

Estudio Farmacocinético de Dosis Intermedias de Metotrexate y Arabinosido de Citosina en Niños con Leucemia Linfoblástica Aguda.

Dhaity Dhaity Guipson,¹ Núñez Zárata Patricia,² Mejía López María Dolores.³

*Servicio de Neurocirugía del Centro Médico de Toluca.¹
Staff del Servicio Neurocirugía del Centro Médico de Toluca. ²
Servicio de Hematología del Hospital del Niño del IMIEM.³*

Resumen

Introducción

Existen diversos trabajos que informan de la cinética del Metotrexate, sin embargo, se desconoce si su cinética se modifica al agregar una infusión de Arabinósido de Citosina y si esta combinación causa un mayor riesgo de mielosupresión o mucositis.

Objetivos

- Conocer los parámetros C_{ss} (Concentración en el estado estacionario), T_{1/2}(Vida media) y constante de Eliminación (Ke ó B) de Mtx solo y en Combinación con Arabinósido de Citosina (Ara C).
- Conocer las concentraciones de Mtx en LCR 6 horas después de iniciada la infusión de Mtx.
- Determinar la Toxicidad de la infusión de Mtx comprándola con la combinación de Mtx y AraC.

Diseño

Experimental: fase III prospectivo longitudinal, aleatorizado de dos secuencias, cruzado.

Material y Métodos

6 pacientes, 2 mujeres y 4 varones de 6 a 11 años de edad con diagnóstico confirmado de LLA de alto riesgo y cuyo programa terapéutico incluía dosis altas de Mtx en el momento del estudio se encontraban en remisión completa continúa y tenían condiciones clínicas y por laboratorio (BH, Qs, PFH) de normalidad.

Esquemas terapéuticos

Mtx en infusión de 24 horas a una dosis de 2gr/m² (Tratamiento 1) y Mtx en infusión de 24 horas a una dosis de 2gr/m² más AraC a una dosis de 1gr/m² (infusión de 4 horas, iniciando a la hora 24 del ciclo de Mtx). Previo a la ministración de los medicamentos todos los enfermos recibieron hiperhidratación y alcalinización con bicarbonato de sodio. El tratamiento de rescate con ácido folínico se inició a la hora 12 después del cese del Mtx a una dosis de 30mg/m²/6 dosis y luego 15mg/m²/4 dosis en intervalos de 3 horas.

Se colectaron muestras sanguíneas de 1.5 ml antes de cesar la infusión y una vez que se suspendió a la hora 2, 6, 12, 16, 24 (6 muestras) previo consentimiento informado.

El LCR se tomó a la hora 6 de iniciado del MTx. Las determinaciones se hicieron en un equipo con polarización de inmunofluorescencia TDX-Abbott.

Análisis estadísticos

Curvas de decaimiento del logaritmo de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo y análisis de regresión lineal empleando el paquete estadístico PC-noline y análisis de varianza.



Resultados

En Mtx un paciente se comportó como eliminador lento y 5 como rápidos. Con Mtx y AraC, todos fueron eliminadores rápidos. T_{1/2} de Mtx sólo fue de 8.333 horas y Mtx y AraC fue de 5.1074 horas. La C_{ss} no se modificó con ambos tratamientos. El 1.3% de Mtx I.V difunde a SNC. La Toxicidad o efecto adversos no fue mayor con la combinación Mtx y AraC.

Palabras Clave: Hepatitis crónica por virus C, HCV, Genotipo, Polimorfismo IL-28B

Abstract

Introduction

There are several studies based on methotrexate's kinetics, however we don not know if metotrexate kinetic is modified by added Cytosine Arabinoside infusion and if this combination can cause more risk of myelosuppression and mucositis.

Objectives

- *To Know parameters like C_{ss}(Steady State Concentration), T (Half life time) and elimination (Ke or B) of Methotrexante along and combined with Cytosine Arabinoside (Ara C).*
- *To Know Methotrexante Cerebrospinal fluid concentrations 6 hours after Methotrexante infusion began.*
- *To Determine Methotrexante infusion Toxicity versus metotrexate and Cytosine Arabinoside combined.*

Design

Experimental: Phase III prospective, longitudinal, randomized of two sequencies, cross.

Material and Methods

6 patients, 2 girls and 4 boys from 6 to 11 years old with confirmed diagnosis of Acute Lymphoblastic Leukemia of high risk while therapeutic program include high doses of Methotrexante at the study time they were remiting completely and had normal clinical conditions and by laboratory.

Therapeutics Schema

Methotrexante 24 hours infusion to a Dosage of 2gr per Square meter (Treatment 1) and Methotrexante 24 hours infusion to a Dosage of 2 grams per square meter plus Cytosine Arabinoside to a Dosage of 1 gram per square meter (4 hours infusion beginning to the 24 hours of Methotrexante cycle). Previous to drugs administration, all patients were underwent hyperhydration and sodium bicarbonate alcalinization. Rescue treatment began at hour 12 with folinic acid after ending Methotrexante to a Dosage of 30 miligram per square meter per 6 doses and then 15 miligrams per square meter for four doses during 3 hours intervals.

We collected blood test of 1.5 milliliters before infusion stopped and once it was suspended at the hours 2, 6 12, 16, 24 (6 tests) previous signing informed consent.

Cerebrospinal fluid were taken 6 hours after begining Methotrexante infusion. Concentration Were determining by TDX-Abbott polarized inmunofluorescence kit.

Statisticals analise

We make decline logarithm curves of plasmatic concentrations versus time and lineal regresion analise using variance analise and PC-noline statistical kit.

Results

With Methotrexante one patient were considered slow eliminator and 5 like fast. With Methotrexante and Cytosine Arabinoside every one were fast eliminators. Methotrexante half life time along was 8.333 hours and Methotrexante with Cytosine Arabinoside were 5.1074 hours half life time. The C_{ss} was not modified with both treatments. 1.3% of plasma Methotrexante difuse to Centra Nervous System. Toxicity or side effects was not more than Methotrexante combined with Cytosine Arabinoside.

Key words: Acute Lymphoblastic Leukemia, Methotrexante, Cytosine Arabinoside, Steady State concentration, elimination constant, Central Nervous System, Toxicity.



Introducción

La leucemia es el cáncer infantil más frecuente,^{1,2} sin embargo el uso de la quimioterapia combinada ha venido a mejorar el pronóstico de los enfermos. La profilaxis de la infiltración a Sistema Nervioso Central (SNC), constituye la piedra angular en el tratamiento de ellos, es sabido que el enfermo con actividad neoplásica en SNC al inicio, durante o posterior al cese efectivo del tratamiento sus posibilidades de sobrevida a largo plazo disminuyen hasta en un 17%,⁴ por eso, todos los protocolos terapéuticos a nivel universal coinciden en la aplicación intratecal de triple droga (Metotrexate, Hidrocortisona y Arabinosido de Citosina) con la finalidad de evitar proliferación neoplásica en Sistema Nervioso Central. La Radioterapia a neuroeje incuestionablemente es el tratamiento indispensable para la "cura" de la enfermedad. Sin embargo estos tratamientos han reportado toxicidad severa en SNC como leucoencefalopatía,⁵ por lo que se ha propuesto por diversos autores la infusión de medicamentos por vía endovenosa que logren concentraciones adecuadas en Líquido Cefalorraquídeo (LCR), plasma y tejidos evitando así las recaídas sistémicas a médula ósea como a nivel de SNC. Tradicionalmente es el Metotrexate (Mtx), la droga de mayor uso en los protocolos terapéuticos,^{3,4} Pinkel y Col. Sugieren además al Arabinosido de Citosina (Ara C y 6-Mercaptopurina (6MP), como drogas que pueden ser empleadas en conjunto con el Mtx para sinergizar el efecto deseado. La infusión de estos medicamentos a dosis variable y discutibles por los mismos autores tiene como finalidad principal permitir el paso de estas drogas a los llamados "santuarios" como el SNC, y evitar las recaídas locales que generalmente anteceden a una recaída a médula ósea. Cadman⁵ menciona que existe sinergismo en la muerte de células leucémicas cuando el Mtx se aplica antes del AraC y explica que esto es por el aumento en la acumulación intracelular del AraC en las células previamente expuestas al Mtx.

