmacocinetica dei farmaci immunosoppressori.
7) Parametri farmacocinetici di riferimento	<p>1) C₀ suggerito per CsA, TAC, EVE SIR ed eventualmente per MMF se non è possibile stimare AUC con strategie di campionamento limitato ricordando però che per MMF il C₀ è un predittore meno efficace di esposizione al farmaco rispetto a quanto dimostrato per gli inibitori della calcineurina e di mTOR. Il monitoraggio del C₀ non può in alcun caso essere applicato per EC-MPS</p> <p>2) C₂ per ciclosporina (dipende da pratica locale)</p> <p>3) AUC extensive sampling/limited sampling e/o approcci di population PK modelling Bayesiani solo in casi selezionati discussi tra clinico e farmacologo clinico con eventuale supporto farmacogenetico (CYP3A4/5, UGT).</p>
8) Frequenza del monitoraggio terapeutico	<p>Per CsA, TAC e EVE nella normale pratica di monitoraggio:</p> <p>1) a giorni alterni nell'immediato post-trapianto (fino a dimissione);</p> <p>2) dopo la dimissione, 2-3 volte alla settimana per il primo mese;</p> <p>3) progressivo allungamento dei controlli fino a 1 valutazione al mese dal 6° al 12° mese;</p> <p>4) dal 12° mese in poi ogni 1-2 mesi.</p>

	<p>Per SIR nella normale pratica di monitoraggio:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) una valutazione durante la prima settimana dopo 3-4 giorni di terapia 2) dopo la dimissione, 1 volta a settimana per il primo mese 3) successivamente come per CsA, TAC e EVE. <p>Nel TDM non programmato, da svolgersi nei casi elencati al paragrafo "Indicazioni cliniche del monitoraggio terapeutico", la frequenza del monitoraggio andrebbe discussa tra clinico e il farmacologo clinico o, in sua assenza, con figura professionale con competenza documentata nella farmacocinetica dei farmaci immunosoppressori. Particolare attenzione deve essere posta nel caso di somministrazione di farmaci che possono interferire con la farmacocinetica degli immunosoppressori. In questo caso andrebbe eseguito un TDM prima di introdurre il farmaco potenzialmente interferente, ripetere il TDM appena raggiunto la nuova condizione di C_{ss} (generalmente dopo 5 emivite del farmaco), adattare eventualmente la posologia e monitorare il TDM fino alla fine della concomitante terapia. Al termine, deve essere ripristinata la posologia iniziale del farmaco immunosoppressore.</p> <p>Un caso particolare è il passaggio da farmaco originator a generico; anche in questo caso è raccomandabile l'esecuzione di un TDM prima di introdurre il farmaco generico utilizzando strategie di campionamento limitato (esempio C_0, C_1, C_2, C_3, C_4) da ripetere dopo una settimana di trattamento con generico, oppure mediante una misura di concentrazione (es. C_0 o C_2) da ripetere 1-2 volte a settimana per il primo mese dopo l'introduzione del generico. Indagini più approfondite (es. AUC) possono essere eseguite in situazioni di particolare complessità quando il TDM non fornisce risultati esaurienti.</p>
<p>9) Modalità di adattamento della terapia sulla base del risultato dell'analisi (es., modificazione dosaggio se presenti anomalie di concentrazione)</p>	<p>La variazione di posologia si effettua:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) in condizioni di C_{ss} del farmaco la dose può essere modificata utilizzando la formula: nuova posologia = concentrazione target/concentrazione attuale × posologia attuale 2) sulla base delle condizioni cliniche del paziente 3) considerando la strategia immunosoppressiva del paziente <p>Nota: la modifica posologica non deve basarsi su un singolo valore di concentrazione ma su valutazioni ripetute e sul dato complessivo laboratoristico.</p> <p>Nota: per farmaci come SIR caratterizzati da una lunga emivita (oltre le 60 ore), è fondamentale assicurarsi che il TDM sia stato eseguito in</p>

	condizioni di steady-state, ciò per evitare una non corretta interpretazione del dato farmacocinetico.
10) Appropriatezza delle analisi di concentrazione	Il dosaggio dei farmaci è pianificato rispetto alla posologia ed allo stato del paziente per cui non trova giustificazione, di norma, il dosaggio in regime di urgenza.

