

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA

**UTILIZAÇÃO DA RELAÇÃO CONCENTRAÇÃO / DOSE DE TACROLIMO COMO
ESTRATÉGIA DE MONITORAÇÃO TERAPÊUTICA DO TACROLIMO APÓS
TRANSPLANTE HEPÁTICO INFANTIL**

Camila Ribas Smidt

Porto Alegre, março de 2018

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

FACULDADE DE MEDICINA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO: CIÊNCIAS EM GASTROENTEROLOGIA E
HEPATOLOGIA

**Utilização da Relação Concentração / Dose de Tacrolimo como Estratégia de
Monitoração Terapêutica do Tacrolimo Após Transplante Hepático Infantil**

Camila Ribas Smidt

**Dissertação apresentada à Universidade Federal do
Rio Grande do Sul como requisito para obtenção do
título de Mestre.**

Orientador: Prof^a Dr^a Sandra Maria Gonçalves Vieira

Coorientador: Prof. Dr. Renato Borges Fagundes

Porto Alegre, março de 2018

FICHA CATALOGRÁFICA

CIP - Catalogação na Publicação

Smidt, Camila Ribas
UTILIZAÇÃO DA RELAÇÃO CONCENTRAÇÃO / DOSE DE
TACROLIMO COMO ESTRATÉGIA DE MONITORAÇÃO TERAPÊUTICA
DO TACROLIMO APÓS TRANSPLANTE HEPÁTICO INFANTIL /
Camila Ribas Smidt. -- 2018.
85 f.
Orientadora: Sandra Maria Gonçalves Vieira.

Coorientador: Renato Borges Fagundes.

Dissertação (Mestrado) -- Universidade Federal do
Rio Grande do Sul, Faculdade de Medicina, Programa
de Pós-Graduação em Ciências em Gastroenterologia e
Hepatologia, Porto Alegre, BR-RS, 2018.

1. Tacrolimo. 2. Transplante Pediátrico. 3.
Pediatria. 4. Imunossupressão. I. Vieira, Sandra
Maria Gonçalves, orient. II. Fagundes, Renato
Borges, coorient. III. Título.

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UFRGS com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, pelo apoio incondicional e por acreditarem sempre que eu seria capaz de concluir mais este sonho.

“Trabalhar duro por algo que não acredita chama-se estresse, trabalhar duro por algo que acredita chama-se paixão.”

(Simon Sinek)

AGRADECIMENTOS

Ao Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS) e a equipe de Hepatologia Pediátrica do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) que me proporcionaram muitos momentos de aprendizado e enraizaram um amor pelo Transplante de Hepático Infantil.

Agradeço a todos que de alguma forma contribuíram para o meu crescimento pessoal e profissional. Agradeço, em especial, algumas pessoas que se destacaram nesta caminhada como aluna da Pós-Graduação Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia.

À Prof.^ª Dr.^a **Sandra Maria Gonçalves Vieira**, minha orientadora durante quase todo o processo, por me aceitar mesmo sem nenhuma experiência em pesquisa, me incentivando e colaborando com seu conhecimento.

Ao Prof. Dr. **Renato Borges Fagundes**, meu orientador durante o período final e professor incrível durante a disciplina Seminários de Pesquisa. Muito do que aprendi foi estimulado pelas tuas aulas e da **Dr.^a Sandra**.

Ao Dr. **Carlos Kieling**, por ser tão organizado quando necessitamos dos dados dos pacientes e no auxílio com as análises e concepção do artigo.

Aos meus queridos colaboradores, Dr.^a **Marina Adami** e Dr.^a **Renata Guedes**.

Ao bolsista de iniciação científica, **Joel Stefani**, pelo apoio em todos os momentos desde a concepção do projeto, coleta dos dados e finalmente escrita do artigo e dissertação.

À bolsista de iniciação científica **Luciana Eltz** pela ajuda na escrita dos resumos para envio nos congressos.

À Prof.^a Dra.^a **Vania Naomi Hirakata**, pela colaboração na análise estatística.

Ao meu noivo **Lucas** pela paciência, pela ajuda com a criação do banco de dados, amor e incentivo, por sempre estar ao meu lado em todos os momentos.

Aos pacientes e familiares aos quais dedico essa pesquisa e espero que um dia esses resultados possam trazer algum benefício.

Por fim, a todos que contribuíram de alguma forma para a realização do estudo.

RESUMO

O tacrolimo, principal imunossupressor utilizado no transplante hepático, possui alta variabilidade interindividual e índice terapêutico estreito, necessitando de monitoração frequente. Em adultos receptores de fígado, a relação concentração-dose de tacrolimo é uma ferramenta simples e útil capaz de definir o metabolismo do tacrolimo e prever a toxicidade. Pretendemos avaliar, em uma coorte histórica, a relação concentração-dose de tacrolimo em pacientes ≤ 18 anos submetidos ao transplante hepático, que sobreviveram pelo menos 180 dias com o enxerto primário. A relação concentração-dose de tacrolimo foi avaliada pela fórmula padrão e pela fórmula padrão ajustada para o peso e superfície corporal do paciente. Além disso, avaliamos as associações entre a razão C/D e dados demográficos, antropométricos e clínicos, o nível sérico de tacrolimo, testes de função renal e hepática, rejeição celular aguda e infecção pelo vírus Epstein-Barr. Estudamos 83 pacientes. As distribuições de proporções foram assimétricas. Assim, classificamos os pacientes de acordo com o percentil de distribuição da seguinte maneira: metabolizadores rápidos (valores \leq percentil 25); metabolizadores lentos (valores $>$ percentil 75) e metabolizadores intermediários (valores entre 25 e \leq 75 percentil). A concordância entre as fórmulas foi moderada (kappa; 0,62). Na análise bivariada: idade, sexo, diagnóstico de doença hepática primária, bilirrubina, INR, creatinina, ureia e idade do doador atingiram significância estatística, analisando a relação C/D padrão e aquela ajustada pela superfície corporal. Nenhuma das variáveis apresentou resultados significativos quando da análise da fórmula padrão ajustada pelo peso. Na análise multivariada, gênero e idade no transplante foram associados ao metabolismo do tacrolimo. Não observamos associação entre o metabolismo do tacrolimo e rejeição celular aguda, infecção por EBV ou disfunção renal. Conclusão: a relação concentração-dose padrão de tacrolimo pode ser utilizada na prática pediátrica sem ajustes para o peso ou superfície corporal total. O gênero e a idade no transplante influenciaram o requisito de dose de tacrolimo.

ABSTRACT

Tacrolimus is a standard immunosuppressant used after liver transplantation. Its wide pharmacokinetic variability makes mandatory monitoring tacrolimus dose. In adult recipients of liver graft, the concentration-dose ratio of tacrolimus is a simple and useful tool capable of defining tacrolimus metabolism and predicting toxicity. We aimed to assess the tacrolimus concentration-dose ratio in patients ≤ 18 years underwent to liver transplantation, who survived at least 180 days with the primary graft, in a historical cohort study. The concentration-dose ratio of tacrolimus was assessed by the standard ratio, the ratio adjusted for patient weight, and body surface. In addition, we evaluated associations between ratios and demographic, anthropometric and clinical data, the serum level of tacrolimus, liver and renal function tests, acute rejection and Epstein-Barr virus infection. We studied 83 patients. The ratios distributions were asymmetric. Thus, we classified patients according to percentile as follows: fast metabolizers (values \leq percentile 25); slow metabolizers (values $>$ percentile 75), and intermediate metabolizers (values between 25 and ≤ 75 percentile). The agreement between equations was moderate ($\kappa=0,62$). At bivariate analysis: age, gender, diagnosis of primary liver disease, bilirubin, INR, creatinine, urea and donor age reached statistical significance by analyzing the standard ratio and the ratio adjusted by body surface. Neither variables presented significant results for the ratio adjusted by weight. At multivariate analysis, gender and age at transplant were associated with tacrolimus metabolism. We did not observe an association between tacrolimus metabolism and acute cellular rejection, EBV infection or renal dysfunction. Conclusion: the standard tacrolimus concentration-dose ratio can be used in pediatric practice without adjustments for weight or total body surface area. Gender and age at transplantation influenced the tacrolimus dose requirement.

APRESENTAÇÃO

Camila Ribas Smidt é graduada em Farmácia com Habilitação em Farmácia Industrial (2004) pela Universidade Federal de Santa Maria. Pós-graduada em Farmácia Hospitalar em Saúde da Criança e do Adolescente pela Residência Multiprofissional do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (2014) onde atuou como farmacêutica da equipe multidisciplinar do Programa de Transplante Hepático Infantil do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Completou os créditos necessários para defesa da dissertação de mestrado no Programa de Pós-Graduação: Ciências em Gastroenterologia e Hepatologia da Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Este trabalho foi aceito e apresentado sob forma de pôster no Congresso Brasileiro de Hepatologia (2017) e aceito como pôster com distinção para apresentação no 51st ESPGHAN Annual Meeting (Maio/2018).

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	14
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	16
2.1. TRANSPLANTE HEPÁTICO PEDIÁTRICO: ASPECTOS HISTÓRICOS	16
2.2. RESPOSTA IMUNOLÓGICA AO TRANSPLANTE.....	17
2.3. INDICAÇÕES PARA TRANSPLANTE HEPÁTICO PEDIÁTRICO.....	20
2.4. CONTRAINDICAÇÕES PARA O TRANSPLANTE HEPÁTICO.....	23
2.5. COMPLICAÇÕES PÓS TRANSPLANTE HEPÁTICO	24
2.6. RESULTADOS ATUAIS NO BRASIL	28
2.7. IMUNOSSUPRESSÃO EM TRANSPLANTE HEPÁTICO	29
2.7.1. Inibidores da Calcineurina	32
2.7.2. Tacrolimo.....	33
<i>2.7.2.1. Fatores que interferem com o metabolismo do tacrolimo</i>	<i>36</i>
<i>2.7.2.1.1. Demográficos (idade e gênero).....</i>	<i>36</i>
<i>2.7.2.1.2. Interações medicamentosas</i>	<i>37</i>
<i>2.7.2.2. Toxicidade causada por Tacrolimo</i>	<i>39</i>
<i>2.7.2.3. Peculiaridades do uso de Tacrolimo em receptores pediátricos de TxH</i>	<i>41</i>
<i>2.7.2.4. Farmacogenética / Farmacogenômica e polimorfismo genético: considerações gerais.....</i>	<i>42</i>
<i>2.7.2.5. Relação Concentração / Dose de TAC</i>	<i>44</i>
3. JUSTIFICATIVA.....	46

4. QUESTÃO DE PESQUISA	47
5. HIPÓTESE	47
6. OBJETIVOS	47
6.1. OBJETIVO GERAL	47
6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	47
7. ARTIGO EM INGLÊS (MATERIAS E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO) ..	48
8. CONCLUSÕES	70
9. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS	72
10. REFERÊNCIAS	75
ANEXO	82

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Mecanismo de resposta imunológica ao transplante de órgãos.....	19
Figura 2: Representação esquemática do metabolismo do medicamento tacrolimo.....	34
Figura 3: Exemplo esquemático das possíveis alterações do perfil metabólico de indivíduos com diferentes características genéticas (polimorfismos) em enzimas metabolizadoras.....	43

LISTA DE QUADROS

Quadro 1: Indicações para Transplante Hepático Pediátrico.....	21
Quadro 2: Contraindicações para o Transplante Hepático Pediátrico.....	24
Quadro 3: Complicações tardias do Transplante Hepático Pediátrico.....	26
Quadro 4: Imunossupressores utilizados no Transplante Hepático Pediátrico – Classificação, indicação e dose.....	29
Quadro 5: Fármacos inibidores e indutores do CYP450.....	36
Quadro 6: Manejo da imunossupressão de acordo com a categoria do efeito adverso observado.....	39
Quadro 7: Transplante Hepático em receptores adultos e pediátricos.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

AB	Atresia biliar
ABTO	Associação Brasileira de Transplante de Órgãos
ALT	Alanina aminotransferase
C/D	Concentração / Dose diária de tacrolimo
CHC	Carcinoma Hepatocelular
CMV	Citomegalovírus
CYP	Citocromo P 450
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> (Ácido desoxirribonucléico)
EBV	<i>Epstein-barr virus</i> (Vírus Epstein-Barr)
FKBP-12	FK 506 Binding Protein (Proteína de ligação FK506)
GGT	Gama glutamil transferase
gpP	Glicoproteína-P
HB	Hepatoblastoma
HBV	<i>Hepatitis B Virus</i> (Vírus da Hepatite B)
HCFMUSP	Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo
HCPA	Hospital de Clínicas de Porto Alegre
HCV	<i>Hepatitis C Virus</i> (Vírus da Hepatite C)
IHA	Insuficiência hepática aguda
IL-2	Interleucina 2

INR	<i>International Normalized Ratio</i>
IRB	<i>Institutional review board</i>
mTOR	<i>Mammalian target of rapamycin</i> (Proteína alvo da rapamicina em mamíferos)
NFAT	Fator nuclear de células T ativadas
OKT3	Muromonab CD3
PEK	Portoenterostomia de Kasai
PFIC	Colestase intra-hepática familiar progressiva
PTLD	Doença linfoproliferativa pós transplante
RCA	Rejeição celular aguda
RNAm	<i>Messenger ribonucleic acid</i> (Ácido ribonucleico mensageiro)
TAC	Tacrolimo
TAH	Trombose de artéria hepática
TFG	Taxa de filtração glomerular
THI	Transplante Hepático Infantil
Tx	Transplante
TxH	Transplante Hepático
VSR	Vírus sincicial respiratório

1. INTRODUÇÃO

O transplante hepático infantil (THI) atualmente atinge altas taxas de sobrevida, as quais podem ultrapassar 90% no período de 1 ano^{1,2}. Ao longo destas duas últimas décadas ocorreram importantes evoluções na técnica cirúrgica, no manejo clínico e na terapia medicamentosa utilizada na imunossupressão¹, possibilitando ao paciente uma sobrevivência maior que 20 anos com o mesmo enxerto^{1,2}.

O fígado é um órgão dotado de um microambiente, no qual a tolerância é maior que a alorreatividade^{2,3}, mas a despeito disso, a maioria dos pacientes receptores de fígado necessitam de imunossupressão específica por longos períodos^{1,3}. Os inibidores da calcineurina (ciclosporina e tacrolimo) são os medicamentos mais empregados com essa finalidade. A partir da década de 1990, o tacrolimo (TAC) tem sido o medicamento de escolha, estando associado a um menor número de episódios de rejeição e aos eventos adversos mais toleráveis, favorecendo assim uma melhor adesão do paciente^{2,4}. Ainda assim, por possuir índice terapêutico estreito, meia vida longa, depuração renal lenta⁵ e alta variabilidade inter e intraindividual⁶, o monitoramento sérico do TAC deve ser frequente até que se atinja o nível terapêutico desejável.

Para muitos medicamentos, as variabilidades interindividuais estão associadas, pelo menos em parte, aos polimorfismos em genes que codificam enzimas, transportadores de drogas e / ou receptores diretamente responsáveis pelo metabolismo do fármaco. O perfil metabólico de cada indivíduo pode ser modificado por tais polimorfismos, caracterizando os seguintes fenótipos: metabolizadores lentos, intermediários e rápidos. Os metabolizadores lentos geralmente são aqueles onde ocorre diminuição ou ausência da enzima metabolizadora o que pode ser decorrente da deleção do gene ou instabilidade do RNAm. Os intermediários são a grande parcela da população e possuem o metabolismo considerado “comum”. Já os

metabolizadores rápidos são assim denominados por terem um aumento na produção da enzima metabolizadora associada a uma ou múltiplas duplicações do gene que codifica a enzima. Do ponto de vista prático, os metabolizadores rápidos necessitam de uma dose maior do medicamento para atingir o alvo terapêutico enquanto os metabolizadores lentos atingem o alvo com doses comparativamente menores⁷.

A Farmacogenética (Farmacogenômica) estuda as influências genéticas sobre as respostas a medicamentos. É uma área da Farmacologia Clínica que tem o objetivo de personalizar a utilização dos fármacos, antevendo dose terapêutica efetiva, eventos adversos e assim, antecipando condutas clínicas pertinentes. Embora seja um campo de pesquisa com promissora aplicabilidade clínica, a farmacogenética ainda se encontra em desenvolvimento e até o momento, desconhece-se os principais marcadores genéticos de relevância clínica uma vez que muitos genes podem influenciar as respostas aos medicamentos. Isto limita a utilização da informação genética ao se tomar decisões terapêuticas⁸.

No que se refere aos imunossuppressores inibidores da calcineurina, os resultados apresentados pela literatura ainda não conseguiram demonstrar claramente as vantagens da farmacogenética do TAC e da ciclosporina em comparação com a monitoração rotineira do nível sérico da droga^{8,9}.

Recentemente, foi sugerido, em pacientes adultos, a utilização da relação nível sérico/dose diária (C/D) do TAC para monitoração da taxa de metabolização do TAC. Thölking et al. analisaram a relação C/D em 179 pacientes adultos submetidos ao transplante hepático, imunossuprimidos com TAC. Categorizaram estes pacientes em metabolizadores rápidos e lentos e observaram que havia uma associação entre relação C/D e nefrotoxicidade naqueles pacientes classificados como metabolizadores rápidos¹⁰. Desconhecemos estudos pediátricos semelhantes.