Marco teórico-conceptual

Antecedentes

En las dos últimas décadas los progresos logrados con el tratamiento quimioterapéutico y la profilaxis a sistema nervioso central han logrado la "cura" de los pacientes con Leucemia Linfoblástica Aguda (LLA) infantil en más del 70% de los enfermos, si bien como menciona Rivera,¹ el paciente ingresa a un protocolo terapéutico con carga tumoral de diversa dimensión es el tratamiento el más importante factor pronóstico para lograr su curación. En los protocolos terapéuticos hoy disponibles todos los autores están de acuerdo en iniciar con un tratamiento llamado inducción a la remisión el cual consiste en la combinación de varias drogas luego la consolidación consiste en la aplicación de combinación de diferentes drogas a las empleadas en el tratamiento anterior con la finalidad de abatir población celular leucémica resistente a las drogas iniciales. El mantenimiento donde el Mtx y 6MP son drogas pilares en enfermos principalmente con parámetros de "buen riesgo". Sin embargo el tratamiento anterior es inútil si no se realiza la profilaxis a SNC.

Estudios sobre la farmacocinética de varias drogas, demostraron su pobre difusión del plasma al LCR, dado que tienen que atravesar la barrera hematoencefálica del SNC, ésta se evade con la aplicación local de quimioterapia la cual se hace con la triple droga (Mtx, AraC e Hidrocortisona) y también se evade con la administración intravenosa y continúa de dosis mayores de 500mg/m²/SC de Mtx que logran niveles terapéuticos en LC.^{3,4} Inesperados beneficios con dosis altas de Mtx han reducido además hasta 10 veces la recaída testicular y por ende también la posibilidad de una recaída hematológica.

Tres métodos son útiles para la prevención de leucemia meníngea: inyección de antimetabolitos vía intratecal,⁶ radioterapia³ y dosis alta endovenosa de antimetabolitos suficientes para lograr niveles terapéuticos de la droga en SNC.^{4,7,9}

La tercer opción y más reciente que hoy nos ocupa son las dosis altas de antimetabolitos por vía endovenosa. Al administrar Mtx en un período de 24 horas,¹⁰ niveles terapéuticos en LCR pueden lograrse siendo mayores en presencia de leucemia meníngea, el rescate con ácido fólico hasta la hora 30 o 40 prolonga la exposición e incrementa la oportunidad del ingreso de Mtx por los linfocitos leucémicos.¹¹ Igualmente con la 6MP y el AraC, los niveles logrados en el LCR son de un 20 a 40% de su concentración en plasma, siendo su metabolismo más lento por ausencia de deaminasas y logrando ser efectivos también en leucemia meníngea.³

La toxicidad de estos medicamentos también ha sido descrita afectando al SNC, la hematopoyesis, las mucosas, el hígado, el riñón y los pulmones,^{9,10} siendo sus efectos reversibles. La combinación de Mtx y AraC, ha sido publicada por el grupo de pediatría oncológica (POG), basado en el estudio de Krance¹² donde 415 niños la recibieron en conjunto con triple droga intratecal y sólo 4% de ellos hizo leucemia meníngea. Históricamente la combinación de antimetabolitos ha sido superior que la administración de un solo agente para el tratamiento del cáncer. Hoy se sabe que las drogas que curan el cáncer son aquellas que producen alteración en la estructura del DNA así como en su síntesis, por ejemplo el AraC, no sólo se une a la DNA polimerasa sino que también actúa como una cadena terminal causando una doble replicación de los segmentos del DNA. El Mtx altera el metabolismo del dihidrofolato a tetrahidrofolato celular con la consecuente inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos. La combinación de estas drogas ha mostrado ser sinérgica con la aplicación intratecal de Mtx y AraC, obteniendo mayores curas que cuando sólo se aplicaba Mtx e Hidrocortisona.^{3,6}

Metotrexate

El Mtx (aminopterina, ácido 4-amino N10-metilpteril-glutámico) se introdujo como agente terapéutico hacia 1940. En 1947, la aminopterina fue sintetizada por Seegers, Smith y Huitquist como un análogo del ácido fólico, su acción sin embargo era antagónica sobre el crecimiento del *Streptococcus faecalis*.^{7,13,14} Tiempo después, Farber usó la aminopterina intuitivamente para bloquear el fenómeno de aceleración causado por análogos del ácido fólico en pacientes con LLA. Tiempo después. La aminopterina fue



reemplazada por la ametopterina conocida más tarde como Metotrexate siendo sintetizada por Seegers en 1949.

Después de su síntesis el Mtx es de un color amarillo naranja, con un peso molecular de 454.4 a pH de 7.4, la sal es soluble en agua pero insoluble en solvente lipídicos, tiene un pKa de 4.84 y 5.41. una molécula de Mtx bloquea una molécula de Dihidrofoloreductasa (DFR) su enzima blanco. El Mtx actúa como un inhibidor competitivo de DFR. A dosis altas de Mtx una cantidad significativa de impurezas resultantes de la manufactura del proceso pueden ser administradas al paciente y traducirse con mayores efectos tóxicos. Una vez disuelto en agua el Mtx no es completamente estable, puede existir descomposición térmica con temperaturas mayores a 21 grados y la luz UV puede fotodegradarlo y esta degradación puede acelerarse en presencia de soluciones con Bicarbonato. Esta fotodegradación también ocurre con la luz artificial por lo que se recomienda cubrir la infusión de la luz cuando dura más de 24 horas.

El Mtx bloquea la síntesis de DNA al evitar la reducción del ácido fólico a dihidrofolato y tetrahidrofolato, siendo catalizada esta reducción por la DFR y el efecto inhibitorio del Mtx en este proceso no puede ser revertido por ácido fólico sólo por ácido folínico. Al evitar la síntesis de DNA, la célula fracasa para completar la mitosis creando un crecimiento núcleo-citoplasma anormal con la consecuente muerte celular.

El Mtx penetra a las células vía un acarreador. El influjo y eflujo a las células es un proceso dependiente de energía. La salida del Mtx de las células es inhibido por la vincristina, resultando de un aumento del Mtx intracelular. Asimismo altas dosis de ácido folínico (Factor citrovorum) limitará la entrada de Mtx a las células eliminando o bloqueando así el efecto del mismo. Las células de la Médula Ósea (MO) se recuperan más pronto del efecto del Mtx, las células del epitelio intestinal no, éstas se recuperan al 50%, en comparación a las células de la MO. Asimismo también se sabe que la inhibición de la síntesis de DNA por el Mtx se logra con concentraciones séricas de más de 10-8mol/l(= ó > de 0.01uM/l).^{15,16,14}

La exposición de los linfocitos al Mtx in vitro por 3 horas parece ser suficiente para deprimir la actividad mitótica de linfocito, agregando ácido folínico al medio se bloquea este efecto. Al tratar enfermos con LLA con Mtx el número de linfoblastos disminuirá pero al final de la infusión el número de linfoblastos aumentará por lo que se aconseja pocos días después de la infusión de este medicamento la administración de un nuevo es que de infusión de Mtx o un segundo citostático.⁵

Después de la infusión del mtX éste se metaboliza en hígado vía una oxidasa la aldehído oxidasa en 7 hidroxymetotrexate, este metabolito puede ser demostrado en la orina 6 horas después de su administración la eliminación persistirá por 5-7 días después y en caso de efectos tóxicos dicha eliminación renal se prolongará. Después de su administración el hígado, riñón e intestino tienen las más altas concentraciones. El Mtx en menor concentración se halla en tejido conectivo, piel, cerebro y médula espinal. El Mtx pasa al hígado de ahí a la bilis y al tracto intestinal y

nuevamente a la sangre. Su eliminación principalmente es por vía renal, incluyendo filtración glomerular y secreción tubular. Con altas dosis la orina se satura y se cristaliza por lo que se aconseja a estos enfermos hiperhidratación y alcalinización de la orina con bicarbonato de sodio por vía oral o parenteral dado que en casos de daño renal se ha demostrado incluso necrosis tubular aguda.^{14,17,18}

Los esquemas de rescate con dosis de ácido folínico han variado dependiendo de las dosis empleadas de Mtx. En términos generales a mayor dosis, rescate temprano y manteniendo este hasta no lograr concentraciones séricas de Mtx, inferiores a 0.01uM (10⁻⁷ moles). La dosis de ácido folínico usado en el rescate actualmente se calcula en base al nomograma de Bleyer.¹³ Es bien evidente que las infusiones de Mtx son usadas en aquellos pacientes en donde se pretende una perfusión a todos los tejidos, teóricamente un nivel estable de concentración del fármaco se obtiene después de 4 vidas medias y en diferentes estudios esto se logra a las 24- 26 horas después¹⁹ con una vida de 6 horas.

