

Farmacogenética del tacrolimus: ¿del laboratorio al paciente?

Beatriz Tavira¹, Carmen Díaz-Corte², Diego Coronel³, Francisco Ortega⁴, Eliecer Coto⁵

¹ Servicio de Genética Molecular. Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo

² Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Central de Asturias. Departamento de Medicina, Universidad de Oviedo

³ Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo

⁴ Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo. Fundación Renal Iñigo Álvarez de Toledo, Madrid

⁵ Servicio de Genética Molecular. Hospital Universitario Central de Asturias, Oviedo. Departamento de Medicina, Universidad de Oviedo. Fundación Renal Iñigo Álvarez de Toledo, Madrid

Nefrología 2014;34(1):11-7

doi:10.3265/Nefrologia.pre2013.Nov.12267

RESUMEN

El tacrolimus es un inmunosupresor ampliamente usado para prevenir el rechazo en el trasplante renal. Los pacientes reciben una dosis inicial estándar y se miden los niveles sanguíneos, con ajuste de la dosis hasta alcanzar una concentración dentro del rango aceptado. Existe una gran variabilidad interindividual en las dosis necesarias para alcanzar ese nivel diana en sangre, y muchos pacientes requieren varias modificaciones de la dosis hasta alcanzarlo. Uno de los principales determinantes de estas diferencias es un polimorfismo del gen *CYP3A5* que determina que alrededor del 80 % de los caucásicos sean metabolizadores lentos y requieran dosis menores que los metabolizadores rápidos. Se ha propuesto que los pacientes trasplantados reciban dosis iniciales de Tac con base en el genotipo *CYP3A5*. Para que este procedimiento fuese aceptado por los clínicos, deberían demostrarse sus ventajas frente al procedimiento actual, más allá de un menor tiempo para alcanzar la dosis óptima. Por ejemplo, menor tasa de nefrotoxicidad y rechazo o menor coste por necesitar, entre otros, menos modificaciones de la dosis de Tac y menos terapia de inducción con anticuerpos.

Palabras clave: Citocromo P450. Farmacocinética. Farmacogenética. Trasplante renal. Tacrolimus.

INTRODUCCIÓN

El objetivo del tratamiento inmunosupresor es prevenir el rechazo del injerto. Para ello se administran fármacos que ac-

Correspondencia: Eliecer Coto

Genética Molecular. Hospital Universitario Central de Asturias. Oviedo. Departamento de Medicina, Universidad de Oviedo. Fundación Renal Iñigo Álvarez de Toledo, Madrid. eliecer.coto@sespa.princast.es

Pharmacogenetics of tacrolimus: from bench to bedside?

ABSTRACT

Tacrolimus (FK-506) is an immunosuppressant widely used to prevent kidney transplant rejection. Patients receive an initial standard dose and the Tacrolimus levels are measured in blood. If necessary, the dose is adjusted to reach a blood concentration within the accepted range. There is great interindividual variability in the dose required to achieve the target blood level, and many patients require multiple modifications of the dose to reach the range. One of the main determinants of these differences is a CYP3A5 gene polymorphism that determines that about 80% of Caucasians are poor metabolizers and require lower doses compared to the extensive metabolizers. It has been proposed that transplanted patients could receive an initial Tacrolimus dose based on the CYP3A5 genotype. This could reduce the time to achieve the optimal blood level, reducing the number of dose modifications. However, to be accepted by clinicians and translated to the clinical practice this adapted dose procedure should give additional advantages such as a significant reduction of the rates of nephrotoxicity and rejection, or a lower cost due to less dose modifications of Tacrolimus and less antibody induction therapy.

Keywords: Cytochrome P450. Pharmacokinetics. Pharmacogenetics. Renal transplant. Tacrolimus.

túan sobre distintas vías de la respuesta aloinmune, tratando de obtener el mayor grado de inmunosupresión, pero minimizando la toxicidad y otros efectos adversos, especialmente el desarrollo de tumores y de infecciones¹. El tratamiento inmunosupresor recomendado consiste en una terapia inicial de «inducción» con anticuerpos (monoclonales o policlonales) dirigida a evitar el rechazo temprano y a reducir las dosis de otros inmunosupresores, especialmente anticalcineurínicos;

revisión corta

y una inmunosupresión de mantenimiento con tres fármacos: un inhibidor de la calcineurina, como el tacrolimus o la ciclosporina A, un inhibidor de la síntesis de purinas (micofenolato mofetilo [MMF]) y esteroides². Otros inmunosupresores, como los inhibidores del receptor de la rapamicina en mamíferos (sirolimus y everolimus), aunque no se suelen utilizar desde el principio, permiten realizar distintas combinaciones inmunosupresoras a lo largo del tiempo.

