

Universidade de Lisboa

Faculdade de Farmácia



**Farmacocinética e monitorização das
concentrações séricas do tacrolimus**

Inês Sousa Pinto Ferreira

Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

2020

**Universidade de Lisboa
Faculdade de Farmácia**



Farmacocinética e monitorização das concentrações séricas do tacrolimus

Inês Sousa Pinto Ferreira

**Monografia de Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas
apresentada à Universidade de Lisboa através da Faculdade de Farmácia**

**Orientador: Professora Auxiliar Convidada, Doutora Ana Paula
Ramos Carrondo Dias de Matos**

2020

Resumo

O tacrolimus é um inibidor da calcineurina e um dos principais fármacos utilizados na terapêutica imunossupressora após transplante. Contudo, apresenta marcados efeitos adversos, variabilidade farmacocinética e farmacodinâmica intra e interindividual e índice terapêutico estreito, pelo que é alvo de monitorização farmacoterapêutica para assegurar que a concentração do fármaco no sangue se encontra dentro da margem terapêutica. Esta monitorização é essencial para garantir a eficácia da ação imunossupressora do tacrolimus, prevenindo a rejeição do órgão transplantado, e minimizar a sua toxicidade. Atualmente, a monitorização do tacrolimus é realizada através do doseamento do fármaco no sangue, numa frequência que depende do tempo após o transplante e das características do doente, sendo as doses subseqüentes definidas com base nos resultados obtidos. A presente dissertação teve como objetivo realizar uma revisão da bibliografia existente acerca da farmacocinética e monitorização do tacrolimus, procurando identificar as principais problemáticas atuais e desafios futuros, no que diz respeito à utilização deste fármaco. Devido à sua elevada variabilidade farmacocinética e farmacodinâmica, é difícil definir a dose mais adequada de tacrolimus a administrar a cada doente para que as concentrações séricas do fármaco se encontrem dentro da margem terapêutica. Sabe-se que os principais fatores relacionados com a variabilidade deste fármaco são a idade, etnia, género, função renal e hepática, terapêutica concomitante e fatores genéticos, como os polimorfismos associados às isoenzimas do CYP450, especialmente o CYP3A5. Deste modo, concluiu-se que a caracterização dos doentes sob terapêutica com tacrolimus, recorrendo nomeadamente à farmacogenética para otimizar e individualizar a dose a administrar, tem um papel extremamente importante na minimização da toxicidade do fármaco e prevenção de concentrações subterapêuticas e, conseqüentemente, na prevenção da rejeição e perda do órgão transplantado. As estratégias que integram algoritmos baseados em indicadores farmacogenéticos e outros, como o tipo de formulação e características dos doentes, devem ser implementadas de forma a reduzir a rejeição do órgão transplantado.

Palavras-chave: tacrolimus; farmacocinética; farmacogenética; monitorização farmacoterapêutica; transplante renal

Abstract

Tacrolimus is a calcineurin inhibitor and one of the main drugs used in immunosuppressive therapy after organ transplantation. However, it has marked adverse effects, intra and interindividual pharmacokinetic and pharmacodynamic variability and a narrow therapeutic index, so it must undergo therapeutic drug monitoring in order to ensure that the drug whole blood levels lie within the therapeutic margin. Therapeutic drug monitoring is essential to ensure the effectiveness of tacrolimus immunosuppressive action, preventing rejection of the transplanted organ, and to minimize this drug toxicity. Currently, monitoring of tacrolimus is performed by measuring the drug whole blood levels at a frequency that depends on the time elapsed since transplantation and the patient's profile with the subsequent doses being determined based on the results obtained. The present article aimed to carry out a review of the existing literature on tacrolimus pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring, identify the main current problems and future challenges, with regard to the use of this drug. Due to its high pharmacokinetic and pharmacodynamic variability, it is difficult to determine the most adequate dose to be administered to each patient so that tacrolimus whole blood levels are within the therapeutic margin. It is well-known that the main factors related to this drug variability are age, ethnicity, gender, kidney and liver function, concomitant therapy and genetic factors, such as polymorphisms associated with CYP450 isoenzymes, specially CYP3A5. Thus, it was concluded that the characterization of patients undergoing tacrolimus therapy, using pharmacogenetics to optimize and personalize tacrolimus dosing, has an extremely important role in minimizing its toxicity, preventing subtherapeutic drug levels and, consequently, avoiding rejection and loss of the transplanted organ. Strategies that integrate algorithms based on pharmacogenetic indicators and others such as the type of formulation and the patients characteristics must be implemented to reduce the rejection of the transplanted organ.

Keywords: tacrolimus; pharmacokinetics; pharmacogenetics; therapeutic drug monitoring; kidney transplant

Agradecimentos

Quero expressar o meu sincero agradecimento a todos aqueles que contribuíram para a conclusão desta etapa da minha vida.

Em primeiro lugar, à minha família pelo apoio e motivação ao longo do meu percurso académico e por me terem proporcionado esta conquista.

Ao Gui, por toda a partilha, cumplicidade e apoio incondicional em todas as vertentes da minha vida e por ter sempre uma palavra de carinho em todas as situações.

À Iris e ao Nuno, por todos os momentos e partilhas ao longo destes cinco anos que não seriam os mesmos sem eles.

Por fim, um agradecimento especial à Professora Doutora Ana Paula Carrondo pela ajuda e partilha de conhecimento com vista a alcançar os objetivos desta dissertação.

Abreviaturas

AUC – área sob a curva

AUC 0-12h – área sob a curva entre as 0 e as 12 horas

C_{min} – concentração mínima

C_{máx} – concentração máxima

IR-tacrolimus – formulação de liberação imediata de tacrolimus

ER-tacrolimus – formulação de liberação prolongada de tacrolimus

GFR – taxa de filtração glomerular

HIV – vírus da imunodeficiência humana

HLA – antígeno leucocitário humano

IL-2 – interleucina-2

LCPT – formulação de liberação prolongada de tacrolimus, com a tecnologia MeltDose

mTOR – alvo da rapamicina nos mamíferos

M-I – 13-o-desmetil tacrolimus

M-II – 31-o-desmetil tacrolimus

M-III – 15-o-desmetil tacrolimus

Rácio C/D – rácio entre a concentração mínima e a dose diária

TDM – monitorização das concentrações séricas de fármacos

T_{máx} – tempo em que é observada a concentração máxima

Índice Geral

Resumo	3
Abstract	4
Agradecimentos	5
Abreviaturas	6
Índice Geral	7
Índice de Figuras	9
Índice de Tabelas	10
1. Introdução	11
1.1 Terapêutica de imunossupressão	11
1.2 Sobre o tacrolimus	12
2. Objetivos	14
3. Materiais e Métodos	15
4. Farmacocinética	16
4.1 Absorção	16
4.2 Distribuição	17
4.3 Metabolização	17
4.4 Eliminação	18
4.5 Parâmetros Farmacocinéticos	18
4.6 Variabilidade	20
4.6.1 População idosa	23
4.6.2 Doentes sensibilizados contra o antígeno leucocitário humano (HLA)	24
4.6.3 Pediatria	24
5. Farmacodinâmica	25
5.1 Mecanismo de ação	25
5.2 Indicação Terapêutica	25
5.3 Regimes Terapêuticos	25
5.3.1 Transplante Renal	28
5.3.2 Transplante Hepático	29
5.3.3 Transplante Cardíaco e Pulmonar	30
5.3.4 Transplante de Medula Óssea	30
5.4 Administração	31
5.4.1 Formulações Orais	32

5.4.1.1	Comparação de Perfis Farmacocinéticos	33
5.4.1.2	Mudança de Formulação	34
5.4.1.3	Genéricos	35
5.4.1.4	Adesão à Terapêutica	36
5.5	Toxicidade.....	37
5.6	Interações	38
6.	Monitorização	41
6.1	Métodos Analíticos	44
7.	Discussão	46
8.	Conclusões	48
	Referências Bibliográficas	49
	Anexos	54
	A1. Licença de utilização da Figura 1	54
	A2. Licença de utilização da Figura 2	60

Índice de Figuras

- Figura 1: Algoritmo de previsão da dose de tacrolimus a administrar a cada doente, utilizado num estudo chinês. N representa a amostra e Dose a dose a administrar. (Reproduzido com permissão de Tang et al.)23
- Figura 2: Perfil farmacocinético em concentração média no sangue total em função do tempo do tacrolimus de libertação imediata, de libertação prolongada e LCPT, após normalização relativamente à formulação de libertação imediata. (Reproduzido com permissão de Tremblay et al.)34

Índice de Tabelas

Tabela 1: Fatores que contribuem para a variabilidade da biodisponibilidade oral do tacrolimus.....	16
Tabela 2: Parâmetros farmacocinéticos do tacrolimus (Adaptado de Micromedex)...	18
Tabela 3: Protocolo farmacoterapêutico do tacrolimus no Centro de Transplantação de Maastricht (Adaptado de Hooff et al.)	27
Tabela 4: Protocolo de margens terapêuticas do tacrolimus utilizado no centro de transplantação da Columbia Britânica, Canadá (Adaptado de Clinical Guidelines for Transplantation Medications).....	27
Tabela 5: Sistema de graduação dos níveis de evidência e graus de recomendação utilizados neste documento (Adaptado de Brunet et al.)	31
Tabela 6: Interações Farmacológicas com o Tacrolimus (Adaptado de Brunet et al.)	40

1. Introdução

1.1 Terapêutica de imunossupressão

Com a prática de procedimentos de transplante entre doadores e recetores não idênticos geneticamente, tornou-se necessário suprimir a resposta imunológica do recetor para prevenir a rejeição do enxerto. Quando foram realizados os primeiros transplantes, a sobrevivência dos enxertos era medida em semanas ou meses. Atualmente, a sobrevivência dos enxertos, especialmente no que diz respeito aos transplantes renais, é medida em décadas. A sobrevivência do enxerto e do transplantado tem melhorado significativamente graças aos desenvolvimentos na terapêutica imunossupressora, em grande parte devido à descoberta da classe de imunossupressores inibidores da calcineurina, como a ciclosporina e o tacrolimus.(1)

A tolerância à transplantação refere-se ao processo imunológico ativo em que a imunossupressão farmacológica pode ser totalmente retirada e não ocorre rejeição do órgão transplantado. Este processo não é aplicável no caso do tacrolimus, uma vez que, até então, todas as tentativas de remoção da terapêutica com este fármaco resultaram no desenvolvimento de anticorpos dador-específicos e na ocorrência de fenómenos de rejeição aguda.(2) Assim, uma vez que os protocolos de tolerância não são aplicáveis nestes doentes, permanece a necessidade de recorrer a terapêuticas de imunossupressão que previnam a rejeição.(1)

Existem três categorias terapêuticas de imunossupressão: terapêutica de indução, terapêutica de manutenção e terapêutica de rejeição. O tacrolimus inclui-se na categoria de terapêutica imunossupressora de manutenção. Além dos inibidores da calcineurina, como o tacrolimus e a ciclosporina, outras classes de fármacos como os antimetabolitos, os corticosteroides, os inibidores de co-estimulação e os inibidores do alvo da rapamicina nos mamíferos (inibidores do mTOR) são também usados como terapêutica imunossupressora de manutenção. Podem ser associados fármacos de classes diferentes para manter a eficácia imunossupressora e minimizar os efeitos adversos, através da redução das doses individuais de cada um dos fármacos, comparativamente com as doses administradas quando usados isoladamente. Os inibidores da calcineurina são utilizados, geralmente, em associação com os antimetabolitos e os corticosteroides.(1)

1.2 Sobre o tacrolimus

O tacrolimus, inibidor da calcineurina, é um macrólido com um anel de lactona de 23 membros, isolado pela primeira vez em 1987, a partir de *Streptomyces tsukubaensis*. Em 1994, a Food and Drug Administration (FDA) aprovou o tacrolimus para a profilaxia da rejeição do transplante de fígado, tendo, posteriormente, sido aprovado como regime de primeira linha para os transplantes de rim, coração, pulmão, intestino e medula óssea. Este fármaco veio substituir a ciclosporina, outro inibidor da calcineurina, que dominava até então o mercado dos fármacos imunossupressores, uma vez que apresenta melhor biodisponibilidade e melhor correlação entre a área sob a curva e a concentração mínima (C_{min}), tornando mais fácil a sua monitorização.(1) Além disso, o tacrolimus tem como vantagem não apresentar interação com as estatinas, ao contrário da ciclosporina.(3)