El paso de Mtx a nivel del SNC logra su mayor pico de 2 a 6 horas después de su infusión³ la aplicación de Mtx intratecal se realizó desde 1954 por Sansone, estudios realizados con Tomografía Computarizada (TC) han mostrado que solo el 5% del Mtx administrado por vía Intratraqueal (IT) llega al espacio subaracnoideo 6 horas después de su administración. Por vía sistémica llega 3 a 12 horas después en concentraciones de 2X10⁻⁷mol/l. la inyección IT en conjunto con infusiones sistémicas resultará en niveles terapéuticos más largos de Mtx en SNC.

En el estudio de Evans y Col.²⁰ emplearon 1gr de Mtx en infusión para 24 horas rescatando a la hora 36 de inicio de la infusión y luego 4 a 6 dosis de ácido folínico cada 6 horas. Encontraron que los enfermos que obtuvieron concentraciones séricas a la hora 24 por arriba de 16uM/l tuvieron en un período de observación de 3.5 años menos posibilidad de recaída que aquellos enfermos con concentraciones menores. Asimismo se ha informado que pacientes con aclaraciones rápidas de Mtx mayores a 83ml/min/m² tienen mayor posibilidad de recaída. Además múltiples estudios también enfatizan las variaciones individuales en el metabolismo y depuración del Mtx incluso en el mismo paciente, por lo que es muy importante el monitoreo de los niveles séricos del Mtx.

El primer estudio detallado de curso temporal de las concentraciones del Mtx en plasma fue descrito por primera vez por Henderson²¹ Halprin informó que la vida media del Mtx en 26 pacientes con psoriasis varió de 2 a 10 horas, Hoffman y Col²² mostraron que el Mtx tenía una declinación triexponencial. Stoller²³ demostró que la declinación del Mtx era biexponencial con un promedio de vida media de 10min a 14 horas en la fase terminal. Los picos máximos de Mtx fueron desde 50 a 200uM/l dependiendo de las dosis administrada.

Los doctores Lares y Paredes²⁴ en el año de 1988 informaron de la cinética de Mtx en 10 pacientes mexicanos en una infusión de 500mg/m² por vía subcutánea (SC) identificaron 2 grupos de pacientes con diferente capacidad de eliminación de Mtx, aquellos con menos de 10 horas de vida



media de eliminación se consideraron eliminadores rápidos y aquellos con más de 10 horas eliminadores lentos con vidas medias en estos últimos muy variables. (mediana de 71.82 horas) y el modelo de eliminación del Mtx fue biexponencial. La toxicidad: mucositis, anemia megaloblástica, leucopenia, alopecia, fotosensibilidad, conjuntivitis, pancitopenia, inmunosupresión, nefrotoxicidad, necrosis hepática aguda, fibrosis hepática y leucoencefalopatía.²⁵

Arabinósido de Citosina (Ara C.)

El AraC o 1-B-D arabinofuranosylcytosina cuya actividad antitumoral es dependiente del ciclo celular, su citotoxicidad resulta de la trifosforilación intracelular (Ara CTP), cuando inhibe a la DNA polimerasa causando la incorporación de un fraudulento nucleótido en el DNA provocando así la muerte celular, es un medicamento específico de la fase S del ciclo celular.^{26,27}

Como ocurre así con todos los antimetabolitos de purina y de pirimidina la citarabina debe tener actividad por conversión hasta dar el nucleótido de 5 monofosfato y en este caso en una reacción catalizada por la desoxitidincinasa. Ocurrido lo anterior AraC 5 monofosfato reacciona con la nucCDP y AraC TP). La acumulación de Ara CTP inhibe con potencia la síntesis de DNA. Se desconoce el mecanismo exacto de la muerte celular causada por el Ara C. En células tratadas con este producto se observa fragmentos del DNA y hay datos citológicos y bioquímicos de apoptosis en tejidos tumorales y normales. El intervalo óptimo entre la dosis de Ara C por vía intravenosa va de 8 a 12 horas, dicho intervalo puede calcularse por la necesidad de conservar concentraciones intracelulares de Ara CTP en niveles inhibidores cuando menos durante un ciclo celular.^{27,28}

La resistencia a esta droga ocurrirá por alteraciones en la cantidad y calidad de la DNA polimerasa. Una enzima catabólica importante es la citidindesaminasa que desamina AraC hasta dar un metabólico atóxico la arauridina. Una segunda enzima degradativa es la cCMP desaminasa, transforma la Ara CMP en un metabólico Ara UMP. Momparler propuso que el uso de altas dosis evitará esta resistencia.²⁵ Existe acuerdo universal que dosis altas de Ara C en pacientes con Leucemia Linfocítica Aguda (LLA) y LNL aplicadas durante la inducción o el tratamiento de consolidación tiene efectos benéficos al mejorar la sobrevida libre de enfermedad en estos pacientes. El grupo de Capizzi y Col²⁶ demostró que después de una administración de altas dosis de Ara C, las concentraciones plasmáticas de Ara U se mantienen en un prolongado período de tiempo e inhiben el catabolismo del componente principal resultando en una triexponencial disminución de su eliminación y aumento de la vida media, además el Ara U puede inducir una sincronización de las células en fase S e incrementar así la muerte celular por el Ara C incrementando hasta 10 veces la muerte celular.

El Ara C se administra vía Intravenosa (IV), Subcutánea (SC) o Intramuscular (IM). En modelos endovenosos se conoce que las concentraciones plasmáticas incrementan en proporción a dosis de 1 a 3gr/m². El AUC muestra una curva bifásica y sus concentraciones se elevan en el líquido cefalorraquídeo (LCR) linealmente con el incremento de

dosis y varían de 347 ng/dl a 1070ng/ml. El promedio de concentración de Ara C siguiendo una infusión de 3 horas fue de 6 a 22% de la concentración plasmática simultánea. En el plasma tiene una vida media inicial de 15 minutos y una fase secundaria de 2 horas después de una aplicación única. Las dosis administradas intratecalmente son catabolizadas y eliminadas más lentamente con una vida media de 1 a 11 horas. Los niveles plasmáticos de AraC y AraU son realizados en cromatografía líquida de alta resolución.²⁹ En estudios de 4 horas²⁸ se ha mostrado que los niveles de Ara C declinan al final de la infusión en una forma bifásica mientras que los del Ara U en forma monofásica. No se encontró presencia de Ara C a las 12 horas de inicio de infusión y Cmax y AUC de 1 a 3 gramos fue superior 3 veces en infusión de 3 gramos.

Los efectos tóxicos del AraC son náuseas, vómito, mielosupresión con severa leucopenia y trombocitopenia cuya gravedad aumentará con el incremento de la dosis es también neurotóxica informándose cefalea, somnolencia, convulsiones. En 1981 se informó con dosis altas toxicidad cerebelosa manifestada por ataxia y disartria asimismo se ha informado polineuropatías agudas,^{30,31} estomatitis con úlceras orales, alopecia, diarrea, fiebre e incluso enfermedad veno-oclusiva, incrementando los efectos tóxicos de la misma al incrementar su dosis. El AraC cuando se combina con prednisona, 6 thioguanina, VM26 y L-asparaginasa induce una respuesta sinérgica cuando se combina con Mtx puede ser sinérgica aún cuando existe poca información en la literatura a este respecto.⁵

Planteamiento del Problema

¿La farmacocinética del metotrexate en infusión endovenosa adicionando un bolo de Arabinósido de Citosina, es diferente en relación al tratamiento con Metotrexate sólo en niños con Leucemia Linfoblástica aguda (LLA)?

Justificación del estudio

El presente estudio tiene como finalidad conocer la farmacocinética del Metotrexate (Mtx) sólo en infusión endovenosa de 24 horas (a dosis de 2gr/m²) y en combinación con Arabinósido de Citosina (AraC) a dosis de 1gr/m² en infusión de 4 horas, además de la identificación de efectos adversos con esta combinación y con Mtx solo. También determinaremos la concentración del Mtx en LCR después de una infusión endovenosa con el objetivo de conocer la proporción del Mtx que difunde al LCR. La determinación de estos parámetros nos permitirá, aunque no es el objetivo de este estudio, administrar una terapéutica más razonable en pacientes con diagnóstico de LLA de alto riesgo, pues al respecto, no se ha identificado la dosificación más adecuada para el tratamiento de estos pacientes y la mayoría de los protocolos de tratamiento en la actualidad son empíricos.