O gerenciamento da imunossupressão em crianças transplantadas de fígado geralmente é complexo e pode ser desafiador quando comparado com o uso desses agentes em pacientes adultos. As diferenças fisiológicas em crianças alteram a farmacocinética dos agentes imunossupressores e estes pacientes têm um período mais longo de exposição à imunossupressão, o que pode afetar o crescimento, elevar o risco de infecções, promover carcinogênese e determinar não adesão^{11,12,13}.

A utilização de C/D na prática clínica parece ser uma ferramenta rápida e acessível para auxiliar na obtenção do equilíbrio entre eficácia terapêutica e não ocorrência de eventos adversos.

O objetivo deste estudo foi estudar a relação C/D em pacientes pediátricos receptores de fígado e comparar a fórmula padrão com fórmulas ajustadas pelo peso e superfície corporal.

Todos os dados analisados referem-se aqueles observados 180 dias após o transplante e para desenvolvimento de rejeição celular aguda (RCA) e infecção por *Esptein Barr vírus (EBV)* em até um ano após o transplante.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. TRANSPLANTE HEPÁTICO PEDIÁTRICO: ASPECTOS HISTÓRICOS

O transplante (Tx) de órgãos sólidos é um tratamento bem-sucedido para crianças em fase terminal com problemas cardíacos, pulmonares, hepáticos e renais. O THI teve seu início a partir do ano de 1963 com Thomas E. Starzl, em Denver (EUA). O paciente era uma criança de três anos portadora de cirrose secundária à atresia biliar (AB), em estágio terminal, a qual não sobreviveu durante o procedimento cirúrgico. A partir de então, novas tentativas foram feitas havendo intenso aprimoramento técnico. No ano de 1967, o próprio grupo do professor Starlz publicou uma série com oito pacientes pediátricos submetidos ao THI. Destes, quatro

evoluíram para óbito entre 2 e 6 meses após o procedimento, outros dois sobreviveram por 12 meses, um atingiu 30 meses de transplante e outro permanecia vivo até a data de 2002^{2,14}.

No Brasil, entre os anos de 1968 e 1972, foram realizadas cinco tentativas de transplante, todas sem sucesso. No ano de 1985, o Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de São Paulo (HCFMUSP) realizou o primeiro transplante hepático (TxH) bem-sucedido da América Latina, já o primeiro Tx com doador vivo da história foi realizado em 1989^{15,16}. No estado do Rio Grande do Sul, o Hospital São Francisco da Irmandade Santa Casa de Misericórdia de Porto Alegre foi responsável pelo primeiro procedimento no ano de 1991. O programa de THI do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) deu início as suas atividades no ano de 1995 com o primeiro TxH realizado na instituição¹⁷.

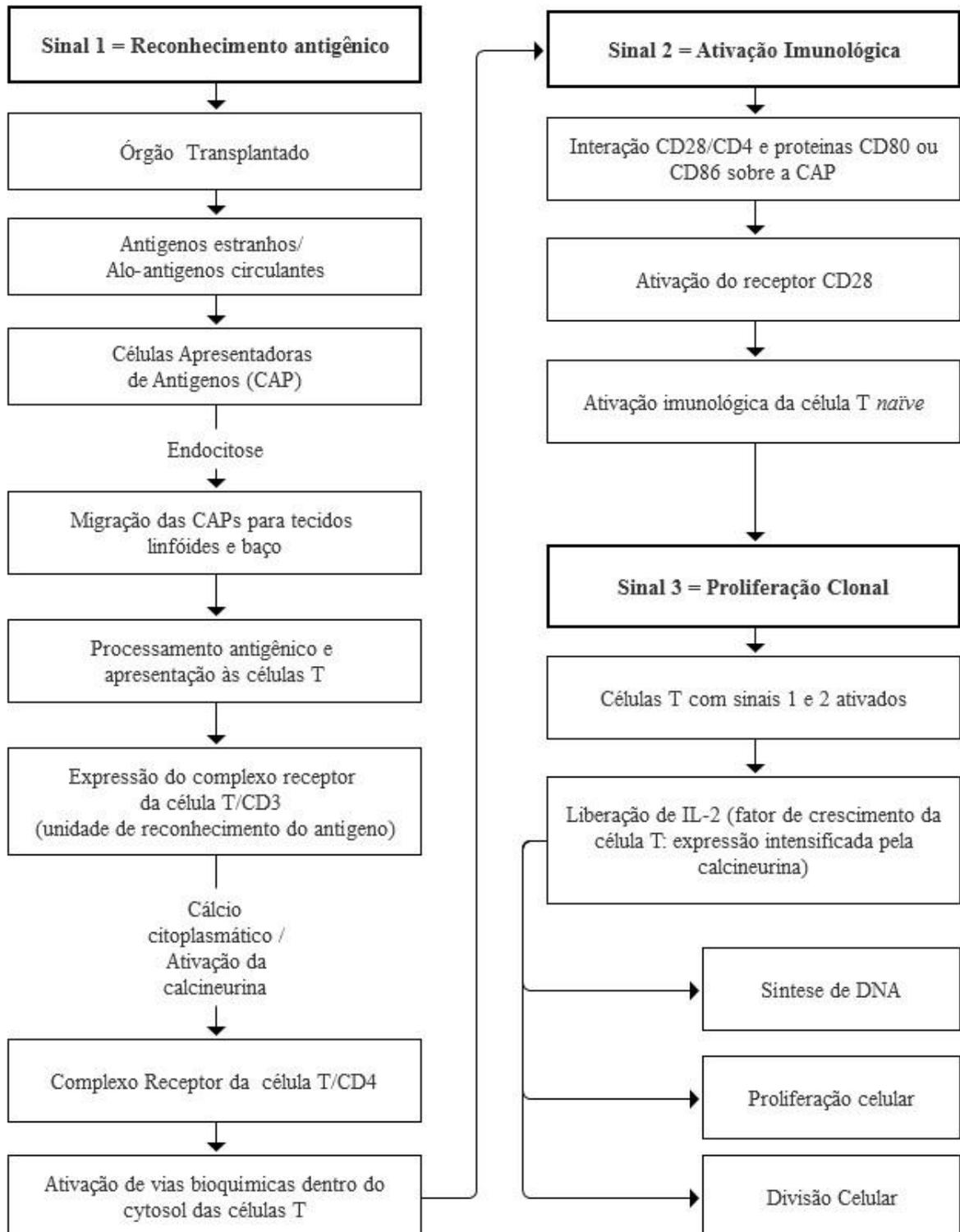
2.2. RESPOSTA IMUNOLÓGICA AO TRANSPLANTE

O transplante de órgãos entre indivíduos geneticamente diferentes, mesmo que da mesma espécie, promove uma resposta imunológica mediada por células T, que se não controlada, resulta em rejeição celular, com eventual perda do enxerto (Figura 1)¹⁸. A magnitude desta resposta é determinada pelas diferenças antigênicas entre receptor e doador e no enxerto, pela expressão de citocinas pró-inflamatórias desencadeadas tão cedo quanto no período inicial após o transplante. Várias moléculas foram identificadas com capacidade de inativação das células T e algumas intervenções imunológicas parecem induzir a um estado no qual o enxerto é “aceito” sem a necessidade de imunossupressão em longo prazo – tolerância imunológica. O fígado, pela constante exposição aos produtos alimentares e bacterianos, é um órgão dotado de um microambiente, no qual a tolerância é maior que a imunidade¹⁸. A tolerância aos enxertos transplantados tem sido elucidada, estando bem documentada em modelos animais¹⁹. Apesar desses avanços, a maioria dos pacientes que recebem órgãos

transplantados, incluindo os receptores de fígado, necessitam de imunossupressão específica por longos períodos.

O tempo, a dose e a seleção do imunossupressor difere largamente entre os centros. A maioria dos protocolos utiliza agentes múltiplos, dirigidos às várias etapas da cascata imunológica apresentada na figura 1 e considera: a doença de base do receptor, os riscos individuais de infecção e de toxicidade, a história prévia de sensibilização do receptor e as variações individuais geneticamente determinadas^{18,20,21}.

Figura 1: Mecanismo de resposta imunológica ao transplante de órgãos



Fonte: Coelho *et al*, 2012 ¹⁸

2.3. INDICAÇÕES PARA TRANSPLANTE HEPÁTICO PEDIÁTRICO

O transplante hepático ortotópico está indicado quando o risco de mortalidade pela doença hepática em estágio final é maior que o risco gerado pelo transplante. No paciente com doença hepática crônica descompensada, isto significa a perda de no mínimo duas das principais funções do fígado e as manifestações da hipertensão portal não responsivas ao tratamento clínico e/ou endoscópico. A atresia biliar é, em todas as séries, a principal indicação de THI por hepatopatia crônica. Outras indicações incluem: a insuficiência hepática aguda, os tumores hepáticos não ressecáveis e as doenças metabólicas²² (Tabela 1). Discutiremos brevemente um representante de cada classe descrita.

Quadro 1 – Indicações para Transplante Hepático Pediátrico

	<u>Indicações Tradicionais</u>	<u>Indicações Controversas</u>
Doenças Colestáticas	<ul style="list-style-type: none"> • Atresia Biliar • Colangite Esclerosante • Nutrição parenteral associada à colangite • Síndrome de Alagille • Colestase intra-hepática familiar progressiva (PFIC tipo 3) 	<ul style="list-style-type: none"> • Colestase intra-hepática familiar progressiva (PFIC tipo 1)
Doenças metabólicas	<ul style="list-style-type: none"> • Deficiência de alfa 1 antitripsina • Fibrose Cística • Defeito no Ciclo da uréia • Tirosinemia • Doença de Wilson • Hiperoxalúria primária • Distúrbios de armazenamento de Glicogênio • Doença hepática aloimune gestacional 	<ul style="list-style-type: none"> • Acidemia Propiônica • Hepatopatia Mitochondrial
Tumores	<ul style="list-style-type: none"> • Hepatoblastoma • Hemangioendotelioma • Carcinoma Hepatocelular 	<ul style="list-style-type: none"> • Tumores metastáticos do fígado
Insuficiência Hepática Aguda	<ul style="list-style-type: none"> • Medicamentosa • Viral • Outros 	

Fonte: Kohli *et al*, 2017²² (adaptado)

A AB, diagnóstico do primeiro Tx de fígado humano, acomete habitualmente recém-nascidos saudáveis, que se tornam progressivamente ictericos, com acolia no decorrer das primeiras duas a três semanas pós-natais²³. Quando o diagnóstico se dá entre 45-60 dias de vida, há a possibilidade de restabelecimento do fluxo biliar pela realização da portoenterostomia de Kasai (PEK). Para aqueles pacientes diagnosticados tardiamente e em aproximadamente 20-40% daqueles submetidos a PEK em tempo hábil, a doença progride para cirrose biliar e necessidade de TxH²⁴.

Pacientes com doenças metabólicas hereditárias possuem mutações que podem afetar uma via crítica do metabolismo celular resultando em doença multissistêmica grave podendo levar ao óbito²⁵. Existem vários tipos de doenças metabólicas tratáveis com TxH, incluindo os erros inatos de aminoácidos, carboidratos, metabolismo de metais e lipídios e distúrbios mitocondriais^{24,25}. Algumas doenças metabólicas como Tirosinemia, Doença de Wilson ou deficiência de alfa 1 antitripsina podem resultar em lesão hepática estrutural, lesão hepática aguda, neoplasia e doença hepática terminal. Outras doenças como defeitos no ciclo da uréia ou leucinose (Doença da Urina do Xarope de Bordo) resultam em alterações no metabolismo sistêmico, embora a função hepática mantenha-se intacta²⁴. Nesta situação, o transplante deverá ocorrer idealmente antes do acometimento sistêmico ou da instalação de lesão neurológica grave^{24,25}.

O carcinoma hepatocelular (CHC) é o tumor maligno mais comum em adultos e adolescentes com indicação de transplante hepático enquanto o hepatoblastoma (HB) é o mais prevalente em crianças menores de 5 anos²³. O tratamento do HB e do CHC em pacientes pediátricos evoluiu consideravelmente a partir da década de 1980 com a introdução de novos quimioterápicos e técnicas cirúrgicas. Nos casos de CHC recomenda-se o TxH em pacientes sem tumor extra-hepático ou invasão vascular grosseira evidenciado por imagens radiológicas,

independentemente do número e tamanho das lesões²⁶. O tratamento convencional do HB consiste em uma combinação de quimioterapia e cirurgia, com o objetivo de controle local completo por ressecção cirúrgica e erradicação de qualquer doença extra-hepática. Habitualmente, quimioterapia neoadjuvante é utilizada possibilitando a ressecabilidade da lesão. Para aqueles pacientes cujos tumores são muito extensos para serem ressecados convencionalmente, o TxH pode ser curativo e continua sendo o tratamento de escolha para pacientes considerados incuráveis por ressecção convencional²⁷.

A insuficiência hepática aguda (IHA) é uma das causas mais comuns de indicação do THI²³ e apesar dos avanços no diagnóstico e manejo da doença, ainda não existe consenso sobre uma avaliação padronizada²⁸. De rápida evolução, a IHA na infância diferencia-se da observada do adulto tanto no que se refere às causas quanto ao diagnóstico, tratamento e prognóstico²⁸. Pacientes pediátricos com lesão hepática induzida por drogas representam 20% dos casos de IHA e o fármaco mais associado a essa condição é o paracetamol²⁹. Aproximadamente 90% dos casos de IHA induzida por paracetamol sobrevivem sem TxH. Estas cifras diminuem para 40 a 50% quando a causa da IHA é indeterminada²³. A forma fulminante da Doença de Wilson e a hepatite viral necessitam de transplante imediato enquanto que os distúrbios mitocondriais geralmente são contraindicados³⁰.

2.4. CONTRAINDICAÇÕES PARA O TRANSPLANTE HEPÁTICO

A principal função do TxH é prevenir a mortalidade e melhorar a qualidade de vida do paciente. Considera-se o procedimento não indicado naquelas situações onde a mortalidade não pode ser evitada²². São consideradas contraindicações absolutas ao TxH: malignidade extra-hepática não ressecável, infecção sistêmica não controlada ou sepse, insuficiência orgânica multissistêmica e lesão neurológica grave irreversível^{23,24} (Quadro 2). Atualmente, os avanços

técnicos têm possibilitado a realização do TxH em situações antes consideradas inoperáveis e assim o número de contraindicações tem diminuído no decorrer dos anos.

Quadro 2: Contraindicações para o Transplanta Hepático Infantil

<u>Contraindicações absolutas</u>	<u>Contraindicações relativas</u>
<ul style="list-style-type: none"> • Malignidade extra-hepática não ressecável • Infecção sistêmica ativa • Carcinoma Hepatocelular com doença hepática adicional • Doença de Niemann Pick Tipo C • Doença mitocondrial multissistêmica grave 	<ul style="list-style-type: none"> • Linfocitose hemofagocítica • Alta probabilidade de não adesão ao tratamento medicamentoso • Carcinoma hepatocelular com invasão venosa

Fonte: Capone *et al*, 2016³¹ (adaptado)

2.5. COMPLICAÇÕES PÓS TRANSPLANTE HEPÁTICO

As complicações após o TxH podem ser classificadas como precoces ou tardias. No período precoce (período de recuperação cirúrgica), as complicações geralmente estão relacionadas ao não funcionamento do enxerto, as complicações vasculares e ao desenvolvimento de rejeição celular aguda e infecção^{31,32}. No não funcionamento primário do enxerto há importante comprometimento da função sintética e metabólica do fígado, observando-se elevação persistente das transaminases, hiperbilirrubinemia, coagulopatia, acidose láctica, e hiperamonemia²². O não restabelecimento da função hepática é uma indicação prioritária de retransplante^{22,31}.

As complicações vasculares incluem as trombozes de artéria hepática (TAH), veia porta e veia hepática representando as causas mais graves de morbidade e mortalidade pós TxH^{33,34}. Como o não funcionamento primário do enxerto, os problemas vasculares devem ser tratados de forma prioritária, especialmente as trombozes de artéria hepática e veia porta, responsáveis

pelo suprimento de sangue ao fígado, podendo resultar em perda precoce do enxerto e disfunção a longo prazo³³.

A RCA irá ocorrer em pelo menos metade dos pacientes transplantados de fígado em até três meses após o procedimento²⁴. Inicialmente assintomática, pode ser detectada através da elevação das enzimas ALT e GGT e da bilirrubina total, excluindo-se infecções e obstrução vascular^{24,31,35}. A confirmação do diagnóstico de RCA é feita através da avaliação histológica e o tratamento baseia-se na otimização da imunossupressão³¹.

As infecções são classificadas de acordo com o período de surgimento em precoce (desenvolvida nos primeiros trinta dias pós Tx e geralmente relacionada à manipulação cirúrgica e cateteres pós-operatórios), intermediária (de um a seis meses, resultante da imunossupressão) e tardia (a partir de seis meses)^{11,31,36}. As infecções pós-transplante, incluindo a sepse, podem desenvolver-se em até 20% dos receptores de TxH, durante o primeiro mês após o procedimento³⁷. Devido a esse risco, a profilaxia contra infecções é rotineira e medicamentos antibióticos são administrados precocemente³⁷. Estudos realizados com a população infantil apesar de escassos, relatam que as infecções são fatores determinantes no aumento da morbidade e mortalidade após o TxH³⁸ e a maioria dos óbitos pós procedimento é causado por infecções bacterianas, virais ou fúngicas^{36,39,40,41}.