Para la mayoría de los fármacos cada paciente recibe una dosis inicial en función de variables como el peso y la edad. En el caso de que los niveles del fármaco se puedan medir en la sangre, la dosis puede ser ajustada hasta un valor sanguíneo dentro de un rango aceptable. En el caso de los inmunosupresores, una dosis demasiado baja podría resultar en rechazo del órgano, y una demasiado alta en toxicidad. La variación en los genes (mutaciones y polimorfismos) que codifican proteínas implicadas en la metabolización de los fármacos puede condicionar la concentración sanguínea del principio farmacológicamente activo. Las proteínas codificadas por estos genes con relevancia farmacogenética pueden actuar a nivel de la absorción intestinal (condicionando así la cantidad del fármaco que pasa al torrente sanguíneo) o en el hígado, generando moléculas terapéuticamente inactivas o activas. Por último, pueden modificar al fármaco o sus metabolitos para facilitar su eliminación. Para la mayoría de los genes que participan en esos procesos hay polimorfismos que determinan formas más o menos activas de las proteínas, por lo que a partir de los genotipos correspondientes podríamos incluir a cada paciente dentro de grupos de mejor/peor respuesta terapéutica. En esta revisión analizamos la farmacogenética del tacrolimus, discutiendo los pros y los contras de decidir la dosis con base en el genotipo del paciente.

TACROLIMUS: MECANISMO DE ACCIÓN, FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA

El tacrolimus (FK-506) es un inhibidor de la calcineurina, una fosfoproteína que promueve la transcripción de genes implicados en el crecimiento y diferenciación de los linfocitos T-CD4. Cuando el tacrolimus se une a su diana intracelular, se produce una inhibición de la transcripción de genes como la interleucina-2³. Este inmunosupresor se caracteriza por su variabilidad farmacocinética (interindividual) y tener un margen terapéutico estrecho⁴. Debido a ello, se requiere la monitorización de las dosis de forma continuada durante las primeras semanas posteriores al trasplante con el objetivo de alcanzar un nivel sanguíneo adecuado para evitar el rechazo (niveles demasiado bajos) o la nefrotoxicidad (demasiado altos)^{5,6}. Aunque se absorbe de forma rápida (a nivel intestinal), su biodisponibilidad oral es muy baja: de la dosis total que recibe el paciente solo el 25 % pasaría a la sangre. La concentración sanguínea máxima se alcanza entre una y tres horas después de la toma. La administración, bien en dos tomas (Prograf[®], Astellas) o en una sola toma diaria en el caso

de la forma de liberación prolongada (Advagraf[®]), debería iniciarse dentro de las 24 horas posteriores al trasplante; aunque atendiendo a las características del donante puede haber diferencias entre los centros, tanto en las pautas de administración y las dosis como en las combinaciones con otros inmunosupresores. En el caso del trasplante renal el estudio Symphony recomienda una dosis oral inicial de tacrolimus en el rango 0,10-0,30 mg/kg/día, en función de las características de donante y receptor y de la medicación inmunosupresora asociada⁷.

A nivel intestinal el tacrolimus es sustrato de la glicoproteína-P (PgP) o MDR-1 (*multidrug resistance-1*), codificada por el gen *ABCB1*⁸⁻¹⁰. Esta proteína se encuentra en la membrana de los enterocitos y regula el paso de sustancias desde el interior de la célula hacia el espacio extracelular a través de un mecanismo dependiente de adenosín trifosfato (ATP). Una vez en la sangre, el tacrolimus llegará al hígado, donde es metabolizado por citocromo-P450 reductasas de la familia *CYP3A*, fundamentalmente *CYP3A5* y *CYP3A4*¹¹. Finalmente, los metabolitos son excretados por la orina y la bilis. El estrecho margen terapéutico y la gran variabilidad farmacocinética y farmacodinámica entre individuos hacen necesario medir los niveles sanguíneos del tacrolimus y sus metabolitos para ajustar la dosis hasta alcanzar una concentración circulante adecuada¹². Existen varios métodos de medición basados en el empleo de anticuerpos (ELISA) o en la espectrometría de masas. La monitorización de los niveles «valle» de tacrolimus (C_0) es fundamental durante los primeros días posteriores al trasplante y se realiza inmediatamente antes de cada toma. En el caso del trasplante renal, el estudio Symphony recomienda que los valores C_0 en sangre total se hallen entre 5 y 20 ng/ml durante las primeras semanas posteriores al trasplante, y entre 3 y 12 ng/ml cuando el paciente pase a la terapia de mantenimiento⁷. La monitorización y ajuste de la dosis debe realizarse cuando se introduzcan cambios en el régimen inmunosupresor, en su forma farmacéutica, o después de la administración de otros fármacos que pudieran interferir con su absorción y/o metabolismo (como el clopidogrel y la simvastatina). Estas modificaciones de la dosis serían también necesarias cuando haya sospechas de nefrotoxicidad^{13,14}.