La realización de este estudio también nos permitirá conocer los efectos adversos en los paciente tratados con estos fármacos y si el Mtx en infusión IV a altas dosis (2gr/m²) puede difundir al LCR para prevenir las recaídas en SNC. Si los efectos adversos no se incrementan considerablemente con la adición de Ara C a la terapéutica y se alcanzan concentraciones suficientes de Mtx en LCR, estaríamos en



posibilidad de recomendar este tratamiento combinado con la finalidad de evitar las recaídas tempranas a NiSNC en los pacientes con LLA después de este tratamiento. Esto conllevaría una mejor calidad de vida de los pacientes con LLA tratados con esta combinación, una remisión prolongada y como fin último la curación de su enfermedad, un menor costo de tratamiento al ocurrir menos recaídas, una mejor aceptación social y cultural para los pacientes e incluso la incorporación de los pacientes, en su vida adulta, al ámbito laboral.

Hipótesis

Ho. Las diferencias en la farmacocinética del Mtx en infusión I.V solo (a dosis de 2gr/m² en infusión de 24 horas) y combinado con AraC (a dosis de 1gr/m² en una infusión de 4 horas), aplicado en niños con LLA de alto riesgo, NO SON SIGNIFICATIVAS.

Ha. Determinar si los cambios en la farmacocinética del Mtx en infusión I.V (a dosis de 2gr/m² en infusión de 24 horas) combinado con AraC(a dosis de 1gr/m² en una infusión de 4 horas), son significativos en relación con la infusión de Mtx solo, en niños con LLA de alto riesgo.

Objetivos

1. Conocer las diferencias entre la farmacocinética(Css, T_{1/2}, K en un modelo abierto de un compartimiento ó B en un modelo abierto de dos compartimientos) del Mtx solo en infusión de 24 horas a una dosis de 2gr/m² y la farmacocinética de este medicamento en combinación con Ara C a dosis de 1gr/m² en una infusión de 4 horas, en niños con LLA de alto riesgo.
2. Conocer la concentración sérica de Mtx a la hora 24 de la infusión en ambos ciclos de tratamiento (Mtx solo y en combinación con AraC)
3. Conocer las concentraciones de Mtx en LCR 6 horas después de iniciada la infusión de Mtx en ambos ciclos de tratamiento (Mtx solo y en combinación con Ara C)
4. Conocer los efectos adversos de la infusión de Mtx solo y en combinación con Ara C de acuerdo a los estándares de la OMS.

Material y métodos

Universo de trabajo

Se incluyeron en el estudio a pacientes de hematología del Hospital para el Niño del IMIEM que cumplieron con los siguientes criterios:

Criterios de inclusión

1. Niños o niñas mayores de 6 meses y menores de 16 años
2. Diagnóstico confirmado por técnicas habituales de LLA de alto riesgo (edad al inicio del padecimiento menor de 1 año y mayor de 9 años que cuenta con leucocitos al ingreso igual o mayor a 50,000/ml, infiltración extramedular manifestada por infiltración a SNC, masa mediastinal o por ser de inmunofenotipo de estirpe T o B madura)
3. Su programa terapéutico comprendía dosis altas de Mtx.

4. Aquellos que asistieron al hospital para el niño a tratamiento y mostraron adherencias a él.
5. Que consintieron participar en el estudio y cuyos padres firmaron la hoja de consentimiento informado.
6. Quienes se les practicó 24 horas antes del tratamiento un examen físico completo donde se les encontró en buenas condiciones generales, libres de mucositis e infección, desnutrición de tercer grado y que no tuvieron otra patología que los imposibilitará para participar en el estudio.
7. Determinación de hemoglobina = p >10gr/dl, Neutrófilos totales = o > 1000mm³, plaquetas = o > 75,000mm³, Bilirrubina Total = o < 1.7gr/dl, TGP = o < 300U/l, así como nivel de creatinina normal para su edad.

Criterios de exclusión

Se excluyeron a los pacientes:

1. Con daño renal o hepático preexistente al tratamiento (Creatinina >1.5mg/dl, BT>1.7mg/dl, TGO = o > 300U/l)
2. Con Desnutrición de tercer grado.
3. Aquellos que recibían otros tratamientos como salicilatos o sulfonamidas.
4. Pacientes menores a 6 meses y mayores a 16 años.
5. Pacientes que recibieron radioterapia a SNC y/o que mostraron alteraciones en SNC preexistentes al tratamiento.
6. Pacientes con infección activa como mucositis y/o deshidratación.
7. Pacientes con leucocitosis <2,000 mm³ y/o Neutrofilos <1,000mm³.

Criterios de eliminación

Se eliminaron del estudio pacientes que:

1. Habiendo aceptado ingresar al estudio no desearon seguir haciéndolo.
2. Por diferentes razones violaron el tratamiento: es decir dosis incompletas o alteraciones en la manera de recibir el tratamiento.
3. Que tenían acceso venoso difícil que impide la toma de las muestras sanguíneas.
4. Desarrollaron, durante el tratamiento, alguna complicación meritoria de ser suspendido, siempre pensando en el beneficio del enfermo.
5. No hayan mostrado adherencia al tratamiento

El estudio es experimental, prospectivo, longitudinal, aleatorizado de dos secuencias cruzado, con un periodo intermedio de lavado de "30 días " la infusión de MTX fue designada como tratamiento I y la infusión de Mtx y AraC fue designada como tratamiento II.

Infusión de Metotrexate

1. 24 horas antes del inicio del tratamiento el paciente se valoró clínicamente y por laboratorio, encontrándose en condiciones de recibir el tratamiento.
2. Horas - 12: el paciente se hospitalizó e iniciamos hiperhidratación endovenosa con soluciones calculadas a 3000ml/M2 SC/Día con Bicarbonato de Sodio 40-50meq/l de solución y Sodio 60meq/m²/día.

3. Hora 0 o inicio: Bolo de Mtx 400mg/m² SC, seguido de una infusión a dosis de 1600mg/m² I.V en bomba de infusión continua para 24 horas diluido en 150ml de solución glucosada al 5%.
4. Hora 6: aplicación de triple droga intratecal (Mtx, Hidrocortisona y AraC) de acuerdo a su edad se tomó muestras de LCR para cuantificación de Mtx.
5. Hora 24: Se terminó la infusión de Mtx.
6. Hora 30: Inicia el rescate de ácido fólico 30mg/m²/dosis, endovenosa cada 3 horas por 6 ocasiones con la finalidad de obtener niveles de Mtx <0.01µM.

Procedimiento de altas dosis de Mtx + AraC

Pasos 1, 2, 3 y 4 igual que el anterior

5. Hora 12: Se administró AraC a 1gr/m²/dosis diluida en 100ml de Solución Glucosada al 5% administrándose en 4 horas en infusión continua.
6. Hora 24: Terminó la infusión de Mtx.
7. Hora 30: Iniciamos rescate con ácido fólico a 30mg/m²/dosis I.V cada 3 horas por 6 dosis.

Durante el tratamiento se mantuvo el pH urinario en 7 y 7.5, densidad urinaria igual o menor a 1.012, la diuresis se mantuvo entre 80 a 120ml/m²/hora.

Estudio Farmacocinético

Previo al inicio del estudio, cada paciente y su padre o tutor fueron entrevistados e invitados a participar en él, informándoles explícitamente a su entender, de los beneficios y riesgos del tratamiento, quienes aceptaron y firmaron la carta de consentimiento informado (Anexo A). Los pacientes se hospitalizaron para recibir el tratamiento por 4 días y posteriormente realizamos un seguimiento semanal durante 4 semanas para vigilancia de efectos adversos.

Para la obtención de sangre se procedió a canalizar una vena del antebrazo la cual se mantuvo permeable durante toda la fase del estudio con el fin de evitar venopunturas frecuentes. Se colectaron muestras sanguíneas de 1.5ml en cada toma antes de cesar la infusión y posteriormente una vez que se suspendió a las 2, 6, 12, 16 y 24 horas las muestras biológicas se centrifugaron y se guardaron a -20°C realizándose su proceso durante la primera semana del estudio. Las mediciones de las concentraciones se practicaron en un equipo con polarización de inmunofluorescencia TDX (Therapeutic Drug X) marca Abbott, previamente a medición de concentraciones se corrieron curvas de calibración utilizando patrones de referencia a distintas concentraciones de 0.0 a 1µmol/l.

Cálculos farmacocinéticos

Con el fin de determinar el modelo farmacocinético que explicará mejor el comportamiento de los datos experimentales, se procedió a construir las curvas de decaimiento del logaritmo de las concentraciones plasmáticas en función del tiempo empleando el programa PC_Noline (Programa de Regresión No lineal), este programa nos permitió obtener parámetros farmacocinéticos para cada paciente.