Desde a introdução do tacrolimus, têm sido conduzidos vários estudos no sentido de comparar a segurança e a eficácia do tacrolimus e da ciclosporina. Um estudo verificou que a incidência de rejeição aguda um ano após o transplante, bem como de rejeição moderada a severa, foi inferior no grupo de doentes tratados com tacrolimus, comparativamente com o grupo tratado com ciclosporina. No mesmo sentido, cinco anos após o transplante, o rácio de doentes que apresentavam níveis séricos de creatinina superiores a 150 mcg/L foi inferior no grupo tratado com tacrolimus. Por outro lado, o desenvolvimento de diabetes mellitus pós-transplante e a manifestação de efeitos adversos como tremores e parestesias foi menor no grupo de doentes tratados com ciclosporina.(4) Uma meta-análise de 30 ensaios que compararam o tacrolimus com a ciclosporina verificou uma redução significativa na incidência de rejeição aguda, falência do enxerto e rejeição relacionada com a resistência aos esteroides nos doentes tratados com tacrolimus, mas maior incidência de diabetes mellitus pós-transplante, tremores, cefaleias, diarreia, dispepsia e vômitos. Por outro lado, os doentes tratados com ciclosporina apresentaram maior incidência de obstipação e efeitos adversos cosméticos.(5) Mais ainda, vários dos ensaios verificaram melhor função renal nos doentes tratados com tacrolimus.(5) Não foram observadas diferenças no que diz respeito à ocorrência de infeções e malignidade.(6)

O tacrolimus apresenta, assim, uma potente capacidade imunossupressora, o que previne a rejeição do enxerto, é geralmente bem tolerado e de fácil doseamento, pelo que é um dos fármacos mais importantes na prevenção da rejeição pós-transplante.(1)

A utilização do tacrolimus tem aumentado continuamente desde os anos 90, mesmo com o desenvolvimento de novos fármacos, como o belatacept, que está associado a uma excelente melhoria da função renal a longo prazo, mas com uma maior frequência de episódios de rejeição aguda nos primeiros meses após o transplante, apresentando ainda a desvantagem de ser administrado por via intravenosa.(8) Atualmente, a terapêutica de cerca de 90% dos doentes submetidos a transplante de rim ou fígado inclui o tacrolimus como um dos fármacos imunossupressores.(7)

Tal como referido anteriormente, apesar do tacrolimus ser o inibidor da calcineurina de eleição para a prevenção da rejeição em transplantes de órgãos sólidos, a sua utilização não é isenta de efeitos adversos, nomeadamente nefrotoxicidade, sequelas neurológicas, diabetes e risco aumentado de infeções. Nesse sentido, embora o tacrolimus esteja associado a uma melhoria da resposta clínica nos doentes transplantados, existe ainda uma lacuna no mercado para agentes imunossupressores que não causem os efeitos adversos significativos a longo prazo dos inibidores da calcineurina.(1)

O tacrolimus apresenta ainda uma grande variabilidade farmacocinética, flutuações entre a concentração máxima ($C_{máx}$) e a C_{min} significativas e um índice terapêutico estreito.(1)

Após um grande número de ensaios clínicos, existem atualmente princípios estabelecidos para a otimização do uso do tacrolimus. Estes incluem a individualização da dose através da determinação frequente da concentração sérica deste fármaco, com o objetivo de alcançar concentrações dentro da margem terapêutica estabelecida. Apesar da terapêutica imunossupressora ter contribuído para a redução da incidência de rejeição aguda comprovada através de biópsia no primeiro ano após transplante renal e hepático em cerca de 15% e 25%, respetivamente, existe ainda espaço para melhoria.(9) Tem-se verificado que um grande número de doentes perde o enxerto por um processo de rejeição mediada por anticorpos, provavelmente devido a imunossupressão insuficiente. Deste modo, é imperativo a procura e desenvolvimento de métodos que permitam estudar melhor a resposta individual ao fármaco para otimizar e individualizar a dose de tacrolimus que assegure a exposição mínima necessária ao fármaco para cada doente.(9)

2. Objetivos

Atualmente, o tacrolimus é um fármaco de primeira linha na terapêutica imunossupressora de manutenção para profilaxia da rejeição de órgãos transplantados nos centros de transplantação por todo o mundo. Neste sentido, é de extrema importância continuar a estudar e conhecer cada vez melhor as variáveis que influenciam a resposta dos doentes transplantados ao tacrolimus, bem como desenvolver regimes terapêuticos e metodologias de monitorização individualizados, integrando a análise do perfil farmacocinético, farmacodinâmico e farmacogenético de cada doente, para evitar a rejeição e perda do órgão transplantado.

Face à pertinência do tema, foi elaborada a presente dissertação com o objetivo de descrever o perfil farmacocinético e farmacodinâmico do tacrolimus, identificar os fatores que contribuem para a variabilidade na resposta clínica ao mesmo, descrever os métodos utilizados para a monitorização da terapêutica com tacrolimus e abordar as problemáticas atuais no que concerne à utilização deste fármaco.

3. Materiais e Métodos

Para a elaboração desta monografia foi realizada uma revisão bibliográfica extensa e sistemática, utilizando as bases de dados online PubMed e Micromedex. A pesquisa nestas bases de dados foi conduzida através da introdução de combinações das seguintes palavras-chave: tacrolimus, pharmacokinetics, therapeutic drug monitoring, kidney transplant.

Foram ainda consultados os Resumos das Características do Medicamento (RCM) das formulações de libertação imediata e prolongada de tacrolimus, cuja pesquisa foi efetuada na base de dados Infomed.

4. Farmacocinética

A farmacocinética do tacrolimus é influenciada por inúmeros fatores que incluem a idade e a raça do doente, as variantes genéticas na expressão do citocromo P450 (CYP) e da glicoproteína-P, a presença de hepatite C, a função hepática, o tempo decorrido desde o transplante, o hematócrito, a concentração de albumina, diarreia e inúmeras interações farmacológicas.(1)

4.1 Absorção

O tacrolimus administrado por via oral é rapidamente absorvido, atingindo o pico de concentração 0,5 a 1 hora após a administração, apresentando uma biodisponibilidade média de 25%, podendo variar entre 5 e 90% entre indivíduos. Nos doentes submetidos a transplante hepático este fármaco apresenta um perfil de absorção tendencialmente constante.(10)

O tacrolimus sofre efeito de primeira passagem através da glicoproteína-P e das enzimas do CYP3A, no fígado e intestino delgado.(6)

A fraca dissolução do tacrolimus nos sucos gástricos, a administração com alimentos, a motilidade gastrointestinal errática, a metabolização pré-sistêmica extensiva pelas enzimas do CYP3A na parede intestinal e no fígado e a atividade da bomba de efluxo da glicoproteína-P são fatores relevantes que contribuem para a variabilidade na absorção deste fármaco. Assim, o tacrolimus deve ser administrado com o estômago vazio ou 1 hora antes ou 2 a 3 horas depois das refeições.(9) Por outro lado, alterações na motilidade gastrointestinal podem também afetar a absorção e a exposição ao fármaco. Paradoxalmente, em casos de diarreia, a C_{min} do tacrolimus tende a aumentar pela diminuição da atividade da glicoproteína-p a nível intestinal causada pelos danos na mucosa.(6)

Tabela 1: Fatores que contribuem para a variabilidade da biodisponibilidade oral do tacrolimus

Fatores que diminuem a biodisponibilidade oral do tacrolimus	Fatores que aumentam a biodisponibilidade oral do tacrolimus
Administração com alimentos	Administração sem alimentos
Aumento da motilidade gastrointestinal	Diminuição da motilidade gastrointestinal (ex.: idosos)

Metabolização pré-sistêmica extensiva pelas enzimas do CYP3A (metabolizadores rápidos)	Diminuição da metabolização pré-sistêmica extensiva pelas enzimas do CYP3A (metabolizadores lentos)
Administração concomitante com fármacos indutores do CYP3A	Administração concomitante com fármacos inibidores do CYP3A
Aumento da atividade das bombas de efluxo da glicoproteína-p (polimorfismos genéticos)	Diminuição da atividade das bombas de efluxo da glicoproteína-p (polimorfismos genéticos)
Diminuição da secreção ácida no estômago (ex.: idosos)	Aumento da secreção ácida no estômago
Diminuição da superfície absorptiva a nível intestinal (ex.: idosos)	_____

4.2 Distribuição

O tacrolimus liga-se aos eritrócitos de um modo dependente da concentração. No plasma, cerca de 99% do tacrolimus encontra-se ligado às proteínas plasmáticas, nomeadamente a alfa1-glicoproteína ácida, a albumina e, numa parte significativamente menor, às lipoproteínas.(9)

A glicoproteína-P pode também inibir a passagem de tacrolimus para os tecidos, nomeadamente ao nível da barreira hematoencefálica, placenta, testículos, coração e rins. Em ratinhos submetidos à supressão do gene da glicoproteína-P, a concentração de tacrolimus nas células cerebrais foi significativamente superior, o que demonstra a importância da glicoproteína-P na variabilidade da distribuição do tacrolimus.(10)

4.3 Metabolização

O tacrolimus é metabolizado pelo CYP3A, que inclui as isoenzimas CYP3A5, CYP3A4, CYP3A7 e CYP3A43, expresso no intestino delgado, fígado e rim. Comparativamente com o CYP3A5, a eficiência catalítica do CYP3A4 é relativamente baixa. O CYP3A7 apresenta pouca influência no metabolismo do tacrolimus, enquanto o papel do CYP3A43 ainda não é totalmente claro.(10)

Através de reações de monodesmetilação e didesmetilação, hidroxilação e uma associação de desmetilação e hidroxilação formam-se até 15 metabolitos do tacrolimus. Os principais metabolitos são 13-o-desmetil tacrolimus (M-I) e o 15-o-desmetil

tacrolimus (M-III). O M-I apresenta 10% da atividade do tacrolimus enquanto o 31-o-desmetil tacrolimus (M-II) apresenta atividade semelhante à molécula original, contudo as suas concentrações são praticamente indetetáveis nos doentes.(9)

Os metabolitos do tacrolimus podem ser substratos para potenciais transportadores do fármaco. A nível do trato intestinal, os metabolitos do tacrolimus que se formam na mucosa intestinal podem regressar ao lúmen através da glicoproteína-P. No rim, a glicoproteína-P é expressa nas células epiteliais em várias zonas do nefrónio contribuindo para a eliminação do fármaco e respetivos metabolitos na urina, evitando assim que estes causem nefrotoxicidade, enquanto que no fígado, esta glicoproteína é expressa na superfície canalicular dos hepatócitos, controlando a sua excreção na bÍlis.(10)

Tudo isto sugere que a expressão e funcionamento dos sistemas enzimáticos CYP3A5 e CYP3A4 e da glicoproteína-P estão intimamente relacionados com a farmacocinética do tacrolimus, pelo que os polimorfismos genéticos destas proteínas ou dos fatores transcricionais que têm um impacto nas mesmas podem afetar a farmacocinética do tacrolimus, conduzindo a diferenças interindividuais a este nível. (10)

4.4 Eliminação

Aproximadamente 95% dos metabolitos do tacrolimus são excretados na bÍlis e a eliminação urinária corresponde apenas a 2%. Apenas 0,5% do tacrolimus é eliminado através da urina e das fezes, na sua forma inalterada.(10)

O tacrolimus é altamente lipofílico, apresentando uma *clearance* total relativamente baixa, cerca de 0,006 L/(h.kg)-1, e um tempo de semi-vida de eliminação longo e variável, entre 4 a 41 horas (cerca de 12h em média).(10)

4.5 Parâmetros Farmacocinéticos

Tabela 2: Parâmetros farmacocinéticos do tacrolimus (Adaptado de Micromedex)

Absorção	
Tmáx, oral	1,5-3 h (cápsulas de libertação imediata e de libertação prolongada)
Tmáx, oral, pediatria	1-2 h (cápsulas de libertação prolongada)
Tmáx, oral, geriatria	1,67 h
Biodisponibilidade oral	17-31% (cápsulas de libertação imediata)
Distribuição	

Ligação às proteínas plasmáticas	99% (principalmente albumina e alfa1-glicoproteína ácida)
Vd, adulto	0,85-1,41 L/kg
Vd, pediatria	2,6 L/kg
Vd, disfunção hepática	3,1-3,9 L/kg
Vd, disfunção renal	1,07 L/kg
Metabolização	
Metabolização hepática	98-99% (via CYP3A)
Eliminação	
Fecal	92,4-92,6%
Renal	< 1% e até 2,3% como fármaco inalterado
Cl total, adulto	0,051-0,172 L/h/kg
Cl total, pediatria	0,12-0,138 L/h/kg
Cl, total, geriatria	0,53 L/h/kg
Cl, total, disfunção hepática	0,016-0,042 L/h/kg
Cl, total, disfunção renal	0,038 L/h/kg
t1/2, adulto	8,7-37,9 h
t1/2, pediatria	10,2-11,5 h
t1/2, geriatria	13,1 h
t1/2, disfunção hepática moderada	60,6-66,1 h
t1/2, disfunção hepática severa	119-198 h

Tabela 3: Parâmetros farmacocinéticos do tacrolimus estimados a partir da análise de um modelo não compartimental após administração de tacrolimus (Adaptado de Kim et al.)

