

Uticaj pola primaoca i davaoca i farmakogenomike na doziranje takrolimusa: pilot studija

**Viktorija Dragojević Simić, Nemanja Rančić, Bojana
Cikota Aleksić, Jelena Tadić, Neven Vavić**

XIV Nedelja Bolničke kliničke farmakologije

Sekcija za kliničku farmakologiju “DrSrdjan Djani Marković”

Srpsko lekarsko društvo

24-25 decembar 2022



Takrolimus

- 25 godina nakon odobrenja FDA i EME, takrolimus (TAK) ostaje neophodna osnova imunosupresivnog tretmana nakon transplantacije (Tr) solidnih organa, uključujući bubrege
- Uprkos efikasnosti, glavni problem ostaje **uska terapijska širina i velika intra- i interindividualna varijabilnost.**
- Stoga **terapijski monitoring leka** (TDM) predstavlja standard u praćenju pacijenata nakon Tr bubrega

Brunet M, et al. Therapeutic drug monitoring of tacrolimus personalized therapy: second consensus report. Ther Drug Monit 2019;41:261–307

Takrolimus

- Da TDM ne bi ostao na nivou pokušaj/pogreška, nakon doziranja prema telesnoj masi (TM), uticaj i drugih faktora na planiranu dozu TAK se ispituju, kao što su pol i genetička osnova
- I pored velikog broja opisanih genskih polimorfizama, manji broj ima klinički značaj i utiče na FK i FD karakteristike leka.
- Da bi genski polimorfizam imao uticaj na metabolizam leka, potrebna su 2 uslova: **da postoji polimorfizam za dominantni enzim preko koga se metaboliše lek i da lek ima malu terapijsku širinu.** TAK zadovoljava oba uslova

Francke M, et al. The pharmacogenetics of tacrolimus and its implications for personalized therapy in kidney transplant recipients. Expert Rev. Precis. Med. Drug Dev. 2020;5:313–16.

Takrolimus

- Izražena FK varijabilnost TAK velikim delom uslovljena polimorfizmom gena odgovornih za sintezu enzima značajnih za eliminaciju leka.
- Pokazano je da polimorfizam gena koji određuju funkcionalnost **enzima CYP3A5 i CYP3A4 i transportera P-glikoproteina** može omogućiti izračunavanje početne doze TAK koje treba primeniti kod pacijenata da bi se dobio optimalan inicijalan post-transplantacioni nivo TAC

Chen, L., and Prasad, G. V. R. CYP3A5 Polymorphisms in Renal Transplant Recipients: Influence on Tacrolimus Treatment. Pharmgenomics Pers. Med. 2018;11: 23–33.

Srinivas L, et al. Pharmacogenetics Based Dose Prediction Model for Initial Tacrolimus Dosing in Renal Transplant Recipients. Front. Pharmacol. 2021;12:726784.

Pacijenti i metode

- Istraživanje je obuhvatilo 110 bolesnika sa Tr bubrega, sprovedeno kao opservaciona studija (serija slučajeva) tokom prve godine nakon nje. U prvom delu, studija je bila retrospektivna i analizirani su relevantni podaci iz ambulantne baze podataka
- U drugom delu su prospektivno praćeni pacijenti, kada je i urađena analiza SNPs CYP3A5 A6986G, CYP3A4 A392G i ABCB1 C3435T, uzimanjem jednog uzorka krvi za genetička ispitivanja od svih pacijenata koji su ušli u studiju
- U toku studije analizirani su podaci koji se odnose na kliničke i biohemijske parametre i parametre TDM TAK 3. i 7. dana, kao i 1.,3.,6.i 12 meseca posle Tr bubrega.

