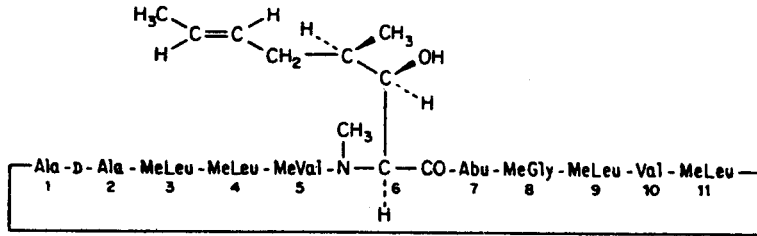


CICLOSPORINA



Ciclo[[[(E)-(2S,3R,4R)-3-hidroxi-4-metil-2-(metilamino)-6-octenoil]-L-2-aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-L-valil-N-metil-L-leucil-L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valil]

[R-[R*,R*-(E)]]-Ciclo (L-alanil-D-alanil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-leucil-N-metil-L-valil-3-hidroxi-N,4-dimetil-L-2-amino-6-octenoil-L- α -aminobutiril-N-metilglicil-N-metil-L-leucil-L-valil-N-metil-L-leucil) \oplus

La Ciclosporina no es una droga reciente, ya que su descubrimiento data del año 1970 ¹, pero es el prototipo de una nueva generación de fármacos inmunosupresores. En estos dos decenios ha resultado ser uno de los agentes más prometedores en el trasplante de órganos, enfermedades autoinmunes y como antiviral.

Conocimientos recientes, trabajos de investigación, experiencias farmacológicas, etc. conforman un cúmulo bibliográfico que motiva esta concisa revisión sobre Ciclosporina.

HISTORIA

Se inicia con la recolección de una muestra de tierra de Hardanger-vidda, en las altas mesetas del Sur de Noruega, por un colaborador de los Laboratorios Sandoz, en un viaje de vacaciones durante 1969.

El espécimen pasa a un proceso de rutina, donde se aísla el hongo *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers.) Rifai, ahora reclasificado como *Tolypocladium inflatum* Gams. Luego de ser cultivado, sus metabolitos no evidenciaron interés debido a

su escasa actividad antibiótica y alta toxicidad. Sin embargo, el material pasó al laboratorio del Prof. de Inmunología, Jean François Borel, Jefe de Investigaciones Preclínicas de los Laboratorios Sandoz, quien en el "screening" farmacodinámico sometió los extractivos a un test puesto a punto en 1960 para la detección de sustancias capaces de inhibir la formación de anticuerpos, y es así cómo se revelan sus propiedades inmunosupresoras ^{2,3}.

El aislamiento y purificación de las ciclosporinas A y C y la determinación de su configuración estructural por Rügger *et al.* ⁴, corresponden a los distintos departamentos de investigación de los Laboratorios Sandoz. Dreyfus *et al.* ⁵ separan simultáneamente ambos compuestos. La estructura molecular de la Ciclosporina A por degradación química y cristalografía de rayos X fue realizada por Petcher *et al.* ⁶, mientras que la estructura de la Ciclosporina C la establece Traber ⁷ en 1977. En el término de cinco años, a partir de 1973, se llevan a cabo la mayoría de las investigaciones químicas. Simultáneamente se avanza en los ensa-

\oplus Nomenclatura adoptada por USP XXI - VI suplemento (15-XI-87) - pág. 2554

yos farmacodinámicos y clínicos y Calne *et al.*⁸ aplican por primera vez en 1978 Ciclosporina en pacientes sometidos a trasplante renal, demostrando que era una realidad lo que se había logrado en ensayos realizados *in vitro* o en animales de experimentación.

Desde entonces ha sido publicada una larga lista de estudios experimentales y clínicos en relación con este nuevo medicamento, cuyo uso en pacientes ha sido aprobado en todo el mundo.

Su incorporación a varias Farmacopeas avala su importancia y permite controles de calidad coincidentes. La USP XXI, en su 6° suplemento⁹ registra la nomenclatura correcta, las condiciones de envasado y almacenamiento, "standards", identificación, humedad, metales pesados y algunas modificaciones en los ensayos. Consigna también, para el Concentrado de Ciclosporina Inyectable, un pormenorizado ensayo de identificación por TLC, determinación de presencia de endotoxinas bacterianas fijando el límite máximo, ensayo de esterilidad, contenido alcohólico, preparación de las soluciones testigo, etc. Figura asimismo la Solución Bucal de Ciclosporina. Estas nuevas monografías son de obligada consulta para los especialistas dedicados a inspección de calidad.¹⁰