A idade é um fator importante na determinação da suscetibilidade a certos agentes patogênicos. Os lactentes, possuem maior vulnerabilidade aos vírus sincicial respiratório (VSR), citomegalovírus (CMV), *Epstein-barr virus* (EBV) e as bactérias do tipo *Staphylococcus coagulase negativa*³⁶.

As complicações tardias são representadas pela continuidade da manifestação de infecções, rejeição celular aguda e crônica, efeitos adversos relacionados ao uso dos imunossupressores e malignidade^{31,32}. (Quadro 3)

Quadro 3 – Complicações tardias do Transplante Hepático Infantil

Relacionadas ao enxerto	<ul style="list-style-type: none"> • Rejeição celular aguda tardia • Rejeição celular crônica • Complicações vasculares • Complicações biliares • Doença recorrente
Infecções	<ul style="list-style-type: none"> • Virais • Oportunistas • Transmitidas através de doenças sexuais
Gastrointestinal	<ul style="list-style-type: none"> • Diarreia • Gastroenterite eosinofílica • Insuficiência pancreática • Distúrbios de motilidade • Transtornos alimentares
Malignidade	<ul style="list-style-type: none"> • Doença linfoproliferativa pós transplante • Carcinoma basocelular, melanoma, sarcoma de Kaposi • Outros (neoplasia de cólon e pâncreas)
Cardiovascular	<ul style="list-style-type: none"> • Hipertensão Arterial • Disfunção Renal • Hiperlipidemia • Diabetes Mellitus • Resistência insulínica • Obesidade
Osteoarticular	<ul style="list-style-type: none"> • Osteoporose, osteonecrose asséptica, condrolise

Fonte: Rawal N, Yazigi N., 2016 ³² (adaptado)

O desenvolvimento de neoplasias malignas é uma complicação tardia, sendo a doença linfoproliferativa pós transplante (*PTLD*), a mais comum delas, responsável por mais de 50%

das neoplasias nesta população e em 70% dos casos o tumor está associado à infecção primária ou à reativação do EBV^{22,42}. Os tumores de pele são o segundo tipo mais prevalente e o uso de protetores solares e a diminuição da exposição solar do paciente são maneiras eficazes de prevenir o desenvolvimento da malignidade²².

A rejeição crônica ocorre em até 10% da população pediátrica e pacientes que apresentaram episódios prévios de RCA são mais predispostos a perda do enxerto e ao desenvolvimento de fibrose^{22,30}. As manifestações clínicas da rejeição crônica são inespecíficas, sendo necessária a avaliação histológica do enxerto para o diagnóstico definitivo.^{31,37}.

A insuficiência renal é uma complicação grave e frequentemente associada à utilização de inibidores da calcineurina^{43,44}. O seu desenvolvimento é bastante preocupante, principalmente em pacientes pediátricos, que possuem um tempo de exposição maior a terapia imunossupressora^{7,43,45}. Cerca de 30% dos pacientes desenvolverão hipertensão até 10 anos após o TxH, e aproximadamente 15% possuem taxa de filtração glomerular (TFG) menor que 90mL/min em 5 anos após o transplante³⁶. Estratégias para a redução da incidência de disfunção renal abrangem a utilização de terapia de indução no pós-operatório imediato, visando retardar o início da utilização dos inibidores de calcineurina, o ajuste na dose dos imunossupressores e a atenção à utilização de drogas nefrotóxicas^{36,43,44,46}.

2.6. RESULTADOS ATUAIS NO BRASIL

Segundo relatório da Associação Brasileira de Transplante de Órgãos (ABTO), no ano de 2017 foram realizados no Brasil um total de 8.642 transplantes de órgãos sólidos, sendo 2.109 hepáticos, que utilizaram em 91,3% enxertos de doadores falecidos.

Atualmente existem 69 equipes transplantadoras de fígado atuantes em 13 estados brasileiros, onde o estado do Rio Grande do Sul é o segundo estado em número de transplantes⁴⁷. Nota-se um crescimento na realização de transplante hepático infantil sendo realizados 177 em 2015, 180 em 2016 e 206 em 2017, com 18 acontecendo no Rio Grande do Sul. Este aumento é relacionado ao Tx intervivos (70,4%) que pelo quinto ano consecutivo superou o transplante com doador falecido⁴⁷.

No que se refere à lista de espera, 351 pacientes estiveram listados para transplante pediátrico de fígado em 2017, sendo 59% transplantados e 8% falecidos em lista⁴⁷. Outro dado relevante apresentado é que em 2017 foram transplantadas 48% das crianças que estavam em lista para transplante de órgãos⁴⁷.

2.7. IMUNOSSUPRESSÃO EM TRANSPLANTE HEPÁTICO

Quase nenhuma outra área da medicina teve desenvolvimento tão expressivo nas últimas décadas quanto o Tx de órgãos sólidos. Destaca-se o avanço nas técnicas cirúrgicas, melhoria na preservação do enxerto, gerenciamento dos cuidados intensivos, aumento na compreensão do sistema imune e evolução da imunossupressão utilizada¹².

A imunossupressão ideal busca induzir não alorreatividade e imunocompetência contra patógenos¹². Alcançar o nível desejado da imunossupressão é complexo e requer equilíbrio. A meta é prevenir a rejeição e minimizar os eventos adversos, particularmente relacionados à infecção, malignidade e toxicidades específicas dos fármacos¹². Os protocolos utilizados diferem entre os centros e entre os diferentes tipos de órgãos transplantados. Geralmente, emprega-se uma combinação de terapias medicamentosas, reduz-se as doses ao longo do tempo e vigia-se rotineiramente as infecções virais emergentes e as evidências de imunossupressão excessiva¹².

A terapia imunossupressora pode ser classificada em três fases: terapia de indução, manutenção e tratamento da rejeição aguda^{48,49}. Na fase de indução, período de alta alorreatividade, utiliza-se geralmente corticosteroides em altas doses associado ou não ao uso de anticorpos monoclonais ou policlonais. Os inibidores da calcineurina (ciclosporina e tacrolimo), micofenolato mofetil e inibidores mTOR (rapamicina e everolimus) são os imunossupressores mais frequentemente utilizados durante o período de manutenção^{48,49} (Quadro 4). Indicações e doses dos fármacos devem ser analisados individualmente.

Quadro 4 - Imunossupressores utilizados no Transplante Hepático Pediátrico – Classificação, indicação e dose

Imunossupressor	Classificação	Indicação	Dose
Metilprednisolona, prednisona ou metilprednisolona	Corticosteroides	Indução da imunossupressão e tratamento da rejeição	Metilprednisolona: 10 mg/Kg/dia Prednisona/prednisolona: 0,5 – 1 mg/Kg/dia
Tacrolimo	Inibidor da calcineurina	Manutenção da imunossupressão e tratamento da rejeição	0,15-0,3 mg/Kg/dia
Ciclosporina	Inibidor da calcineurina	Manutenção da imunossupressão	10-15 mg/Kg/dia
Micofenolato mofetil	Anti-metabólito	Manutenção da imunossupressão e tratamento da rejeição	20-40 mg/Kg/dia
Rapamicina (Sirolimus)	Inibidor da mTOR	Manutenção da imunossupressão e tratamento da rejeição.	0,4-5,0 mg/Kg/dia Especial utilização em pacientes portadores de malignidades

Imunossupressor (cont.)	Classificação (cont.)	Indicação (cont.)	Dose (cont.)
Everolimus	Inibidor da mTOR	Manutenção da imunossupressão e tratamento da rejeição. Especial utilização em pacientes portadores de malignidades	0,4 mg/m ² /12h
Basiliximab	Anticorpo monoclonal, receptor da IL-2	Indução da imunossupressão e tratamento da rejeição resistente aos corticosteroides	< 35 Kg: 10 mg/D0 e D4 > 35Kg: 20 mg/D0 e D4
Antitimoglobulina	Anticorpo policlonal, depleção das células T	Indução da imunossupressão e tratamento da rejeição resistente aos corticosteroides	1-1,5 mg/Kg/dia por 2-9 dias (indução) 1-1,5 mg/Kg/dia por 3-14 dias (tratamento da rejeição)
Muromonab-CD3 (OKT3)	Anticorpo monoclonal, depleção das células T	Indução da imunossupressão e tratamento da rejeição resistente aos corticosteroides	< 30 Kg: 2,5 mg por 10-14 dias > 30 kg:5,0 mg/dia, por 10-14 dias
Alemtuzumab	Anticorpo monoclonal, depleção das células T	Indução da imunossupressão	0,3 mg/kg/dia 0,4 e 7 (indução) 30 mg, IV, em doses escalonadas (atingir dose final em 3-7 dias: segurança e efetividade não comprovadas em pediatria (imunossupressão)

Fonte: Moini, Schilsky, Tichy⁴⁸, Piva, Garcia⁴⁹ (adaptado)

2.7.1. Inibidores da Calcineurina

A calcineurina é uma proteína cálcio dependente que tem um papel importante na regulação do cálcio intracelular necessário para ativação da célula T. Quando uma célula apresentadora de antígeno interage com o receptor da célula T, há um aumento na concentração de cálcio intracitoplasmático, que ativa a calcineurina (desfosforila), translocando o fator nuclear de células T ativadas (NFAT) para o núcleo, onde regula positivamente a expressão de interleucina 2 (IL-2). Esta interleucina por sua vez, estimula a ativação e a proliferação das células T. Acredita-se que a quantidade de IL-2 produzida pelas células T *helper* influencia a extensão da resposta imunitária³. A ciclosporina e o tacrolimo (TAC) são os principais fármacos utilizados na terapia de manutenção do enxerto onde o alvo é a calcineurina⁵⁰. A ciclosporina liga-se à ciclofilina resultando na inibição da IL-2 e o TAC liga-se à proteína correspondente FK506 (FKBP-12)^{18,20}.

A ciclosporina foi o primeiro inibidor da calcineurina a ser desenvolvido e revolucionou a história dos transplantes. É uma droga extraída do fungo *Tolypocladium inflatum* e foi descoberta na década de 1970, sendo reconhecida como potente imunossupressor na década de 1980¹⁸. A potência imunossupressora do TAC é estimada como sendo 100 vezes maior quando comparado com a ciclosporina. Em 1994 dois ensaios foram publicados, sugerindo diminuição significativa da incidência de rejeição com o uso do TAC em receptores de fígado, mas sem qualquer diferença sobre a mortalidade ou perda de enxerto no primeiro ano após procedimento⁵¹. Estudos mais recentes não confirmam uma superioridade do TAC em relação à ciclosporina na prevenção da rejeição celular⁵¹. Os efeitos imunossupressores desta classe de drogas estão relacionados à exposição total do fármaco e pode ser estimada através da medição do seu nível em sangue total⁵⁰.

Ambas as drogas são metabolizadas principalmente pelo citocromo P450 (CYP)⁵² e, portanto, interagem significativamente com vários medicamentos, sendo imprescindível sua monitorização e controle de possíveis interações medicamentosas⁵⁰. O papel da glicoproteína-P na metabolização dos inibidores da calcineurina não é totalmente elucidado, porém sabe-se que ela pode facilitar ou limitar o acesso destes fármacos para os órgãos⁵³. TAC e ciclosporina possuem variabilidade farmacocinética e uma janela terapêutica estreita (a dose ideal é muito próxima da dose tóxica), necessitando assim de acompanhamento frequente do nível sérico⁵². Apresentam uma ampla gama de toxicidades, muitas das quais dependentes da dose sérica^{18,20,50}. A nefrotoxicidade é um evento reconhecido e documentado em aproximadamente 20% dos receptores de transplante de fígado^{44,50,54,55}. A neurotoxicidade é outro problema comum, mais predominante com o TAC^{50,55}. A apresentação clínica desta complicação é muito variável (cefaleia, tremores, agitação, confusão, alucinações ou psicose). Hipertensão arterial, hiperlipidemia, hipercalemia, acidose metabólica e diabetes também são frequentes. A hiperplasia gengival e a hipertricose são efeitos colaterais especificamente relacionados ao uso da ciclosporina⁵⁰.

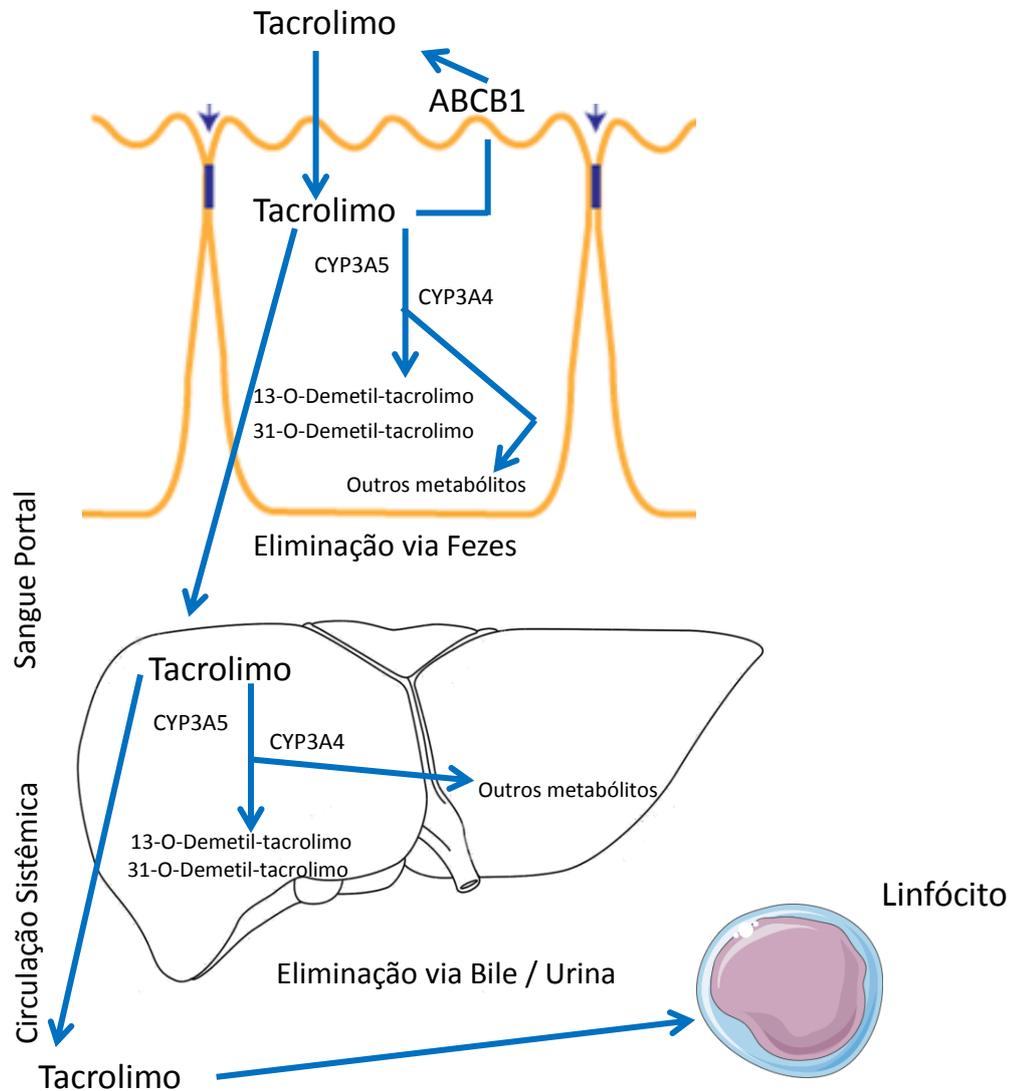
Um terceiro inibidor da calcineurina, voclosporin, está atualmente em fase de ensaios clínicos, com eficácia semelhante e menor ação diabetogênica⁵⁶. A incidência de rejeição e disfunção renal parece ser semelhante entre TAC e voclosporin em pacientes submetidos ao transplante renal⁵⁶. Atualmente não existem dados de utilização de voclosporin no TxH⁵⁷.

2.7.2. Tacrolimo

O TAC é um antibiótico macrolídeo de origem fúngica isolado pela primeira vez no ano de 1985 a partir de um actinomiceto *Streptomyces tsukubaensis*, obtido em amostras de solo do Monte Tsukuba, no Japão^{18,58}. Demonstrou ser imunologicamente eficaz *in vivo* em 1987, em ratos submetidos ao transplante cardíaco. No transplante de fígado, obteve sua

liberação para uso nos Estados Unidos no ano de 1994^{18,52}. O metabolismo do TAC é complexo e envolve a Glicoproteína-P (gpP), codificada pelo gene ABCB1 e encontrada na membrana do enterócito e a família CYP3A hepática^{18,59,60}. É inicialmente metabolizado no intestino, onde é substrato para a gpP, a qual regula a passagem de substâncias do interior da célula para o meio extracelular. Uma vez na corrente sanguínea, o TAC atinge o fígado onde é metabolizado, principalmente pelo CYP3A5 e CYP3A4. Finalmente, seus metabólitos são excretados através da bile e da urina. Embora rapidamente absorvido pelo intestino, apenas cerca de 20% da dose administrada atingirá a circulação, devendo ser administrado em jejum para melhor absorção^{59,60} (Figura 2).