Cálculos estadísticos

El contraste de las hipótesis fue empleando pruebas no paramétricas para muestras normales, en este caso se utilizó la “t” de Students. La comparación de la toxicidad se hizo en base a la prueba exacta de Fisher Evans. La comparación entre los parámetros farmacocinéticos promedio de los grupos con Mtx vs Mtx+AraC se realizó mediante una prueba de “t” de Students.

Resultados y análisis

En el Hospital para el Niño del IMIEM, en la ciudad de Toluca, Estado de México, realizamos el presente trabajo de investigación en el cual se estudiaron 6 pacientes: 2 mujeres y 4 varones del servicio de Hematología con diagnóstico de LLA confirmado por estudio de Médula Ósea, considerados de alto riesgo a presentar recaída temprana por sus parámetros clínicos y de laboratorio al inicio de la enfermedad por lo que en su programa terapéutico incluía altas dosis de Mtx. Todos los pacientes se encontraban en remisión completa continúa sin proceso infeccioso agregado y en condiciones de salud para recibir el tratamiento. En la biometría hemática la hemoglobina fue igual o mayor a 10gr/dl, leucocitos = o > 3,000mm³, plaquetas = o > 150,000, urea sérica <30mg/dl, creatinina 1mg/dl.

La mediana de la edad cronológica de los niños fue de 9 años con valores mínimos de 6 años y máximos de 11 años. El peso corporal correspondió a una mediana de 28.2Kg, variando desde 18.5 a 24Kg. El resto de las variables biológicas así como el número de ciclo de Mtx en el cual se realiza el estudio se anotan en el **Cuadro 1**.

Cuadro No 1

Valores de variables biológicas en los niños con LLA que recibieron tratamiento con Mtx y Mtx+Ara C

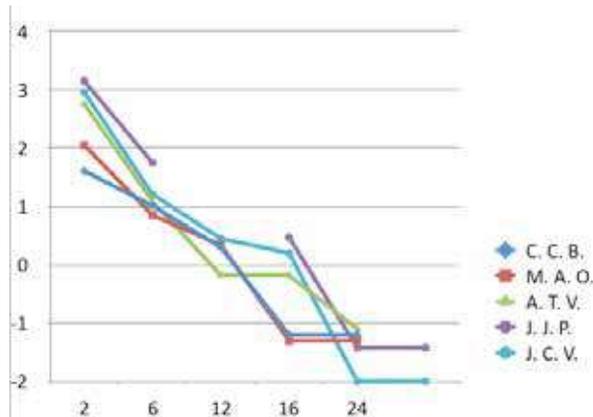
Niños	Sexo (M/F)	Edad (años)	Peso: kg	Talla: m	SC: m ²	Ciclo: Mtx
M.A.O	Femenino	6 años	18.5 kg	1.12 m	0.74 m	3.4
A.T.V.	Femenino	9 años	31.0 kg	1.25 m	1.08 m	4.5
C.C.P.	Masculino	7 años	22.2 kg	1.20 m	0.84 m	3.4
J.J.P.	Masculino	9 años	34.0 kg	1.35 m	1.15m	6.7
J.C.V.	Masculino	10 años	25.4 kg	1.36 m	0.95 m	1.2
J.R.H.	Masculino	11 años	31.0 kg	1.34 m	1.08 m	1.2

4 varones, 2 mujeres rango de edad de 6 a 11 años Md 9 años

La evolución del logaritmo de las concentraciones plasmáticas de Mtx en función del tiempo al cesar la dosis de infusión en cada uno de los niños estudiados se presentan en las figuras 1, 2, 3 y 4 cuyas concentraciones se anotan al pie de las mismas. En la **Figura 1** se ilustra el comportamiento de 5 niños estudiados los cuales presentan curvas monoexponenciales de decaimiento rápido, es decir, se comportaron como eliminadores rápidos, en estos pacientes la cinética de eliminación del Mtx fue de acuerdo a un modelo monocompartamental atribuido esto a que se tuvieron pocos puntos de muestreo (2 a 4). En el presente estudio eliminamos los valores o datos de concentraciones de Mtx de menos de 0.5µM/l dado que la sensibilidad del método empleado no los permite determinar con exactitud pudiendo obtener resultados no confiables.



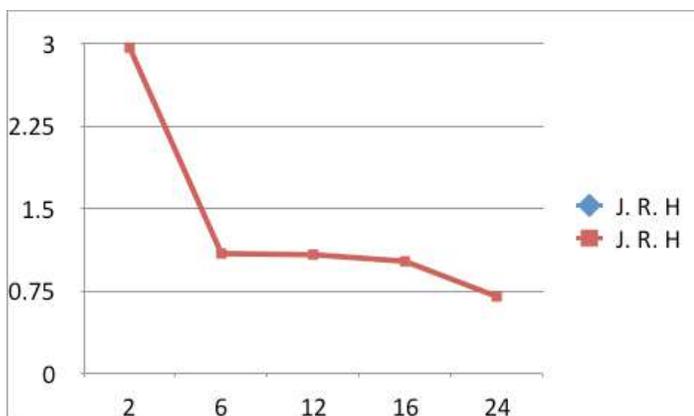
Figura 1. Curvas de decaimiento ajustadas del logaritmo de las concentraciones plasmáticas de Metotrexate en función del tiempo (eliminadores rápidos) Ln[]:logaritmo natural de la concentración



Paciente	TX/Tiempo	2	6	12	16	24
C.C.B.	METOTREXATE(um/l)	5.02	2.76	1.41	0.3	-
	Ln []	1.61	1.01	0.3	-1.2	
M.A.O.	METOTREXATE(um/l)	7.77	2.35	1.41	0.27	-
	Ln []	2.05	0.85	0.34	-1.3	
A.T.V.	METOTREXATE(um/l)	15.88	2.99	0.83	0.33	-
	Ln []	2.76	1.09	-0.18	-1.1	
J.J.P.	METOTREXATE(um/l)	23.36	5.76	-	1.59	0.24
	Ln []	3.15	1.75		0.47	-1.42
J.C.V.	METOTREXATE(um/l)	19.35	3.36	1.57	1.22	0.13
	Ln []	2.96	1.21	0.45	0.20	-2.0

En la **Figura 2** se presenta la curva de decaimiento del logaritmo de la concentración plasmática de Mtx de un paciente en particular que se comportó como eliminador lento. Esta curva tiene dos pendientes +. Podemos observar que en la fase de eliminación (B), el valor de la pendiente es mucho menor con respecto a los otros niños, en este paciente la cinética de eliminación del Mtx es de acuerdo a un modelo bicompartamental. Algunas constantes de laboratorio (Hemoglobina, Leucocitos, Neutrofilos, Plaquetas, Bilirrubina Total y creatinina) se reportan en el **Cuadro 2** (Previas a los tratamientos) y **2.1** (Posteriores a los tratamientos).

Figura 2. Curva de decaimiento ajustada del logaritmo de las concentraciones plasmáticas de Metotrexate en función del tiempo (eliminador lento) Ln[]:Logaritmo natural de la concentración.



Paciente	TX/Tiempo	2	6	12	16	24
J.R.H.	METOTREXATE(um/l)	19.34	2.96	2.96	2.79	2.03
	Ln []	2.96	1.09	1.08	1.02	0.70

Cuadro 2. Mediana y Desviación Estándar de algunos constantes de laboratorio antes del tratamiento con Mtx(Grupo A) y Mtx con AraC (Grupo B).

	Grupo A: pretratamiento	Grupo B: pretratamiento
Hemoglobina (gr/dl)	12.45 +/- 1.09	12.40 +/- 1.1
Leucocitos X 10	12.45 +/- 1.09	3.1 +/- 3.1
Neutrofilos X 10	1.956 +/- 0.5	2 +/- 1.7
Plaquetas X 10	368,000	373,000
Bilirrubina totales (mg/dl)	0.5 +/- 0.12	0.52 +/- 0.5
Creatinina (mg/dl)	0.42 +/- 0.10	0.43 +/- 0.11

Cuadro 2.1. Mediana y Desviación Estándar de algunas constantes de laboratorio después del tratamiento con Mtx (Grupo A) y Mtx con AraC (Grupo B).