FARMACOGENÉTICA DEL TACROLIMUS

El principal determinante de variabilidad interindividual en las dosis de tacrolimus es la actividad del citocromo P450-3A5, codificado por el gen *CYP3A5*. De todos los polimorfismos de este gen, un cambio de un solo nucleótido (SNP), conocido como *CYP3A5*3* (SNP rs776746), es el principal regulador de la dosis óptima¹⁵⁻¹⁹. Esta variante se halla en el intrón 3 del gen *CYP3A5* y afecta al procesamiento del pre-ARNm, de forma que no tiene lugar una unión perfecta entre los exones 3 y 4. El ARNm resultante tendrá una secuencia anómala, por lo que es inestable y será eliminado por la célula

la, de forma que no se llega a sintetizar proteína^{20,21}. Así, los portadores de dos copias (homocigotos) del alelo *CYP3A5*3* carecen de la proteína (no expresores) frente a los portadores de al menos una copia del alelo normal (designado como *CYP3A5*1*)²²⁻²⁶. En resumen, *CYP3A5*3* permitiría clasificar a cada paciente en un fenotipo «metabolizador lento» (homocigotos *CYP3A5*3*3*), «metabolizador intermedio» o «metabolizador rápido» (heterocigotos *CYP3A5*1*3* y homocigotos *CYP3A5*1*1*, respectivamente). Estos últimos necesitarían las dosis más altas para alcanzar los niveles diana de tacrolimus (tabla 1)²⁴⁻²⁶. Otras variantes génicas podrían estar implicadas en la metabolización del tacrolimus, aunque los resultados obtenidos hasta la fecha no son tan concluyentes como los del *CYP3A5*3*²⁷⁻³⁰. Las diferencias en las frecuencias de los alelos del gen *CYP3A5* entre grupos étnicos podrían explicar el mayor requerimiento de dosis en los afroamericanos: mientras que alrededor del 80 % de los caucásicos son metabolizadores lentos (homocigotos para el alelo *CYP3A5*3*), la mayoría de los sujetos de raza negra son homocigotos *CYP3A5*1*1* (metabolizadores rápidos)^{31,32}. Estas diferencias genéticas podrían también explicar el mayor riesgo de rechazo y nefrotoxicidad entre los afroamericanos³³.

Alrededor del 40 % del tacrolimus que recibe un paciente sería metabolizado por el P450-3A4. En el gen *CYP3A4* se han hallado variantes que podrían afectar a la actividad de este citocromo y, por tanto, a los niveles/dosis de sus fármacos sustrato. En el caso del tacrolimus el polimorfismo *CYP3A4*1B* (SNP rs2740574) en la región promotora del gen (-392 A>G) ha sido relacionado con las dosis, precisando los portadores del alelo *CYP3A4*1B* dosis mayores del fármaco^{22,34,35}. El efecto podría deberse a que este alelo se traduciría en mayores niveles de la proteína. Por otro lado, se han descrito recientemente algunas variantes que podrían afectar al metabolismo del tacrolimus, como el polimorfismo *CYP3A4*2*^{36,37}. Sin embargo, otros estudios no apoyan un

efecto significativo de esta variante del *CYP3A4* sobre los requerimientos de dosis^{38,39}. A la hora de valorar estas discrepancias debemos tener en cuenta que la mayoría de los portadores del alelo *CYP3A4*22* son a su vez homocigotos para el alelo *CYP3A5*3*, por lo que resulta difícil cuantificar su efecto en los pacientes metabolizadores rápidos para *CYP3A5*³⁹.