MECANISMO DE ACCION

Para una mejor comprensión del modo de acción de la Ciclosporina es necesario recordar conceptos básicos de mecanismos inmunitarios¹¹. Su efecto inmunosupresor más potente se manifiesta en los linfocitos T. Una de de las etapas iniciales de la reacción inmunitaria es la fijación del antígeno sobre el receptor de los linfocitos T₄, activando el mismo. Esta activación desencadena una cascada de complejos mecanismos iónicos y enzimáticos en el citoplasma lin-

focitario; es la respuesta inmune con intervención del complejo mayor de histocompatibilidad (CMH), un *locus* genético muy polimorfo que regula la expresión de una serie de glicoproteínas que participan en las reacciones inmunitarias. Se lo llama HLA y fue identificado originalmente por el papel que juega en el rechazo de los trasplantes.^{2, 3, 11}

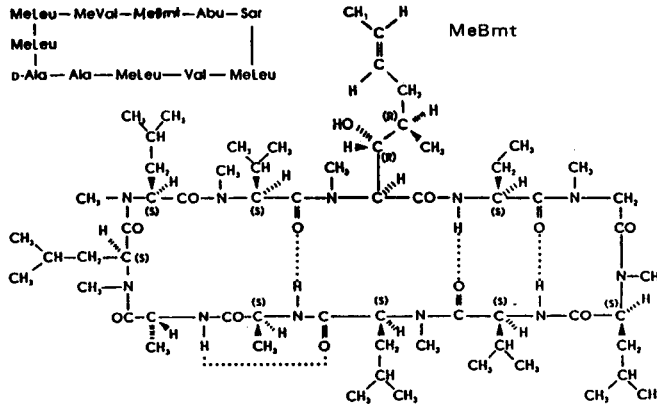
Sensibilizado el linfocito T, es precursor de la citotoxicidad T; gran parte de la interacción entre linfocitos T se hace a través de interleuquinas.

La interleuquina 1 (IL1) libera linfoquinas en células T activadas, mientras que la interleuquina 2 (IL2) es una de las más importantes por su función: activación de linfocitos T citotóxicos, proliferación y diferenciación de linfocitos B activados en presencia de otras interleuquinas o factores, proliferación de líneas celulares B, mayor actividad de las células NK ("Natural killer") que inducen acciones citolíticas.

En experiencias *in vitro* se observa que las ciclosporinas actúan únicamente en un estadio temprano de activación del sistema inmune, siendo prácticamente nulo en los siguientes estadios de proliferación y diferenciación.

ESTRUCTURA Y PROPIEDADES

Es un oligopéptido cíclico no polar. Podemos clasificarlo como ciclopéptido formado por once aminoácidos, uno de los cuales es inédito y característico del compuesto. En posición 7 tiene un ácido α aminobutírico (Abu) que lo diferencia de los otros metabolitos relacionados (ciclosporinas B, C y D). En posición 6, designado con la abreviatura (meBmt), ostenta un aminoácido constituido por la N-metil-L-treonina, que en C₄ lleva un grupo butenil y es metilado.



La actividad inmunosupresora es debida en gran parte a la estructura que implica el MeBmt, el ácido α -aminobutírico (Abu) y la metil-valina (MeVal).

La secuencia de aminoácidos es la siguiente: L-Alanina (1), D-Alanina (2), N-metil-L-Leucina (3), N-metil-L-Leucina (4), N-metil-L-Valina (5), 4-Butenil-4-metil-N-metil-L-Treonina (6), Acido aminobutírico (7), -N-metil-L-Glicina (8), -N-metil-L-Leucina (9), -L-Valina (10) y -N-metil-L-Leucina (11).

Como se puede advertir, de los once aminoácidos siete están metilados, lo que le confiere una gran estabilidad a la estructura cíclica. La molécula es neutra y rica en aminoácidos hidrófobos. Es soluble en metanol, etanol, éter, acetona y cloroformo, insoluble en soluciones acuosas y muy soluble en lípidos. Cristaliza de acetona formando sutiles prismas blancos. Las soluciones clorofórmicas y alcohólicas son levorrotatorias.⁴⁻⁷

A nivel funcional, numerosos estudios contribuyeron a la demostración de que la CP actúa sobre distintas líneas de la respuesta inmune:

a) Bloqueando receptores específicos para antígenos de clase II (DR), así como los receptores para la interleuquinas-1 (IL1); inhibe la activación del gen de la IL2, impidiendo su transcripción de m-RNA.¹³ Como consecuencia, no hay liberación de linfoquinas y otros mediadores.