Figura 2: Representação esquemática do metabolismo do medicamento Tacrolimo



Fonte: Barbarino JM *et al.*, 2013⁵² (adaptado)

Administrado sob a forma farmacêutica de cápsulas, o TAC possui baixa biodisponibilidade oral, geralmente em torno de 25%, podendo variar entre 5 e 93%⁶¹. Após ingestão, atinge a sua concentração sanguínea máxima em 1-2 horas¹⁸. Diversos fatores podem alterar a farmacocinética do TAC, destacam-se entre eles o tipo de enxerto transplantado, o tempo de transplante, características demográficas do receptor como gênero, raça e faixa etária,

integridade das funções hepática, renal e intestinal, presença do vírus da hepatite C e de ascite, uso concomitante de alimentos, corticosteroides e indutores do citocromo P450^{4,7,16,18,61,62}. Por possuir variabilidade intra e interindividual, o TAC deve ser monitorado frequentemente através do nível sérico^{4,7,18}.

2.7.2.1. Fatores que interferem com o metabolismo do tacrolimo

2.7.2.1.1. Demográficos (idade e gênero)

A farmacocinética dos imunossupressores em crianças é influenciada, de forma considerável, pelas mudanças relacionadas ao crescimento e à maturação, responsáveis pelas diferenças relacionadas à idade e ao peso do paciente na disposição da droga^{63,64}. A capacidade diferente dos pacientes pediátricos na metabolização dos fármacos pode resultar em níveis plasmáticos mais altos ou mais baixos do que aqueles alcançados em adultos⁶⁴. Os receptores de transplante pediátrico necessitam doses de TAC de 2 a 4 vezes maiores do que os adultos para manter concentrações mínimas semelhantes^{58,61}. Além disso, dentro da própria faixa etária pediátrica, existem diferenças nas doses necessárias para se atingir os níveis séricos desejados (alvo terapêutico). As crianças menores de cinco anos, geralmente, necessitam de doses maiores de TAC, quando comparados com pacientes mais velhos⁶⁵. No que se refere ao peso, há uma relação não linear entre o peso e a depuração do TAC nas crianças^{63,65}.

Quanto aos efeitos específicos do gênero sobre o perfil farmacocinético de TAC, não existe ainda um consenso. Alguns estudos demonstraram maior necessidade de dose e depuração para pacientes femininas enquanto outros não encontraram diferenças significativas entre os gêneros^{61,66}. A diferença farmacocinética entre os gêneros parece ser mais relevante para os substratos do citocromo P450, especialmente o CYP3A4. Análises do CYP3A4 no fígado humano sugerem níveis desta enzima duas vezes maiores nas mulheres⁶⁷.

2.7.2.1.2. Interações medicamentosas

Embora poucos estudos farmacocinéticos investigando as interações de TAC com outros fármacos tenham sido conduzidos, a lista de medicamentos capazes de interferir com a concentração sérica do TAC não é desprezível (Quadro 5)⁶¹. Estas listas têm como base relatos de caso na população de transplantados adultos, estudos em animais ou investigações *in vitro*⁶¹, havendo resultados imprecisos⁹.

Quando o TAC é administrado concomitantemente com fármacos que induzem ou inibem o sistema enzimático CYP3A4/5 e a glicoproteína-P, aumenta-se o risco de ocorrência de interações medicamentosas^{68,69}. Isto não é incomum em pacientes transplantados que com frequência utilizam medicamentos que fazem parte da lista de indutores e inibidores desses sistemas de enzimas (Quadro 5). Desde que o TAC pode atingir níveis supra terapêuticos rapidamente, elevando o risco de eventos adversos significativos, o monitoramento do nível sérico da droga é imprescindível, especialmente quando há a possibilidade de interações medicamentosas⁷⁰.

Quadro 5 – Fármacos inibidores e indutores do CYP450

	Classe Farmacológica	Fármaco
Inibidores CYP 3A (Moderado a Severo)	Antifúngicos	Clotrimazol Fluconazol Itraconazol Cetoconazol Voriconazol Posaconazol

	Classe Farmacológica (cont.)	Fármaco (cont.)
Inibidores CYP 3A (Moderado a Severo)	Antibióticos	Claritromicina Eritromicina Telitromicina Ciprofloxacina
	Antidepressivos	Nefazodona
	Bloqueadores do canal de cálcio	Diltiazem Nifedipina Verapamil Felodipina
	Outros	Inibidores da Protease (Ritonavir, Indinavir) Imatinibe Aprepitanto Toranja, Romã
Inibidores CYP 3A (Fraco)	Antidepressivos	Fluoxetina
	Bloqueadores do canal de cálcio	Anlodipina
	Antagonista do receptor H ₂	Cimetidina Ranitidina
	Outros	Alprazolam Amiodarona Atorvastatina <i>Ginkgo-biloba</i> Anticoncepcionais orais
Indutores CYP3A (Moderado a Severo)	Anticonvulsivantes	Carbamazepina Oxcarbazepina Fenitoína Fenobarbital

	Classe Farmacológica (cont.)	Fármaco (cont.)
Indutores CYP3A (Moderado a Severo)	Antibióticos	Rifabutina Rifampicina Nafcilina
	Fitoterápicos	Erva de São João (<i>Hypericum perforatum</i>)
	Outros	Bosentana

Fonte: Miloh *et al.*, 2017⁷⁰ (adaptado)

2.7.2.2. Toxicidade causada por Tacrolimo

Durante a última década muito tem-se estudado com o intuito de amenizar a toxicidade associadas ao uso de TAC⁷¹. Os principais efeitos adversos relacionados ao seu uso são hipertensão, nefrotoxicidade, neurotoxicidade, hipomagnesemia, distúrbios gastrointestinais, tremores, desenvolvimento de diabetes, infecções e malignidades^{50,58,61}. A maioria dos centros transplantadores utiliza a associação de TAC com outro imunossupressor a fim de reduzir a exposição do paciente à droga e reduzir as chances de desenvolvimento de efeitos adversos⁷¹.

Os efeitos adversos ocorrem em maior número durante os primeiros meses pós transplante e tendem a diminuir, acredita-se, conforme se reduz a necessidade de imunossupressão⁶¹. Outros efeitos adversos, por exemplo, o desenvolvimento de disartria, parecem ser idiossincráticos ou multifatoriais e, portanto, não respondem às modificações na concentração de TAC⁶¹ (Quadro 6).

Quadro 6 – Manejo da imunossupressão de acordo com a categoria de efeito adverso observado

Efeito adverso	Manejo indicado
Disfunção renal	Redução/eliminação da dose*
Neurotoxicidade	Redução/eliminação da dose
Diabetes mellitus	Redução/eliminação do corticosteroide, se houver Redução/eliminação da dose* Considerar uso de Ciclosporina
Doença cardiovascular	Redução/eliminação da dose Considerar o uso de inibidores da mTOR ou micofenolato mofetil/micofenolato de sódio em monoterapia
Infecções	Redução da carga total da imunossupressão
Maligñidades	Redução da imunossupressão Considerar a introdução dos inibidores da mTOR
Distúrbios Gastrointestinais	Redução/ eliminação do micofenolato mofetil Mudança de micofenolato mofetil para micofenolato de sódio
Dislipidemia	Redução/eliminação de corticosteroides, inibidores da calcineurina ou inibidores do mTOR * Introdução de micofenolato mofetil/micofenolato de sódio
Leucopenia e/ou anemia	Redução/eliminação do micofenolato mofetil/micofenolato de sódio
Trombocitopenia	Redução/eliminação dos inibidores do mTOR *
Edema	Redução/eliminação dos inibidores do mTOR *
Úlceras orais	Redução/eliminação dos inibidores do mTOR *

Inibidor do mTOR: inibidor seletivo do alvo da rapamicina de mamíferos (everolimus e sirolimus)

* considerar a gravidade do efeito adverso e/ou o tempo de transplante.

Fonte: De Simoni et al., 2017⁷¹ (Adaptado)

2.7.2.3. Peculiaridades do uso de Tacrolimo em receptores pediátricos de TxH

Embora haja avanços inquestionáveis na imunossupressão do transplante de órgãos e tecidos, estas nem sempre alcançam a população pediátrica, habitualmente excluída dos estudos clínicos⁴⁶. Assim, não é raro, o uso de medicamentos “*off-label*” nessa faixa etária¹⁶.

As diferenças no metabolismo, farmacocinética, capacidade de resposta imune e efeitos da imunossupressão a longo prazo fazem com que o manejo destes medicamentos na criança transplantada seja distinto daquele preconizado no paciente adulto (Quadro 7).

Quadro 7 – Diferenças entre Transplantes Hepáticos em pacientes pediátricos e adultos

	Receptores pediátricos	Receptores adultos
Tipo de Enxertos	Enxertos reduzidos (segmento lateral esquerdo). Utiliza mais enxerto de doadores vivos.	Enxertos inteiros
Recorrência da doença primária	Rara	Dependente da causa da doença hepática
Medicamentos		
Dose	Dose calculada através do peso do paciente	Dose padrão
Formulação	Bebês e crianças pequenas: necessidade de formulações líquidas ou diluídas	Comprimidos e cápsulas
Importância da Palatabilidade	Considerável	Rara
Farmacocinética	Absorção e biodisponibilidade dependentes da idade	Absorção e biodisponibilidade padrões

	Receptores pediátricos (cont.)	Receptores adultos (cont.)
Adesão	Dependente de terceiros (cuidadores) Comprometida pela adolescência	Auto dependente
Desenvolvimento de Tolerância	Frequente	Incomum
Incidência de Infecções	Dependente do estado vacinal pré-transplante	Raramente associada ao estado vacinal
Crescimento	Estatura abaixo da média dos pares	Sem comprometimento
Desenvolvimento neurocognitivo e psicossocial	Abaixo da média dos pares	Sem comprometimento cognitivo
Doença proliferativa pós transplante	Prevalente (especialmente para receptores EBV negativos)	Rara

Fonte: Miloh *et al.*, 2017⁷⁰(adaptado)

2.7.2.4. Farmacogenética / Farmacogenômica e polimorfismo genético: considerações gerais

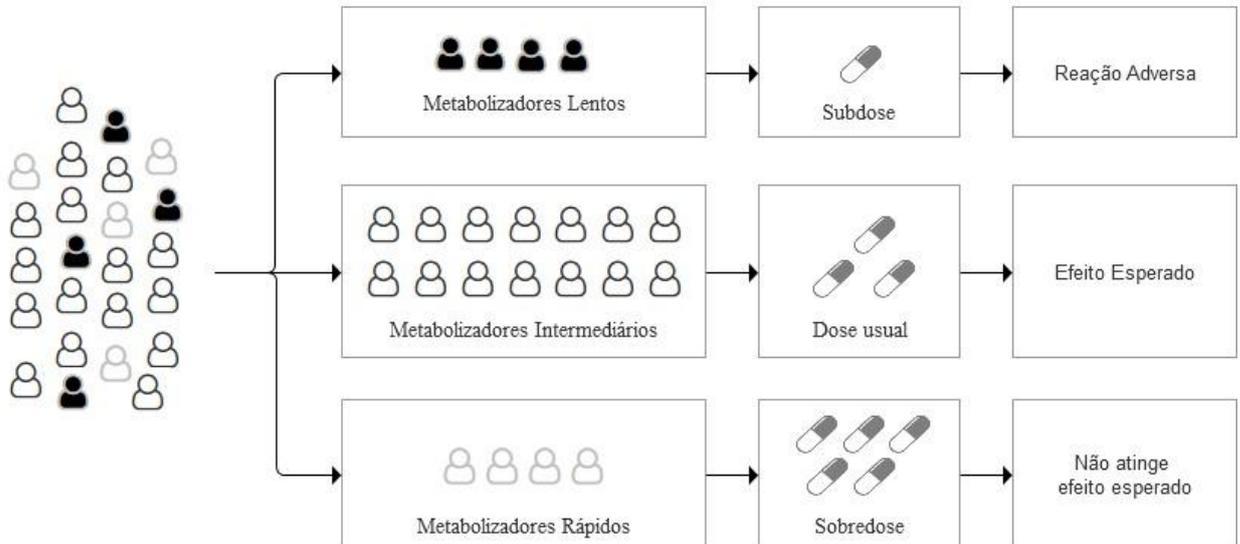
O tratamento medicamentoso seria consideravelmente mais fácil se todos os indivíduos possuíssem a mesma resposta a uma determinada dose de um fármaco^{72,73}. Indivíduos que possuem o mesmo peso e são submetidos ao mesmo tratamento medicamentoso podem ter uma variação de concentração do fármaco no plasma que pode variar 600 vezes devido às diferenças genéticas, fisiológicas, fisiopatológicas e ambientais⁷². Denomina-se farmacogenética o estudo das bases genéticas das variações nas respostas aos fármacos. O conhecimento da possível influência de um determinado polimorfismo genético sobre a farmacocinética e a farmacodinâmica das drogas faz com que a farmacogenética possa ser um importante aliado à prática clínica^{74,75,76}. O termo farmacogenômica reflete a recente transição da genética à genômica com sua utilização para identificação de genes que contribuem para uma determinada

doença ou resposta a uma droga. Ao contrário da farmacogenética, a farmacogenômica estuda simultaneamente vários genes e suas variações^{77,78,79,80}.

Os genes são unidades fundamentais da hereditariedade e consistem em sequências ordenadas de nucleotídeos (adenina, guanina, timina e citosina – A, G, T, C) localizados em posições particulares em uma determinada fita de DNA. Polimorfismos são sequências alternativas diferentes em um *locus* dentro de uma fita de DNA que persistem durante gerações e geralmente são estáveis quando funcionais ou desaparecem quando desvantajosos⁷⁷. As formas mais comuns de polimorfismos genéticos são deleções, mutações, substituições de base única ou variações no número de sequências repetidas^{80,81}. Muitos medicamentos clinicamente utilizados são metabolizados por enzimas cujos genes exibem polimorfismos genéticos, particularmente as várias isoformas do CYP⁸⁰.

Indivíduos cuja resposta a determinado fármaco é influenciada por determinados polimorfismos podem ser classificados como metabolizadores lentos, intermediários e rápidos⁸². Os metabolizadores lentos geralmente são aqueles onde ocorre diminuição ou ausência da enzima metabolizadora o que pode ser decorrente da deleção do gene ou instabilidade do RNAm. Os intermediários são considerados como a grande parcela da população e possuem o metabolismo considerado “comum”. Já os metabolizadores rápidos são assim denominados por terem um aumento na produção da enzima metabolizadora associada a uma ou múltiplas duplicações do gene que codifica a enzima, ou seja, metabolizadores rápidos necessitam de uma dose maior do medicamento para atingir o alvo terapêutico enquanto metabolizadores lentos atingem o alvo com doses consideradas menores⁸².

Figura 3: Exemplo esquemático das possíveis alterações do perfil metabólico de indivíduos com diferentes características genéticas (polimorfismos) em enzimas metabolizadoras.



Fonte: Metzger et al.,2006⁸² (adaptado)

2.7.2.5. Relação Concentração / Dose de TAC

A influência da idade e do citocromo P450 na metabolização de TAC já foi comprovada por estudos na população pediátrica⁸³. A importância destas interações se deve às suas consequências. Assim, o subtratamento pode resultar em episódios de rejeição com possibilidade de dano ou perda do enxerto e o excesso de imunossupressão aumenta o risco de infecção, malignidade e complicações específicas do fármaco como: diabetes mellitus e nefrotoxicidade¹². Existe uma grande variação na dose de medicamento necessária para se atingir as concentrações terapêuticas⁸⁴ (e alvo) e, frequentemente, há dissociação entre farmacocinética e farmacodinâmica. Embora, a farmacogenética tenha o potencial de complementar a monitoração dos fármacos, o seu benefício clínico ainda não foi demonstrado⁷² e nem todos os centros transplantadores possuem a tecnologia para genotipar os pacientes. Atualmente, o tratamento imunossupressor é individualizado com base em uma avaliação

clínica do risco de rejeição ou toxicidade¹². Thölking e colaboradores propuseram que a relação Concentração/Dose diária de TAC poderia representar de forma clara, fácil e rápida uma previsão do comportamento da metabolização do TAC em pacientes adultos submetidos aos TxS renal⁸⁵ e hepático⁸⁶. Neste estudo, os metabolizadores rápidos e lentos foram definidos de acordo com valores de C/D abaixo e acima da média desta população, respectivamente. Nos pacientes transplantados renais, os autores demonstraram uma associação entre metabolizadores rápidos e aumento do risco para desenvolvimento de nefrotoxicidade por inibidores da calcineurina ou nefropatia pelo vírus BK⁸⁵. A associação entre metabolizador rápido e nefrotoxicidade também foi observada na população adulta transplantada de fígado, na qual foi demonstrada a interferência do uso de corticosteroides sobre a dose necessária de TAC^{87,88}. Também na população adulta, Ji e colaboradores avaliaram os efeitos da combinação dos genótipos de CYP3A5 de doadores e receptores sobre a relação C/D em TxH e demonstraram que ambos os genótipos são fatores importantes que interferem de maneira independente na farmacocinética de TAC⁸⁹.