El gen *ABCB1* codifica la PgP, una proteína que se expresa en muchos tipos celulares y tejidos y regularía la absorción intestinal de muchos fármacos. Se ha descrito una relación entre el polimorfismo C3435T (SNP rs1045642) en el exón 26 del gen y la expresión intestinal de esta glicoproteína, por lo que este (y otros polimorfismos) podría condicionar los requerimientos de dosis de varios fármacos^{40,41}. En el caso del tacrolimus varios estudios hallaron una relación significativa entre la dosis y el genotipo del polimorfismo C3435T^{17,28,42}. Sin embargo, este efecto no ha sido confirmado por otros y tampoco afectaría a la dosis en nuestros pacientes^{17,22,28,42-44}. La expresión de la PgP en las células renales podría condicionar la cantidad de tacrolimus que accede a su interior y, por tanto, el nivel de toxicidad. En este sentido, ha sido descrita una relación entre el genotipo C3435T del donante y el riesgo de nefrotoxicidad⁴⁵. Aunque este estudio abriría una nueva vía farmacogenética en el trasplante renal, está basado en un número reducido de pacientes, por lo que debería confirmarse en otras poblaciones.

APLICACIÓN CLÍNICA DE LA FARMACOGENÉTICA DEL TACROLIMUS

La dosis inicial de tacrolimus se determina en función de variables como la edad, el peso o la raza del paciente^{7,46,47}. Algunos autores han propuesto algoritmos para calcular la dosis inicial que incluyen como variable el genotipo *CYP3A5*, que debería ser determinado antes del trasplan-

Tabla 1. Dosis diaria de tacrolimus (mediana y rango) según el genotipo *CYP3A5* en tres series de trasplantados renales

Población	Referencia	Meses	Dosis de tacrolimus, mg/kg/día mediana (rango)		
			<i>CYP3A5*3*3</i>	<i>CYP3A5*1*3</i>	<i>CYP3A5*1*1</i>
España	Távira ²²	6	n = 320 0,06 (0,013-0,87)	n = 80 0,10 (0,02-0,35)	n = 0 -
		12	0,05 (0,010-0,88)	0,08 (0,01-0,34)	-
Francia	Quteineh ²⁴	6	n = 102 0,09 (0,02-0,38)	n = 21 0,17 (0,07-0,28)	n = 13 0,2 (0,09-0,35)
		12	0,09 (0,02-0,38)	0,15 (0,07-0,29)	0,19 (0,07-0,25)
Japón	Satoh ²⁵	1	n = 22 0,068 (0,04-0,15)	n = 19 0,143 (0,04-0,29)	n = 0 -

revisión corta

te. En teoría, la inclusión del genotipo podría reducir el número de ajustes de la dosis y el tiempo necesario para alcanzar la concentración sanguínea deseada. Para varios fármacos, la elección de una dosis con base en el genotipo ya figura como recomendación de la Food and Drug Administration y otras agencias. En el caso del tacrolimus, para que la comunidad médica aceptase la farmacogenética como criterio de prescripción, el genotipo del paciente debería otorgar alguna ventaja significativa sobre el procedimiento actual: por ejemplo, la reducción del porcentaje de rechazo u otros eventos adversos; menos modificaciones de las dosis postrasplante; ahorro gracias a la reducción del gasto farmacéutico o de la estancia hospitalaria, etc. Sin embargo, hasta ahora no hay estudios que hayan demostrado claramente las ventajas de dar una dosis inicial variable según el genotipo frente al procedimiento actual de una dosis prefijada.

Para demostrar esas ventajas, habría que tratar a un grupo de pacientes con una dosis inicial basada en el genotipo y comparar los resultados con los de otro grupo de similares características (edad, sexo, régimen inmunosupresor) que reciben tacrolimus según las pautas tradicionales. El estudio que más se aproximaría es uno realizado sobre 236 trasplantados renales divididos en dos grupos: 120 pacientes (grupo control) recibieron 0,2 mg/kg/día y 116 pacientes (grupo dosis adaptada) una dosis según el genotipo *CYP3A5*: 0,15 mg/kg/día los metabolizadores lentos (homocigotos *CYP3A5**3*3, n = 90) y 0,30 mg/kg/día los rápidos (portadores *CYP3A5**1, n = 26)⁴⁸. Ahora bien, los pacientes empezaron a recibir tacrolimus a partir del séptimo día posterior al trasplante (y no desde el primer día), manteniéndose bajo terapia de inducción con basiliximab (Simulect®; Novartis, Basel, Switzerland) o con globulina antitimocítica (Thymoglobulin®; Genzyme, Cambridge, MA) durante esa semana. Los dos grupos fueron comparados para el porcentaje de casos con valor C_0 en el rango 10-15 ng/l tras seis dosis orales de tacrolimus, tiempo necesario para alcanzar ese rango, número de modifica-