Parâmetros	Valor ± desvio padrão	Valor p
C _{máx} (ng/mL)	33,5±10,6	0,5825
T _{máx} (h)	1 (1-2)	–
AUC 0-12 (ng·h/mL)	139,3±61,7	< 0,05
AUC 0-24 (ng·h/mL)	180,2±85,0	< 0,05
AUC 0-48 (ng·h/mL)	235,1±117,4	< 0,05
AUC 0-72 (ng·h/mL)	267,9±137,2	< 0,05
AUC 0-inf (ng·h/mL)	322,4±174,1	< 0,05
Cl/F (L/h)	20,1±10,7	< 0,05

4.6 Variabilidade

O tacrolimus apresenta margem terapêutica estreita e características farmacocinéticas e farmacodinâmicas com uma variabilidade intra e interindividual significativa. Deste modo, é difícil atingir ou manter uma concentração de tacrolimus no sangue dentro da margem terapêutica, podendo os doentes estar em risco de rejeição ou toxicidade.(10)

Quanto à metabolização do tacrolimus, existem vários fatores que podem contribuir para esta variabilidade, nomeadamente a etnia, idade, género, medicação concomitante, função renal e hepática e fatores genéticos como os polimorfismos dos genes que codificam as enzimas do CYP3A5 e CYP3A4. Entre todos estes fatores, a farmacogenética tem um impacto significativo na farmacocinética do tacrolimus. Neste sentido, os polimorfismos genéticos que codificam as enzimas do CYP3A e a glicoproteína-P e os alelos CYP3A5*3, CYP3A4*1B, CYP3A4*22, ABCB1 e POR*28 têm sido reportados pela sua influência na determinação da dose de tacrolimus, o que revela o papel importante da farmacogenética na resposta à terapêutica instituída. Sabe-se que os polimorfismos no gene que codifica o CYP3A5 são responsáveis por 40-50% da variabilidade da dose necessária de tacrolimus.(10)

Doentes portadores do alelo CYP3A5*1 apresentam uma transcrição normal do gene CYP3A5, o que resulta na produção de elevados níveis desta enzima metabolizadora do tacrolimus. Os doentes portadores do alelo CYP3A5*3 apresentam uma mutação neste gene que conduz à produção de uma enzima não funcional.(11) Deste modo, os doentes portadores do alelo CYP3A5*1 são considerados metabolizadores rápidos do tacrolimus e requerem doses 1,5 a 2 vezes superiores de formulações de libertação imediata para alcançar a mesma exposição ao fármaco que os doentes que possuem o alelo CYP3A5*3. O alelo CYP3A5*1, predominantemente presente em doentes de raça negra, está associado a uma C_{min} inferior aos níveis alvo em doentes afro-americanos, o que sugere que a subexposição ao tacrolimus contribui para as fracas respostas clínicas nos transplantados pertencentes a este grupo populacional de metabolizadores rápidos do tacrolimus.(12)

Pelo facto dos metabolizadores rápidos necessitarem de doses mais elevadas de tacrolimus, para atingir níveis de C_{min} semelhantes aos observados nos metabolizadores lentos, os metabolizadores rápidos poderão apresentar uma $C_{máx}$ mais

elevada, maior exposição e mais metabolitos comparativamente com os metabolizadores lentos.(12)

Um artigo de revisão que analisou as análises farmacocinéticas populacionais do tacrolimus de todos os tipos de transplante publicadas entre 1990 e 2017, verificou que o genótipo do CYP3A5 foi a variável mais consistentemente identificada nos artigos analisados, apresentando um impacto significativo na variabilidade farmacocinética do tacrolimus.(13) Na população pediátrica, o mesmo se verifica. Um artigo de revisão que estudou o efeito da expressão do CYP3A5 na população pediátrica verificou também a existência de diferenças na concentração séria e no rácio C/D entre doentes que expressam o CYP3A5*1 e os que não o expressam.(14) Nesse sentido, a análise dos genótipos CYP3A5 pode ser uma medida útil na previsão da dose inicial de tacrolimus adequada a cada doente. Contudo, é ainda pouco claro se esta estratégia será mais eficaz que a monitorização terapêutica convencional. Ainda assim, os doentes que receberam doses de tacrolimus determinadas com base no genótipo CYP3A5 necessitaram de menos alterações de dose e menos tempo até atingirem o alvo.(10)

O polimorfismo CYP3A4*18 tem também um papel importante na farmacocinética do tacrolimus, aumentando a atividade do CYP3A4 e, conseqüentemente, a *clearance* e concentração plasmática deste fármaco.(10) Por outro lado, o alelo CYP3A4*22 está associado a uma diminuição da *clearance* do tacrolimus.(15)

Num estudo, a análise dos genótipos de ambas as isoenzimas CYP3A4 e CYP3A5 permitiu prever de forma mais adequada a dose de tacrolimus necessária comparativamente com os genótipos de cada uma delas isoladamente.(10) Posto isto, os autores recomendam a integração da informação relativa ao genótipo CYP3A5*3 e do CYP3A4*22, quando disponível, nos futuros modelos farmacocinéticos do tacrolimus, para que a dose inicial seja otimizada.(9)

Tendo tudo isto em consideração, a melhor abordagem para melhorar a resposta à terapêutica imunossupressora passa pela otimização e individualização da terapêutica com tacrolimus, nomeadamente através do desenvolvimento de algoritmos e equações baseados em fatores genéticos e clínicos.(12)

Um estudo publicado no British Journal of Clinical Pharmacology apresentou uma equação que permite determinar a *clearance* aparente do tacrolimus nos primeiros 6

meses após o transplante, com base em fatores genéticos e clínicos de doentes adultos submetidos a transplante renal:

$$CL/F \text{ (L/h)} = 38,4 \times [(0,86, \text{ se decorreram 6-10 dias}) \text{ ou } (0,71, \text{ se decorreram 11-180 dias})] \times [(1,69, \text{ se genótipo CYP3A5}^*1/^*3) \text{ ou } (2,00, \text{ se genótipo CYP3A5}^*1/^*1)] \times (0,70, \text{ se o centro de transplantação for poupador de corticosteroides}) \times [(idade \text{ em anos}/50)^{-0,4}] \times (0,94, \text{ se a terapêutica do doente incluir um bloqueador dos canais de cálcio}) \text{ (16)}$$

em que CL/F corresponde à *clearance* aparente. Posteriormente, a dose diária total de tacrolimus (DDT) é calculada com base na *clearance* estimada pela equação anterior e na Cmin desejada:

$$DDT \text{ (mg)} = [CL/F \text{ (L/h)} \times C_{min} \text{ alvo (ng/mL)} \times 24h] / 1000 \text{ (16)}$$

Uma vez que a equação descrita acima não tem em consideração a influência da expressão deste alelo na *clearance* do tacrolimus, a mesma pode ser sobrestimada no caso de doentes que expressem o CYP3A4*22.(15)

Um grupo de investigação da Tunísia desenvolveu também um algoritmo que permite prever a dose de tacrolimus a administrar e que tem em consideração a expressão destes alelos:

$$\text{Dose de tacrolimus} = - 2,725 - (10^{-3} \times \text{dias após transplante}) + (009 \times \text{peso corporal}) + (140 \times \text{ATG}) + (209 \times \text{CYP3A4}^*1\text{B}) + (088 \times \text{género}) + (005 \times \text{idade}) + (110 \times \text{CYP3A4}^*22) + (230 \times \text{margem terapêutica}) \text{ (17)}$$

em que ATG (globulina antitimócitos) presente (= 1) ou ausente (= 0); alelo CYP3A4*1B presente (= 1) ou ausente (= 0); alelo CYP3A4*22 presente (= 0) ou ausente (= 1); margem terapêutica 5-10 ng/mL (= 0) ou 10-15 ng/mL (=1).

Um grupo de investigadores chineses construiu um modelo utilizando *machine learning* para prever a dose de tacrolimus a administrar em doentes submetidos a transplante renal. Este estudo culminou na elaboração de um algoritmo que permite determinar a dose adequada de tacrolimus para cada doente, de acordo com as suas características.(18)

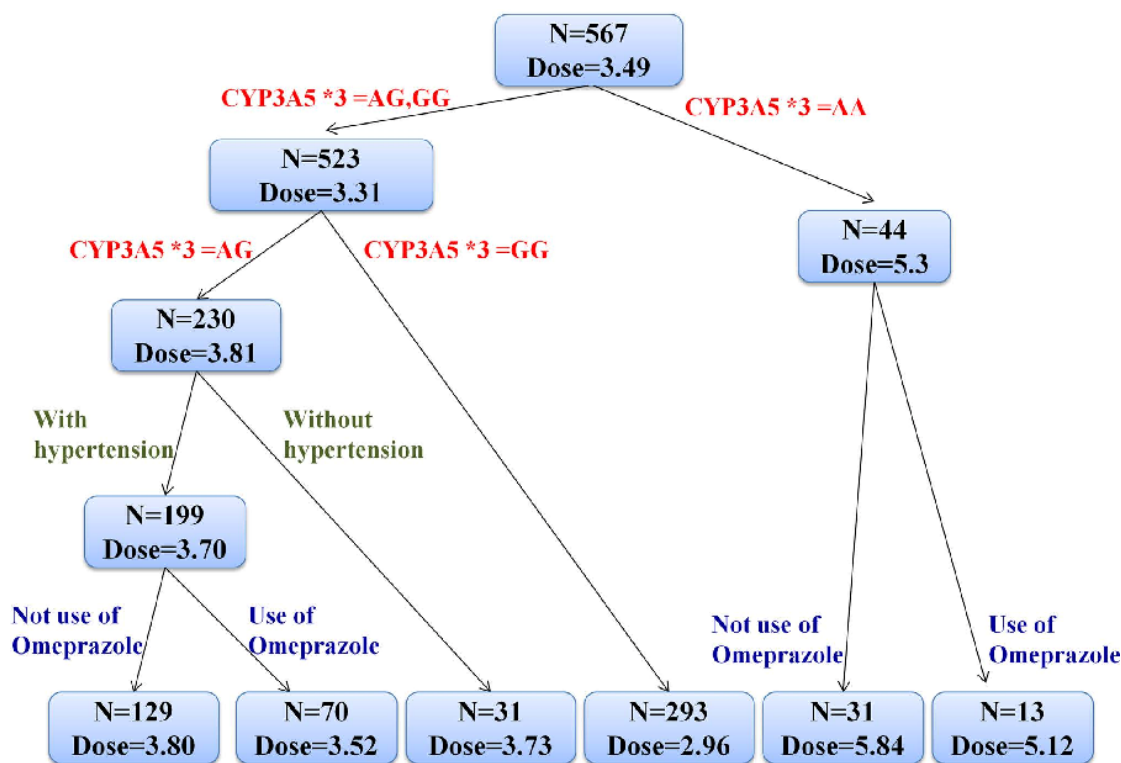


Figura 1: Algoritmo de previsão da dose de tacrolimus a administrar a cada doente, utilizado num estudo chinês. N representa a amostra e Dose a dose a administrar. (Reproduzido com permissão de Tang et al.)

