

Il Laboratorio nel monitoraggio terapeutico (TDM) del trapianto di fegato

M. Regazzi, M. Molinaro

Laboratorio di Farmacocinetica Clinica, Fondazione IRCCS Policlinico San Matteo, Pavia

Riassunto

L'immunosoppressione oggi si sta sempre più indirizzando verso una terapia individualizzata, basata sul rischio immunologico. La terapia immunosoppressiva non è senza rischi e deve essere monitorata attentamente.

Il Monitoraggio Terapeutico (TDM) rappresenta una parte integrale della terapia immunosoppressiva nel trapianto di organi solidi e quindi anche nel trapianto di fegato. Occorre comunque sottolineare che le concentrazioni di farmaco all'interno dell'intervallo terapeutico non garantiscono l'assenza di rigetto o evitano la tossicità in tutti i pazienti e in tutte le occasioni. L'obiettivo del TDM va oltre la semplice determinazione della quantità del farmaco nella circolazione sistemica del paziente, ma richiede l'interpretazione dei risultati alla luce di considerazioni cliniche e biochimiche. Più in generale il TDM dei farmaci immunosoppressori sta evolvendo verso una più complessa rete di decisioni integrate (farmacocinetica, farmacogenetica, farmacodinamica) che devono prendere in considerazione le diverse covariabili che determinano la risposta al farmaco nel singolo individuo, senza dimenticare di valutare anche la sensibilità e la specificità del metodo analitico che viene utilizzato.

Summary

Therapeutic monitoring in liver transplant patients

Today immunosuppression therapies are frequently directed towards an individualized regimen, based on immunological risk. Immune suppressing regimens are not without risk and the subject in treatment must be carefully monitored.

Therapeutic Drug Monitoring (TDM) represents an integral part of the immunosuppression regimen in solid organ transplantation, including liver transplantation. It should be emphasized that the drug concentration within the therapeutic range does not guarantee prevention of rejection nor does it circumvent toxicity in every patient, in every setting. The objective of TDM goes beyond the simple determination of drug quantification in the systemic circulation of the patient, but requires the interpretation of results in conjunction with clinical and biochemical parameters. More generally speaking, TDM of immunosuppressing drugs is evolving towards a more complex set of integrated decisions (pharmacokinetics, pharmacogenetics, pharmacodynamics), which must encompass the diverse co-variables that determine the individual pharmacological response, without neglecting to take into consideration the sensitivity and specificity of the analytical method utilized.

Key-words: liver, transplantation, therapeutic monitoring, immunosuppression.

Il trapianto di fegato rappresenta la terapia standard dei pazienti con patologie epatiche terminali o insufficienza epatica acuta, con risultati eccellenti per quanto riguarda la sopravvivenza graft/paziente e la qualità di vita¹. Le terapie immunosoppressive hanno permesso di prolungare la vita dell'organo ma richiedono un attento monitoraggio per prevenire la tossicità e il rigetto.

L'immunosoppressione oggi si sta sempre più indirizzando verso una terapia individualizzata, basata sul rischio

immunologico². E' infatti possibile adattare la immunoterapia al rischio immunologico ed alla condizione del paziente. Per pazienti ad elevato rischio, si adotta una terapia di induzione seguita dalla terapia triplice di mantenimento basata su inibitori della calcineurina (CNI), micofenolato/sirolimus e prednisone al fine di ridurre il rischio di rigetto. In pazienti a basso rischio può essere presa in esame la possibilità di adottare una terapia duplice consistente in un inibitore della calcineurina (ciclosporina/tacrolimus) e pre-

dnisione al fine di evitare una eccessiva immunosoppressione^{2,4}.

Successivamente, nella fase di mantenimento, possono essere considerati protocolli che si basano sulla riduzione della dose degli inibitori della calcineurina o sulla loro sostituzione con composti meno nefrotossici quali sirolimus e/o micofenolato^{3,5}.

La più importante tossicità è correlata all'uso degli steroidi (es. osteopenia, diabete, sindromi cushingoidi). L'uso degli inibitori della calcineurina è responsabile principalmente di effetti nefro- e neuro-tossici. Gli antimetaboliti come l'acido micofenolico possono causare citopenia mentre il sirolimus è stato associato a episodi di difficoltà nel cicatrizzazione delle ferite, trombosi arteriosa epatica e grave iperlipidemia (Tab. I)³.