ciones de la dosis hasta alcanzar el rango, número de sesiones de diálisis hasta funcionamiento del órgano, incidencia de rechazo agudo (demostrado por biopsia), pérdida del órgano y fallecimiento⁴⁸. El estudio concluyó que tras tres días de tratamiento con tacrolimus había un mayor porcentaje de pacientes que alcanzaban el valor diana C_0 (43,2 % frente a 29,1 %; P = 0,03) en el grupo de dosis adaptada, y estos pacientes necesitaron también menos modificaciones de la dosis. Sin embargo, la incidencia de rechazo agudo o los valores de la función renal eran similares entre los dos grupos (tabla 2). El tamaño de la muestra sería suficiente para alcanzar una potencia estadística del 80 %.

Puesto que midiendo los niveles y ajustando la dosis diariamente la mayoría de los pacientes alcanzarían el nivel diana en sangre dentro de las dos primeras semanas posteriores al trasplante, el nefrólogo podría ver poca utilidad en dosificar según el genotipo en ausencia de otras ventajas. Dado que el estudio de Thervet et al. incluyó pacientes tratados con terapia de inducción y una dosis elevada de MMF, no resulta extraño que no hubiese diferencias en el porcentaje de rechazo agudo y otras variables clínicas. Por tanto, habría que evaluar el papel de dosificar según el genotipo en pacientes sin terapia de inducción y prescribiendo la dosis de tacrolimus inmediatamente después del trasplante, en lugar de esperar una semana⁴⁹.

CONCLUSIONES

Aunque el papel del genotipo del *CYP3A5* como determinante de las dosis de tacrolimus es incuestionable, la utilidad de dar una dosis inicial con base en el genotipo podría depender de ventajas más allá de la reducción del número de modificaciones de la dosis. Se necesitan ensayos que demuestren que dar una dosis adaptada reduciría las tasas de nefrotoxicidad y rechazo, o ahorro económico por un menor requerimiento de terapias de inducción o menos tiempo de hospitalización.

CONCEPTOS CLAVE

1. Las diferencias interindividuales en la dosis de tacrolimus están determinadas por un polimorfismo del gen *CYP3A5*.
2. Los sujetos *CYP3A5* metabolizadores lentos (80 % de los caucásicos) requieren las dosis más bajas.
3. Dar una dosis inicial de tacrolimus con base en el genotipo *CYP3A5* podría reducir el tiempo y el número de modificaciones de dosis necesarias para alcanzar el nivel diana en la sangre.
4. Sin embargo, todavía está por determinar si este procedimiento reduciría (entre otras variables) las tasas de toxicidad y rechazo, la necesidad de terapia de inducción o el gasto por hospitalización, entre otras ventajas.

Tabla 2. Resumen del estudio de Thervet et al.⁴⁸

	Grupo control n = 120	Grupo dosis adaptada n = 116	p-valor
Edad media (años)	45,1 (37,0-55,2)	48,8 (39,1-56,1)	ns
Varones	70 %	65 %	ns
% caucásicos	90	89	ns
Edad media donante	48 (39-57)	48,5 (38-58)	ns
Tiempo isquemia frío (h)	16 (12,5-18,8)	16,4 (13,1-19,5)	ns
<i>CYP3A5*3*3</i>	96 (80 %)	90 (78 %)	ns
<i>CYP3A5*1*3</i>	18 (15 %)	22 (19 %)	
<i>CYP3A5*1*1</i>	6 (5 %)	4 (3 %)	
Con C ₀ en rango tras 6 dosis (95 % IC)	29 % (22,8-35,5)	43 % (36,0-51,2)	0,03
Días en alcanzar C ₀ Mediana (1. ^{er} -3. ^{er} cuartil)	7 (3-25)	6 (3-8)	0,01
N.º cambios de dosis	420	281	0,004
N.º diálisis paciente Mediana (1. ^{er} -3. ^{er} cuartil)	2,0 (1-4,5)	2,0 (1-3)	ns
Rechazo agudo (N.º episodios)	6,7 % (9)	8,6 % (11)	ns
Filtrado glomerular ml/min, día 90 Mediana (1. ^{er} -3. ^{er} cuartil)	56 (47-73)	61 (45-73)	ns
Supervivencia	120 (100 %)	115 (99,1 %)	ns

C₀: niveles «valle» de tacrolimus; IC: intervalo de confianza; ns: diferencia no significativa.
p < 0,05.