4.6.1 População idosa

A população idosa é, geralmente, mais suscetível à toxicidade do tacrolimus (neuro e nefrotoxicidade) porque apresenta um sistema imunológico mais comprometido, especialmente no que diz respeito à imunidade mediada por células. Deste modo, este grupo populacional apresenta menor risco de rejeição aguda, mas maior risco de contrair infeções causadas pela terapêutica de imunossupressão. Estudos que corroboram estas conclusões verificaram a existência de um aumento da C_{min} com o aumento da idade do doente, tendo concluído também que os metabolizadores mais lentos deste fármaco apresentavam idade superior aos metabolizadores rápidos e intermédios.(19) Existem ainda outras características que podem afetar a farmacocinética do tacrolimus nesta população, tais como a menor secreção ácida gástrica e a menor superfície de absorção intestinal, o que pode reduzir a absorção do fármaco. Além disso, a menor massa hepática e o fluxo sanguíneo hepático reduzido, comparativamente com outras faixas etárias, pode também reduzir o metabolismo do tacrolimus. Assim, nesta população poderá ser benéfico definir níveis de C_{min} inferiores como margem terapêutica.(12)

Por outro lado, o facto desta população por vezes receber órgãos/enxertos marginais (órgãos ou enxertos provenientes de dadores de maior risco), associados a maior imunogenicidade e maior risco de rejeição aguda e perda do enxerto, é também um fator de mau prognóstico nesta população.(12)

4.6.2 Doentes sensibilizados contra o antígeno leucocitário humano (HLA)

Os doentes previamente sensibilizados contra o HLA apresentam maior risco de rejeição do que os não sensibilizados uma vez que o alvo terapêutico do tacrolimus são os linfócitos T. Posto isto, é importante avaliar previamente ao transplante a reatividade das células T do recetor em relação ao dador.(12)

A formulação de libertação prolongada de tacrolimus com a tecnologia MeltDose (LCPT) poderá ser uma melhor opção nos doentes sensibilizados uma vez que garante uma exposição mais consistente e constante ao tacrolimus, contudo ainda não existem estudos que comprovem esta associação.(12)

4.6.3 Pediatria

A *clearance* do tacrolimus em doentes pediátricos submetidos a transplante hepático é duas vezes superior à dos doentes adultos. Por outro lado, a semi-vida de eliminação é inferior na população pediátrica. Um estudo retrospectivo com 58 crianças verificou que, quando a C_{min} era mantida nos 10 ng/mL durante os 3 primeiros meses após o transplante, a frequência de doença renal crónica observada era inferior.(9)

No caso do transplante renal em doentes pediátricos, é recomendado iniciar a terapêutica com tacrolimus com uma dose inicial de 0,15 mg/kg de peso corporal duas vezes por dia, para alcançar uma C_{min} entre 10 e 20 ng/mL durante os dois primeiros meses após o transplante e posteriormente entre 5 e 10 ng/mL.(9) Contudo, ainda não foram realizados estudos prospetivos aleatorizados robustos que forneçam evidência para estabelecer valores de referência para as margens terapêuticas do tacrolimus na população pediátrica.(20)

Tal como na população adulta, a expressão do CYP3A5 tem também influência na variabilidade farmacocinética na população pediátrica.(14)

5. Farmacodinâmica

5.1 Mecanismo de ação

O tacrolimus, também designado por FK506, liga-se à imunofilina citosólica FKBP12, formando o complexo FKBP12-tacrolimus que se liga de forma específica e competitiva à calcineurina, uma fosfatase que desempenha um papel importante na indução do promotor da interleucina-2 (IL-2) após ativação das células T, inibindo-a.(21) Este processo inibe a translocação de fatores de transcrição, reduzindo assim a ativação de genes que codificam interleucinas, o fator de necrose tumoral, o interferão-gama e o fator estimulante de colônias de granulócitos e macrófagos, culminando na redução da proliferação de linfócitos T.(9)

5.2 Indicação Terapêutica

O tacrolimus é atualmente indicado na profilaxia da rejeição no transplante alogênico de fígado, rim e coração, sendo também terapêutica de segunda linha no tratamento da dermatite atópica moderada a severa, tanto em doentes adultos como pediátricos.

O tacrolimus mostrou-se eficaz como terapêutica de resgate em doentes tratados com ciclosporina que manifestam episódios de rejeição aguda celular, vascular ou por resistência aos esteroides. Um ensaio prospetivo aleatorizado comprovou a eficácia da transição para o tacrolimus em doentes que manifestaram episódios de rejeição aguda cujo regime imunossupressor tinha como base a ciclosporina. Os regimes terapêuticos de resgate com tacrolimus reduziram a incidência de episódios de rejeição aguda de 34,1% para 8,8% ($P < 0,002$). (6)

No transplante renal, a terapêutica imunossupressora de manutenção recomendada é a associação de um inibidor da calcineurina com um fármaco antiproliferativo, com ou sem corticosteroides. O tacrolimus, geralmente administrado em associação com o micofenolato, é o inibidor da calcineurina mais utilizado.(12)

5.3 Regimes Terapêuticos

Nos Estados Unidos e na Europa, a associação do tacrolimus com o micofenolato constitui a base dos protocolos de imunossupressão. Na maioria dos centros hospitalares, os doentes recebem também terapêutica de indução (com anticorpos anti-

células T ou bloqueadores dos recetores da IL-2) e glucocorticoides, no momento da transplantação do órgão.(9)

A evidência que suporta esses protocolos provém essencialmente do ensaio clínico SYMPHONY, um estudo aleatorizado e controlado, que demonstrou que 75% dos doentes com baixo risco imunológico que se encontravam no braço do ensaio que recebeu terapêutica com tacrolimus apresentaram uma Cmin entre 4 e 11 ng/mL no primeiro mês após o transplante, entre 4 e 10 ng/mL nos meses seguintes e entre 4 e 9 ng/mL nos 6 a 12 meses desde a cirurgia. No entanto, um estudo mais recente não recomenda valores de Cmin inferiores a 7 ng/mL, sendo importante também de referir que podem ser estabelecidas margens terapêuticas diferentes de acordo com os fármacos adjuvantes selecionados e com o risco que cada doente compreende.(9)

A evidência atual não permite recomendar uma única margem terapêutica para o tacrolimus. Os valores de Cmin são definidos com base no risco de rejeição aguda percebido, do tempo após o transplante e da medicação concomitante.(9) A dose inicial de tacrolimus é convencionalmente determinada com base no peso corporal e ajustada ao longo do tratamento de acordo com a concentração deste fármaco no sangue.(10)

No início da sua utilização, o tacrolimus era administrado em doses mais elevadas (0,1 mg/kg/dia), mas com o aumento do conhecimento acerca dos seus efeitos adversos e com a implementação de terapêuticas triplas, a dose administrada diminuiu.(1)

No que diz respeito à utilização deste fármaco no transplante renal, um estudo DeKAF (Genomics of Kidney Allograft Failure) em doentes adultos 6 meses após o transplante verificou que cada redução de Cmin do tacrolimus em 1 ng/mL estava associada a um aumento do risco de rejeição aguda em 7,2%. No entanto, poucos estudos investigaram a relação entre a exposição ao tacrolimus e o risco de rejeição, e aqueles que o fazem geralmente incluem um número limitado de doentes, são retrospectivos ou envolvem outras terapêuticas concomitantes já não utilizadas atualmente.(9)

Uma vez que a subexposição ao tacrolimus no pós-operatório precoce conduz a um risco extremamente elevado de rejeição do órgão transplantado e, por outro lado, os efeitos adversos resultantes de uma sobre-exposição ao tacrolimus são geralmente reversíveis com a redução da dose deste fármaco, alguns centros de transplantação, como o centro de transplantação de Maastricht, evitam que ocorra subexposição neste

período, nomeadamente através da administração de uma ou duas doses de tacrolimus mesmo antes da cirurgia.(22)

Tabela 3: Protocolo farmacoterapêutico do tacrolimus no Centro de Transplantação de Maastricht (Adaptado de Hooff et al.)

Antes do transplante	0,1 mg de tacrolimus por cada kg de peso corporal (uma ou duas administrações diárias)
Primeiras 24h após o transplante	0,3 mg de tacrolimus por cada kg de peso corporal
2-3 dias após o transplante	Cmin entre 15 ng/mL
Posteriormente a dose a administrar é definida de acordo com a Cmin determinada:	
5-10 ng/mL	Aumentar a dose em 100% após determinação do perfil farmacocinético
10-15 ng/mL	Aumentar a dose em 20-40%
15-20 ng/mL	Aumentar a dose em 10-20%
20-30 ng/mL	Manter a dose
30-40 ng/mL	Diminuir a dose em 50%
>40 ng/mL	Omitir uma toma e diminuir a seguinte e 50% ou mais

A formulação de tacrolimus utilizada pode variar entre os centros de transplantação existentes por todo o mundo. Por exemplo, o centro de transplantação da Columbia Britânica, no Canadá, utiliza nos seus protocolos terapêuticos de transplantação a formulação de libertação imediata.(23)

Tabela 4: Protocolo de margens terapêuticas do tacrolimus utilizado no centro de transplantação da Columbia Britânica, Canadá (Adaptado de Clinical Guidelines for Transplantation Medications)

Tempo após o transplante (em meses)	Cmin (ng/mL) 12h após a toma, determinada por espetrometria de massa
Doentes adultos submetidos a transplante renal e renal/pancreático (outubro 2014)	
< 1	8-12
1-3	6-9
> 3	4-8
Doentes pediátricos submetidos a transplante renal (outubro 2014)	
< 1	10-12

2-3	8-10
4-6	6-8
> 6	4-6
Doentes adultos submetidos a transplante hepático (dezembro 2014) Pode variar de acordo com a situação individual de cada doente Em doentes com disfunção renal, deve ser tido como objetivo o valor inferior da margem terapêutica	
< 1	6-9
1-3	4-8
> 3	4-6
> 12	3-5
Doentes adultos submetidos a transplante pulmonar (novembro 2014)	
0-3	10-12
4-12	8-10
> 12	6-8
> 12 com GFR estimada < 50 mL/min/1,73m ²	4-6
Doentes adultos submetidos a transplante cardíaco (novembro 2014)	
< 3	9-12
3-6	8-9
6-12	6-8
> 12	4-8

As recomendações relativas ao regime terapêutico de imunossupressão com tacrolimus após cirurgia de transplante variam também de acordo com o tipo de transplante.

5.3.1 Transplante Renal

1. Em doentes com baixo risco imunológico, a margem terapêutica de C_{min} é entre 4 e 12 ng/mL quando prescrito em associação com um bloqueador da IL-2, micofenolato e glucocorticoides (grau de recomendação A, nível de evidência D), ou de 4 a 7 ng/mL nos primeiros dois meses e 2 a 4 nos meses posteriores quando associado com everolimus e glucocorticoides e terapêutica de indução

- (bloqueadores da IL-2 ou da timoglobulina) (grau de recomendação B, nível de evidência II);
2. Em doentes adultos com elevado risco imunológico os valores de Cmin alvo podem ser superiores (grau de recomendação B, nível de evidência II);
 3. No caso dos doentes pediátricos, pode ser usado um intervalo de Cmin de 10-20 ng/mL (grau de recomendação C1, nível de evidência II). É recomendado começar com uma dose de 0,15 mg/kg duas vezes ao dia, para alcançar esta gama de valores (10-20 ng/mL) durante os primeiros dois meses após o transplante e entre 5 e 10 ng/mL posteriormente;
 4. No caso das formulações de administração bidiária, pode ser considerada uma área sob a curva entre as 0 e as 12 horas (AUC 0-12h) mínima de 150 ng•h/mL nos doentes adultos (grau de recomendação B, nível de evidência II). Os níveis de área sob a curva (AUC) correspondentes aos intervalos de Cmin alvo foram determinados com base em estudos de correlação AUC-Cmin em grandes populações de doentes adultos, tanto para a formulação de administração diária como bidiária.(9)

A evidência é ainda menor no que diz respeito à população pediátrica. Um estudo retrospectivo com 58 crianças observou uma menor frequência de doença renal crónica quando a Cmin era mantida acima de 10 ng/mL nos primeiros três meses após o transplante.(9)

5.3.2 Transplante Hepático

Em doentes adultos:

1. Quando prescrito em associação com micofenolato ou everolimus e corticosteroides, a Cmin alvo para o tacrolimus deverá situar-se entre 6 e 10 ng/mL durante as primeiras 4 semanas após o transplante e entre 5 e 8 ng/mL no período seguinte (grau de recomendação A, nível de evidência I). Níveis de Cmin acima de 10 ng/mL parecem apresentar poucos benefícios adicionais em termos de redução do risco de rejeição, aumentando significativamente a taxa de disfunção renal. Por outro lado, valores de Cmin inferiores a 5 ng/mL devem ser evitados, especialmente durante o primeiro mês, uma vez que podem conduzir a piores respostas clínicas a longo prazo;
2. Quando o tacrolimus é usado em monoterapia ou apenas associado a terapêutica de indução, pode ser necessária uma Cmin superior (10 a 15 ng/mL durante os

3 primeiros meses após o transplante e 5 a 10 ng/mL posteriormente) (grau de recomendação C1, nível de evidência II), apesar de existir também evidência a favor de alvos inferiores para estes regimes;