Na população pediátrica, Fukushima e colaboradores utilizaram a relação C/D em uma coorte retrospectiva para analisar as mudanças nos níveis de TAC antes e depois de infecções virais associadas com EBV positivo e PTLD em pacientes menores de dois anos submetidos ao TxH com doadores vivos⁹⁰. Nos dois meses anteriores ao episódio de infecção a relação C/D foi semelhante em pacientes que desenvolveram PTLD, EBV positivo sem PTLD e outras infecções virais, porém este resultado foi aumentado mais que o dobro da média no momento do desenvolvimento da PTLD⁹⁰.

Existe grande variação na farmacocinética e farmacodinâmica dos imunossupressores quando se considera a faixa etária pediátrica, parecendo haver uma associação independente entre idade mais jovem, maior necessidade da dose de TAC para se atingir o nível alvo e

consequentemente menor relação C/D⁸². Em um estudo recente, na população adulta, características antropométricas consideradas separadamente não influenciaram a taxa de metabolismo do TAC⁸⁵.

3. JUSTIFICATIVA

Embora raramente estudada no paciente pediátrico, a utilização da relação concentração / dose de tacrolimo parece ser uma estratégia eficaz de monitoração terapêutica do tacrolimo após o transplante de órgãos sólidos e tecidos. É de fácil entendimento, baixo custo e não interfere com a rotina do paciente transplantado.

No estudo conduzido por Thölking e colaboradores⁸⁶ em receptores adultos de fígado e rins, a taxa de metabolismo do TAC, expressa pela razão C/D, teve um importante impacto na função renal após o procedimento. Especificamente no transplante hepático, os pacientes classificados como metabolizadores rápidos eram predominantemente do gênero feminino, necessitavam de menor dose de TAC para atingir o nível terapêutico e apresentavam maior prevalência de nefrotoxicidade. A idade ao transplante não foi diferente entre metabolizadores rápidos e lentos.

O metabolismo do tacrolimo depende de vários fatores clínicos individuais como características demográficas, gênero, idade, interações medicamentosas com o sistema enzimático CYP3A do citocromo P450, absorção intestinal e no transplante hepático, o CYP450 do fígado do aloenxerto. A idade é um importante fator associado à capacidade do metabolismo dos fármacos. Na criança, vários sistemas enzimáticos, incluindo os citocromos P450 se desenvolvem completamente apenas durante o primeiro ano de vida⁶⁹.

A extrapolação para a faixa pediátrica da experiência em pacientes adultos está repleta de desafios. Os pacientes pediátricos estão habitualmente em diferentes estágios de desenvolvimento, algumas doenças da infância não têm correlação com aquelas observadas nos

adultos e várias reações adversas aos medicamentos ocorrem exclusivamente ou em maior frequência nestes pacientes. Soma-se a estes, o fato de que nas crianças, as doses dos medicamentos são calculadas e ajustadas tomando-se como base, o peso do paciente⁹¹.

4. QUESTÃO DE PESQUISA

Na população pediátrica, transplantada de fígado, o ajuste da relação C/D padrão pelo peso e/ou pela superfície corporal total influenciam a taxa de metabolismo do TAC?

5. HIPÓTESE

O ajuste da razão C/D pela superfície corporal total é mais fidedigna do metabolismo do TAC. Supomos que as associações entre concentrações da droga e frequência dos eventos adversos em estudo serão mais significativas, ajustando-se a razão C/D.

6. OBJETIVOS

6.1. OBJETIVO GERAL

Estudar a relação C/D em pacientes pediátricos receptores de fígado e comparar a fórmula padrão com fórmulas ajustadas pelo peso e superfície corporal.

6.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- a) Determinar as características demográficas (idade no momento do transplante e gênero).
- b) Descrever as características clínicas (peso, superfície corporal, doença de base e tipo de transplante).
- c) Descrever as características laboratoriais (ALT, albumina, bilirrubinas totais, INR, creatinina e uréia).
- d) Estimar a função renal dos pacientes através do cálculo da taxa de filtração glomerular – TGF (Schwartz).

- e) Estimar a frequência de infecção pelo vírus Epstein-Barr (DNA quantitativo).
- f) Estimar a frequência de rejeição celular aguda (critério histológico).
- g) Avaliar o índice de concordância entre a fórmula padrão da razão C/D e aquela ajustada pelo peso e superfície corporal total.
- h) Avaliar as associações entre razão C/D, taxa de filtração glomerular, infecção pelo vírus Epstein-Barr e episódio de rejeição celular aguda.

Os dados clínicos, laboratoriais e histológicos foram analisados 180 dias após o transplante, nos pacientes incluídos. As metas desta estratégia foram: evitar viés relacionado à influência de altas doses de corticosteroides sobre o nível sérico do tacrolimo e garantir um momento de avaliação no qual, os sistemas enzimáticos de depuração da droga estivessem, pelo menos teoricamente, estabilizados.

7. ARTIGO EM INGLÊS (MATERIAS E MÉTODOS, RESULTADOS E DISCUSSÃO)

Respeitando as normas do nosso programa de pós-graduação, os itens materiais e métodos e resultados serão apresentados no artigo anexo, intitulado: *Gender and age at Liver Transplantation but not weight influence the tacrolimus dose requirement in pediatric patients* submetido a revista *Liver Transplantation* em fase de revisão das sugestões dos revisores.

**GENDER AND AGE AT LIVER TRANSPLANTATION BUT NOT WEIGHT
INFLUENCE THE TACROLIMUS DOSE REQUIREMENT IN PEDIATRIC
PATIENTS**

Camila R Smidt¹, Carlos O Kieling , Joel Stefani³, Luciana E Soares³, Vania N Hirakata ⁴,
Renato B Fagundes¹, Sandra M G Vieira^{1,2}

¹ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Gastroenterology and Hepatology Post-Graduation Program

² Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Pediatric Gastroenterology Unit

³ Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Medical School

⁴ Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Post-Graduation and Research Unit

Corresponding Author

Sandra M G Vieira

Hospital de Clínicas de Porto Alegre.

Rua Ramiro Barcelos, 2350/sala 1143; CEP: 90035903 - Porto Alegre-RS-Brazil

Phone: +55 5133597859; Fax Number: +55 5133598001

smvieira@hcpa.edu.br

ABSTRACT

Background: Tacrolimus is a standard immunosuppressant used after liver transplantation. Its wide pharmacokinetic variability makes mandatory monitoring tacrolimus dose. In adult recipients of liver graft, the concentration-dose ratio of tacrolimus is a simple and useful tool capable of defining tacrolimus metabolism and predicting toxicity. Material and methods: We aimed to assess the tacrolimus concentration-dose ratio in patients ≤ 18 years underwent to liver transplantation, who survived at least 180 days with the primary graft, in a historical cohort study. The concentration-dose ratio of tacrolimus was assessed by the standard ratio, the ratio adjusted for patient weight, and body surface. In addition, we evaluated associations between ratios and demographic, anthropometric and clinical data, the serum level of tacrolimus, liver and renal function tests, acute rejection and Epstein-Barr virus infection. Results: We studied 83 patients. The ratios distributions were asymmetric. Thus, we classified patients according to percentile as follows: fast metabolizers (values \leq percentile 25); slow metabolizers (values $>$ percentile 75), and intermediate metabolizers (values between 25 and ≤ 75 percentile). The agreement between equations was moderate ($\kappa=0,62$). At bivariate analysis: age, gender, diagnosis of primary liver disease, bilirubin, INR, creatinine, urea and donor age reached statistical significance by analyzing the standard ratio and the ratio adjusted by body surface. Neither variables presented significant results for the ratio adjusted by weight. At multivariate analysis, gender and age at transplant were associated with tacrolimus metabolism. We did not observe an association between tacrolimus metabolism and acute cellular rejection, EBV infection or renal dysfunction. Conclusion: the standard tacrolimus concentration-dose ratio can be used in pediatric practice without adjustments for weight or total body surface area. Gender and age at transplantation influenced the tacrolimus dose requirement.

INTRODUCTION

Liver transplantation (LT) is an effective therapy for the treatment of terminal liver diseases. Due to the improvements in surgical technique, immunosuppressive drugs, and management of complications, currently, pediatric LT survival rates are higher than 90%, in one year (1-2).

Tacrolimus (TAC) is the most widely used immunosuppressant after LT (3-5). Cytochrome P450 3A (CYP3A), an enzyme present in the liver and small intestine is responsible for TAC metabolism. (6,7,8). TAC has high variability among individuals, presents narrow therapeutic index and low renal clearance, requiring frequent monitoring. The knowledge of CYP3A and its polymorphisms allows classifying patients under TAC medication into slow, intermediate and fast metabolizers (9-12). Beyond pharmacogenetic features, gender, the interactions with other drugs, and intestinal absorption also influence TAC metabolism.

In adult patients, the serum concentration-daily dose (C/D) ratio express the rate of TAC metabolism. This method is easy to understand, has slow cost and does not interfere with the routine of the transplanted patient. In adults, TAC C/D ratio does not seem to be related to the patient's weight, but to the gender and nephrotoxicity (13).

Extrapolating the experience with the adult to pediatric patients is a challenge. Pediatric patients are at different stages of development, some childhood illnesses do not correlate with those observed in adults, and many adverse drug reactions occur exclusively or more frequently in children. Moreover, in children, the doses of the drugs are calculated and adjusted based on the weight or body surface area (14).

We aimed to assess the tacrolimus concentration-dose ratio in patients ≤ 18 years underwent to liver transplantation, who survived at least 180 days with the primary graft.

Additionally, we studied possible associations between the rate of TAC metabolism and demographic data, weight, total body surface, the serum level of tacrolimus, glomerular filtration rate, and incidence of acute cellular rejection, as well as infection by Epstein-Barr virus.

METHODS

We assessed a historical cohort of patients aged between 0-18 years who underwent primary liver transplantation between July 1999 and January 2016 at the Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). We followed patients who survived until 180 days after liver transplantation and whose immunosuppressive regimen consisted of tacrolimus. We excluded patients who required immunosuppressive replacement during the study term or those who progressed to graft dysfunction.

TAC was supplied in capsules of 1 or 5 mg and administered orally at a dose of 0.15 mg/ kg/ day, twice-daily. The target level was 4–8 ng/mL, at day 180. Patients fasted one hour before and after the drug administration.

The TAC concentrations studied consisted of whole blood samples collected before the morning dose (C0) and measured by chemiluminescent microparticle immunoassay (Abbott ARQUITEC ®).

All demographics data included referred to LT date. Clinical and biochemical data, including glomerular filtration rate, were collected at the day 180 after LT.

We recorded all follow-up data of patients during one-year post-LT to calculate the incidence of cellular rejection and EBV infection.

All patients received TAC as the primary immunosuppressant and none received the extended-release formulation. We excluded patients who had discontinued TAC or were switched to another immunosuppressant and those with liver dysfunction.

Data of all patients were anonymized. The IRB of HCPA approved the protocol (registry 015-0217) and the researchers complied with the Declaration of Helsinki standards.

Patient demographics and laboratory data

A review of a historical cohort was carried out between July 2015 and July 2017 from the records of HCPA Pediatric Liver Transplantation Program. database.

Variables included in the analysis were: gender, age at transplant, primary liver disease, height, weight, body surface, type of transplant performed, ALT, GGT, albumin, total bilirubin, INR, creatinine, urea, viral load for Epstein Barr virus (EBV), and glomerular filtration rate Schwartz formula (15) development of acute cellular rejection; age and gender of the donor.

Decompensated cirrhosis due to biliary atresia was the main indication of LT. Thus, we opted to grouped patients in biliary atresia and non-biliary atresia indications of LT.

Elevation of aminotransferases, total bilirubin, and prolonged INR defined graft dysfunction.

The formula for calculating body surface was: $BS (m^2) = [Weight (Kg) \times 4 + 7] / [90 + Weight (Kg)]$ (Ferro A).

TAC concentration-daily dose ratio

We calculate TAC C/D ratio by using three different formulas: a) Serum concentration of TAC (C) divided by administered daily dose (D): C/D ratio standard (C/Ds); b) C/D ratio adjusted by patient weight in kilograms (C/Dw) and c) C/D ratio adjusted by patient body

surface in m² (C/Dbs). After, we determined the distribution of C/D ratio of the formulas and established cut off points to classified patients as fast, slow and intermediate TAC metabolizers.

The formula for calculating TAC C/D ratio was: $C/Ds = \text{blood TAC level (ng/mL)} / \text{daily TAC dose (mg)}$

Outcomes associated with TAC metabolism

To test underexposure to TAC, we analyzed incidences of acute cellular rejection and EBV infection. We estimated glomerular filtration rate to assess overexposure.

BANFF criteria defined the diagnosis of acute cellular rejection.

The diagnosis of EBV infection was based on quantitative EBV-DNA positivity > 50 copies as the slower limit of detection. We did not distinguish EBV primary infection from EBV reactivation,

Glomerular filtration rate was estimated by Schwartz formula: $GFR = k \times [\text{height(cm)} / \text{serum creatinine (mg/dL)}]$

Statistical analysis

We used SPSS version. 18.0 for data storage and statistical analysis. We described the qualitative variables through absolute and relative frequencies. We depicted quantitative variables by mean and standard deviation or median and interquartile range. We tested the sample normality through Shapiro-Wilk test. Using the 25th and 75th percentiles, we determined the cutoff values for the C/Ds, C/Dw and C/Dbs ratio. Through Mann-Whitney and Spearman correlation tests we accessed the relationship between the demographic characteristics, laboratory results, and the three formulas. We included in multiple linear regression variables with the significance of $P < 0.10$. To accomplish this regression, we made a logarithm transformation of C/Ds and C/Dbs, because they did not present normal distribution.

We assess the multicollinearity of independent variables by Variance Inflation Factor (VIF) statistic. Kappa coefficient appraised the agreement between the classification methods.

The comparison and relationship of the demographic and clinical variables between the groups formed by the C/Ds, C/Dw and C/Dbs were performed with analysis of variance (ANOVA) or Kruskal-Wallis test according to the variable distribution. Post-hoc multiple comparisons were accessed with Bonferroni correction.

RESULTS

Patients characteristics

Ninety-seven patients fulfilled the inclusion criteria, and 14 were excluded due to graft dysfunction, totalizing a final sample of 83 patients. Table 1 depicts the demographic and laboratory characteristics of the patients.

Definition of cut-off points for C/Ds, C/Dw and C/Dbs and categorization of patients

C/D values distribution was asymmetric, regardless the correction by weight or body surface area. Table 2 shows the cut-off points of each formula that defined the patients per metabolic category.

Agreement between formulas

The agreement between the three equations reaches a kappa coefficient of 0.62.

Bivariate analyzes

The demographic and laboratory characteristics and their relationship with C/Ds, C/Dw, and C/Dbs are shown in table 3. At bivariate analysis, age at LT, gender, primary liver disease, total bilirubin, INR, creatinine, urea and donor age reached statistical significance by analyzing C/Ds and C/Dbs formulas. No variables presented significant results for C/Dw ratio and we

excluded this formula of multiple linear regression. We did not observed associations among C/Ds or C/Dbs and e one-year incidences of acute cellular rejection or EBV infection as well as glomerular filtration rate, at 180 days post-LT.

Multivariate analyzes

Stepwise Cox regression analysis, including variables that achieved statistical significance in univariate analysis, showed that age and gender results were independently associated with TAC metabolism measured by C/Ds and C/Dbs (table 4). Slow metabolizers patients were younger than fast and intermediate metabolizers and they were predominantly female (table 5).

DISCUSSION

Optimal transplant immunosuppression is defined as the level of drug therapy that achieves stable allograft function with minimal side effects. The variability in pharmacokinetic parameters and blood concentration of TAC, especially in pediatric patients makes it difficult to establish an empirical dose regimen for this drug (16,17). Underexposure to TAC may result in acute graft rejection, and overexposure may put patients at risk for its considerable toxicity (17,18). Thus, blood TAC concentration should be regularly monitored to maintain a therapeutic range (7).

The tacrolimus concentration/dose ratio seems to be a simple and cost-effective approach to monitoring tacrolimus metabolism (13,19,20). In children, higher TAC C/D anteceded the development of post-lymphoproliferative disease in liver-transplanted infants with EBV infection (21). To the best of our knowledge, only Fukushima et al. addressed this issue in this population, focusing on EBV associated post-transplantation lymphoproliferative disease (PTLD) (21).

We settled evaluate the tacrolimus C/D ratio in children underwent to liver transplantation. Considering that in children doses and desired therapeutic drug levels are tailored individually for every patient on a weight basis, we tested three different formulas to estimate TAC C/D ratio: the standard formula and formulas adjusted for patient weight and body surface. Additionally, we studied associations between those ratios and adverse effects related to TAC under and overexposure.

We chose to evaluate patients at 180 days based on TAC metabolism and liver transplant procedure features. It had been demonstrated that 6 months (180 days) after LT, the CYP3A enzyme system tends to stabilize and occurs recovery of liver mass to the standard liver volume. This last is particularly important in pediatric LT because the most transplanted graft is reduced and enlarging the liver mass after LT may have influence on the metabolism of tacrolimus (20). To avoid the impact of reduced liver function on TAC metabolism, we excluded patients with graft dysfunction from the analyses.