Constantes	Grupo A: pretratamiento	Grupo B: pretratamiento
Hemoglobina (gr/dl)	12.55 +/- 1.56	11.6 +/- 0.9
Leucocitos X 10	2.5 +/- 0.73	1.8 +/- 0.40
Neutrofilos X 10	1.2 +/- 0.8	0.857 +/- 0.3
Plaquetas X 10	322,000	320,000
Bilirrubina totales (mg/dl)	0.61 +/- 21	0.63 +/- 0.5
Creatinina (mg/dl)	0.56 +/- 0.15	0.51 +/- 0.9

El programa proporcionó K (en el modelo monocompartmental) o B (en el modelo bicompartmental) y el estado estacionario (C_{ss}). La vida media (T_{1/2}) se calculó como ln2/K o B, esta a su vez nos permite conocer el tiempo en el que el fármaco reduce su concentración a la mitad pero además permite conocer el tiempo en el que el fármaco ha desaparecido en un 99.9% de la circulación y que corresponde a 10 vidas medias. El tiempo de vida media promedio del Mtx fue de 8.333 horas mientras que la combinación Mtx + Ara C fue de 5.1074 horas. El análisis estadístico de estos datos por "t" de Students indica que no hay diferencia significativa entre estos valores. En el **Cuadro 3** se anotan estos resultados del Mtx solo y con AraC.

Cuadro 3. Concentración de Mtx en estado estacionario, vida media y constante de eliminación de los enfermos en ambos tratamientos. Regresión lineal.

Pacientes	Sexo	Peso	MTX			Mtx+AraC		
			C _{ss} (uM/l)	T _{1/2} (hr)	B	C _{ss} (uM/l)	T _{1/2} (hr)	B
J. R. H	Masc.	11Kg	23.28+/-4	31.5006	.02	24.44+/-1	12.1179	.572
C. C. B	Masc.	7Kg	20.32+/-4	5.5051	.12	17.80+/-3	4.9510	.140
M. A. O	Fem.	6Kg	24.03+/-3	4.2265	.16	17.50+/-1	4.5303	.153
A. T. V.	Fem.	9Kg	26.17+/-4	2.3984	.28	24.11+/-8	3.1795	.218
J. J. P.	Masc.	9Kg	17.47+/-1	2.6355	.26	4.21+/-8.	2.1393	.324
J. C. V	Masc.	10Kg	17.71+/-1	3.6265	.18	ND	3.7265	.186
Promedio		8.6	21.4	8.3331	.17	17.61	5.1074	.265
Mediana		9	22.175	3.9265	.17	17.80	4.1284	.202
V.Máximo			26.17	31.5006	.28	24.44	12.1179	.572
V.Mínimo			17.47	2.3984	.02	4.21	2.1393	.140



En el Cuadro 4 se presentan las concentraciones de Mtx en LCR que se obtuvieron en todos los paciente a la hora 6 de iniciada la infusión de Mtx en ambos grupos. La adición del AraC no influyó, dado que el AraC iniciaba su administración a la hora 12 del ciclo. El promedio de la concentración fue de 0.34uM/l que equivale al 1.3% de la concentración promedio del Mtx en plasma.

Cuadro 4. Concentraciones de Metotrexate en el LCR de pacientes que recibieron Metotrexat.

Nombre	Tratamiento	Mtx plasma h6	Mtx LCR Hr 6	%Mtx LCR/Pla
J. R. H.	Tratamiento A	28.84	0.20	0.69
	Tratamiento B	25.51	0.20	0.70
C.C.B.	Tratamiento A	27.18	0.34	1.25
	Tratamiento B	22.98	0.37	1.6
M. A. O.	Tratamiento A	26.74	0.66	2.4
	Tratamiento B	28.99	0.64	2.2
A.T.V.	Tratamiento A	28.39	0.20	0.7
	Tratamiento B	33.96	0.19	0.57
J.J.P.	Tratamiento A	32.42	0.12	0.37
	Tratamiento B	16.86	0.44	2.7
J.C.V.	Tratamiento A	-	-	-
	Tratamiento B	-	-	-
Promedio		27.8	0.33	

Tratamiento A: Metotrexate Tratamiento B: Metotrexate + Arabinosido de Citosina

En el **Cuadro 5** y de acuerdo a los criterios de la Organización Mundial de la Salud (OMS) para la evaluación de toxicidad por quimioterapia antineoplásica (Anexo B), se anotan las diferencias que presenta el grupo A(Mtx)en relación al grupo B(Mtx+AraC) al compararlos mediante la F de Fisher, sólo en la mucositis que se presentó más en el grupo de Mtx tuvo diferencia estadística. Cabe hacer notar que en el grupo A se presentaron 88 eventos adversos, mientras que en el grupo B se presentaron sólo 5. En ambos tratamientos ningún paciente presentó complicación alguna que pusiera en riesgo su vida.

Cuadro 5. Diferencias de Toxicidad entre Grupo A vs Grupo B.

	Grupo A	Grupo B	P
Leucocitos>2000mm ³	2 (33%)	4 (66%)	0.24
Neutrofilia<500mm ³	1 (16%)	1 (16%)	0.54
Vómitos	1 (16%)	0	0.49
Infección	1 (16%)	0	0.49
Anemia	1 (16%)	0	0.49
Mucositis	2 (33%)	0	0.045

Prueba exacta de Fisher Evans

En el **Cuadro 6** se describen las concentraciones de Mtx a la hora 24 de acuerdo a Evans (20). Los niveles de Mtx a la hora 24 >16uM/l se relacionaban con un buen pronóstico. 4 de nuestros pacientes su concentración fue mayor a 16uM/l y 2 pacientes presentaron concentraciones menores a ésta. Sin embargo uno de nuestros pacientes que presentaron recaída hematológica tuvo niveles mayores a 16uM/l y los 5 restantes están ya suspendidos de tratamiento y vigilancia.

Cuadro No 6. Concentraciones de Mtx a la hora 24 de iniciada la infusión en ambos tratamientos (Mtx sólo y Mtx+AraC).

Paciente	MTX (um/l)	MTX+ARA C(um/l)	Vigilancia a 2 años
J.R.H.	19.8	23.7	Remisión
C.C.B.	11.09	11.60	Remisión
M.A.O.	13.9	11.4	Remisión
A.T.V.	17.9	23.36	Remisión
J.J.P.	20.07	-	Remisión
J.C.V.	17.7	-	Remisión

La hipótesis nula de este trabajo, en sus variables de C_{ss}, T_{1/2} y K no se pudo rechazar por lo que no es aceptada nuestra hipótesis de trabajo, lo cual quiere decir que no hay diferencias significativas entre los parámetros farmacocinéticos.

Discusión de los resultados

El metotrexate es una de las drogas más comúnmente usadas en el tratamiento del niño con leucemia aguda. Los protocolos terapéuticos han variado la dosis, no habiendo consenso que diga cuál es la mejor. En general hay disparidad en las dosis de metotrexate, un problema que debe ser resuelto por razones económicas y terapéuticas. Existen diferentes trabajos de la cinética del metotrexate con resultados variables, quizá dependiendo del modelo experimental empleado. El trabajo del Dr. Lares y paredes (32) es semejante al nuestro en cuanto a la infusión endovenosa de 24 horas y en el rescate con ácido folínico a la hora 30, es diferente en la dosis del metotrexate empleada, ellos usaron 500mg/m² y nosotros 2gr/m² sin embargo al igual que el nuestro encontró 2 modelos de eliminación, los rápidos cuando la vida media de eliminación era menor a 10 horas y los lentos cuando la vida media de eliminación es mayor a 10 horas.

Consideramos comparar los resultados obtenidos con ellos separando a los eliminadores rápidos y los lentos. Esta comparación se presenta en el **Cuadro 7**, aplicando una U de Mann Withney no hubo diferencia significativa en la vida media (T_{1/2}), en K (B) ni en la concentración del estado estacionario (C_{ss}) en ambos grupos. En nuestro grupo la concentración en el estado estacionario (C_{ss}) fue mayor probablemente porque la dosis de Metotrexate que utilizamos también fue mayor. No pudimos comparar estadísticamente los resultados de los eliminadores lentos de nosotros con los del Dr. Lares dado que nosotros tuvimos sólo un paciente con este patrón.

Cuadro 7. Comparación de parámetros farmacocinéticos de Mtx del estudio de Lares (32) Vs nuestro estudio (U de Mann Whitney). Eliminadores rápidos.