3. Em doentes que estejam num regime terapêutico sem corticosteroides pode ser definida uma Cmin alvo entre 10 e 15 ng/mL (grau de recomendação C1, nível de evidência II).(9)

Apesar de haver poucos dados no que diz respeito aos níveis ótimos de Cmin na população pediátrica, um estudo retrospectivo com 72 crianças com idades compreendidas entre os 0,5 e os 17,6 anos verificou que os efeitos adversos como a nefrotoxicidade, estavam associados a níveis de Cmin superiores durante a terapêutica de manutenção (os valores médios de Cmin nos doentes com e sem efeitos adversos foram 8,2 e 4,8 ng/mL, respetivamente).(9)

5.3.3 Transplante Cardíaco e Pulmonar

Nos casos de transplante cardíaco e pulmonar, a margem terapêutica para as Cmin recomendadas há cerca de 20 anos deve ser revista, e provavelmente reduzida, uma vez que se recomendam valores entre 15 e 20 ng/mL nas primeiras semanas após o transplante, enquanto estudos mais recentes têm demonstrado que o risco de insuficiência renal aguda nas primeiras 2 semanas após o transplante era significativamente superior para valores de Cmin superiores a 15 ng/mL (grau de recomendação B, nível de evidência II).(9)

5.3.4 Transplante de Medula Óssea

Nos doentes submetidos a transplante de medula óssea, o intervalo de Cmin alvo recomendado é de 10 a 20 ng/mL quando o tacrolimus é prescrito para administração oral em associação com metotrexato, em adultos (grau de recomendação B, nível de evidência II) e crianças (grau de recomendação B, nível de evidência II).(9)

Nas restantes condições clínicas em que o tacrolimus é utilizado ainda não existe evidência suficiente para que sejam estabelecidas recomendações no que diz respeito ao regime terapêutico a adotar (grau de recomendação C2).(9)

Tabela 5: Sistema de graduação dos níveis de evidência e graus de recomendação utilizados neste documento (Adaptado de Brunet et al.)

Grau de recomendação	Definição
A	Existe boa evidência que suporta a recomendação.
B	Existe evidência moderada que suporta a recomendação.
C1	Apesar de pouca evidência, há recomendação.
C2	Fraca evidência que suporta a recomendação.
Nível de evidência	Definição
I	A evidência provém de um ou mais ensaios clínicos aleatorizados e controlados, utilizando metodologias validadas.
II	A evidência provém de um ou mais estudos cohort ou ensaios clínicos caso não aleatorizados, utilizando metodologias estandardizadas.
III	A evidência provém da opinião de autoridades respeitadas, experiência clínica, estudos descritivos ou relatórios de comités de peritos.

5.4 Administração

O tacrolimus encontra-se disponível para administração intravenosa, sublingual ou por via oral (em cápsulas, comprimidos ou soluções orais de preparação extemporânea), podendo ainda ser administrado através de sondas nasogástricas, orogástricas ou através de gastrostomia. A via de administração preferencial adotada para a maioria dos doentes é a via oral.(1)

Um estudo conduzido em 2016 comparou os perfis farmacocinéticos do tacrolimus em doentes submetidos a transplante renal, após administração por via oral e por via sublingual. O fármaco foi administrado por via oral na dose habitual, enquanto a dose administrada por via sublingual foi 50% inferior, tendo em consideração o efeito de primeira passagem. A análise decorrente da exposição ao fármaco, após o ajuste à dose, verificou que a AUC e a Cmin foram significativamente superiores, demonstrando que o fármaco apresenta uma maior biodisponibilidade quando administrado por via sublingual, comparativamente com a via oral.(6) A via de administração sublingual pode ser considerada como alternativa em doentes incapazes de receber medicamentos por via oral, sendo que a dose inicial recomendada deve ser 50% inferior à dose que se administraria por via oral, na ausência de interações medicamentosas, e as doses

subsequentes determinadas através da monitorização das concentrações séricas do fármaco (TDM).(24)

5.4.1 Formulações Oraís

Atualmente, encontram-se disponíveis no mercado três tipos de formulações com tacrolimus para administração por via oral:

1. Formulação de libertação imediata (IR-tacrolimus), produzido sob a forma de cápsulas de gelatina dura nas doses de 0,5mg, 1mg e 5mg, de administração bidiária - Prograf®.
2. Formulação de libertação prolongada (ER-tacrolimus), produzido sob a forma de cápsulas de gelatina dura nas doses de 0,5mg, 1mg, 3mg e 5mg, de administração diária - Advagraf®.
3. Formulação de libertação prolongada com a tecnologia MeltDose (LCPT), produzido sob a forma de comprimidos nas doses de 0,75mg, 1mg e 4mg, de administração diária - Envarsus® XR.

O desenvolvimento de formulações de tacrolimus de libertação prolongada apresenta o benefício potencial de melhorar a adesão à terapêutica e, conseqüentemente, os resultados clínicos, através da redução da frequência de tomas.(25)

Um artigo de revisão que analisou ensaios de fase III/IV aleatorizados e controlados, com seguimento de 4 anos, concluiu que a eficácia da formulação do tacrolimus de libertação prolongada era semelhante à da formulação de libertação imediata, no que diz respeito à prevenção da rejeição aguda, disfunção do enxerto e falência do mesmo, em adultos submetidos a transplante renal de novo.(26) Uma revisão sistemática e aprofundada de 11 ensaios aleatorizados e controlados, que incluíram um total de 2678 doentes submetidos a transplante renal, verificou não existirem diferenças significativas na GFR estimada aos 12 meses após o transplante entre os grupos sob administração de IR-tacrolimus e ER-tacrolimus.(27)

No caso da formulação de libertação imediata, o tacrolimus é absorvido a nível do trato intestinal proximal, penetrando nas células epiteliais do intestino, onde é metabolizado pelas enzimas do CYP3A e libertado de novo para o lúmen intestinal por efluxo através da glicoproteína-P. Assim, no caso da formulação de libertação imediata, os indivíduos que expressam CYP3A5 apresentam elevada metabolização pré-sistémica do tacrolimus e também maior $C_{máx}$ à medida que a dose aumenta, para que a exposição

necessária ao fármaco seja atingida. Por outro lado, o LCPT permite que a absorção do tacrolimus ocorra apenas na porção mais distal do intestino onde existe menor expressão de CYP3A5 e, portanto, este sofre menor metabolização pré-sistêmica quando administrado nesta formulação. A formulação LCPT permite que o perfil farmacocinético do tacrolimus não seja afetado pelo genótipo do CYP3A5.(12) Um estudo recente demonstrou que o LCPT está associado a um aumento significativamente menor da exposição ao fármaco, comparativamente com a formulação de liberação imediata, após a administração de um inibidor do CYP3A potente. O estudo demonstrou também a existência de menor variabilidade interindividual no que diz respeito à exposição ao tacrolimus com a formulação LCPT. Com base nestas evidências podemos concluir que o tipo de formulação deve ser um fator a ter em consideração na avaliação das interações fármaco-fármaco com os inibidores do CYP3A aquando do estabelecimento do regime de terapêutica imunossupressora para cada doente.(12)

5.4.1.1 Comparação de Perfis Farmacocinéticos

Comparando os gráficos de concentração versus tempo do Prograf® e do Advagraf®, a terapêutica com Advagraf® aparenta estar associada a um tempo em que é observada a concentração máxima (T_{máx}) ligeiramente superior e uma C_{min} inferior (com uma conversão de dose diária de 1:1). O Advagraf® apresenta um perfil mais plano que o Prograf® com uma C_{máx} semelhante ou inferior. Estudos de segurança e eficácia que compararam o Prograf® e o Advagraf® concluíram que o tacrolimus de administração diária apresentou não-inferioridade relativamente ao tacrolimus de administração bidiária, com um risco de rejeição concentração dependente. A sobrevivência dos enxertos e dos doentes foi consideravelmente equiparável entre as duas formulações examinadas. Alguns estudos de menor dimensão sugerem que o tacrolimus de administração diária pode apresentar efeitos favoráveis na pressão arterial, no perfil lipídico e na tolerância à glucose.(7)

Analisando o gráfico de concentração versus tempo do Envarsus® XR, este apresenta um perfil farmacocinético mais plano e significativamente distinto das outras formulações, caracterizando-se por menores flutuações entre C_{min} e C_{máx}. A C_{máx}, o rácio C_{máx}/C_{min} e a percentagem de flutuação foram significativamente inferiores e o T_{máx} superior (com uma conversão de dose diária de 1:0,7).(7) Apesar se ainda não existir evidência clínica clara, podemos prever que estas diferenças na farmacocinética

podem traduzir-se em variações nas respostas clínicas dos doentes transplantados, nomeadamente a menor $C_{máx}$ poderá estar associada a menos efeitos adversos como tremores menos severos, cujo controlo é determinante para a qualidade de vida dos doentes.(12)

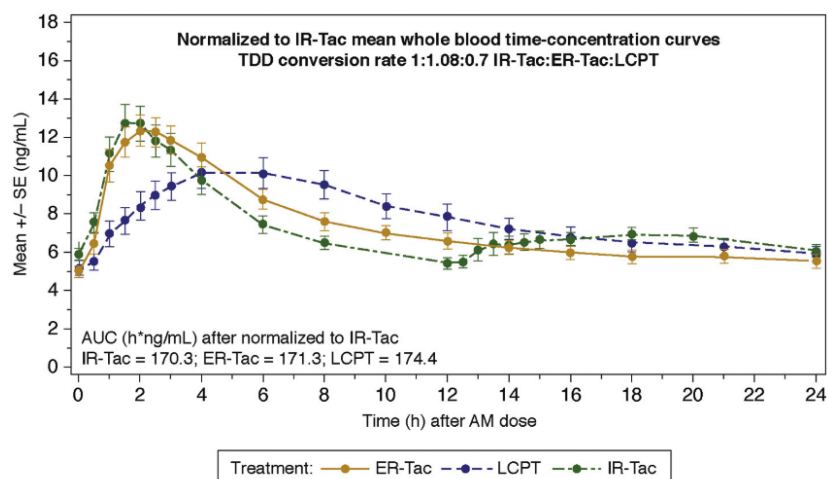


Figura 2: Perfil farmacocinético em concentração média no sangue total em função do tempo do tacrolimus de libertação imediata, de libertação prolongada e LCPT, após normalização relativamente à formulação de libertação imediata. (Reproduzido com permissão de Tremblay et al.)

As três formulações não são equivalentes em termos de AUC 0-24 e de C_{min} , (12) sendo que a formulação LCPT apresentou uma biodisponibilidade superior às restantes formulações.(28) Nesse sentido, pequenas variações na exposição ao fármaco devido a diferenças na formulação podem ter um impacto significativo na resposta clínica, pelo que a escolha da formulação deve ser adequada a cada doente.(7) Por exemplo, doentes que requeiram uma dose baixa de tacrolimus não são candidatos adequados para as formulações de libertação prolongada, bem como doentes que apresentem rápido trânsito intestinal, uma vez que podem não atingir os níveis ótimos de fármaco com este tipo de formulações.(12)

5.4.1.2 Mudança de Formulação

Uma vez que a frequência da toma de fármacos imunossupressores é um dos fatores que contribui para a não adesão à terapêutica, a transição da formulação de administração bidiária para a formulação de apenas uma administração diária pode ser vantajosa na promoção da adesão à terapêutica. Num estudo observacional com 310 doentes estáveis previamente submetidos a transplante renal, em que a não adesão à terapêutica era de 23,5%, foi feita a mudança da formulação de administração bidiária

para a formulação de administração diária em 121 doentes, sendo os restantes o grupo controlo. Após 6 meses, um questionário demonstrou um aumento de 36% da adesão à terapêutica, sem alteração da mesma no grupo controlo. Observou-se ainda, no grupo que transitou de formulação, uma diminuição dos níveis de C_{min} após 3 e 6 meses (cerca de 9%), apesar de se ter verificado um aumento da dose de 6,5%, todavia sem efeitos adversos clínicos.(6) Contudo, os resultados de um estudo prospetivo revelaram que, apesar do aumento significativo na adesão à terapêutica dos doentes que efetuaram a transição de formulação, 64% dos não aderentes não alteraram o seu comportamento, apesar da redução das tomas diárias de tacrolimus.(29)

Uma vez que a formulação de libertação prolongada apresenta menor C_{min}, iniciar a terapêutica imunossupressora com a formulação de libertação imediata, fazendo a conversão para a formulação de libertação prolongada pouco tempo depois, apresenta a vantagem teórica de reduzir a probabilidade de subexposição ao fármaco nos primeiros dias após o transplante.(6) Apesar de ainda serem escassos os dados relativos à eficácia e segurança da mudança precoce de formulação, um painel de peritos franceses recomenda a transição de formulação assim que os níveis de C_{min} atingirem a margem terapêutica, de forma estável. Enquanto a C_{min} estiver abaixo da margem terapêutica, a conversão de formulação deve ser adiada. Aquando da transição para a formulação de administração diária, a exposição ao fármaco diminui cerca de 30%. Esta diminuição pode ser inferior se se iniciar a administração da formulação de administração diária no pré-operatório. Neste caso, a redução da C_{min} é de 10% a 15% após a transição, o que não se traduz num decréscimo equivalente na área sob a curva.(30)

A permuta de formulação requer monitorização farmacoterapêutica uma vez que podem surgir alterações inesperadas na exposição ao fármaco.(12) Todavia, não existem garantias de que as estratégias de TDM aplicáveis a uma formulação sejam igualmente aplicáveis a outra, uma vez que a correlação entre a AUC 0-24 do tacrolimus e a respetiva C_{min} é variável entre as três formulações.(7)

5.4.1.3 Genéricos

Para algumas classes de fármacos, os estudos publicados demonstram não haver diferenças entre os resultados clínicos obtidos com medicamentos genéricos e os de referência, pelo que a transição para um medicamento genérico não é uma preocupação.