La secreción de IL2 se interrumpe por la cesación de la biosíntesis proteica de dos factores nucleares.

b) La CP bloquea todas las etapas ulteriores de la cascada inmunitaria. Ello es el resultado de paralizar la proliferación de linfocitos T₄ y como consecuencia la generación de células efectoras.¹⁴

c) Al interrumpirse los efectos de IL2 se bloquea la inducción de antígenos Clase I y II; también la IL3 es frenada y ésta estimula y mantiene el crecimiento de células progenitoras eritroides y mieloides, favoreciendo su diferenciación.¹⁵

De una manera similar a lo que ocurre con las hormonas esteroides, la CP difunde pasivamente a través de la membrana hasta el citoplasma, donde se une a receptores específicos, como la Ciclofilina. También se vincula al receptor de la Prolactina y la Calmodulina, que dan reacciones inmunológicas cruzadas con la Ciclofilina. La inactivación de la Calmodulina impediría el flujo de Calcio al interior de la célula y con ello las señales que activan los nucleótidos cíclicos, proteinquinas y fosfolipasas A₂, segundos mensajeros que son necesarios para iniciar la síntesis proteica. También se han descripto bloqueos de enzimas que intervienen en el metabolismo de los fosfolípidos,¹⁶ como fosfodiestearasa y lisolecitinttransferasa.

USOS

A cinco años de la aprobación por la F.D.A. de su utilización en la prevención del rechazo de órganos (riñón, hígado y corazón), en sus formas por vía bucal e i.v., los resultados obtenidos se exponen a continuación.

Trasplante renal

La CP fue administrada por primera vez por Calne ⁸ en 1978, como inmunosupresor en un trasplante renal. En la actualidad se administra asociada a corticoides, lo que permite disminuir la dosis y con ello aminorar el riesgo de toxicidad, además de conseguir una acción inmunosupresora sinérgica ¹⁷. En los informes de distintos centros de trasplantes renales, se han establecido resultados significativos de sobrevida, pronta recuperación de los episodios de rechazo, disminución en el tiempo de hospitalización y menor cantidad de infecciones graves ^{18 19}.

Trasplante cardíaco

La supervivencia en el trasplante cardíaco ha alcanzado niveles que duplican los logrados en 1983. La estadística minuciosa en estos casos compara los distintos tratamientos, ocupando la Ciclosporina el primer lugar frente a los tratamientos convencionales ²⁰.

Trasplante hepático

La introducción de la CP en la prevención de los trasplantes hepáticos constituye uno de los avances más interesantes con seguidos en este terreno.

Al cabo de estos cinco años se han logrado supervivencias en un 80 a 90% de los casos ²¹.

Trasplante de médula ósea

El resultado de los trasplantes de médula ósea tratados con CP ha mostrado eficacia

en la prevención del injerto contra el huésped; no son superiores, sin embargo, a la inmunosupresión convencional ²².

A pesar de todos estos efectos sobre la respuesta inmune, la CP es un medicamento no mielotóxico que prolonga la supervivencia del órgano trasplantado, inhibiendo el desarrollo de reacciones del injerto contra el huésped, reacciones de hipersensibilidad retardada y reacciones inflamatorias crónicas.

En la actualidad, si bien no se conoce completamente la totalidad de los diferentes circuitos regulatorios que puedan ponerse en marcha, se acepta que todas y cada una de las diferentes respuestas inmunes están controladas por sistemas regulatorios. La acción se puede interpretar en forma sumaria como la supresión de la respuesta normal del tejido linfocitario hacia tejidos extraños, sin abolir el mecanismo de defensa ni ejercer efecto deletéreo sobre la médula ósea.

VALORACION

La cuantificación de CP en líquidos biológicos puede realizarse por RIA ²³ (Radioinmunoanálisis) y HPLC ²⁴ (Cromatografía Líquida de Alta Resolución). Por ambos métodos puede determinarse CP no modificada y sus metabolitos.

La HPLC es una técnica que en la actualidad permite el control rápido y continuado de CP y por lo menos cuatro de sus metabolitos ²⁵; las determinaciones se efectúan en sangre total, dado que las condiciones en que se realiza la separación del plasma o suero pueden modificar considerablemente los resultados ²⁶.

No se cuenta aún con una validación metodológica que permita la recomendación de la técnica más apropiada para realizar la determinación; también muestras

biológicas distintas (sangre total, plasma o suero) impiden uniformar criterios en cuanto a niveles de CP y sus metabolitos.