Estudio	C _{ss} (um/l)	T _{1/2} (hr)	K ó B
LARES	6.29 +/- 7.12	5.99 +/- 1.65	0.12 +/- 0.05
NOSOTROS	21.14 +/- 3.86	3.67 +/- 1.26	0.20 +/- 0.07
"P"	0.05	1.0	0.097



En el cuadro 5 se comparan las diferencias de toxicidad entre el grupo de Metotrexate (tratamiento A) y el de Metotrexate con Arabinosido de Citosina (tratamiento B) encontrando que en el grupo con Ara C hubo menos fenómenos de toxicidad por lo que probablemente el Ara C tenga un efecto (si no farmacocinético si farmacodinámico) protector en cuanto a estos fenómenos.

En el Cuadro 8 comparamos las diferencias entre la vida media ($T_{1/2}$) y la concentración en el estado estacionario (C_{ss}) de los pacientes que fueron eliminadores rápidos, buscando si había diferencias al agregar al ciclo de Metotrexate el Arabinosido de Citosina, no encontramos diferencias significativas estadísticamente hablando. Es decir si comparamos sólo a los paciente que eliminan el metotrexate rápidamente al agregar el Arabinosido de Citosina parece ser que esta adición no modifica la cinética del Metotrexate. Por U Mann Withney no se pudo encontrar diferencia estadística significativa.

Cuadro 8. Comparación de parámetros farmacocinéticos del tratamiento con Mtx y Mtx+AraC en el presente estudio. (U de Mann Whitney) eliminadores rápidos.

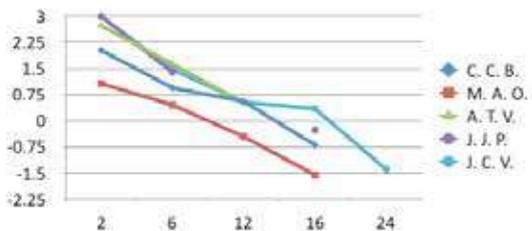
Estudio	$T_{1/2}$ (HORAS)	C_{ss} (um/l)
MTX	3.67 +/- 1.26	21.14 +/- 3.86
MTX+ARA C	3.70 +/- 1.12	15.9 +/- 8.37
"RESULTADO "P"	0.970	0.249

Cuadro 9. Comparación de las vidas medias entre el grupo A con Mtx y el B con Mtx +AraC ("t DE STUDENTS).

$T_{1/2}$ METOTREXATE	$T_{1/2}$ Mtx+Arabinosido de c	"t" DE STUDENTS
8.333 HORAS	5.1074 horas	T=0.656951 con grado de libertad 10 P=0.526042

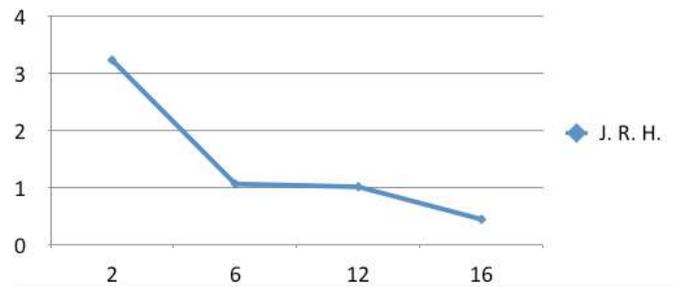
Cuando comparamos todos los resultados (incluyendo al eliminador lento) la vida media del Metotrexate de 8.333 horas disminuye a 5.1074 horas pero al aplicar la "t" de Students la diferencia que se aprecia no resultó ser significativa. Hay que hacer notar que con la adición de Arabinosido de Citosina se aprecia una tendencia a reducir los valores de la vida media del metotrexate incluso en el eliminador lento (Figura 2) al agregar Arabinosido de Citosina la curva se hace rápida (Figura 4) quizá en un estudio más amplio sí se pudiera definir si el Arabinosido de Citosina modifica o no la cinética del Metotrexate. Respecto a las concentración en el liquido cefalorraquídeo obtenidas por nuestro grupo fue de 1.3% comparado con la literatura de 2 a 3% de la concentración plasmática.

Figura 3. Curvas de decaimiento ajustadas del logaritmo de las concentraciones plasmáticas de Metotrexate en función del tiempo (Tratamiento de Mtx + Ara C) Ln []: Logaritmo natural de la concentración.



Paciente	TX/Tiempo	2	6	12	16	24
C.C.B.	ARAC(um/l)	7.54	2.58	1.75	0.49	-
	Ln []	2.02	0.94	0.55	-0.7	-
M.A.O.	ARAC(um/l)	2.90	1.58	0.63	0.21	-
	Ln []	1.06	0.45	-0.46	-1.56	-
A.T.V.	ARAC(um/l)	15.36	5.06	1.68	-	-
	Ln []	2.73	1.62	0.51	-	-
J.J.P.	ARAC(um/l)	20.07	4.05	-	0.76	-
	Ln []	2.99	1.39	-	0.027	-
J.C.V.	ARAC(um/l)	20	4.36	1.71	1.40	0.24
	Ln []	2.99	1.47	0.53	0.34	-1.4

Figura 4. Curva de decaimiento ajustada del logaritmo de la concentración plasmática de metotrexate en función del tiempo (tratamiento de MTX + Ara C). Ln []: logaritmo natural de la concentración.



Paciente	TX/Tiempo	2	6	12	16	24
J.R.H.	ARAC(um/l)	25.6	2.92	2.79	2.158	-
	Ln []	3.24	1.07	1.02	0.45	-

Conclusiones

1. No hay cambios significativos en la farmacocinética del metotrexate sólo en comparación con metotrexate con Arabinosido de Citosina en los indicadores de C_{ss} , T y K_e .
2. En el presente estudio se caracterizaron dos tipos de pacientes dependiendo de la vida media del Metotrexate: eliminadores rápidos y eliminadores lentos. Siendo de los 12 pacientes 11 eliminadores rápidos y un eliminador lento.
3. El metotrexate se encuentra en el líquido cefalorraquídeo en ambos tratamientos solo y cuando se combina con Arabinosido de Citosina, alcanza concentración promedio de 1.3% de la concentración plasmática del fármaco.
4. No hay diferencias significativas en los efectos adversos del tratamiento con Metotrexate en infusión endovenosa solo y en combinación con arabinosido de Citosina.

Sugerencias

1. Sugerimos realizar nuevamente este estudio aumentando el número de unidades de muestra dado que el tamaño de muestra recomendado es de 24 pacientes.
2. Realizar por lo menos 3 determinaciones séricas de metotrexate en un intervalo de tiempo entre cada una equivalente a la vida media del metotrexate (es decir cada 8 horas) o mejor aún a las horas 24, 48 y 100 de iniciada la infusión.



3. Es importante en estudios posteriores realizar determinación de albúmina y correlacionarla con el estado nutricional de los enfermos.
4. Es importante continuar con estudios de la cinética de drogas cuyo margen terapéutico sea muy estrecho.