Nos fármacos de margem terapêutica estreita, como é o caso dos imunossupressores, esta transição é mais controversa, existindo preocupação considerável por parte dos clínicos e doentes no que diz respeito à equivalência entre medicamentos genéricos e de referência.(31)

Uma revisão sistemática e meta-análise avaliou a eficácia clínica e a bioequivalência dos genéricos do tacrolimus, em comparação com o Prograf®, no que diz respeito à resposta clínica, em termos de sobrevivência do doente e do enxerto, rejeição aguda e efeitos adversos. A análise de 12 ensaios aleatorizados e controlados em doentes submetidos a transplante renal demonstrou que, em 3 dos ensaios, o Prograf® não era bioequivalente às preparações genéricas. Todavia, os eventos de rejeição aguda foram raros e não diferiram entre os grupos com as diferentes formulações. Neste sentido, são necessários estudos bem desenhados e robustos com dados de qualidade para comprovar a bioequivalência e eficácia clínica de medicamentos genéricos de fármacos imunossupressores.(31)

5.4.1.4 Adesão à Terapêutica

Atualmente, sabe-se que a não adesão à terapêutica com fármacos imunossupressores é mais prevalente do que se presumia anteriormente, é de natureza multifatorial e difícil de combater, do ponto de vista comportamental.(29)

Apesar das dificuldades em medir com exatidão a adesão à terapêutica crónica de imunossupressão, a não adesão à mesma demonstrou ser a principal causa para um mau prognóstico em doentes com aloenxerto renal, uma vez que conduz a variabilidade intra-individual ao nível da farmacocinética do tacrolimus com aumento da taxa de rejeição aguda.(12)

Existe forte evidência de que a falta de educação dos doentes face à terapêutica imunossupressora e a frequência de administração do fármaco são dois dos fatores mais relevantes que conduzem à não adesão à terapêutica. Assim, sendo estes os fatores mais facilmente modificáveis, a redução da frequência da toma destes fármacos e a educação dos doentes devem ser consideradas prioridades nas estratégias de promoção da adesão à terapêutica.(29) Tem sido demonstrada uma redução na taxa de não adesão à terapêutica após a troca de uma formulação de administração duas vezes ao dia para uma formulação que requer apenas uma administração diária em mais de 50%.(1)(12) Contudo, uma vez que a não adesão à terapêutica pode ter outras causas além do regime

terapêutico, torna-se também essencial efetuar uma avaliação clínica de potenciais fatores que possam contribuir para este fenômeno, nomeadamente a idade do doente (doentes mais velhos têm tendência a esquecer-se da medicação), a capacidade do doente acarretar os custos da medicação, o estilo de vida do doente, bem como os efeitos adversos que se possam manifestar.(12)

5.5 Toxicidade

Apesar do tacrolimus ser o inibidor da calcineurina de eleição para a prevenção da rejeição em transplantes de órgãos sólidos, a sua utilização não é isenta de efeitos adversos, nomeadamente insuficiência renal crónica, sequelas neurológicas, diabetes mellitus e risco aumentado de infeções.

A nível renal, este fármaco provoca vasoconstrição das arteríolas glomerulares aferente e eferente com conseqüente diminuição do fluxo sanguíneo renal e da taxa de filtração glomerular (GFR), causando disfunção das células endoteliais. Este fenómeno conduz a uma menor produção dos mediadores de vasodilatação (prostaglandinas e óxido nítrico) e a uma maior libertação de vasoconstritores (endotelina e tromboxano).(6) O desenvolvimento de diabetes mellitus pós-transplante é outro dos efeitos adversos associados à terapêutica com tacrolimus e constitui um fator de risco significativo para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares.(6) Enquanto a nefrotoxicidade associada à exposição aguda ao tacrolimus pode ser revertida através da redução da dose, a utilização crónica de inibidores da calcineurina pode causar glomerulosclerose, fibrose intersticial e hialinose arteriolar de forma irreversível. No que diz respeito à neurotoxicidade, os efeitos adversos podem variar desde um tremor ligeiro, comumente designado “tremor tac”, até estados de fuga. Em alguns estudos, mais de 50% dos doentes sob terapêutica com tacrolimus desenvolveram tremor ligeiro. Contudo, é bastante difícil avaliar a incidência deste tipo de efeitos adversos e diagnosticá-los. O tacrolimus pode também causar hipertensão, hipomagnesemia, hipercalemia, hiperlipidemia, alopecia, perda óssea e distúrbios gastrointestinais.(1)

Deste modo, os benefícios imunológicos do tacrolimus devem ser ponderados contra os riscos associados ao fármaco. No caso dos transplantes de órgãos sólidos, os benefícios da utilização do mesmo quase sempre ultrapassam os riscos.(1)

Para eliminar a toxicidade dos inibidores da calcineurina, vários estudos têm investigado estratégias para o abandono ou diminuição das doses destes fármacos,

contudo o risco de rejeição aguda limita qualquer potencial benefício destas medidas, especialmente se não forem avaliados os biomarcadores associados ao risco de rejeição para conduzir a terapêutica imunossupressora em cada doente individualmente.(12)

Um estudo acerca da deterioração de enxertos renais (DeKAF study) em doentes adultos transplantados verificou que, ao longo dos primeiros 6 meses após a cirurgia de transplante, cada redução de 1 ng/mL na Cmin do tacrolimus estava associada a um aumento do risco de rejeição aguda em 7,2%.(9) Regra geral, não é considerado seguro reduzir a Cmin do tacrolimus para valores inferiores a 5 ng/mL durante o primeiro ano após o transplante, quando em associação com micofenolato.(12)

Uma estratégia alternativa que tem sido ativamente estudada consiste na associação de terapêutica com tacrolimus em dose baixa com o inibidor do mTOR everolimus, o que facilita a redução da terapêutica com tacrolimus de libertação imediata para valores bastante mais inferiores (Cmin média aos 12 meses de 4,1 ng/mL e aos 24 meses de 3,9 ng/mL).(12) Os inibidores do mTOR, como o everolimus e o sirolimus, apresentam um mecanismo de ação distinto dos inibidores da calcineurina, uma vez que reduzem a ativação das células T numa fase mais tardia do ciclo celular, bloqueando a proliferação celular desencadeada pela exposição a aloantígenos. Deste modo, com o seu mecanismo de ação complementar e o seu perfil favorável no que diz respeito à nefrotoxicidade, os inibidores do mTOR permitem uma redução das doses de inibidores da calcineurina na fase pós-transplante tardia.(32) Todavia, esta associação apenas demonstrou não inferioridade em termos de eficácia de imunossupressão e preservação do enxerto e não melhor função renal após 12 ou 24 meses.(12)

Uma vez que nos estudos em que a dose de tacrolimus foi reduzida ou o fármaco foi retirado se verificou a ocorrência de episódios de rejeição aguda e/ou a formação de anticorpos dador-específicos, as concentrações de tacrolimus a longo prazo não devem ser elevadas para prevenir a sua toxicidade mas nunca excessivamente minimizadas para evitar episódios de rejeição.(33)

5.6 Interações

O facto do tacrolimus ser metabolizado a nível hepático pelas enzimas do CYP450 torna-o suscetível de sofrer interação com outros fármacos que interferem com este citocromo.(10) Fármacos que inibam o citocromo P450, especialmente as isoenzimas CYP3A4 e CYP3A5, aumentam a exposição ao tacrolimus. Estes incluem: azóis

antifúngicos, inibidores da protease, diltiazem, eritromicina e claritromicina.(1)
Quando é necessário iniciar uma terapêutica com um destes fármacos, a dose de tacrolimus deve ser reduzida uma vez que, caso a dose seja mantida, poderá surgir toxicidade associada ao tacrolimus por aumento da exposição ao fármaco.(9)

No que diz respeito aos fármacos antirretrovirais, existem algumas classes farmacológicas que inibem ou induzem, respetivamente as enzimas do CYP3A e a glicoproteína-P. O conhecimento destas interações é de extrema importância para a seleção do regime farmacoterapêutico para o tratamento da infeção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) mais adequado quando em associação com terapêutica imunossupressora.(9)

Os fármacos antivirais de ação direta para o tratamento da infeção pelo vírus da hepatite C podem também interagir com o tacrolimus, pelo que a dose do mesmo deve ser ajustada quando utilizado em associação com estes fármacos.(9)

Existem também interações fármaco-alimento que podem aumentar a exposição ao tacrolimus, nomeadamente toranja, chá Earl Gray (devido ao óleo de bergamota), bagas noni, açai e carambola.(1)

Por outro lado, fármacos que sejam indutores do CYP3A4/3A5 reduzem a exposição ao tacrolimus. Exemplos destes fármacos são a rifampicina, fenitoína, carbamazepina, efavirenz, rifabutina e os barbitúricos.(1)

Uma vez que o tacrolimus se liga fortemente às proteínas plasmáticas, devem ser consideradas possíveis interações com outros medicamentos com conhecida elevada afinidade para as proteínas plasmáticas, nomeadamente anti-inflamatórios não esteroides, anticoagulantes orais e antidiabéticos orais.(21)

Os agentes procinéticos, como a metoclopramida e a cisaprida, a cimetidina e o hidróxido de alumínio e magnésio podem também constituir uma interação com o tacrolimus, aumentando a exposição sistémica ao fármaco.(21)

Tabela 6: Interações Farmacológicas com o Tacrolimus (Adaptado de Brunet et al.)

Fármacos	Interações Farmacológicas com o tacrolimus	Efeito Clínico (Risco)
Aminoglicosídeos Anfotericina B Cisplatina Ciclosporina Ibuprofeno	<p style="text-align: center;">Potenciam os efeitos adversos do tacrolimus</p>	Efeito aditivo ou sinérgico no que concerne à nefrotoxicidade
Carbamazepina Dexametasona Antirretrovirais (HIV) Modafinil Fenobarbital Fenetoína Pioglitazona Rifabutina Rifampicina Troglitazona Hipericão (<i>Hypericum perforatum</i>)	<p style="text-align: center;">Induzem o metabolismo do tacrolimus, o que resulta na diminuição das concentrações séricas do mesmo. (demonstrado clinicamente)</p>	<p style="text-align: center;">Risco de rejeição do órgão/enxerto transplantado</p>
Azóis antifúngicos (fluconazol, cetoconazol, itraconazol, voriconazol, isavuconazol, clotrimazol) Eritromicina Inibidores da protease do HIV (ritonavir, nelfinavir, saquinavir) Inibidores da protease do VHC (telaprevir, boceprevir, grazoprevir) Antiviral para CMV (letermovir) Indutor farmacocinético (cobicistat) Inibidores da tirosina cinase (nilotinib e imatinib) Esomeprazol Cloranfenicol	<p style="text-align: center;">Inibem o metabolismo do tacrolimus, o que resulta no aumento das concentrações séricas do mesmo. (demonstrado clinicamente)</p> <p>Verificou-se a mesma interação, embora clinicamente mais fraca, para os seguintes fármacos: claritromicina, clotrimazol, nifedipina, diltiazem, nicardipina, verapamil, amiodarona, danazol, etinilestradiol, omeprazol, nefazodona e produtos à base de plantas (chinesas) contendo extratos de <i>Schisandra sphenanthera</i>.</p>	<p style="text-align: center;">Toxicidade associada ao tacrolimus</p>
Bromocriptina Cortisona Dapsona Ergotamina Gestodeno Lidocaína Mefenitoína Miconazol Midazolan Nilvadipina Noretindrona Quinidina Tamoxifeno (Triacetil)oleandomicina	<p style="text-align: center;">Potencial inibição do metabolismo do tacrolimus, resultando no aumento das concentrações séricas do mesmo. (demonstrado <i>in vitro</i>)</p>	<p style="text-align: center;">Potencial toxicidade associada ao tacrolimus</p>