Protokol za lečenje

- Kortikosteroidi (KS)
- Mikofenolat mofetil
- TAK je primenjivan *per os*, u obliku kapsula, na prazan želudac, na dan transplantacije, u 05 sati ujutru, u dnevnoj dozi od 0,2 mg/kg tokom prva 3 dana posle intervencije. Primenjivan u dve dnevne doze, sa 12 sati između doza, u 08h i 20h. Posle 3. dana, doza je podešavana prema ciljnim koncentracijama u krvi, 8-12 ng/ml tokom prva 3 meseca i 6-10 ng/ml do kraja prve godine posle Tr bubrega.
- Kod pacijenata za koje je procenjeno da imaju veći imunološki rizik, primenjivana je indukciona terapija sa *antilimfocitnim poliklonskim antitelima* u sporoj iv infuziji preko centralne venske kanile, u dnevnoj dozi od 1,5 mg/kg tokom 4-10 dana ili 2-5 mg/kg 3 do 5 dana, zavisno od korišćenog preparata

METODE

- Kao parametri TDM TAK u drugom delu istraživanja praćeni su **ukupna dnevna doza leka** (zbir jutarnje i večernje doze), minimalna koncentracija leka u krvi izmerena 12 sati nakon prethodne doze (**Cmin**), kao i preračunati odnos koncentracije u krvi i doze leka po kilogramu telesne mase (**ng/ml/mg/kg**)
- Parametri terapijskog monitoringa TAK su analizirani 3. i 7. dana, 1., 3., 6. i 12. meseca posle Tr bubrega
- Koncentracije TAK su merene u uzorcima pune krvi primenom hemiluminescentnog mikročestičnog imunoeseja (CMIA, eng. Chemiluminescent microparticle immunoassay) (ARCHITECT i1000SR Abbott Laboratories; Abbott Park, Illinois, USA).

REZULTATI

Tabela 2. Antropometrijske karakteristike pacijenata sa transplantiranim bubregom

Parametri	Srednja vrednost \pm CД		Mann-Whitney test
	Muškarci (n = 70)	Žene (n = 40)	
Starost (godine)	43,96 \pm 10,12	45,35 \pm 10,80	p = 0,604
Visina (m)	1,78 \pm 0,08	1,64 \pm 0,08	p < 0,001
Telesna masa (kg)	73,68 \pm 11,35	59,79 \pm 11,58	p < 0,001
Indeks telesne mase (kg/m ²)	23,16 \pm 3,03	22,09 \pm 3,69	p = 0,024

Tabela 5. Prosečne vrednosti parametara terapijskog monitoringa takrolimusa od prvog meseca do prve godine posle transplantacije bubrega

Parametri monitoringa takrolimusa	Srednja vrednost \pm SD				ANOVA za ponovljena merenja
	1. mesec	3. mesec	6. mesec	12. mesec	
Ukupna dnevna doza (mg)	8,97 \pm 5,61	5,66 \pm 3,46	4,69 \pm 3,02	3,79 \pm 2,14	p < 0,001
Koncentracija leka u krvi (ng/ml)	11,03 \pm 5,53	7,67 \pm 2,68	6,79 \pm 2,25	5,99 \pm 1,81	p < 0,001
Odnos koncentracije i doze (ng/ml/mg/kg)	100,30 \pm 74,67	116,33 \pm 85,42	118,78 \pm 96,09	126,06 \pm 103,72	p = 0,003

Tabela 7. Uticaj genskog polimorfizma CYP3A5 enzima u posmatranim vremenskim periodima na parametre terapijskog monitoringa takrolimusa

Parametri monitoringa TAK	CYP3A5 6986 A>G		Mann-Whitney test
	AA/AG	GG	
3. dan			
Ukupna dnevna doza (mg)	8,50 ± 5,02	9,82 ± 5,36	p = 0,411
Nivo leka u krvi (ng/ml)	6,22 ± 3,49	11,93 ± 7,64	p = 0,006
Odnosu koncentracije i doze (ng/ml/mg/kg)	50,17 ± 44,44	106,17 ± 178,25	p = 0,024
7. dan			
Ukupna dnevna doza (mg)	12,46 ± 5,57	11,34 ± 5,35	p = 0,455
Nivo leka u krvi (ng/ml)	5,89 ± 2,60	10,97 ± 5,60	p < 0,001
Odnos koncentracije i doze (ng/ml/mg/kg)	31,27 ± 17,77	72,38 ± 52,30	p < 0,001