In children, intracellular content increases over the first two years of life affecting drug distribution when drugs are administered on a weight basis (22). Thus, for these patients, drugs dosing and fluids are better based on estimates of body surface than the actual weight, especially when the therapeutic index is slow as in the case of chemotherapy and immunosuppression (23). Several formulas have been developed for body surface estimation based on height and weight (24). The Mosteller equation (25) is the most used formula because of its accuracy. To estimate the body surface, we used a formula based on weight that is easy to calculate, it is validated in children and presents an accuracy similar to Mosteller formula (24).

We did not demonstrate a clinical utility of adjusting TAC C/D standard by weight or body surface. The formulas standard and adjusted by body surface were concordant in 63/83 (75,9%) patients and yielded a moderate concordance. The formula adjusted by weight did not

reach significance in bivariate analysis. The heterogeneity of our sample and wide range, especially in terms of weight can explain these results. The weight and measurements derived from weight as from body surface should be more critical in infants and preschoolers. The distribution of our patients consisted equally of infants, preschooler, schoolers, and adolescents. In adult patients, recipients of kidney and liver transplants, anthropometric measures (weight, height, and body mass index) did not differ significantly between the fast and slow TAC metabolizers (13,20). We observed higher doses of TAC in patients classified as fast metabolizers, according to previous studies (19, 26).

TAC metabolism depends on several clinical and genetic individual factors (27). In this study, only age at LT and gender were independently associated with TAC metabolism. Patients classified as slow metabolizers were predominantly younger and female. Some characteristics of the most youthful interfere with the metabolism of drugs administered by oral route such as pH and emptying gastric, intestinal transit, total body water, and metabolism. Thus, the different capacity to metabolize drugs in children may result in higher or lower drug plasma levels than those reached in adults (22,27). The CYP3A levels develop at an early stage of life and account for approximately 30-40% of total hepatic cytochrome. CYP3A5 is more commonly expressed in children, and it decreases to 20-30% in adults. Thus, contrary to ours results, younger patients should present higher clearance rates. However, the effect of age on TAC metabolism is controversial. Recently was demonstrated that the effects of genetic variants in CYP3A on dose-corrected exposure is not affected by age (28). Children seem to exhibit a biphasic behavior in TAC metabolism characterized by a high and stable drug clearance until puberty followed by a decline in relative dose requirements after that (28). We did not assess puberty development and it could induce some bias in our analyses.

Regarding the specific effect of gender on the pharmacokinetic profile of TAC, again contradictory data has been published (29,30). In adults underwent to LT, the group of slow

metabolizers was constituted mainly for male patients (13). Analyses of CYP3A4 in the human liver have shown higher levels of protein in female compared to male liver tissue, but for other CYPs, including CYP3A5, the issue of gender expression has not been clarified (12)

Because of the CYP3A5 polymorphism in liver donors significantly affects the pharmacokinetics of TAC in LT recipients during the first year after transplantation (17), we tested two donor features: age and gender. Although donor age reached statistical significance at bivariate analysis, it was not independently associated with TAC C/D.

Regarding age, our results were divergent from the current literature. The reasons for these discrepant results are unclear but may suggest no correlation between C/D ratio and genotype, especially in children where drug metabolism appears to be lower than in adults due to immaturity of cytochromes P450 enzyme systems (28). Indeed, the studies supporting the association of CYP3A5*3 with higher blood levels of tacrolimus in patients undergoing LT are discordant, often include few patients, and do not clarify whether there are differences between age groups (27). To clarify the effect of age and gender, we need prospective and multicenter studies.

Prior studies, in the adult population, have demonstrated that fast metabolizers present lower GFRs than slow metabolizers either in liver and renal transplantation (13,19). In children, Fukushima et al. showed a higher frequency of EBV associated PTLD in fast metabolizers (21). It is suggested that fast metabolizers might suffer from overexposure at least at some time of the day (19). We did not observe associations between TAC metabolism and acute cellular rejection verified by histology, GFR or EBV load viral. Episodes of acute cellular rejection and viral infection were not different among TAC metabolizers studied by Thölking et al. (13). Impairment of renal function, in adult recipients of LT, appears to be more pronounced from 6

months after LT (13). In children underwent to LT, the impact of TAC on GFR seems to be a late event, as well (31). To answer these questions, we need more prolonged observation.

Despite unsolved issues, we demonstrated that regarding TAC dosage requirements, TAC C/D could be a cost-effective and straightforward approach to defining TAC metabolizers in children underwent to LT.

Our study has some other limitations. It was conducted on a historical design and it is a single-center study, with limited external value. The strength of our work rely on testing TAC C/D ratio in children underwent to LT, using standard formula and formulas adjusted by the two anthropometric measurements: weight and total body surface.

In conclusion, female and younger children at the transplantation were considered slow metabolizers. Consequently, gender and age at the transplantation influenced the tacrolimus dose requirements. We demonstrated the standard tacrolimus concentration-dose ratio is useful in pediatric practice without adjustments for weight or total body surface area.

REFERENCES

- [1] Yazigi NA. Long term outcomes after pediatric liver transplantation. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2013;16(4):207-18.
- [2] Otte JB. Pediatric liver transplantation: Personal perspectives on historical achievements and future challenges. *Liver Transpl.* 2016;22(9):1284-94.
- [3] Otte JB. History of pediatric liver transplantation. Where are we coming from? Where do we stand? *Pediatr Transplant.* 2002;6(5):378-87.
- [4] Vanhove T, Vermeulen T, Annaert P, Lerut E, Kuypers DRJ. High Inpatient Variability of Tacrolimus Concentrations Predicts Accelerated Progression of Chronic Histologic Lesions in Renal Recipients. *Am J Transplant.* 2016;16(10):2954-63.
- [5] Capron A, Haufroid V, Wallemacq P. Intra-cellular immunosuppressive drugs monitoring: A step forward towards better therapeutic efficacy after organ transplantation? *Pharmacol Res.* 2016;111:610-8.

- [6] Coelho T, Tredger M, Dhawan A. Current status of immunosuppressive agents for solid organ transplantation in children. *Pediatr Transplant*. 2012;16(2):106-22.
- [7] Barbarino JM, Staats CE, Venkataramanan R, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways. *Pharmacogenet Genomics*. 2013;23(10):563-85.
- [8] Staats CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet*. 2010;49(3):141-75.
- [9] Kelly D. Safety and efficacy of tacrolimus in pediatric liver recipients. *Pediatr. Transplant*. 15 (2011) 19-24.
- [10] MacPhee IA. Pharmacogenetic biomarkers: cytochrome P450 3A5. *Clin Chim Acta*. 2012;413(17-18):1312-7.
- [11] Rodríguez-Perálvarez M, Germani G, Darius T, Lerut J, Tsochatzis E, Burroughs AK. Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant*. 2012;12(10):2797-814.
- [12] Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013;138(1):103-41.
- [13] Thölking G, Siats L, Fortmann C, Koch R, Hüsing A, Cicinnati VR, et al. Tacrolimus Concentration/Dose Ratio is Associated with Renal Function After Liver Transplantation. *Ann Transplant*. 2016;21:167-79.
- [14] Leeder JS, Lantos J, Spielberg SP. Conference scene: pediatric pharmacogenomics and personalized medicine. *Pharmacogenomics*. 2010;11(12):1691-702.
- [15] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group KDIGO clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:1-150.
- [16] Wiesner RH, Fung JJ. Present state of immunosuppressive therapy in liver transplant recipients. *Liver Transpl*. 2011;17 Suppl 3:S1-9.
- [17] Chen YK, Han LZ, Xue F, Shen CH, Lu J, Yang TH, et al. Personalized tacrolimus dose requirement by CYP3A5 but not ABCB1 or ACE genotyping in both recipient and donor after pediatric liver transplantation. *PLoS One*. 2014;9(10):e109464.
- [18] Blondet NM, Healey PJ, Hsu E. Immunosuppression in the pediatric transplant recipient. *Semin Pediatr Surg*. 2017;26(4):193-8.
- [19] Thölking G, Fortmann C, Koch R, Gerth HU, Pabst D, Pavenstädt H, et al. The tacrolimus metabolism rate influences renal function after kidney transplantation. *PLoS One*. 2014;9(10):e111128
- [20] Ji E, Choi L, Suh KS, Cho JY, Han N, Oh JM. Combinational effect of intestinal and hepatic CYP3A5 genotypes on tacrolimus pharmacokinetics in recipients of living donor liver transplantation. *Transplantation*. 2012;94(8):866-72.

- [21] Fukushima D, Sato K, Kawagishi N, Ohuchi N, Satomi S. Epstein-Barr virus--associated posttransplantation lymphoproliferative disorder with tacrolimus metabolism deterioration in infants after living-donor liver transplantation. *Transplantation*. 2015;99(1):114-9.
- [22] Miloh T, Barton A, Wheeler J, Pham Y, Hewitt W, Keegan T, et al. Immunosuppression in pediatric liver transplant recipients: Unique aspects. *Liver Transpl*. 2017;23(2):244-56.
- [23] Orimadegun A, Omisanjo A. Evaluation of five formulae for estimating body surface area of nigerian children. *Ann Med Health Sci Res*. 2014;4(6):889-98.
- [24] Furqan M, Haque A. Surface area in children: a simple formula. *Indian Pediatr*. 2009;46(12):1085-7.
- [25] Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med*. 1987;317(17):1098.
- [26] Rojas LE, Herrero MJ, Bosó V, García-Eliz M, Poveda JL, Librero J, et al. Meta-analysis and systematic review of the effect of the donor and recipient CYP3A5 6986A>G genotype on tacrolimus dose requirements in liver transplantation. *Pharmacogenet Genomics*. 2013;23(10):509-17.
- [27] Fernandez E, Perez R, Hernandez A, Tejada P, Arteta M, Ramos JT. Factors and Mechanisms for Pharmacokinetic Differences between Pediatric Population and Adults. *Pharmaceutics*. 2011;3(1):53-72.
- [28] Knops N, Herman J, van Dyck M, Ramazani Y, Debbaut E, van Damme-Lombaerts R, et al. Tacrolimus dose requirements in paediatric renal allograft recipients are characterized by a biphasic course determined by age and bone maturation. *Br J Clin Pharmacol*. 2017;83(4):863-74.
- [29] Staatz CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet*. 2004;43(10):623-53.
- [30] Vanhove T, Annaert P, Kuypers DR. Clinical determinants of calcineurin inhibitor disposition: a mechanistic review. *Drug Metab Rev*. 2016;48(1):88-112.
- [31] Bishop JR, Burniston MT, Barnfield MC, Stringer MD, Prasad R, Davison SM, et al. Renal function evaluated by measured GFR during follow-up in pediatric liver transplant recipients. *Pediatr Transplant*. 2009;13(1):96-103.

Table 1: Demographics and characteristics

Variable	Frequency (%)
Sex	
Male	47 (56.6)
Female	36 (43.4)
Diagnosis	
Biliary atresia	40 (48.2)
Others causes	43 (51.8)
Type of donor	
Deceased	73 (88.0)
Living	10 (12.0)
Age at transplant (years)	4.6 (1.8 - 12.0)*
Age group at transplant	
Infants (aged < 2 years)	23 (27.7)
Preschoolers (aged 2 - 5 years)	19 (22.9)
School-age (aged >5 - 12 years)	20 (24.1)
Adolescents (aged >12 - 18 years)	21 (25.3)
Weight	19.10 (12.1 – 38.7)*
Body surface	0.76 (0.54 – 1.26)*
ALT (U/L)	32.0 (20.5 - 47.0)*
Albumin (g/dL)	4.28 (\pm 0.37)#
Creatinine serum (mg/dL)	0.45 (0.3 – 0.7)*
GFR (mL/min)	139.4 (\pm 47.3)#
INR	1.17 (\pm 0.13)#
Total bilirubin (mg/dL)	0.4 (0.3 – 0.8)*
Urea (mg/dL)	32.0 (26.0 – 46.0)*
<i>Epstein Barr virus</i>	13 (15.6)
Acute cellular rejection	25 (30.1)

*median (interquartile range) - #mean (standard-deviation) - ALT (alanine aminotransferase) - GFR (glomerular filtration rate) - INR (International Normalized Ratio)

Table 2: Cut-off points for C/Ds, C/Dw and C/Dbs and metabolic categorization of patients

Formula	Metabolizers		
	Fast	Intermediate	Slow
Standard C/D	≤ 0.875	$> 0.875 \leq 3.2$	> 3.2
C/Dw (weight)	≤ 23.9	$> 23.9 \leq 49.2$	> 49.2
C/Dbs (body surface)	≤ 0.73	$> 0.73 \leq 5.2$	> 5.2

C/Ds = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) - C/Dw = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) x weight- C/Dbs = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) x body surface

Table 3: Demographic and laboratory characteristics and its relationship with C/Ds, C/Dw and C/Dbs within 180 days after transplantation

Variable		C/Ds		C/Dw		C/Dbs	
Receiver characteristics							
Sex	Female	2.77 (1.15 - 3.76)	p < 0.001 (MW)	37.79 (24.61– 53.85)	p = 0.326 (MW)	4.16 (1.35 – 8.08)	p < 0.001 (MW)
	Male	1.15 (0.71 - 2.22)		34.02 (22.22- 49.17)		1.04 (0.58 – 3.08)	
Diagnosis	Biliary atresia	2.01 (0.96 – 3.58)	p = 0.016 (MW)	33.51 (22.51 – 44.79)	p = 0.428 (MW)	3.00 (1.27 – 8.08)	p < 0.001 (MW)
	Others causes	1.15 (0.71 – 2.56)		36.81 (24.01 – 53.62)		1.04 (0.63 – 3.46)	
Type of donor	Deceased	1.55 (0.86 – 2.93)	p = 0.120	35.5 (23.23 – 48.72)	p = 0.989	1.47 (0.7 – 4.99)	p = 0.039
	Living	2.95 (1.08 – 7.45)		32.41(22.34 – 77.19)		5.86 (1.25– 14.88)	
Age at transplant (years)		$r_s = -0.71$	p < 0.001	$r_s = 0.09$	p = 0.39	$r_s = 0.85$	p < 0.001
Receiver weight (kg)		$r_s = -0.73$	p < 0.001	$r_s = 0.11$	p = 0.08	$r_s = -0.88$	p < 0.001
Body surface (m ²)		$r_s = -0.73$	p < 0.001	$r_s = 0.12$	p = 0.28	$r_s = -0.88$	p < 0.001
Height (cm)		$r_s = -0.70$	p < 0.001	$r_s = 0.09$	p = 0.41	$r_s = -0.84$	p < 0.001
Laboratory tests							
ALT (U/L)		$r_s = 0.09$	p = 0.40	$r_s = -0.01$	p = 0.89	$r_s = 0.09$	p = 0.38
Albumin (g/dL)		$r_s = -0.15$	p = 0.27	$r_s = 0.31$	p = 0.82	$r_s = -0.22$	p = 0.10
Total Bilirubin (mg/dL)		$r_s = -0.37$	p < 0.001	$r_s = -0.20$	p = 0.85	$r_s = -0.44$	p < 0.001
INR		$r_s = -0.21$	p = 0.06	$r_s = 0.04$	p = 0.72	$r_s = -0.26$	p = 0.02

Variable (cont.)		C/Ds (cont.)		C/Dw (cont.)		C/Dbs (cont.)	
Creatinine serum (mg/dL)		$r_s = -0.49$	p < 0.001	$r_s = 0.08$	p = 0.46	$r_s = -0.61$	p < 0.001
Urea (mg/dL)		$r_s = -0.27$	p = 0.01	$r_s = -0.09$	p = 0.39	$r_s = -0.30$	p = 0.007
GFR (mL/min)		$r_s = -0.11$	p = 0.32	$r_s = -0.03$	p = 0.76	$r_s = 0.10$	p = 0.36
EBV	Negative	1.54 (0.84 - 2.97)	p = 0.19 (MW)	34.84 (22.17 - 53.71)	p = 0.68 (MW)	1.42 (0.7 - 5.07)	p = 0.10 (MW)
	Positive	2.5 (0.88 - 3.59)		34.71 (31.69 - 46.40)		3.39 (0.78 - 9.23)	
ACR	No	1.69 (0.89 - 3.33)	p = 0.41 (MW)	34.36 (23.62 - 48.50)	p = 0.59 (MW)	1.56 (0.78 - 5.77)	p = 0.28 (MW)
	Yes	1.6 (0.84 - 2.82)		35.55 (22.10 - 54.42)		1.36 (0.60 - 4.28)	
Donor characteristics							
Donor age		$r_s = -0.23$	p = 0.03	$r_s = 0.09$	p = 0.41	$r_s = -0.28$	p = 0.10
Donor sex	Female	1.59 (0.88-3.31)	p = 0.628 (MW)	37.10 (27.18-69.02)	p = 0.19 (MW)	1.43 (0.68-5.27)	p = 0.91 (MW)
	Male	1.69 (0.84-2.78)		32.89 (22.28-43.45)		1.56 (0.76-5.13)	

MW = Mann Whitney test - r_s = Spearman correlation - ACR (acute cellular rejection) - ALT (alanine aminotransferase) - EBV (*Epstein Barr virus*) - GFR (glomerular filtration rate) - INR (international normalized ratio) - C/D = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) - C/Dbs = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) x body surface

Table 4: Multiple linear regression results of associated variables with C/Ds and C/Dbs as outcome