La tossicità associata alla ciclosporina ha imposto l'utilizzo del monitoraggio terapeutico, e l'uso della determinazione delle concentrazioni "pre-dose" (C_0 o C_{trough}) ha portato ad un miglioramento nei profili di safety ed una riduzione dell'incidenza della tossicità renale ed neurologica. Oggi il Monitoraggio Terapeutico (TDM) rappresenta una parte integrale della terapia immunosoppressiva⁶.

La terapia immunosoppressiva non è senza rischi e deve essere monitorata attentamente. I livelli ematici degli CNI sono influenzati dal cibo e da variazioni nella motilità gastrointestinale, dalla concomitante somministrazione di farmaci (es: antiipertensivi, antidiuretici, antidiabetici orali, antiinfettivi, antitumorali) che possono causare variazioni nell'attività del citocromo P4503A4, da polimorfismi per geni che sono coinvolti nei processi di assorbimento e metabolismo dei CNI. Inoltre dopo il trapianto di fegato possono ripresentarsi certe patologie epatiche che rendono complessa la corretta individualizzazione della terapia farmacologica^{3,5}.

La correlazione tra la dose somministrata e i livelli di farmaco misurati nella popolazione di pazienti sottoposti a trapianto d'organo è quindi scarsa e soggetta ad una significativa variabilità intraindividuale. Variazioni troppo

elevate rispetto ai valori dei livelli target degli inibitori della calcineurina aumentano il rischio di rigetto, la frequenza delle ri-ospedalizzazioni e il rischio di insufficienza renale. Questo spiega perché è usuale prelevare frequentemente campioni di sangue soprattutto nel primo periodo post-trapianto dato che l'assorbimento, la distribuzione, e quindi la dose necessaria possono variare considerevolmente².

L'immunosoppressione deve essere bilanciata attentamente al fine di controllare il sistema immunitario del paziente stesso. La dose dei farmaci immunosoppressori varia da paziente a paziente e per lo stesso paziente può variare nel tempo infatti con il passare del tempo post-trapianto la quantità di immunosoppressione necessaria per prevenire il rigetto dell'organo generalmente diminuisce.

Il monitoraggio terapeutico richiede come prima fase la definizione degli intervalli terapeutici. I livelli target di C_{trough} (appena prima la dose successiva) variano ampiamente. Nell'analisi dei fattori di variabilità deve essere presa in considerazione anche la sensibilità e la specificità della metodologia utilizzata. La specificità dell'anticorpo rappresenta il principale problema nell'utilizzo dei metodi immunoenzimatici e l'interferenza con i metaboliti del farmaco originario si traduce frequentemente in un'importante fonte di confusione nella definizione degli intervalli plasmatici/ematici di riferimento. Pertanto i metodi HPLC con rivelatore UV o spettrometro di massa sono considerati il *gold standard* per la determinazione delle concentrazioni dei farmaci.

Gli intervalli di riferimento della ciclosporina normalmente utilizzati (C_{trough}) nell'impostare il dosaggio nel trapianto di fegato, dovrebbero essere compresi tra 250-350 ng/mL durante le prime due settimane, 200-300 ng/mL durante la 3^a e 4^a settimana, 150-250 ng/mL durante la 5^a e la 24^a settimana e 100-200 ng/mL nel periodo compreso tra la 25^a e 50^a settimana post-trapianto. Anche i dosaggi del tacrolimus sono basati sul C_{trough} e l'intervallo di riferimento nel primo periodo dopo il trapianto è compreso tra 10 e 15 ng/mL. Dopo un anno dal trapianto di fegato i valori usualmente raccomandati sono: per la ciclosporina

Tabella I. Effetti tossici più comuni dei farmaci immunosoppressori utilizzati dopo il trapianto ortotopico di fegato³.

Reazioni Avverse	CyA	FK506	Glucocorticoidi	Azatioprina	MMF	Inibitori mTOR
Alopecia	-	•	-	•	•	-
Iperensione arteriosa	•••	••	•••	-	-	•
Depressione midollo osseo	•	•	-	•••	•••	••
Dermatite	-	•	•	-	-	••
Tossicità GI	•	•	•	•	•••	••
Irsutismo e/o iperplasia gengivale	•	-	-	-	-	-
Iperglicemia e diabete mellito	-(?)	•	•••	-	-	-
Iperlipidemia	••	•	••	-	-	•••
Disfunzione cicatrizzazione	-	-	•	•	•	••
Linfoma o tumore	••	••	-	?	?	-
Mialgia e/o artralgia	-	-	•	•	-	••
Nefrotossicità	•••	•••	-	-	-	• (proteinuria)
Neurotossicità	••	••	• (psichiatrica)	-	• (mal di testa)	-
Osteoporosi	•	•	•••	-	-	-
Polmonite	-	-	-	-	-	•

di 100-200 ng/mL e per il tacrolimus di 5-10 ng/mL^{2,7}.