6. Monitorização

O tacrolimus apresenta índice terapêutico estreito, pelo que é necessário monitorizar os valores de C_{min} para ajustar as doses subsequentes a administrar e manter a concentração de fármaco dentro dos valores terapêuticos.(1) É através da TDM que se procura alcançar o equilíbrio entre a eficácia da terapêutica imunossupressora e os efeitos adversos que dela podem advir.(25)

A frequência de monitorização depende da duração do tratamento. Nos doentes recém-transplantados, os níveis de C_{min} devem ser monitorizados diariamente, enquanto nos doentes que se encontram sob uma dieta e dose estáveis, a monitorização pode ser feita semanalmente. Alguns centros hospitalares efetuam a monitorização apenas mensalmente ou até menos frequentemente, nos casos de doentes transplantados há mais de 1 ano e que se encontram sob uma dose estável de tacrolimus.(1)

No caso do transplante hepático, a função hepática geralmente estabiliza três semanas após o transplante, pelo que a monitorização terapêutica após este período pode ser menos frequente, nos casos em que o estado do doente e os respetivos níveis de C_{min} se encontram estáveis.(9)

Atualmente, a monitorização baseia-se na medição das concentrações séricas de tacrolimus, sendo as doses subsequentes ajustadas para manter os níveis do fármaco dentro das margens terapêuticas. Estas margens variam de acordo com o tipo de transplante e o tempo decorrido após o mesmo. A medicação concomitante pode também influenciar a concentração sérica de tacrolimus, pelo que alterações no plano farmacoterapêutico devem ser acompanhadas por uma maior monitorização. A concentração do fármaco é medida 12h após a dose da noite, no caso da formulação de libertação imediata, sendo estas concentrações utilizadas para desenvolver as margens de concentrações alvo do tacrolimus. O perfil da concentração em função do tempo do tacrolimus apresenta variações diurnas, sendo que os picos após a dose da noite são menores e mais prolongados.(7) Apesar da C_{min} ser o parâmetro mais utilizado na maioria dos centros hospitalares na rotina de TDM, a monitorização terapêutica baseada na AUC tem sido proposta como parâmetro a usar, especialmente no período precoce após o transplante, para avaliar a exposição global ao fármaco, quando clinicamente indicado. A AUC é considerada, por alguns autores, o parâmetro farmacocinético de exposição que melhor se relaciona com os efeitos clínicos. No entanto, ainda não foram

conduzidos estudos prospectivos das respostas clínicas em doentes transplantados, tanto adultos como pediátricos, para investigar apropriadamente os potenciais benefícios da monitorização terapêutica baseada na AUC 0-12 relativamente à C_{min}. A fraca correlação entre a C_{min} e a AUC traduz-se em rácios AUC/C_{min} muito variáveis, o que significa que doentes com valores de C_{min} idênticos poderão ter valores de AUC 0-12 muito distintos. Além disso, os rácios AUC/C_{min} são influenciados por inúmeros fatores como o genótipo CYP3A5*3, a motilidade intestinal e a absorção (nomeadamente na diabetes mellitus, fibrose cística, cirurgia bariátrica, gastrectomia e colectomia), interações farmacocinéticas fármaco-fármaco fortes (doentes sob terapêutica antirretroviral contra o HIV ou com azóis antifúngicos) ou outras deficiências no metabolismo do tacrolimus. Nesse sentido, os autores sugerem que este rácio deve ser avaliado pelo menos uma vez no período inicial após o transplante e uma vez no período estável, em cada doente.(9)

O rácio entre a C_{min} e a dose diária (rácio C/D) é uma medida que reflete o efeito somado de todos os fatores que influenciam o metabolismo do tacrolimus. Ao contrário da genotipagem e dos algoritmos de doseamento farmacocinético, o rácio C/D é um indicador do metabolismo que representa uma ferramenta simples e barata que pode facilmente ser usada para auxiliar na estratificação de doentes de todas as etnias com elevado risco de resultados subterapêuticos e ajudar na otimização e individualização da terapêutica com tacrolimus. O hematócrito e o tempo desde o transplante afetam significativamente o rácio C/D e estão incluídos nos modelos farmacocinéticos que preveem a dose de tacrolimus ajustada a cada doente.(12)

Um estudo retrospectivo verificou que rácios C/D < 1,05 correspondem a metabolizadores rápidos do tacrolimus e encontram-se associados a uma pior função renal 1-24 meses após o transplante, mas não necessariamente associados a uma maior taxa de rejeição. O estudo verificou também que estes valores estavam associados a uma maior taxa de infeção pelo vírus BK e nefropatia associada. Estes doentes requerem uma maior dose diária para atingir a C_{min} desejada e, conseqüentemente, apresentam uma C_{máx} maior que pode ser responsável por maior nefrotoxicidade. Geralmente apresentam valores de C_{min} baixos, o que representa um maior tempo de subexposição ao tacrolimus (mais períodos de subexposição transitórios) e, conseqüentemente, a um maior risco de rejeição. Uma estratégia que pode ser aplicada para contornar estes problemas é a diminuição do intervalo entre doses. Além disso, os

metabolizadores rápidos produzem mais metabolitos que, apesar de ainda pouco estudados, poderão estar associados a mais efeitos adversos. Por outro lado, rácios C/D > 1,55 correspondem a metabolizadores lentos do tacrolimus. Verificou-se ainda que rácios C/D < 0,75 estavam associados a maiores taxas de rejeição e perda do enxerto 6 meses após o transplante.(12)

Uma vez que o local de ação do tacrolimus se encontra no interior dos linfócitos, alguns autores afirmam que o doseamento deste fármaco nesse local é mais relevante do que a concentração sérica do mesmo para avaliar a eficácia da terapêutica. Nos últimos anos, têm sido publicados ensaios capazes de dosear o tacrolimus em células mononucleares do sangue periférico (PBMC), obtidas após centrifugação em gradiente de densidade. Estes ensaios envolvem imunoensaios e técnicas de cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS/MS). Um grupo de investigadores conduziu um estudo com doentes submetidos a transplante hepático e verificou que os doentes que apresentaram rejeição clínica uma semana após o transplante apresentavam níveis de tacrolimus nas PBMC inferiores àqueles que não sofreram episódios de rejeição. Nesses mesmos doentes, não se verificou igual correlação entre as concentrações séricas e os fenómenos de rejeição, pelo que os autores concluíram que a concentração de tacrolimus nas PBMC poderá ser um melhor indicador para a TDM do tacrolimus do que a C_{min}. Contudo, são necessários mais estudos uma vez que a concentração de tacrolimus nas PBMC é influenciada por polimorfismos genéticos, nomeadamente no que diz respeito às bombas de efluxo na membrana celular das PBMC.(34)

Vários estudos têm demonstrado que a formulação de tacrolimus de libertação prolongada apresenta exposição equiparável à formulação de libertação imediata no estado estacionário, boa correlação entre a C_{min} e a AUC 0-24h, podendo ser utilizados os mesmos valores no que concerne à margem terapêutica. Apesar de ainda não existirem garantias, isto é indicativo de que poderá ser usado o mesmo sistema de TDM para ambas as formulações.(35)

A TDM atual é extremamente necessária para minimizar a toxicidade do tacrolimus relacionada com a dose, mantendo uma eficácia suficiente. Todavia, as limitações da TDM tradicional têm impedido a otimização da individualização da terapêutica com tacrolimus para cada doente.(12)

Na maioria das vezes, a variabilidade intraindividual é avaliada apenas através do coeficiente de variação das C_{min}, sendo que uma variabilidade intraindividual elevada no que diz respeito às concentrações de tacrolimus pode conduzir alternadamente a períodos de sub e sobre-exposição ao fármaco em questão, o que resulta na ativação do sistema imunológico e a toxicidade farmacológica associadas a lesões nos órgãos e efeitos adversos.(9)

6.1 Métodos Analíticos

Desde a introdução do tacrolimus no mercado que a sua monitorização farmacocinética é recomendada. Deste modo, têm sido desenvolvidos e estabelecidos vários métodos analíticos para determinar a sua concentração em amostras de sangue. Atualmente, os métodos preferenciais para o doseamento do tacrolimus em sangue total, a nível global, são os imunoensaios e a cromatografia líquida acoplada a espectrometria de massa (LC-MS/MS).(9)

A LC-MS/MS apresenta elevada especificidade e sensibilidade, permite realizar ensaios rápidos, exatos, precisos, mesmo a baixas concentrações de fármaco. Contudo, requer profissionais capacitados e com formação adequada para operar este tipo de ensaios.(9)

Os imunoensaios utilizados são, nomeadamente, o imunoensaio enzimático de multiplicação (EMIT) e o imunoensaio eletroquimioluminescente (ECLIA), sendo o imunoensaio de micropartículas por quimioluminescência (CMIA) o mais usado, uma vez que apresenta menor viés comparativamente com os métodos cromatográficos e não sofre interferência pelo hematócrito, bilirrubina, nem proteínas totais. Contudo, estudos demonstram que apresenta reatividade cruzada com os metabolitos do tacrolimus M-II e M-III.(9)

No que diz respeito à recolha da amostra, têm sido desenvolvidos métodos inovadores de micro-amostragem (10-20mcL), menos invasivos, que permitem substituir a recolha de sangue tradicional e que os próprios doentes conseguem implementar em casa. Estes métodos conduzem a uma poupança de tempo e de custos e permitem que seja recolhida mais do que uma amostra no mesmo intervalo entre doses, simplificando assim a determinação da AUC. Todavia, existem ainda desafios no que diz respeito à implementação destes métodos, ao efeito do hematócrito, à correlação do doseamento

em sangue venoso e sangue capilar, ao risco de contaminação e à estabilidade das amostras.(9)

7. Discussão

Mesmo após mais de uma década de utilização, o tacrolimus continua a ser considerado o pilar da terapêutica imunossupressora, todavia o conhecimento acerca da evolução da resposta clínica aos fármacos imunossupressores em transplantação e o desenvolvimento de terapêuticas individualizadas estão ainda insuficientemente estudados. Tratando-se de um fármaco com elevada variabilidade inter e intraindividual no que diz respeito à sua farmacocinética, farmacodinâmica e farmacogenética, é ainda mais imperativo que o conhecimento acerca do mesmo seja aprofundado.(9)

No que diz respeito à formulação do tacrolimus, o LCPT tem apresentado um melhor perfil farmacocinético que se poderá traduzir num prognóstico mais favorável, especialmente nos casos de doentes com maior variabilidade farmacocinética. Contudo esta hipótese requer ainda mais investigação.(12)

A TDM tem um impacto significativo na evolução do estado clínico dos doentes sob terapêutica imunossupressora, sendo por isso uma prática indispensável no acompanhamento dos mesmos e que deve ser otimizada e individualizada. Inconsistências a nível dos ensaios de doseamento do fármaco podem ter um impacto negativo na tomada de decisões clínicas, ajuste de dose e, conseqüentemente, na resposta clínica do doente, pelo que devem ser estabelecidos materiais e procedimentos de referência.(9) Por razões práticas, o método standard para a monitorização da terapêutica com tacrolimus é a medição da C_{min} no sangue total. Porém, a C_{min} é um marcador da exposição ao tacrolimus que, quando usado sozinho, não constitui um indicador fiável do risco de rejeição uma vez que não tem em consideração a monitorização de outros fatores clinicamente relevantes para a avaliação deste risco.(12) Vários estudos têm demonstrado a importância de assegurar uma exposição consistente ao tacrolimus ao longo do tempo para evitar concentrações subterapêuticas do tacrolimus. Neste sentido, além dos valores de C_{min}, devem ser investigados quais os valores de AUC ideais a alcançar. Devem ainda ser feitos esforços no sentido de desenvolver estratégias para o estabelecimento de margens terapêuticas harmonizadas, tanto para a população adulta como pediátrica, tendo em conta os fatores de risco e medicação concomitante de cada doente.(9)