Parametri monitoringa TAK	CYP3A5 6986 A>G		Mann-Whitney test
	AA/AG	GG	
1 mesec			
Ukupna dnevna doza (mg)	12,91 ± 5,75	8,26 ± 5,32	p = 0,002
Nivo leka u krvi (ng/ml)	9,22 ± 3,79	11,37 ± 5,75	p = 0,198
Odnos koncentracije i doze (ng/ml/mg/kg)	57,87 ± 30,31	107,53 ± 77,62	p = 0,003
3 meseca			
Ukupna dnevna doza (mg)	10,03 ± 4,54	4,94 ± 2,66	p < 0,001
Nivo leka u krvi (ng/ml)	6,68 ± 2,19	7,83 ± 2,73	p = 0,233
Odnos koncentracije i doze (ng/ml/mg/kg)	48,04 ± 30,91	127,95 ± 86,36	p < 0,001
6 meseci			
Ukupna dnevna doza (mg)	9,07 ± 4,08	4,00 ± 2,13	p < 0,001
Nivo leka u krvi (ng/ml)	7,86 ± 2,01	6,62 ± 2,25	p = 0,051
Odnos koncentracije i doze (ng/ml/mg/kg)	58,78 ± 29,93	128,99 ± 99,76	p = 0,001
12 meseci			
Ukupna dnevna doza (mg)	7,13 ± 2,36	3,24 ± 1,50	p < 0,001
Nivo leka u krvi (ng/ml)	6,42 ± 2,13	5,92 ± 1,75	p = 0,450
Odnos koncentracije i doze (ng/ml/mg/kg)	63,81 ± 32,01	136,66 ± 107,99	p = 0,001

Zaključci

- Genska analiza je pokazala da je najveći broj (85,5%) pacijenata imao CYP3A5*3*3 (GG) izoformu koja kodira nefunkcionalni CYP3A5 enzim; 92,7% pacijenata imalo izoformu CYP3A4*1*1 (AA) koja kodira funkcionalni oblik CYP3A4 enzima.
- Uporedna analiza parametara TDM TAK i varijanti genskog polimorfizma za CYP3A5 enzim je pokazala da je dnevna doza TAK bila veća kod CYP3A5 ekspresora u odnosu na ne-ekspresore u svim ispitivanim vremenima
- Preračunati odnos koncentracije i doze TAK je bio značajno veći u svim ispitivanim vremenima kod CYP3A5 ne-ekspresora, odnosno, pacijenata sa nefunkcionalnom formom CYP3A5 enzima; ova razlika je vidljiva već u prvih 7 dana posle Tr

- Pol pacijenata je do danas identifikovan kao jedan od mnogobrojnih faktora koji doprinose velikoj intra- i interindividualnoj FK varijabilnosti TAK.
- Neki lekovi koji su supstrati CYP3A4, uključujući i TAK, pokazuju **veći klirens kod žena nego kod muškaraca**, a ta razlika postoji i nakon korigovanja uticaja nekih fizioloških faktora, kao što je telesna masa.
- Ukupan klirens nekih supstrata CYP3A, kakav je i TAK veći je kod žena u poređenju sa muškarcima, što se može barem delimično objasniti **većim sadržajem CYP3A4 enzima u jetri kod žena u poređenju sa muškarcima od 2 do 5 puta.**

Wolbold R, et al. Sex is a major determinant of CYP3A4 expression in human liver. Hepatology 2003;38:978-88.

Veličković Radovanović R, et al. Gender differences in pharmacokinetics of tacrolimus and their clinical significance in kidney transplant recipients. Gen Med 2011;8(1):23-31.

Press RR, et al. Explaining variability in tacrolimus pharmacokinetics to optimize early exposure in adult kidney transplant recipients. Ther Drug Monit 2009;31:187-97.