*Abbreviazioni: TDM: monitoraggio terapeutico delle concentrazioni dei farmaci; TAC: tacrolimus; EVE: everolimus; ECMPS: micofenolato sodico compresse gastroprotette, MMF: micofenolato mofetile, CsA: ciclosporina A; SIR: sirolimus; UGT: uridina-glucuronil transferasi.

Bibliografia di riferimento

Inibitori calcineurina - ciclosporina/tacrolimus

Ekberg H, Mamelok RD, Pearson TC, et al. The challenge of achieving target drug concentrations in clinical trials: experience from the Symphony study. *Transplantation* 2009; 87: 1360-1366

Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007; 357: 2562-2575

International Neoral Renal Transplantation Study G. Cyclosporine microemulsion (Neoral) absorption profiling and sparse-sample predictors during the first 3 months after renal transplantation. *Am J Transplant* 2002; 2: 148-156

Kahan BD, Welsh M, Urbauer DL et al. Low intraindividual variability of cyclosporin A exposure reduces chronic rejection incidence and health care costs. *J Am Soc Nephrol* 2000; 11: 1122-1131

Mahalati K, Belitsky P, West K et al. Approaching the therapeutic window for cyclosporine in kidney transplantation: a prospective study. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 828-833

Robertsen I, Asberg A, Ingero AO et al. Use of generic tacrolimus in elderly renal transplant recipients: precaution is needed. *Transplantation* 2015; 99: 528-532

Schiff J, Cole E, Cantarovich M. Therapeutic monitoring of calcineurin inhibitors for the nephrologist. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 374-384

Shuker N, van Gelder T, and Hesselink DA. Intra-patient variability in tacrolimus exposure: causes, consequences for clinical management. *Transplant Rev (Orlando)* 2015; 29: 78-84

Sikma MA, van Maarseveen EM, van de Graaf EA et al. Pharmacokinetics and toxicity of tacrolimus early after heart and lung transplantation. *Am J Transplant*. 2015 Jun 4. doi: 10.1111/ajt.13309

Srinivas TR, Meier-Kriesche HU, Kaplan B. Pharmacokinetic principles of immunosuppressive drugs. *Am J Transplant* 2005; 5: 207-217

Staatz CE and Tett SE. Clinical pharmacokinetics of once-daily tacrolimus in solid-organ transplant patients. *Clin Pharmacokinet* 2015 doi: 10.1007/s40262-015-0282-2

Ting LS, Villeneuve E, Ensom MH. Beyond cyclosporine: a systematic review of limited sampling strategies for other immunosuppressants. *Ther Drug Monit* 2006; 28: 419-430

Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit* 2009; 31: 139-152

Birdwell KA, Decker B, Barbarino JM, et al. Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium (CPIC) guidelines for CYP3A5 genotype and tacrolimus dosing. *Clin Pharmacol Ther* 2015; 98:1 9-24

Acido micofenolico

Gaston RS, Kaplan B, Shah T et al. Fixed- or controlled-dose mycophenolate mofetil with standard- or reduced-dose calcineurin inhibitors: the Optcept trial. *Am J Transplant* 2009; 9: 1607-1619

Kuypers DR, Le Meur Y, Cantarovich M et al. Consensus report on therapeutic drug monitoring of mycophenolic acid in solid organ transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 341-358

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

van Gelder T and Hesselink DA. Mycophenolate revisited. *Transpl Int* 2015; 28: 508-515

Inibitori mTOR – sirolimus

Buchler M, Caillard S, Barbier S et al. Sirolimus versus cyclosporine in kidney recipients receiving thymoglobulin, mycophenolate mofetil and a 6-month course of steroids. *Am J Transplant* 2007; 7: 2522-2531



Campistol JM, Eris J, Oberbauer R et al. Sirolimus therapy after early cyclosporine withdrawal reduces the risk for cancer in adult renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 581-589

Cattaneo D, Merlini S, Pellegrino M et al. Therapeutic drug monitoring of sirolimus: effect of concomitant immunosuppressive therapy and optimization of drug dosing. *Am J Transplant* 2004; 4: 1345-1351

Flechner SM, Goldfarb D, Modlin C et al. Kidney transplantation without calcineurin inhibitor drugs: a prospective, randomized trial of sirolimus versus cyclosporine. *Transplantation* 2002; 74: 1070-1076

Kreis H, Oberbauer R, Campistol JM et al. Long-term benefits with sirolimus-based therapy after early cyclosporine withdrawal. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 809-817