Per ridurre gli effetti avversi degli CNI (ciclosporina/tacrolimus) la loro dose può essere ridotta e possono essere associati al micofenolato mofetil (MMF) o azatioprina e/o glucocorticoidi, anche se questi farmaci possono avere effetti avversi sovrapponibili. In caso di associazione tripla o quadrupla, i CNI possono avere livelli dimezzati. In certi casi alcuni centri trapiantologici adottano protocolli immunosoppressivi che prevedono di interrompere gli inibitori della calcineurina o sostituirli con uno degli inibitori dell'mTOR (sirolimus o everolimus).

Come per i CNI, gli inibitori mTOR sono farmaci per i quali è difficile identificare la dose ottimale e piccole differenze nella dose o nella concentrazione possono causare inefficacia o reazioni avverse rendendo necessario il monitoraggio dei livelli ematici di farmaco. Le dosi vengono modificate con l'obiettivo di mantenere i livelli ematici di sirolimus tra 4 e 10 ng/mL e di everolimus tra 5 e 10 ng/mL.

Nonostante il micofenolato mofetil venga usualmente somministrato a dosi fisse, sussiste il razionale per applicare il TDM dell'acido micofenolico (MPA) in alcune situazioni cliniche, soprattutto sulla base dei dati che hanno evidenziato come molti fattori genetici e non contribuiscano alla variabilità intra- e interindividuale della farmacocinetica.

Occorre comunque sottolineare che le concentrazioni dei farmaci immunosoppressori all'interno dell'"intervallo terapeutico" non garantiscono l'assenza di rigetto o evitano la tossicità in tutti i pazienti e in tutte le occasioni.

Nonostante il TDM sia in uso già da parecchi anni e che si adottino strategie mirate alla riduzione del dosaggio dei farmaci immunosoppressori, la tossicità a lungo termine rimane il problema principale legato sia all'uso degli inibitori della calcineurina che degli altri farmaci. Pertanto oggi non è chiaro se l'uso continuato del monitoraggio tera-

peutico nella fase di mantenimento (ovvero superiore ai 6 mesi dopo il trapianto) assicuri chiari vantaggi. A seguito di ciò sono stati sviluppati una serie di test biologici nel tentativo di monitorare lo stato immunitario del paziente trapiantato^{2,7,8}.

Il TDM sta quindi evolvendo verso una più complessa rete di decisioni integrate (farmacocinetica, farmacogenetica, farmacodinamica) che devono prendere in considerazione le diverse covariabili che determinano la risposta al farmaco nel singolo individuo.

Bibliografia

1. Lupo F, Salizzoni M. L'evoluzione del trapianto di fegato: aspetti clinici e monitoraggio. *Ligand Assay* 2008; 13: 25-9.
2. Post DJ, Douglas DD, Mulligan DC. Immunosuppression in liver transplantation. *Liver Transpl* 2005; 11:1307-14.
3. Bente D, Staufer K, Sterneck M. Orthotopic liver transplantation and what to do during follow-up: recommendations for the practitioner. *Nat Clin Pract Gastroenterol Hepatol* 2009; 6:23-36.
4. Levy G. Progress in transplantation. *Ther Drug Monitor* 2010; 32:246-9.
5. Ekberg H, Bernasconi C, Nöldeke J, Yussim A, Mjörnstedt L, Erken U, et al. Cyclosporine, tacrolimus and sirolimus retain their distinct toxicity profiles despite low doses in the Symphony study. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25:2004-10.
6. Wallemacq P, Armstrong W, Brunet M, Haufroid V, Holt DW, Johnston A, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *The Drug Monit* 2009; 31: 139-52.
7. Ekberg H. Calcineurin inhibitor sparing in renal transplantation. *Transplantation* 2008; 86:761-7.
8. Bucuvalas JC, Ryckman FC, Arya G, Andrew B, Lesko A, Cole CR, et al. A novel approach to managing variation: outpatient therapeutic monitoring of calcineurin inhibitor blood levels in liver transplant recipients. *J Pediatr* 2005; 146:744-50.