- Razlike u parametrima TDM TAK između polova donora i recipijenta mogli bi se, barem delimično, objasniti razlikama u metabolizmu lekova između muškaraca i žena.
- Može se pretpostaviti da se kod žena TAK značajno brže eliminiše nego kod muškaraca, pa se zbog toga sa odgovarajućim dozama leka kod muškaraca postiže veća koncentracija TAK u krvi, a samim tim i veći odnos koncentracije i doze.
- Cilj je bio ispitivanje uticaja pola donora i pola recipijenta na parametre TDM TAK

Pacijenti i metode:

Ispitivanje je sprovedeno kroz prospektivnu seriju od 54 bolesnika, gde je jedinica posmatranja bio kontrolni ambulantni pregled (1872) bolesnika sa Tr bubregom. Bolesnici su praćeni u periodu od 4 god., a praćenje je započeto mesec dana nakon transplantacije. Minimalna koncentracija TAK u krvi merena je uz pomoć hemiluminescentnog mikročestičnog imunoeeseja.

TDM TAK je takođe uključivao ukupnu dnevnu dozu TAK (DDT, mg/kg), minimalnu koncentraciju TAC u krvi (C_0 , ng/ml) i C/D - odnos koncentracije i doze TAK (ng/ml/mg/kg)

Rezultati

Tabela 8. Prosečne vrednosti parametara terapijskog monitoringa takrolimusa u pacijenata podvrgnutih transplantaciji bubrega

Parametri	Srednja vrednost \pm SD		p vrednost	Ukupno
	muškarci	žene		
<i>DDT</i> (mg)	5,56 \pm 3,53	4,50 \pm 2,31	p < 0,001 ¹	5,13 \pm 3,13
<i>DDT</i> /kg (mg/kg)	0,075 \pm 0,047	0,079 \pm 0,041	p = 0,087 ¹	0,077 \pm 0,045
<i>C0</i> (ng/ml)	6,74 \pm 2,31	6,26 \pm 2,45	p < 0,001 ¹	6,54 \pm 2,38
<i>C/D</i> (<i>C0</i> / <i>DDT</i> /kg) (ng/ml/mg/kg)	137,56 \pm 102,50	100,45 \pm 64,99	p < 0,001 ¹	121,78 \pm 90,37

¹ *Mann-Whitney test*; *C0*- minimalna koncentracija takrolimusa u krvi; *C/D*- odnos koncentracije i doze takrolimusa; *DDT*- dnevna doza takrolimusa

Grafikon 1. Distribucija pacijenata u odnosu na pol donora i recipijenta



Tabela 9. Uticaj pola donora i recipijenta na parametre terapijskog monitoringa takrolimusa

Donor/recipijent	Srednja vrednost \pm SD		
	DDT/kg; mg/kg	Cmin; ng/ml	C/D (Cmin/DDT/kg); ng/ml/mg/kg
Žena/žena	0,065 \pm 0,041	5,98 \pm 2,62	118,68 \pm 75,35
Muškarac/žena	0,094 \pm 0,036	6,73 \pm 2,51	78,90 \pm 37,47
Muškarac/muškarac	0,061 \pm 0,033	6,99 \pm 2,35	136,49 \pm 70,95
Žena/muškarac	0,097 \pm 0,053	6,76 \pm 2,36	121,23 \pm 116,18
p vrednost	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹	p < 0,001 ¹

¹ Kruskal-Wallis test; Cmin- minimalna koncentracija takrolimusa u krvi; C/D - odnos koncentracije i doze takrolimusa; DDT- dnevna doza takrolimusa

Zaključci

- Pol ima značajan uticaj na osnovne parametre TDM TAC: dnevnu dozu TAK i nivo TAK u krvi, i na dodatne parametre dnevnu dozu TAK po kilogramu telesne težine i odnos koncentracije i doze leka
- Pol donora i recipijenta ima značajan uticaj na parametre TDM
- Kada je muškarac bio primalac, bilo sa ženskog bilo sa muškog donora, vrednosti odnosa koncentracije i doze TAK su bili značajno veći u odnosu na kombinacije kada je žena bila primalac, nezavisno od pola donora
- Uticaj pola recipijenta na osnovne parametre TDM TAK je dominantan u odnosu na pol donora, ali i pol donora ima značajnu ulogu.