FARMACOCINETICA

Es difícil ajustar la dosis a fin de obtener un nivel adecuado que asegure la inmunosupresión con el mínimo de efectos secundarios. Esto se debe a la diversidad de parámetros farmacocinéticos, que varían según el paciente o en un mismo paciente en distintas situaciones.

La acumulación del fármaco en tratamientos prolongados obliga a la reducción de la dosis. El rango terapéutico se establece previo control de niveles y no se precisan concentraciones óptimas generales.

La absorción, a pesar de ser una molécula de naturaleza peptídica, puede realizarse por vía bucal; su biodisponibilidad puede alcanzar hasta el 60%. La concentración máxima ($T_{m\acute{a}x}$) se logra entre 1 y 4 hs luego de su administración; factores como alteraciones hepáticas, gastrointestinales y alimenticias hacen más lenta su absorción²⁷.

Su distribución es amplia. Como sustancia lipofílica alcanza altas concentraciones en hígado, bazo y nódulos linfáticos; permanece durante mucho tiempo en los tejidos y pasa lentamente a la circulación.

El fármaco es ampliamente metabolizado por las enzimas hepáticas a nivel del citocromo P_{450} ²⁸. Se han aislado 17 metabolitos, de los cuales se han identificado 9. Los metabolitos pueden estar mono o dihidroxilados y N-demetilados, pero todos conservan el ciclo peptídico.

Sólo el 6-10% de los metabolitos se excretan por vía urinaria, por esta causa una falla en la función renal no tiene por qué modificar la cinética de eliminación de la CP.

Alteraciones hepáticas afectan el metabolismo, por ejemplo niveles altos de bilirru-

bina. El aclaramiento plasmático en los niños es más elevado: requieren dosis más altas para conseguir concentraciones en sangre iguales a las de los adultos²⁹.

EFFECTOS SECUNDARIOS

Su nefrotoxicidad es la complicación más común, presentándose en casi el 80% de los trasplantes. La toxicidad se manifiesta por el aumento de los niveles séricos de creatinina, urea y potasio³⁰.

No siempre la dosis tiene relación con el riesgo de nefrotoxicidad; en general se considera reversible, pero se han descrito modificaciones renales de carácter irreversible.

También se observaron manifestaciones de neurotoxicidad (convulsiones, ataxia, confusión y cuadros epilépticos), aunque en LCR la droga casi no se detecta³¹.

Los pacientes tratados con CP tienen incidencias más altas de tumores linfoides. El mayor riesgo lo presentan aquéllos que son sometidos a regímenes terapéuticos que combinen tratamientos inmunosupresores; es conveniente el control de las dosis con seguimiento farmacéutico clínico para mantener concentraciones suficientemente bajas, a fin de no incrementar el riesgo de aparición de linfomas y conseguir igual mejoría en los resultados clínicos³².

El aumento de las enzimas hepáticas y la bilirrubina indica su hepatotoxicidad, que es moderada y transitoria, respondiendo bien a la reducción de la dosis³³.

Otros efectos secundarios son: hirsutismo, complicaciones trombolíticas, síndrome uremico hemolítico, hiperplasia gingival y uricemia elevada, que puede provocar gota si se administran diuréticos tiazídicos³⁴.

El temblor fino y las parestesias se presentan en el 10% de los casos. Problemas más graves como convulsiones no se pueden atribuir únicamente a la droga, estando más bien en relación con las infecciones del sis-

tema nervioso central o a hipertensión arterial asociada al uso de metilprednisolona, sobre todo en niños.

VIAS DE ADMINISTRACION Y DOSIS

Puede administrarse por vía bucal o i.v.

Las dosis iniciales más frecuentes por vía bucal oscilan entre 5 y 20 mg/kg/día y por vía i.v. entre 2,5 y 5 mg/kg/día; la dosis se va reduciendo luego hasta estabilización de niveles entre 6 y 8 mg/kg/día, lo que se logra entre las dos semanas y los tres meses; con concentraciones de 3 mg/kg/día se ha

conseguido inmunosupresión adecuada.

Como criterio general debemos destacar que existen serias dificultades para establecer protocolos de dosificación. La Ciclosporina es muy costosa. Una provisión de un año para un paciente de trasplante puede costar de 3.000 a 5.000 dólares y aparentemente debe ser administrada de por vida.