Resumen del estudio de Thervet et al.⁴⁸ para valorar las ventajas de dar una dosis de tacrolimus con base en el genotipo frente al procedimiento actual: al sexto día postrasplante el grupo control recibió una dosis diaria de 0,20 mg/kg, frente a 0,15 mg/kg los *CYP3A5*3*3* y 0,30 los *CYP3A5*1*3* o **1*1*. El nivel sanguíneo se determinó tras seis días desde la primera toma, ajustándose la dosis para C₀ = 10-15 ng/ml.

Agradecimientos

Estudio financiado por la Red de Investigación Renal del Instituto de Salud Carlos III (RD12/0021/0012; RD12/0021/0018).

Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Halloran F. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *N Engl J Med* 2004;351(26):2715-29.
- Kasiske BL, Zeier MG, Craig JC, Ekberg H, Garvey CA, Green MD, et al. KDIGO clinical practice guideline for the care of kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2009;9 Suppl 3:S1-155.
- Liu J, Farmer JD, Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991;66(4):807-15.

4. Venkataramanan R, Swaminathan A, Prasad T, Jain A, Zuckerman S, Warty V, et al. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus. *Clin Pharmacokinet* 1995;29(6):404-30.
5. Staatz C, Taylor P, Tett S. Low tacrolimus concentrations and increased risk of early acute rejection in adult renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2001;16(9):1905-9.
6. Mayer AD, Dmitrewski J, Squifflet JP, Besse T, Grabensee B, Klein B, et al. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimusrolimus Multicenter Renal Study Group. *Transplantation* 1997;64(3):436-43.
7. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A; ELITE-Symphony Study. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007;357(25):2562-75.
8. Ueda K, Cornwell MM, Gottesman MM, Pastan I, Roninson IB, Ling V, et al. The *mdr1* gene, responsible for multidrug-resistance, codes for P-glycoprotein. *Biochem Biophys Res Commun* 1986;141(3):956-62.
9. Saeki T, Ueda K, Tanigawara Y, Hori R, Komano T. Human P-glycoprotein transports cyclosporin A and FK506. *J Biol Chem* 1993;268(9):6077-80.
10. Hebert MF. Contributions of hepatic and intestinal metabolism and P-glycoprotein to cyclosporine and tacrolimus oral drug delivery. *Adv Drug Deliv Rev* 1997;27(2-3):201-14.
11. Shiraga T, Matsuda H, Nagase K, Iwasaki K, Noda K, Yamazaki H, et al. Metabolism of FK506, a potent immunosuppressive agent, by cytochrome P450 3A enzymes in rat, dog and human liver microsomes. *Biochem Pharmacol* 1994;47(4):727-35.
12. Scholten EM, Cremers SC, Schoemaker RC, Rowshani AT, van Kan EJ, den Hartigh J, et al. AUC-guided dosing of tacrolimus prevents progressive systemic overexposure in renal transplant recipients. *Kidney Int* 2005;67(6):2440-7.
13. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007;357(25):2562-75.
14. Stratta P, Quaglia M, Cena T, Antonioti 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.
15. Dai Y, Hebert MF, Isoherranen N, Davis CL, Marsh C, Shen DD, et al. Effect of CYP3A5 polymorphism on tacrolimus metabolic clearance in vitro. *Drug Metab Dispos* 2006;34(5):836-47.
16. Jacobson PA, Oetting WS, Brearley AM, Leduc R, Guan W, Schladt D, et al. Novel polymorphisms associated with tacrolimus trough concentrations: results from a multicenter kidney transplant consortium. *Transplantation* 2011;91(3):300-8.
17. MacPhee IA, Fredericks S, Tai T, Syrris P, Carter ND, Johnston A, et al. Tacrolimus pharmacogenetics: polymorphisms associated with expression of cytochrome p4503A5 and P-glycoprotein correlate with dose requirement. *Transplantation* 2002;74(11):1486-9.