Referencias bibliográficas

1. Mejía A, Fajardo G; Bernáldez R; Farfán C; Ortiz G; Martínez G.: Incidence Trends of Acute Leukemia among the children. Arch.Med.Res 2006;27(2):223-227
2. Schlieben S, Borkhardt A, Reinisch I, Ritterbach J, Janssen JW et al: Incidence and clinical outcome of children with BCR/ABL positive Acute lymphoblastic Leukemia Therapy trials ALL-13 BM-90 and Co ALL-05-92 Leuk 1996;10(6):957-963.
3. Pinkel D, Woo S; Prevention and Treatment of meningeal Leukemia in Children. Blood.2004; 84; 355.
4. Bleyer A, Coccia PF, Sather N et al: Reduction in Central Nervous System Leukemia with a pharmacokinetically derived intrathecal Methotrexate J clin Oncol. 1983, 1(5): 317-325.
5. Cadman ED, Mechanism of Synergistic Cell Killing When Metotrexate Precedes Cytosine Arabinoside. J. Clinical Investigation. 1979;64:788-797.
6. Rivera G. K. Advances in Therapy for Childhood non-B Lymphoblastic Leukemia. Bailliere's Clin. Hematol. 2004; 7(2):273-298.
7. River Gk, Mauer Ma.: Controversis in the management of Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia: Treatment, Intensification, CNS Leukemia, and the prognostic factors. Seminars Hematol. 1987. 24(1): 12-26.
8. Ochs J. J: Neurotoxicity due to Central Nervous System Therapy for Childhood Leukemia. Am J. Pediatr Hematol. Oncol. 2009. 11 (1): 12-25.
9. Freeman A, Wenberg et al. Comparison of intermediate-dose Metotrexate with cranial irradiation for the post-induction Treatment of Acute Lymphocytic Leukemia in Children. The New England Journal of Medicine. March 3,1983. vol. 308(9): 477-484
10. Niemayer Ch, Gelber R, Tarbell N, et al; Low doses versus High Dose Metotrexate during remisión induction in Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Blood: 1981, 78(10), 2514-2519.
11. Silverman LB, Mac Lean TW, Gelber RD et al; Intensified Therapy for infants with Acute Lymphoblastic Leukemia Results of Dana Farber; Cancer 2005: 80(12), 2285-95.
12. Krance R.A; Newman E. M; Ravynadrath. Harris M. B; Brecher M; Wimmer Christ W; Pinkel D: A pilot study of intermediate dose Methotrexate and Cytosine Arabinoside, in continuation Therapy for Childhood Acute Lymphoblastic Leukemia. Cancer 1991: 67:550
13. Bleyer A; Biology and Pathogenesis of CNS Leukemia. Am. J. Pediatr Hematol. Oncol. 2009 11(1), 57-63
14. Lippens R. J. J: Metotrexate. Pharmacology and Pharmacokinetics. Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol: 1984; 6 (4): 379-94
15. Freeman al. Weingerg V, Brecher MI et al: Comparison of Intermediate dose Methotrexate with cranial irradiation for the postinduction Treatment of Acute Lymphocytic Leukemia in Children. N Eng. J Med 2003, 247-482.
16. Buchholz B, Free E, Eisenbarth et al: Time course of Methotrexate polyglutamate formation and degradation in the pre B Leukemia cell line malm & in lymphoblast from children with Leukemia. Eur. J. Cancer 2006: 32(12), 2101 - 2107
17. Lippens R. J. J. Methotrexate Use in Pediatr Chemotherapy. Am. J. Pediatr. Hematol. Oncol. 1994: 6(4): 397-412
18. Feickert H. J ; Bettoni C; Schrappe M et al: Event-Free survival of children with T-Cell Acute Lymphoblastic Leukemia after introduction of high dose of Methotrexate in multicenter trial. ALL-BFM. 86 Proc. Am. Soc. Clin. Onc. 2003; 12:317
19. Stoller Gr, Handle R.K, Jacobs A.S et al: Use of plasma Pharmacokinetics to predict and prevent Methotrexate Toxicity. N Eng J. Med 1977; 297: 630-34.
20. Evans W, Crom W, Abromowitch M, Dodge R, Look T, et al; Clin Eng J. Med 1986.: 314(8), 417-477.
21. Taketomo Carol, et al. Pediatric Dosage Handbook. Edit Lexicón. 7ª Ed. USA 2000-2001. Pp. 622-624.
22. Herzig RH; Herzig G.p; Wolff S.N; Hines J.D; Fay J.W; Phillips G.L: Central Nervous System effects of High dose Cytosine Arabinoside. Sem. Oncol. 1987 14(2): 21-24
23. Frei E, Bickers J.N. Henlett Js et al: Dose Schedule and anti tumor studies of arabinosylcytosine. Cancer Res 2006; 29:1325. 1332
24. Early A.P. Preisler Hd, Stokum H et al: A pilot Study of high dose 1-b-d arabinofuranosylcytosine for Acute Leukemia and refractory Lymphoma: Clinical Response and Pharmacology. Cancer Res 1982:42: 1587-1594
25. Momparler RL: A model for the Chemotherapy of Acute Leukemia with 1-b-d arabinofuranosylcytosine cancer Res 2014; 34:1775-87.
26. Capizzi RL, Poole M, Cooper Mr. et al: Treatment of por risk a Acute Leukemia with sequential high dose Ara C and asparaginase. Blood 1984: 63; 694-70
27. Kantarian H, Estey, Plunket W et al: Phase I-II Clinical and Pharmacological Studies of High dose Cytosine Arabinoside in refractory Leukemia. Am J. Med. 2006; 21:387-394
28. Kern W; Schleyer E. Unterhalt M; Woman B; Büchner T; Hiddemann W. High antileukemic activity of sequential high dose Cytosine Arabinoside and Mitoxantrone in patients with refractory Acute Leukemia. Cancer 1997. 79; 59-68.
29. Openshaw H; Slatkin N; Stein A; Hinton D; Forman S: Acute polyneuropathy after high dose Cytosine Arabinoside in patients with Leukemia. Cáncer 2006; 78: 1899-1905.
30. Taketomo et al. Pediatric Dosage Handbook. Edit Lexicón. 7ª ed. USA 2000-2001. Pp.276-278.
31. Hardman Joel et al. Las Bases farmacológicas de la Terapéutica. Edit. Mc Graw-Hill. Interamericana 9ª Ed. México D.F 2006 Pp.3-29.
32. Lares Ismael et al, Farmacocinética del Metotrexate en Niños con Leucemia aguda Linfoblástica. Boletín médico del Hospital Infantil de México. Octubre de 1988, Vol. 45(10) 671-680.



Anexo A

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO FARMACOCINÉTICO DE ALTAS DOSIS DE METOTREXATE Y ARABINOSIDO DE CITOSINA EN NIÑOS CON LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA.

De la manera voluntaria y con pleno uso de mis facultades físicas y mentales, doy mi consentimiento para que mi hij@ _____ de ____ años de edad participe en el estudio que tiene como responsables a la Dra. Dolores Mejía López y Dr. GUIPSON DHAITY DHAITY adscritos al servicio de hematología del Hospital del Niño del IMIEM de Toluca Estado de México lo que tiene como finalidad el que se obtenga información y consentimiento necesario para el uso más efectivo del Metotrexate y Arabinosido de Citosina en pacientes pediátricos. He sido informad@ en forma clara y amplia sobre los posibles riesgos y beneficios y de que el estudio farmacocinético requiere de 19 horas de muestra de 1.5mililitros de sangre y que las muestras servirán para cuantificar la concentración de Metotrexate y Arabinosido de Citosina y con estas concentraciones hacer los cálculos necesarios. El equipo de investigadores se han comprometido a darme informes de manera oportuna sobre cualquier duda que les plantee acerca de los procedimientos que se llevarán a cabo , los riesgos, beneficios o cualquier otro asunto relacionado con el tratamiento, así como de proporcionarme información que se obtenga durante el estudio, aunque esta pudiera hacerme cambiar de parecer sobre la permanencia de mi hijo en el mismo. También se me ha informado que las molestias que podría temer mi hij@ durante la toma de sangre para este estudio son las mismas que tiene cuando viene a que le tomen muestra de sangre para su control del medicamento y que los volúmenes de sangre a extraer no representan daño alguno para la salud de mi hij@.

Por lo anterior, libremente y sin ningún tipo de cohesión, reafirmo mi consentimiento para el desarrollo del estudio, sabiendo que puedo retirar el consentimiento para mi hij@ en cualquier momento si así lo creo conveniente, sin que se vea afectad@ en cuanto al servicio y atención que le proporcionan en este hospital. Finalmente de mi hij@ me comprometo a seguir las instrucciones dadas por los doctores responsables de este estudio en Toluca Mex a _____ de ____20.12

Nombre y firma del Padre/Madre/tutor

Nombre y firma del Médico responsable

Testigo

Testigo

Anexo B

CRITERIOS PARA EVALUAR TOXICIDAD QUIMIOTERAPIA ANTINEOPLASIA

Toxicidad	Grado 0	Grado 1	GRADO 2	GRADO 3	Grado 4
Alérgica	Ausente	Edema	Broncospasm o leve	Broncospasm o grave	anafilaxia
Cardiaca	Ausente	FC 110	Arritmia pasajera	Taponade sintomático	taquicardi a
Piel/Anexos	Ausente	Eritema	Prurito seco	Descamación	Exfoliación
INFECCIÓN	Ausente	Leve	infección Moderada	infección Severa	Grave/Hip
Perfil Hígado	Bilirubin tot:1.25	Ictericia+	TGO/TGP/ Fosfatas Alcali	hiperbilirubina	Sangrado
Hematológica	Anemia	Leucopen	Plaquetopenia	Hemorragia grave	Hb<6.5
Neurológica	Alerta	Letargo	somnolencia	Somnolencia	Coma
Perfil renal	normal	proteinuria	hematuria macroscópica	Falla renal	Síndrome Nefrótico
Pulmonar	ausente	Sin leves	disnea esfuerz	Disnea reposo	Postrado/c
Fiebre induci	36.5°C	38°C	38° a 40°C	tempera>40°C	Hipotensió
Dolor	ausente	leve	moderado	intenso	muy intenso