Variable	C/Ds			C/Dbs		
	B	Beta	p value	B	Beta	p value
Sex	-0.314	-0.163	0.036	-2.358	-0.201	0.025
Diagnosis	-0.072	-0.044	0.705	-1.098	-0.098	0.427
Type of donor	0.376	0.162	0.221	3.906	0.248	0.081
Age at transplant (years)	-0.083	-0.591	0.001	-0.418	-0.436	0.019
Total bilirubin (mg/dL)	0.057	0.045	0.685	0.171	0.020	0.867
INR	-0.065	-0.010	0.925	2.396	0.054	0.630
Creatinine serum (mg/dL)	0.366	0.124	0.423	2.537	0.126	0.443
Urea (mg/dL)	-0.003	-0.056	0.630	-0.039	-0.093	0.452
Donor age (years)	-0.010	-0.155	0.243	-0.059	-0.130	0.359

INR (international normalized ratio) - C/D = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) - C/Dbs = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) x body surface - B (angular coefficient) Beta (standardized coefficient)

Table 5 – Clinical features at 180 days according TAC metabolism profile for C/Ds and C/Dbs

Variable	C/Ds				C/Dbs				
	Fast <=0.875	Intermediate > 0.875 <= 3.2	Slow > 3.2	p value	Fast<=0.73	Intermediate > 0.73 <= 5.2	Slow> 5.2	p value	
Receiver characteristics									
Sex	Female	4 (19%)	16 (38.1%)	16 (80%)	< 0.001	3 (14.3%)	17 (40.5%)	16 (80%)	
	Male	17 (81%)	26 (61.9%)	4 (20%)		18 (85.7%)	25 (59.5%)	4 (20%)	
Diagnosis	Biliary atresia	6 (28.6%)	21 (50%)	13 (65%)	0.062	5 (23.8%)	21 (50%)	14 (70%)	
	Others causes	15 (71.4%)	21 (50%)	7 (35%)		16 (76.2%)	21 (50%)	6 (30%)	
Type of donor	Deceased	19 (90.5%)	38 (90.5%)	16 (80%)	0.456	20 (95.2%)	39 (92.9%)	14 (70%)	
	Living	2 (9.5%)	4 (9.5%)	4 (20%)		1 (4.8%)	3 (7.1%)	6 (30%)	
Age at transplant (years)		10.9 (7.10 - 16.15)	6.05 (1.87 - 11.72)	1.45 (0.7 - 2.3)	< 0.001	13.8 (10.6 - 17.4)	4.30 (2.25 - 9.9)	1.05 (0.7 - 2.12)	< 0.001
Body surface (m ²)		1.26 (0.87 - 1.56)	0.77 (0.59 - 1.2)	0.49 (0.43 - 0.54)	< 0.001	1.50 (1.26 - 1.66)	0.76 (0.65 - 1.11)	0.46 (0.43 - 0.52)	< 0.001
Laboratory Tests									
ACR	No	13 (61.9%)	29 (69%)	16 (80%)	0.445	13 (61.9%)	30 (71.4%)	15 (75%)	
	Yes	8 (38.1%)	13 (31%)	4 (20%)		8 (38.1%)	12 (28.6%)	5 (25%)	
EBV	Negative	18 (85.7%)	37 (88.1%)	15 (75%)	0.407	19 (90.5%)	37 (88.1%)	14 (70%)	
	Positive	3 (14.3%)	5 (11.9%)	5 (25%)		2 (9.5%)	5 (11.9%)	6 (30%)	
ALT (U/L)		32.0 (21.5-48.5)	30.0 (20.0-44.0)	36.0 (23.0-54.0)	0.678	31.0 (21.5 - 34.0)	32.0 (19.0 - 53.0)	30.0 (23.0 - 49.0)	0.716

Variable (cont.)	C/Ds (cont.)				C/Dbs			
	Fast (cont.)	Intermediate (cont.)	Slow (cont.)	p value (cont.)	Fast (cont.)	Intermediate (cont.)	Slow (cont.)	p value (cont.)
Albumin (g/dL)	4.38 ±0.35	4.23 ±0.33	4.27 ±0.48	0.477	4.4 ±0.32	4.28 ±0.35	4.12 ±0.43	0.150
Total bilirubin (mg/dL)	0.7 (0.40 - 0.90)	0.4 (0.30 - 0.65)	0.3 (0.30 - 0.50)	0.034	0.7 (0.4 - 1.05)	0.45(0.3 - 0.8)	0.3 (0.3 - 0.4)	< 0.001
INR	1.18 ±0.11	1.16 ±0.14	1.16 ±0.09	0.763	1.21 ±0.12	1.16 ±0.12	1.11 ±0.10	0.045
Creatinine serum (mg/dL)	0.60(0.42 - 1.00)	0.42(0.32 - 0.6)	0.30(0.3 - 0.47)	< 0.001	0.80(0.5 - 1.02)	0.40(0.35 - 0.60)	0.3(0.3 - 0.40)	< 0.001
Urea (mg/dL)	41.85 ±13.45	34.53 ±10.89	31.39 ±14.62	0.030	39.80 ±14.40	36.53 ±11.88	29.22 ±11.56	0.033
GFR (mL/min)	139.83 ±53.69	148.86 ±48.26	119.90 ±31.51	0.080	147.10 ±57.88	138.97 ±38.74	132.06 ±51.63	0.599
Donor characteristics								
Age (years)	15(11.25 - 29.5)	10 (5.0 - 16.0)	11(2.25 - 22.5)	0.028	16.0 (9.5 - 26.5)	11.00(5.5 - 15.0)	8.35 (2.25 - 24.5)	0.048
Sex	Female	7 (38.9%)	15 (37.5%)	0.681	9 (47.4%)	14 (36.8%)	7 (41.2%)	0.746
	Male	11 (61.1%)	25 (62.5%)		8 (50%)	10 (52.6%)	24 (63.2%)	
Tacrolimus								
Daily dose (mg)	8.0 (8.0 -11.50)	4.4 (3.0 -6.0)	1.9 (0.93 -2.0)	< 0.001	8.0 (7.0 -10.0)	5.0(3.0 -6.0)	1.9 (0.93 -2.3)	< 0.001
Blood trough concentration (ng/mL)	6.11 ±1.82	7.14 ±2.50	7.59 ±2.85	0.131	6.15 ±2.14	7.16 ±2.29	7.5 ±3.01	0.198

*values are mean (standard-deviation), comparison by ANOVA - # values are median (interquartile range), comparison by Kruskal-Wallis's test. Values followed by different letters are statistically significant (P<0,05), according to multiple comparison test (Bonferroni corrected). C/D = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) - C/Dbs = blood Tac trough concentration (ng/mL)/daily Tac dose (mg) x body surface. ACR (acute cellular rejection) - ALT (alanine aminotransferase) - EBV (*Epstein Barr virus*) - GFR (glomerular filtration rate) - INR (international normalized ratio)

8. CONCLUSÕES

- a) Os resultados da relação C/D padrão são comparáveis aqueles obtidos quando do ajuste da mesma pela superfície corporal total. O ajuste da fórmula padrão pelo peso não esteve associado a nenhuma variável de interesse;
- b) A mediana da dose necessária de tacrolimo para atingir o nível sérico desejado foi de 1,94 mg para os metabolizadores lentos, 4,40 mg para os intermediários e 8,00 mg para os metabolizadores rápidos;
- c) Os pacientes classificados como metabolizadores lentos foram predominantemente do sexo feminino, tinham menor idade ao transplante e menores valores de creatinina, bilirrubina total e ureia quando comparados com os metabolizadores intermediários e rápidos;
- d) Idade e gênero foram fatores independentes associados ao metabolismo do tacrolimo;
- e) Não encontramos associações entre relação C/D e taxa de filtração glomerular, infecção pelo *Epstein Barr vírus* e desenvolvimento de rejeição celular aguda com nenhuma das fórmulas estudadas;
- f) A mediana da idade dos pacientes no transplante foi de 4,60 anos (1,80 – 12,00) anos e quarenta e sete pacientes (56,6%) eram do sexo masculino;
- g) A mediana de peso dos pacientes foi 19,10 kg (12,10 – 38,70) e de superfície corporal foi 0,76 m² (0,54 – 1,26). Quarenta pacientes tiveram atresia biliar como doença de base (48,2%) e transplante com doador falecido ocorreu em 73 casos (88%).
- h) As seguintes características bioquímicas foram observadas (mediana): ALT :32,00 U/I (20,50 – 47,00), bilirrubina total: 0,4 mg/dL(0,3 – 0,8); creatinina 0,45 mg/dL (0,3 – 0,7) e ureia 32,0 mg/dL (26,0 – 46,0). A média de albumina foi de 4,28 g/dL (\pm 0,37) e INR 1,17 (\pm 0,13).
- i) A média da taxa de filtração glomerular da amostra foi de 139,37 (\pm 47,25);

- j) A incidência de infecção pelo *Epstein Barr vírus* foi de 13 pacientes (15,6%).
- k) A incidência de rejeição celular aguda foi de 25 pacientes (30,1%).
- l) O índice de concordância entre a fórmula padrão da razão C/D e aquela ajustada pela superfície corporal foi de 0,62, sendo considerado moderado. Não foi realizado o cálculo de índice de concordância entre as fórmulas de C/D e C/D ajustado pelo peso.

9. CONSIDERAÇÕES FINAIS E PERSPECTIVAS FUTURAS

A realização do transplante hepático infantil pode ser a única solução para os pacientes com doença hepática terminal. Desde o primeiro transplante, realizado em 1963, inúmeros avanços contribuíram para a elevação da sobrevida dos pacientes, dentre eles, a descoberta e inclusão dos inibidores da calcineurina como base para imunossupressão dos transplantados^{2,14}.

A utilização do tacrolimo teve seu início na década de 90 e desde então tornou-se o fármaco mais utilizado em Tx, apesar de sua dose ideal ser tão próxima da dose tóxica¹⁸.

Estudos em pacientes pediátricos que possam contribuir para adequação do manejo da imunossupressão tornam-se cada dia mais necessários, principalmente pela quantidade de efeitos adversos que estes medicamentos geram, e pelo longo tempo que estes pacientes estarão expostos a essas drogas¹². Segundo Rayar e colaboradores, a variabilidade intra paciente de TAC torna a relação dose e resposta ao medicamento quase que imprevisível⁹¹. Em um estudo realizado em pacientes adultos submetidos ao transplante hepático, foi observado que um alto coeficiente de variação de tacrolimo foi considerado preditor para toxicidade relacionada ao imunossupressor e menor taxa de sobrevida⁹².

A utilização da relação C/D, em pacientes adultos, como uma ferramenta capaz de prever o comportamento de metabolização de TAC, nos pacientes transplantados, tem sido o foco de vários grupos de pesquisa, porém a população pediátrica parece ainda não ter sido contemplada^{10,85,86,87}. Em nosso estudo, onde comparamos três fórmulas relacionadas ao comportamento de metabolização de tacrolimo em pacientes pediátricos submetidos ao transplante hepático, não observamos diferenças entre a utilização da fórmula padrão e aquela ajustada pelo peso ou superfície corporal total, contrariando a nossa hipótese.

O ajuste pelo peso não acrescentou superioridade à fórmula, à medida que não identificou nenhuma variável associada mesmo na análise univariada. Em pacientes adultos,

transplantados de fígado, Thölking e colaboradores não encontraram quaisquer diferenças significativas entre metabolismo do TAC e as medidas antropométricas peso, estatura e índice de massa corporal total⁸⁶.

A estimativa da área de superfície corporal total é largamente utilizada em pediatria. Esta medida correlaciona-se melhor com a taxa de filtração glomerular e é superior ao peso isolado quando se trata de reposição volumétrica e dosagem de medicamentos, especialmente quando o índice terapêutico é baixo⁹³. Há várias fórmulas de estimativa da SC, a equação de Mosteller é a mais utilizada devido à sua precisão⁹⁴. Entretanto, é uma fórmula matematicamente complexa. Optamos pelo cálculo da fórmula de Ferro, fácil de usar e com acurácia comparável à fórmula de Mosteller^{93,95}.

A função do enxerto hepático é um fator reconhecidamente associado ao metabolismo do tacrolimo⁶¹. Como pode-se inferir pela observação dos resultados laboratoriais, todos os pacientes estudados, apresentavam no momento do cálculo da relação C/D, uma boa função do enxerto.

Embora a incidência de rejeição celular aguda no primeiro ano pós-transplante não tenha sido baixa (30%), ela não esteve correlacionada com a relação C/D. Esperávamos que os metabolizadores rápidos tivessem uma incidência maior de rejeição. Entretanto, há que se considerar que o conhecimento pela equipe médica de um nível sérico inferior ao alvo gera uma pronta intervenção, o que pode ter mascarado os nossos resultados.

Embora a nefrotoxicidade pelo TAC seja um evento adverso temido e frequente no paciente adulto transplantado de órgãos sólidos, em crianças parece ser menos prevalente^{96,97,98}. Assim, resolvemos avaliar um evento mais frequente na criança imunossuprimida que é a infecção primária ou reativação do vírus Epstein-Barr, definida por positividade do DNA

quantitativo. Quinze pacientes preencheram critérios para infecção por EBV. Novamente não conseguimos demonstrar associação entre metabolizadores rápidos e este desfecho.

Este estudo tem limitações que provavelmente respondem por alguns dos resultados: é uma coorte histórica, envolveu um número pequeno de pacientes e um período de observação talvez insuficiente para o surgimento de complicações associadas ao metabolismo do TAC. Em adultos transplantados de fígado, estudados por Thölking e colaboradores, os metabolizadores rápidos tiveram perda progressiva da função renal a partir do 6º mês de observação. Embora, fossem pacientes com função renal preservada antes do transplante, os pacientes deste estudo eram na maioria alcoolistas ou portadores de doença hepática autoimune, possivelmente associadas a outras comorbidades⁸⁶.

Houve uma relação linear entre a classificação do paciente (metabolizador lento, intermediário e rápido) e a dose de tacrolimo utilizada, o que sugere que este seja um método promissor para a identificação dos diferentes tipos de metabolizadores do TAC ou de outros imunossuppressores, também em pediatria.

Para responder a esta pergunta, além de um número maior de pacientes e uma avaliação contemporânea, será necessária a comparação da relação C/D com um padrão-ouro que à luz dos conhecimentos atuais, é a identificação por genotipagem, dos polimorfismos do CYP3A.

10. REFERÊNCIAS

- [1] Yazigi NA. Long term outcomes after pediatric liver transplantation. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr.* 2013;16(4):207-18.
- [2] Otte JB. Pediatric liver transplantation: Personal perspectives on historical achievements and future challenges. *Liver Transpl.* 2016;22(9):1284-94.
- [3] de Mare-Bredemeijer EL, Metselaar HJ. Optimization of the use of Calcineurin inhibitors in liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2012;26(1):85-95.
- [4] Kelly D. Safety and efficacy of tacrolimus in pediatric liver recipients. *Pediatr. Transplant.* 15 (2011) 19-24.
- [5] MacPhee IA. Pharmacogenetic biomarkers: cytochrome P450 3A5. *Clin Chim Acta.* 2012;413(17-18):1312-7.
- [6] Cusinato DA, Lacchini R, Romao EA, Moysés-Neto M, Coelho EB. Relationship of CYP3A5 genotype and ABCB1 diplotype to tacrolimus disposition in Brazilian kidney transplant patients. *Br J Clin Pharmacol.* 2014;78(2):364-72.
- [7] Rodríguez-Perálvarez M, Germani G, Darius T, Lerut J, Tsochatzis E, Burroughs AK. Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant.* 2012;12(10):2797-814.
- [8] van Gelder T, van Schaik RH, Hesselink DA. Pharmacogenetics and immunosuppressive drugs in solid organ transplantation. *Nat Rev Nephrol.* 2014;10(12):725-31.
- [9] Tavira B, Díaz-Corte C, Coronel D, Ortega F, Coto E. [Pharmacogenetics of tacrolimus: from bench to bedside?]. *Nefrologia.* 2014;34(1):11-7.
- [10] Thölking G, Gerth HU, Schuette-Nuetgen K, Reuter S. Influence of tacrolimus metabolism rate on renal function after solid organ transplantation. *World J Transplant.* 2017;7(1):26-33.
- [11] Miloh T. Medical management of children after liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant.* 2014;19(5):474-9.
- [12] Blondet NM, Healey PJ, Hsu E. Immunosuppression in the pediatric transplant recipient. *Semin Pediatr Surg.* 2017;26(4):193-8.
- [13] de Oliveira JTP, Kieling CO, da Silva AB, Stefani J, Witkowski MC, Smidt CR, et al. Variability index of tacrolimus serum levels in pediatric liver transplant recipients younger than 12 years: Non-adherence or risk of non-adherence? *Pediatr Transplant.* 2017;21(8).
- [14] Otte JB. History of pediatric liver transplantation. Where are we coming from? Where do we stand? *Pediatr Transplant.* 2002;6(5):378-87.
- [15] Mies S, Baia CE, Almeida MD, Della Guardia B, Ferraz LR, Lallée MP, et al. Twenty years of liver transplantation in Brazil. *Transplant Proc.* 2006;38(6):1909-10.