18. Thervet E, Anglicheau D, King B, Schlageter MH, Cassinat B, Beaune P. Impact of cytochrome p450 3A5 genetic polymorphism on tacrolimus doses and concentration-to-dose ratio in renal transplant recipients. *Transplantation* 2003;76:1233-5.
19. Haufroid V, Wallemacq P, VanKerckhove V, Elens L, De Meyer M, Eddouze DC, et al. CYP3A5 and ABCB1 polymorphisms and tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant candidates: guidelines from an experimental study. *Am J Transplant* 2006;6(11):2706-13.
20. Kuehl P, Zhang J, Lin Y, Lamba J, Assem M, Schuetz J, et al. Sequence diversity in CYP3A promoters and characterization of the genetic basis of polymorphic CYP3A5 expression. *Nat Genet* 2001;27(4):383-91.
21. Hustert E, Haberl M, Burk O, Wolbold R, He YQ, Klein K, et al. The genetic determinants of the CYP3A5 polymorphism. *Pharmacogenetics* 2001;11(9):773-9.
22. Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Ortega F, Arias M, Torres A, et al. Pharmacogenetics of tacrolimus after renal transplantation: analysis of polymorphisms in genes encoding 16 drug metabolizing enzymes. *Clin Chem Lab Med* 2011;49(5):825-33.
23. Tsuchiya N, Satoh S, Tada H, Li Z, Ohyama C, Sato K, et al. Influence of CYP3A5 and MDR1 (ABCB1) polymorphisms on the pharmacokinetics of tacrolimus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2004;78(8):1182-7.
24. Quteineh L, Verstuylt C, Furlan V, Durrbach A, Letierce A, Ferlicot S, et al. Influence of CYP3A5 genetic polymorphism on tacrolimus daily dose requirements and acute rejection in renal graft recipients. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2008;103(6):546-52.
25. Satoh S, Saito M, Inoue T, Kagaya H, Miura M, Inoue K, et al. CYP3A5 *1 allele associated with tacrolimus trough concentrations but not subclinical acute rejection or chronic allograft nephropathy in Japanese renal transplant recipients. *Eur J Clin Pharmacol* 2009;65(5):473-81.
26. MacPhee IA, Holt DW. A pharmacogenetic strategy for immunosuppression based on the CYP3A5 genotype. *Transplantation* 2008;85(2):163-5.
27. Miura M, Satoh S, Kagaya H, Saito M, Numakura K, Tsuchiya N, et al. Impact of the CYP3A4*1G polymorphism and its combination with CYP3A5 genotypes on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant patients. *Pharmacogenomics* 2011;12(7):977-84.
28. Roy JN, Barama A, Poirier C, Vinet B, Roger M. Cyp3A4, Cyp3A5, and MDR-1 genetic influences on tacrolimus pharmacokinetics in renal transplant recipients. *Pharmacogenet Genomics* 2006;16(9):659-65.
29. Min SI, Kim SY, Ahn SH, Min SK, Kim SH, Kim YS, et al. CYP3A5 *1 allele: impacts on early acute rejection and graft function in tacrolimus-based renal transplant recipients. *Transplantation* 2010;90:1394-400.
30. Hesselink DA, van Schaik RH, van der Heiden IP, van der Werf M, Gregoor PJ, Lindemans J, et al. Genetic polymorphisms of the CYP3A4, CYP3A5, and MDR-1 genes and pharmacokinetics of the calcineurin inhibitors cyclosporine and tacrolimus. *Clin Pharmacol Ther* 2003;74(3):245-54.
31. Dirks NL, Huth B, Yates CR, Meibohm B. Pharmacokinetics of immunosuppressants: a perspective on ethnic differences. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2004;42(12):701-18.
32. Neylan JF. Racial differences in renal transplantation after immunosuppression with tacrolimus versus cyclosporine. FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1998;65(4):515-23.
33. Padiyar A, Augustine JJ, Bodziak KA, Aeder M, Schulak JA, Hricik DF. Influence of African-American ethnicity on acute rejection after early steroid withdrawal in primary kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 2010;42(5):1643-7.