Larson TS, Dean PG, Stegall MD et al. Complete avoidance of calcineurin inhibitors in renal transplantation: a randomized trial comparing sirolimus and tacrolimus. *Am J Transplant* 2006; 6: 514-522

Lebranchu Y, Thierry A, Toupance O et al. Efficacy on renal function of early conversion from cyclosporine to sirolimus 3 months after renal transplantation: concept study. *Am J Transplant* 2009; 9: 1115-1123

Oberbauer R, Kreis H, Johnson RW et al. Long-term improvement in renal function with sirolimus after early cyclosporine withdrawal in renal transplant recipients: 2-year results of the Rapamune Maintenance Regimen Study. *Transplantation* 2003; 76: 364-370

Schena FP, Pascoe MD, Alberu J et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation* 2009; 87: 233-242

Inibitori mTOR – everolimus

Budde K, Becker T, Arns W et al. Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet* 2011; 377: 837-847

Fischer L, Saliba F, Kaiser GM et al. Three-year outcomes in de novo liver transplant patients receiving everolimus with reduced tacrolimus: follow-up results from a randomized, multicenter study. *Transplantation* 2015; 99: 1455-1462

Kirchner GI, Meier-Wiedenbach I, Manns MP. Clinical pharmacokinetics of everolimus. *Clin Pharmacokinet* 2004; 43: 83-95



Kovarik JM, Curtis JJ, Hricik DE et al. Differential pharmacokinetic interaction of tacrolimus and cyclosporine on everolimus. *Transplant Proc* 2006; 38: 3456-3458

Kovarik JM, Dantal J, Civati G et al. Influence of delayed initiation of cyclosporine on everolimus pharmacokinetics in de novo renal transplant patients. *Am J Transplant* 2003; 3: 1576-1580

Kovarik JM, Kaplan B, Silva HT et al. Pharmacokinetics of an everolimus-cyclosporine immunosuppressive regimen over the first 6 months after kidney transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3: 606-613

Kovarik JM, Tedesco H, Pascual J et al. Everolimus therapeutic concentration range defined from a prospective trial with reduced-exposure cyclosporine in de novo kidney transplantation. *Ther Drug Monit* 2004; 26: 499-505

Lorber MI, Ponticelli C, Whelchel J et al. Therapeutic drug monitoring for everolimus in kidney transplantation using 12-month exposure, efficacy, and safety data. *Clin Transplant* 2005; 19: 145-152

Rostaing L, Christiaans MH, Kovarik JM, et al. The pharmacokinetics of everolimus in de novo kidney transplant patients receiving tacrolimus: an analysis from the randomized ASSET study. *Ann Transplant* 2014; 19: 337-345

Salvadori M, Scolari MP, Bertoni E et al. Everolimus with very low-exposure cyclosporine a in de novo kidney transplantation: a multicenter, randomized, controlled trial. *Transplantation* 2009; 88: 1194-1202

Aspetti analitici sul dosaggio degli immunosoppressori

Agrawal YP, Cid M, Westgard S, et al. Transplant patient classification and tacrolimus assays: more evidence of the need for assay standardization. *Ther Drug Monit* 2014; 36: 706-9

European Medicines Agency. Guideline on bioanalytical method validation, 2011. http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2011/08/WC500109686.pdf (Accessed November 2012)

Holt DW, Mandelbrot DA, Tortorici MA et al. Long-term evaluation of analytical methods used in sirolimus therapeutic drug monitoring. *Clin Transplant* 2014; 28: 243-51

Ivanova M, Artusi C, Polo G, et al. High-throughput LC-MS/MS method for monitoring sirolimus and everolimus in the routine clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med* 2011; 49: 1151-8

Kunicki PK, Pawiński T, Boczek A, et al. A Comparison of the Immunochemical Methods, PETINIA and EMIT, With That of HPLC-UV for the Routine Monitoring of Mycophenolic Acid in Heart Transplant Patients. *Ther Drug Monit* 2015; 37: 311-8



Morris RG, Holt DW, Armstrong et al. IFCC/IATDMCT Joint Working Group - Analytic aspects of cyclosporine monitoring, on behalf of the IFCC/IATDMCT Joint Working Group. Ther Drug Monit 2004; 26 :227-30

Said R, Pohanka A, Abdel-Rehim M et al. Determination of four immunosuppressive drugs in whole blood using MEPS and LC-MS/MS allowing automated sample work-up and analysis. J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci 2012; 897: 42-9