- [16] Raia S, Nery JR, Mies S Liver transplantation from live donors. *Lancet*. 1989;2(8661):497.
- [17] Ferreira CT, Vieira SM, Kieling C, Mello ED, Santos CM, Silveira C, et al. [Follow up of pediatric patients evaluated for liver transplantation]. *J Pediatr (Rio J)*.1997;73(2):75-9.
- [18] Coelho T, Tredger M, Dhawan A. Current status of immunosuppressive agents for solid organ transplantation in children. *Pediatr Transplant*. 2012;16(2):106-22.
- [19] Crispe IN. Hepatic T cells and liver tolerance. *Nat Rev Immunol*. 2003;3(1):51-62.
- [20] Beckebaum S, Cicinnati VR, Radtke A, Kabar I. Calcineurin inhibitors in liver transplantation - still champions or threatened by serious competitors? *Liver Int*. 2013;33(5):656-65.
- [21] Dhawan A. Immunosuppression in pediatric liver transplantation: are little people different? *Liver Transpl*. 2011;17 Suppl 3:S13-9.
- [22] Kohli R, Cortes M, Heaton ND, Dhawan A. Liver transplantation in children: state of the art and future perspectives. *Arch Dis Child*. 2017.
- [23] Bilhartz JL, Shieck VL. Pediatric Liver Transplantation: Unique Concerns for the Critical Care Team. *Crit Care Nurs Q*. 2016;39(3):281-95.
- [24] Cuenca AG, Kim HB, Vakili K. Pediatric liver transplantation. *Semin Pediatr Surg*. 2017;26(4):217-23.
- [25] Oishi K, Arnon R, Wasserstein MP, Diaz GA. Liver transplantation for pediatric inherited metabolic disorders: Considerations for indications, complications, and perioperative management. *Pediatr Transplant*. 2016;20(6):756-69.
- [26] Schmid I, von Schweinitz D. Pediatric hepatocellular carcinoma: challenges and solutions. *J Hepatocell Carcinoma*. 2017;4:15-21
- [27] Trobaugh-Lotrario AD, Meyers RL, Tiao GM, Feusner JH. Pediatric liver transplantation for hepatoblastoma. *Transl Gastroenterol Hepatol*. 2016;1:44.
- [28] Smith SK, Rosenthal P. Pediatric liver failure: we came, we saw, but have we conquered? *F1000Res*. 2017;6:1540.
- [29] Cavalieri ML, D'Agostino D. Drug-, herb- and dietary supplement-induced liver injury. *Arch Argent Pediatr*. 2017;115(6):e397-e403.
- [30] Newland CD. Acute Liver Failure. *Pediatr Ann*. 2016;45(12):e433-e8.
- [31] Capone K, Amirikian K, Azzam RK. Pediatric Liver Transplantation: An Update for the Pediatrician. *Pediatr Ann*. 2016;45(12): e439-e45.
- [32] Rawal N, Yazigi N. Pediatric Liver Transplantation. *Pediatr Clin North Am*. 2017; 64(3):677-84.

- [33] Kamran Hejazi Kenari S, Mirzakhani H, Eslami M, Saidi RF. Current state of the art in management of vascular complications after pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2015;19(1):18-26.
- [34] Orlandini M, Feier FH, Jaeger B, Kieling C, Vieira SG, Zanotelli ML. Frequency of and factors associated with vascular complications after pediatric liver transplantation. *J Pediatr (Rio J)*. 2014;90(2):169-75.
- [35] Naik P, Sritharan V, Bandi P, Madhavarapu M. A single centre prospective study of liver function tests in post liver transplant patients. *Indian J Clin Biochem*. 2013;28(1):38-45.
- [36] Halasa N, Green M. Immunizations and infectious diseases in pediatric liver transplantation. *Liver Transpl*. 2008;14(10):1389-99
- [37] Fenkel JM, Haleboua-DeMarzio DL. Management of the Liver Transplant Recipient: Approach to Allograft Dysfunction. *Med Clin North Am*. 2016;100(3):477-86.
- [38] Shoji K, Funaki T, Kasahara M, Sakamoto S, Fukuda A, Vaida F, et al. Risk Factors for Bloodstream Infection After Living-donor Liver Transplantation in Children. *Pediatr Infect Dis J*. 2015; 34(10):1063-8.
- [39] del Pozo JL. Update and actual trends on bacterial infections following liver transplantation. *World J Gastroenterol*. 2008;14(32):4977-83.
- [40] Avkan-Oguz V, Ozkardesler S, Unek T, Ozbilgin M, Akan M, Firuzan E, Kose H, Astarcioglu I, Karademir S. Risk factors for early bacterial infections in liver transplantation. *Transplant Proc*. 2013;45(3):993-7.
- [41] Tannuri U, Tannuri AC. Postoperative care in pediatric liver transplantation. *Clinics (Sao Paulo)*. 2014;69 Suppl 1:42-6.
- [42] Özçay F. Lymphoproliferative Disease After Pediatric Liver Transplant. *Exp Clin Transplant*. 2017;15(Suppl 2):79-81.
- [43] Zhang W, Fung J. Limitations of current liver transplant immunosuppressive regimens: renal considerations. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2017;16(1):27-32.
- [44] Gijzen VM, Madadi P, Dube MP, Hesselink DA, Koren G, de Wildt SN. Tacrolimus-induced nephrotoxicity and genetic variability: a review. *Ann Transplant*. 2012;17(2):111-21.
- [45] Ganschow R, Ericzon BG, Dhawan A, Sharif K, Martzloff ED, Rauer B, et al. Everolimus and reduced calcineurin inhibitor therapy in pediatric liver transplant recipients: Results from a multicenter, prospective study. *Pediatr Transplant*. 2017;21(7).
- [46] Zhang GQ, Zhang CS, Sun N, Lv W, Chen BM, Zhang JL. Basiliximab application on liver recipients: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*. 2017;16(2):139-46
- [47] Registro Brasileiro de Transplantes (Brasil). 2017. Acesso em março 2018. Disponível em: <<http://www.abto.org.br/abtov03/Upload/file/RBT/2017/rbt-imprensa-leitura-compressed.pdf>>

- [48] Moini M, Schilsky ML, Tichy EM. Review on immunosuppression in liver transplantation. *World J Hepatol.* 2015;7(10):1355-68.
- [49] Piva JP, Garcia PCR. *Medicina Intensiva em Pediatria.* 2 ed. Brasil: Revinter; 2015. 1498 p.
- [50] Pillai AA, Levitsky J. Overview of immunosuppression in liver transplantation. *World J Gastroenterol.* 2009;15(34):4225-33.
- [51] Muduma G, Saunders R, Odeyemi I, Pollock RF. Systematic Review and Meta-Analysis of Tacrolimus versus Ciclosporin as Primary Immunosuppression After Liver Transplant. *PLoS One.* 2016;11(11):e0160421.
- [52] Barbarino JM, Staats CE, Venkataramanan R, Klein TE, Altman RB. PharmGKB summary: cyclosporine and tacrolimus pathways. *Pharmacogenet Genomics.* 2013;23(10):563-85.
- [53] Staats CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part I. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(3):141-75.
- [54] Jasiak NM, Park JM. Immunosuppression in Solid-Organ Transplantation: Essentials and Practical Tips. *Crit Care Nurs Q.* 2016;39(3):227-40.
- [55] Christians U, Jacobsen W, Benet LZ, Lampen A. Mechanisms of clinically relevant drug interactions associated with tacrolimus. *Clin Pharmacokinet.* 2002;41(11):813-51.
- [56] Hardinger KL, Brennan DC. Novel immunosuppressive agents in kidney transplantation. *World J Transplant.* 2013;3(4):68-77.
- [57] Wong TC, Lo CM, Fung JY. Emerging drugs for prevention of T-cell mediated rejection in liver and kidney transplantation. *Expert Opin Emerg Drugs.* 2017;22(2):123-36.
- [58] Op den Buisch R. *Pharmacokinetics and pharmacogenetics of tacrolimus in renal transplant patients.* Maastricht: Maastricht University, 2007. 232 p.
- [59] Staats CE, Goodman LK, Tett SE. Effect of CYP3A and ABCB1 single nucleotide polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of calcineurin inhibitors: Part II. *Clin Pharmacokinet.* 2010;49(4):207-21.
- [60] Yoon SH, Cho JH, Kwon O, Choi JY, Park SH, Kim YL, et al. CYP3A and ABCB1 genetic polymorphisms on the pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus and its metabolites (M-I and M-III). *Transplantation.* 2013;95(6):828-34.
- [61] Staats CE, Tett SE. Clinical pharmacokinetics and pharmacodynamics of tacrolimus in solid organ transplantation. *Clin Pharmacokinet.* 2004;43(10):623-53.
- [62] Rojas LE, Herrero MJ, Bosó V, García-Eliz M, Poveda JL, Librero J, et al. Meta-analysis and systematic review of the effect of the donor and recipient CYP3A5 6986A>G genotype on tacrolimus dose requirements in liver transplantation. *Pharmacogenet Genomics.* 2013;23(10):509-17.

- [63] Lancia P, Jacqz-Aigrain E, Zhao W. Choosing the right dose of tacrolimus. *Arch Dis Child*. 2015;100(4):406-13.
- [64] Fernandez E, Perez R, Hernandez A, Tejada P, Arteta M, Ramos JT. Factors and Mechanisms for Pharmacokinetic Differences between Pediatric Population and Adults. *Pharmaceutics*. 2011;3(1):53-72.
- [65] Zhao W, Fakhoury M, Jacqz-Aigrain E. Developmental pharmacogenetics of immunosuppressants in pediatric organ transplantation. *Ther Drug Monit*. 2010;32(6):688-99.
- [66] Vanhove T, Annaert P, Kuypers DR. Clinical determinants of calcineurin inhibitor disposition: a mechanistic review. *Drug Metab Rev*. 2016;48(1):88-112.
- [67] Zanger UM, Schwab M. Cytochrome P450 enzymes in drug metabolism: regulation of gene expression, enzyme activities, and impact of genetic variation. *Pharmacol Ther*. 2013;138(1):103-41.
- [68] Shuker N, van Gelder T, Hesselink DA. Intra-patient variability in tacrolimus exposure: causes, consequences for clinical management. *Transplant Rev (Orlando)*. 2015;29(2):78-84.
- [69] Lange NW, Salerno DM, Berger K, Tsapepas DS. Using known drug interactions to manage suprathreshold calcineurin inhibitor concentrations. *Clin Transplant*. 2017;31(11).
- [70] Miloh T, Barton A, Wheeler J, Pham Y, Hewitt W, Keegan T, et al. Immunosuppression in pediatric liver transplant recipients: Unique aspects. *Liver Transpl*. 2017;23(2):244-56.
- [71] De Simone P, Carrai P, Coletti L, Ghinolfi D, Petrucci S, Filipponi F. Modification of immunosuppressive therapy as risk factor for complications after liver transplantation. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2017;31(2):199-209.
- [72] Abul-Husn NS, Owusu Obeng A, Sanderson SC, Gottesman O, Scott SA. Implementation and utilization of genetic testing in personalized medicine. *Pharmacogenomics Pers Med*. 2014;7:227-40.
- [73] Eichelbaum M, Ingelman-Sundberg M, Evans WE. Pharmacogenomics and individualized drug therapy. *Annu Rev Med*. 2006;57:119-37.
- [74] Eichelbaum M. [Pharmacogenetics: current state after 30 years of research]. *Dtsch Med Wochenschr*. 2013;138(13):659-61.
- [75] Ortega VE, Meyers DA. Pharmacogenetics: implications of race and ethnicity on defining genetic profiles for personalized medicine. *J Allergy Clin Immunol*. 2014;133(1):16-26.
- [76] Shastry BS. Pharmacogenetics and the concept of individualized medicine. *Pharmacogenomics J*. 2006;6(1):16-21.
- [77] Evans WE, Johnson JA. Pharmacogenomics: the inherited basis for interindividual differences in drug response. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2001;2:9-39.
- [78] Goldstein DB, Tate SK, Sisodiya SM. Pharmacogenetics goes genomic. *Nat Rev Genet*. 2003;4(12):937-47.

- [79] Rieder MJ, Carleton B. Pharmacogenomics and adverse drug reactions in children. *Front Genet.* 2014;5:78.
- [80] Sim SC, Kacevska M, Ingelman-Sundberg M. Pharmacogenomics of drug metabolizing enzymes: a recent update on clinical implications and endogenous effects. *Pharmacogenomics J.* 2013;13(1):1-11.
- [81] Shastry BS. SNPs: impact on gene function and phenotype. *Methods Mol Biol.* 2009;578:3-22.
- [82] Metzger IF, Souza-Costa DC, Tanus-Santos JE. Farmacogenética: princípios, aplicações e perspectivas. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2006; 39 (4): 515-21.
- [83] Gijzen V, Mital S, van Schaik RH, Soldin OP, Soldin SJ, van der Heiden IP, et al. Age and CYP3A5 genotype affect tacrolimus dosing requirements after transplant in pediatric heart recipients. *J Heart Lung Transplant.* 2011;30(12):1352-9.
- [84] Durand P, Debray D, Kolaci M, Bouligand J, Furlan V, Fabre M, et al. Tacrolimus dose requirement in pediatric liver transplantation: influence of CYP3A5 gene polymorphism. *Pharmacogenomics.* 2013;14(9):1017-25.
- [85] Thölking G, Fortmann C, Koch R, Gerth HU, Pabst D, Pavenstädt H, et al. The tacrolimus metabolism rate influences renal function after kidney transplantation. *PLoS One.* 2014;9(10):e111128
- [86] Thölking G, Siats L, Fortmann C, Koch R, Hüsing A, Cicinnati VR, et al. Tacrolimus Concentration/Dose Ratio is Associated with Renal Function After Liver Transplantation. *Ann Transplant.* 2016;21:167-79.
- [87] Stratta P, Quaglia M, Cena T, Antoniotti R, Fenoglio R, Menegotto A, et al. The interactions of age, sex, body mass index, genetics, and steroid weight-based doses on tacrolimus dosing requirement after adult kidney transplantation. *Eur J Clin Pharmacol.* 2012;68(5):671-80.
- [88] Anglicheau D, Flamant M, Schlageter MH, Martinez F, Cassinat B, Beaune P, et al. Pharmacokinetic interaction between corticosteroids and tacrolimus after renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(11):2409-14.
- [89] Ji E, Choi L, Suh KS, Cho JY, Han N, Oh JM. Combinational effect of intestinal and hepatic CYP3A5 genotypes on tacrolimus pharmacokinetics in recipients of living donor liver transplantation. *Transplantation.* 2012;94(8):866-72.
- [90] Fukushima D, Sato K, Kawagishi N, Ohuchi N, Satomi S. Epstein-Barr virus--associated posttransplantation lymphoproliferative disorder with tacrolimus metabolism deterioration in infants after living-donor liver transplantation. *Transplantation.* 2015;99(1):114-9.
- [91] Leeder JS, Lantos J, Spielberg SP. Conference scene: pediatric pharmacogenomics and personalized medicine. *Pharmacogenomics.* 2010;11(12):169.

- [92] Rayar M, Tron C, Jézéquel C, Beaurepaire JM, Petitcollin A, Houssel-Debry P, et al. High Inpatient Variability of Tacrolimus Exposure in the Early Period After Liver Transplantation Is Associated With Poorer Outcomes. *Transplantation*. 2018;102(3):e108-e14.
- [93] Orimadegun A, Omisanjo A. Evaluation of five formulae for estimating body surface area of nigerian children. *Ann Med Health Sci Res*. 2014;4(6):889-98.
- [94] Mosteller RD. Simplified calculation of body-surface area. *N Engl J Med*. 1987;317(17):1098.
- [95] Furqan M, Haque A. Surface area in children: a simple formula. *Indian Pediatr*. 2009;46(12):1085-7.
- [96] Riva N, Schaiquevich P, Cáceres Guido P, Halac E, Dip M, Inventarza O. Pharmacoeconomics of tacrolimus in pediatric liver transplantation. *Pediatr Transplant*. 2017;21(5).
- [97] Gastaca M, Bilbao I, Jimenez M, Bustamante J, Dopazo C, Gonzalez R, et al. Safety and Efficacy of Early Everolimus When Calcineurin Inhibitors Are Not Recommended in Orthotopic Liver Transplantation. *Transplant Proc*. 2016;48(7):2506-9.
- [98] Rubín Suárez A, Bilbao Aguirre I, Fernández-Castroagudin J, Pons Miñano JA, Salcedo Plaza M, Varo Pérez E, et al. Recommendations of everolimus use in liver transplant. *Gastroenterol Hepatol*. 2017;40(9):629-40.

ANEXO

TERMO DE COMPROMISSO DE UTILIZAÇÃO DE DADOS

Influência do polimorfismo dos genes CYP3A5 e ABCB1 sobre o nível sérico de tacrolimo no transplante hepático pediátrico.

Cadastro no GPPG 15-0217

Os pesquisadores do presente projeto se comprometem a preservar a privacidade dos pacientes cujos dados serão coletados em prontuários e bases de dados do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Concordam, igualmente, que estas informações serão utilizadas única e exclusivamente para execução do presente projeto. As informações somente poderão ser divulgadas de forma anônima.

Porto Alegre, 09 de abril de 2015.

Nome dos Pesquisadores

CAMILA RIBAS SMIDT
SANDRA MARIA GONÇALVES VIEIRA
CARLOS OSCAR KIELING
JOEL STEFANI
VÂNIA NAOMI HIRAKATA