La contribución de la ciclosporina a las ciencias básicas como la biología e inmunología es considerable y su potencial terapéutico muy estimable para la farmacia y la medicina, quedando aún un campo amplio de exploración³⁵.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Borel, J.F., C. Feurer, H.U. Gubler y H. Stahelin (1976) *Agents Actions* 6: 468-75
2. Borel, J.F. (1976) *Immunology* 31: 631-41
3. Borel, J.F., C. Feurer, D. Magnee y H. Stahelin (1977) *Immunology* 32: 1017-25
4. Rügger, A.M., Kuhn, H. Lichti, H.R. Loosli, R. Huguenin, Ch. Quiquerez y A. von Wartburg (1976) *Helv. Chim. Acta* 59: 1075-92
5. Dreyfuss, M., E. Harri, H. Hoffmann, H. Kobel, W. Pache y H. Tschertter (1976) *Eur. J. Appl. Microbiol.* 3: 125-32
6. Petcher, T.J., H.P. Weber y A. Rügger (1976) *Helv. Chim. Acta* 59: 1480-8
7. Traber, R., M. Kuhn, H.R. Loosli, W. Pache y A. von Wartburg (1977) *Helv. Chim. Acta* 60: 1568-78
8. Calne, R.Y., D.J.G. White, S. Thiru, D.B. Evans, B.D. Pentlow y K. Rolles (1978) *Lancet* 2: 1323-7
9. "The United States Pharmacopeia", USP XXI, Suplemento 6 (1987) Págs. 2554-6
10. "The United States Pharmacopeia", USP XXI, Suplemento 9 (1989) Págs. 3215-7
11. Margni, R.A. (1989) "Inmunología e Inmunquímica", 4ta. Ed., Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires, págs. 273-370
12. Ryffel, B., P. Donatsch, U. Gotz y M. Tschopp (1980) *Immunology* 41: 913-9
13. Hess, A.D., P.J. Tutschka y G.W. Santos (1981) *J. Immunol.* 126: 961-8
14. Thomson, A.W., D.K. Moon y D.S. Nelson (1983) *Clin. Exp. Immunol.* 52: 599-606
15. Abbud-Filho, M. y T.B. Strom (1984) *J. Immunol.* 133: 2582-6
16. Siegel, H. y B. Ryffel (1982) *Lancet II*: 1274-5
17. Ferguson, R.M., D.E. Sutherland, R.L. Simmons y J.S. Najarian (1982) *Lancet II*: 882-3
18. Nejarian, J.S., R.M. Ferguson, J.J. Rynasiewicz, D.E. Sutherland y R.L. Simmons (1983) *Transplant. Proc.* 15: 362-70
19. Cerdas Calderon, M.E. (1988) *Fármacos* 4: 3-10
20. Pennock, J., B.A. Reitz y C.P. Bieber (1981) *Transplant. Proc.* 13: 390-6
21. Starzl, T.E., G. Klintmalm, K. Porter, S. Iwatsuki y G. Schroter (1981) *Lancet II*: 266-9
22. Tutschka, P.J., W.F. Beschorner, A. Allison, W. Burns y G.W. Santos (1979) *Nature* 280: 148
23. Donatsch, P., E. Abisch, M. Homberger, R. Traber, M. Trapp y R. Voges (1981) *J. Immunoassay* 2: 19-32

24. Abisch, E., T. Beveridge, A. Gratwohl, W. Niederberger, K. Nussbaumer, P. Schaub, B. Speck y M. Trapp (1982) *Pharm. Weekbl.* 4: 84-6
25. Christiaans, V. y K.O. Zimmer (1987) *J. Chromatography* 413: 121-9
26. Sawchuk, R.J. y L.L. Cartier (1981) *Clin. Chem.* 27/28: 1368-71
27. Beveridge, T., A. Gratwohl, F. Michot, W. Niederberger, E. Nuesch, K. Nussbaumer, P. Schaub y B. Speck (1981) *Curr. Therap. Res.* 30: 5-18
28. Guengerich, F.P. (1989) *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 29: 241-64
29. Wallemaq, P., M. Lesne y J.P. Squifflet (1983) *J. Pharm. Clin.* 2: 1-11
30. Sweny, P., J. Hopper, M. Gross y Z. Varghese (1981) *Lancet I*: 663
31. Boogaerts, M.A., P. Zachee y R.L. Verwilghein (1982) *Lancet II*: 1216-7
32. Pen, I. (1983) *Transplant. Proc.* 15: 2419-21
33. Rodger, R.S.C. (1983) *Transplant Proc.* 15: 2574-7
34. Laupacis, A. (1983) *Transplant. Proc.* 15: 2748-51
35. Borel, J.F. y O. Robert (1989) *La Recherche* 20: 762-71

E.L. MANDRILE

G. BONGIORNO de PFIRTER