34. Kuypers DR, de Jonge H, Naesens M, Lerut E, Verbeke K, Vanrenterghem Y. CYP3A5 and CYP3A4 but not MDR1 single-nucleotide polymorphisms determine long-term tacrolimus disposition and drug-related nephrotoxicity in renal recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2007;82(6):711-25.
35. Amirimani B, Ning B, Deitz AC, Weber BL, Kadlubar FF, Rebbeck TR. Increased transcriptional activity of the CYP3A4*1B promoter variant. *Environ Mol Mutagen* 2003;42(4):299-305.
36. Elens L, van Schaik RH, Panin N, de Meyer M, Wallemacq P, Lison D, et al. Effect of a new functional CYP3A4 polymorphism on calcineurin inhibitors' dose requirements and trough blood levels in stable renal transplant patients. *Pharmacogenomics* 2011;12(10):1383-96.
37. Elens L, Bouamar R, Hesselink DA, Haufroid V, van der Heiden IP, van Gelder T, et al. A new functional CYP3A4 intron 6 polymorphism significantly affects tacrolimus pharmacokinetics in kidney transplant recipients. *Clin Chem* 2011;57(11):1574-83.
38. Tavira B, Coto E, Diaz-Corte C, Alvarez V, Lopez-Larrea C, Ortega F. A search for new CYP3A4 variants as determinants of tacrolimus dose requirements in renal-transplanted patients. *Pharmacogenet Genomics* 2013;23(8):445-8.
39. Santoro AB, Struchiner CJ, Felipe CR, Tedesco-Silva H, Medina-Pestana JO, Suarez-Kurtz G. CYP3A5 genotype, but not CYP3A4*1b, CYP3A4*22, or hematocrit, predicts tacrolimus dose requirements in Brazilian renal transplant patients. *Clin Pharmacol Ther* 2013;94(2):201-2.
40. Hoffmeyer S, Burk O, von Richter O, Arnold HP, Brockmoller V, Johne A, et al. Functional polymorphisms of the human multidrug-resistance gene: multiple sequence variations and correlation of one allele with P-glycoprotein expression and activity in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000;97(7):3473-8.
41. Zimprich F, Sunder-Plassmann R, Stogmann E, Gleiss A, Dal-Bianco A, Zimprich A, et al. Association of an ABCB1 gene haplotype with pharmacoresistance in temporal lobe epilepsy. *Neurology* 2004;63(6):1087-9.
42. Op den Buijsch RA, Christiaans MH, Stolk LM, de Vries JE, Cheung CY, Undre NA, et al. Tacrolimus pharmacokinetics and pharmacogenetics: influence of adenosine triphosphate-binding cassette B1 (ABCB1) and cytochrome (CYP) 3A polymorphisms. *Fundam Clin Pharmacol* 2007;21(4):427-35.
43. Fredericks S, Moreton M, Reboux S, Carter ND, Goldberg L, Holt DW, et al. Multidrug resistance gene-1 (MDR-1) haplotypes have a minor influence on tacrolimus dose requirements. *Transplantation* 2006;82(5):705-8.
44. Ciftci HS, Ayna TK, Caliskan YK, Guney I, Bakkaloglu H, Nane I et al. Effect of MDR1 polymorphisms on the blood concentrations of tacrolimus in Turkish renal transplant patients. *Transplant Proc* 2013;45(3):895-900.
45. Naesens M, Lerut E, de Jonge H, Van Damme B, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Donor age and renal P-glycoprotein expression associate with chronic histological damage in renal allografts. *J Am Soc Nephrol* 2009;20(11):2468-80.
46. Wang P, Mao Y, Razo J, Zhou X, Wong ST, Patel S, et al. Using genetic and clinical factors to predict tacrolimus dose in renal transplant recipients. *Pharmacogenomics* 2010;11(10):1389-402.
47. Passey C, Birnbaum AK, Brundage RC, Schladt DP, Oetting WS, Leduc RE, et al. Validation of tacrolimus equation to predict troughs using genetic and clinical factors. *Pharmacogenomics* 2012;13(10):1141-7.
48. Thervet E, Lorient MA, Barbier S, Buchler M, Ficheux M, Choukroun G, et al. Optimization of initial tacrolimus dose using pharmacogenetic testing. *Clin Pharmacol Ther* 2010;87(6):721-6.
49. van Gelder T, Hesselink DA. Dosing tacrolimus based on CYP3A5 genotype: will it improve clinical outcome? *Clin Pharmacol Ther* 2010;87(6):640-1.