Uma vez que o tacrolimus apresenta margem terapêutica estreita e elevada variabilidade individual no que diz respeito à sua farmacocinética, mesmo pequenas diferenças na

exposição ao tacrolimus podem conduzir a respostas substancialmente diferentes, pelo que é cada vez mais importante compreender as características de cada doente para adequar o regime terapêutico.(36) Nos últimos anos cada vez mais evidências demonstram a associação entre os genótipos e os parâmetros farmacocinéticos do tacrolimus, o que sugere que os algoritmos poligénicos poderão ter um grande valor preditivo. De facto, muitos centros hospitalares já estabeleceram ou aplicaram alguns algoritmos de doseamento baseados essencialmente no genótipo CYP3A5. Na maior parte dos casos, a determinação da dose de tacrolimus com base em fatores farmacogenéticos permitiu que mais doentes submetidos a transplante renal alcançassem a C_{min} alvo, num menor espaço de tempo e com menos modificações da dose. Doentes com fatores de risco para a variabilidade farmacocinética, como por exemplo a taxa de metabolismo do tacrolimus, a idade ou o risco imunológico, devem ser identificados como prioritários uma vez que são doentes que podem beneficiar de terapêutica com tacrolimus personalizada.(12)

São ainda necessários mais estudos para comprovar esta evidência, mas acredita-se que a monitorização farmacocinética de rotina em combinação com a farmacogenética, através da elaboração de modelos farmacocinéticos e algoritmos que incluem fatores genéticos, pode apresentar benefícios, nomeadamente facilitando a individualização da terapêutica com tacrolimus na prática clínica, melhorando a resposta clínica a longo prazo e a sobrevivência do enxerto e do doente.(9) Um obstáculo para alcançar a terapêutica personalizada com tacrolimus são os custos dos testes genéticos – as condições económicas são efetivamente um obstáculo à prática clínica rotineira de genotipagem. No entanto, uma vez que o tacrolimus é provável que se mantenha em uso durante a próxima década, todos os esforços são válidos.(10)

8. Conclusões

O tacrolimus tem permitido melhorias significativas nas respostas clínicas em transplantação de órgãos sólidos, principalmente no que diz respeito à diminuição da incidência da rejeição do enxerto. Contudo, com o aumento da sobrevivência dos enxertos aumentou também o conhecimento acerca dos efeitos adversos do tacrolimus a longo prazo. Neste sentido, novas classes de fármacos podem suplantá-lo como principal agente imunossupressor. Os bloqueadores de co-estimulação, que previnem a ativação das células T bloqueando a estimulação destas células mediada pelo CD28, têm demonstrado ser promissores. Um destes exemplos é o belatacept, pertencente a esta classe de fármacos, que apresenta um risco de desenvolvimento de insuficiência renal e resistência à insulina negligenciável.(1)

Não obstante, o tacrolimus continua a ser um fármaco fundamental na terapêutica imunossupressora de manutenção com potencial para a otimização da sua utilização na prática clínica no que diz respeito à sua farmacocinética, para melhorar o prognóstico dos doentes transplantados. Para isto, é necessário que haja uma avaliação mais exata da variabilidade na farmacocinética do tacrolimus e uma caracterização mais aprofundada dos riscos clínicos, genéticos e imunológicos dos doentes submetidos a transplante renal, atuando ao nível da medicina personalizada.(12) Acredita-se que o desenvolvimento de algoritmos preditivos com base nas características dos doentes, como a idade, o género, fatores genéticos e a terapêutica concomitante, pode contribuir para uma previsão mais exata da dose inicial de tacrolimus adequada a cada doente. Isto permitirá que estes atinjam as concentrações séricas de fármaco dentro da margem terapêutica mais rapidamente e com menos ajustes de dose, evitando a exposição dos doentes a regimes com doses ineficazes ou tóxicas.(10) Todavia, após a seleção da dose inicial e o início da terapêutica, a monitorização farmacocinética do tacrolimus continuará a ser imprescindível e deve ser otimizada, para garantir que as concentrações séricas do fármaco se mantêm dentro da margem terapêutica, evitando que ocorra a rejeição do enxerto e fenómenos de toxicidade.(37)

Referências Bibliográficas

1. Scalea JR, Levi ST, Ally W, Brayman KL. Tacrolimus for the prevention and treatment of rejection of solid organ transplants. *Expert Rev Clin Immunol*. 2016;12(3):333–42.
2. Jouve T, Noble J, Rostaing L, Malvezzi P. An update on the safety of tacrolimus in kidney transplant recipients, with a focus on tacrolimus minimization. *Expert Opin Drug Saf* [Internet]. 2019;18(4):285–94. Available from: <https://doi.org/10.1080/14740338.2019.1599858>
3. Migliozi DR, Asal NJ. Clinical Controversy in Transplantation: Tacrolimus Versus Cyclosporine in Statin Drug Interactions [Internet]. Vol. 54, *Annals of Pharmacotherapy*. SAGE Publications Inc.; 2020 [cited 2020 Oct 16]. p. 171–7. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1060028019871891>
4. Pirsch JD, Miller J, Deierhoi MH, Vincenti F, Filo RS. A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. *Transplantation* [Internet]. 1997 Apr 15 [cited 2020 Oct 31];63(7):977–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/9112351/>
5. Jurewicz WA. Tacrolimus versus ciclosporin immunosuppression: Long-term outcome in renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2003 May 1 [cited 2020 Oct 31];18(SUPPL. 1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12738757/>
6. Shrestha BM. Two decades of tacrolimus in renal transplant: Basic science and clinical evidences. *Exp Clin Transplant*. 2017;15(1):1–9.
7. Staatz CE, Tett SE. Clinical Pharmacokinetics of Once-Daily Tacrolimus in Solid-Organ Transplant Patients. *Clin Pharmacokinet*. 2015;54(10):993–1025.
8. Jouve T, Noble J, Rostaing L, Malvezzi P. Tailoring tacrolimus therapy in kidney transplantation. *Expert Rev Clin Pharmacol* [Internet]. 2018;11(6):581–8. Available from: <https://doi.org/10.1080/17512433.2018.1479638>
9. Brunet M, Van Gelder T, Åsberg A, Haufroid V, Hesselink DA, Langman L, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit*. 2019;41(3):261–307.

10. Yu M, Liu M, Zhang W, Ming Y. Pharmacokinetics, Pharmacodynamics and Pharmacogenetics of Tacrolimus in Kidney Transplantation. *Curr Drug Metab*. 2018;19(6):513–22.
11. Buendía JA, Halac E, Bosaleh A, Garcia de Davila MT, Imvertasa O, Bramuglia G. Frequency of CYP3A5 Genetic Polymorphisms and Tacrolimus Pharmacokinetics in Pediatric Liver Transplantation. *Pharmaceutics* [Internet]. 2020 Sep 22 [cited 2020 Sep 29];12(9):898. Available from: <https://www.mdpi.com/1999-4923/12/9/898>
12. Oberbauer R, Bestard O, Furian L, Maggiore U, Pascual J, Rostaing L, et al. Optimization of tacrolimus in kidney transplantation: New pharmacokinetic perspectives. *Transplant Rev* [Internet]. 2020 Jan 13 [cited 2020 Jan 27];100531. Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0955470X20300045?via%3Dihub>
13. Campagne O, Mager DE, Tornatore KM. Population Pharmacokinetics of Tacrolimus in Transplant Recipients: What Did We Learn About Sources of Interindividual Variabilities? HHS Public Access. *J Clin Pharmacol*. 2019;59(3):309–25.
14. Hendijani F, Azarpira N, Kaviani M. Effect of CYP3A5*1 expression on tacrolimus required dose for transplant pediatrics: A systematic review and meta-analysis [Internet]. Vol. 22, *Pediatric Transplantation*. Blackwell Publishing Inc.; 2018 [cited 2020 Oct 16]. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29920880/>
15. Elens L, Hesselink DA, van Schaik RHN, van Gelder T. The CYP3A4*22 allele affects the predictive value of a pharmacogenetic algorithm predicting tacrolimus predose concentrations. *Br J Clin Pharmacol*. 2013;75(6):1545–7.
16. Passey C, Birnbaum AK, Brundage RC, Oetting WS, Israni AK, Jacobson PA. Dosing equation for tacrolimus using genetic variants and clinical factors. 2011; Available from: <http://www.clinicaltrials.gov>
17. Ben-Fredj N, Hannachi I, Chadli Z, Ben-Romdhane H, A Boughattas N, Ben-Fadhel N, et al. Dosing algorithm for Tacrolimus in Tunisian Kidney transplant patients: Effect of CYP 3A4*1B and CYP3A4*22 polymorphisms. *Toxicol Appl*

26. McCormack PL. Extended-release tacrolimus: a review of its use in de novo kidney transplantation. *Drugs*. 2014 Nov;74(17):2053–64.
27. Saengram W, Vadcharavivad S, Poolsup N, Chancharoenthana W. Extended release versus immediate release tacrolimus in kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Clin Pharmacol*. 2018;74(10):1249–60.
28. Tremblay S, Nigro V, Weinberg J, Woodle ES, Alloway RR. A Steady-State Head-to-Head Pharmacokinetic Comparison of All FK-506 (Tacrolimus) Formulations (ASTCOFF): An Open-Label, Prospective, Randomized, Two-Arm, Three-Period Crossover Study. *Am J Transplant*. 2017;17(2):432–42.
29. Sabbatini M, Garofalo G, Borrelli S, Vitale S, Torino M, Capone D, et al. Efficacy of a reduced pill burden on therapeutic adherence to calcineurin inhibitors in renal transplant recipients: An observational study. *Patient Prefer Adherence*. 2014;8:73–81.
30. Caillard S, Moulin B, Buron F, Mariat C, Audard V, Grimbert P, et al. Advagraf®, a once-daily prolonged release tacrolimus formulation, in kidney transplantation: literature review and guidelines from a panel of experts. *Transpl Int*. 2016;29(8):860–9.
31. Molnar AO, Fergusson D, Tsampalieros AK, Bennett A, Fergusson N, Ramsay T, et al. Generic immunosuppression in solid organ transplantation: Systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2015;350.
32. Shihab F, Christians U, Smith L, Wellen JR, Kaplan B. Focus on mTOR inhibitors and tacrolimus in renal transplantation: Pharmacokinetics, exposure-response relationships, and clinical outcomes. Vol. 31, *Transplant Immunology*. Elsevier; 2014. p. 22–32.
33. Jouve T, Rostaing L, Malvezzi P. New formulations of tacrolimus and prevention of acute and chronic rejections in adult kidney-transplant recipients. *Expert Opin Drug Saf [Internet]*. 2017 Jul 3 [cited 2020 Oct 19];16(7):845–55. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28494654/>
34. Andrews LM, Li Y, De Winter BCM, Shi Y-Y, Baan CC, Van Gelder T, et al. Pharmacokinetic considerations related to therapeutic drug monitoring of

- tacrolimus in kidney transplant patients. *Expert Opin Drug Metab Toxicol* [Internet]. 2017 Dec 2 [cited 2020 Sep 29];13(12):1225–36. Available from: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17425255.2017.1395413>
35. Guirado L, Cantarell C, Franco A, Huertas EG, Fructuoso AS, Fernández A, et al. Efficacy and safety of conversion from twice-daily to once-daily tacrolimus in a large cohort of stable kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2011;11(9):1965–71.
 36. Kim JH, Han N, Kim MG, Yun HY, Lee S, Bae E, et al. Increased Exposure of Tacrolimus by Co-administered Mycophenolate Mofetil: Population Pharmacokinetic Analysis in Healthy Volunteers. *Sci Rep* [Internet]. 2018;8(1):1–9. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/s41598-018-20071-3>
 37. Andrews LM, Riva N, De Winter BC, Hesselink DA, De Wildt SN, Cransberg K, et al. Dosing algorithms for initiation of immunosuppressive drugs in solid organ transplant recipients. Vol. 11, *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*. Informa Healthcare; 2015. p. 921–36.
 38. Tacrolimus. In: *DrugPoint Summary* [database on the Internet]. Greenwood Village (CO): IBM Corporation. 2020 [updated 2020 Sep 15, cited 2020 Sep 20].

Anexos

A1. Licença de utilização da Figura 1

31/10/2020

Creative Commons — Attribution 4.0 International — CC BY 4.0

Creative Commons Legal Code

Attribution 4.0 International

Official translations of this license are available [in other languages](#).

Creative Commons Corporation (“Creative Commons”) is not a law firm and does not provide legal services or legal advice. Distribution of Creative Commons public licenses does not create a lawyer-client or other relationship. Creative Commons makes its licenses and related information available on an “as-is” basis. Creative Commons gives no warranties regarding its licenses, any material licensed under their terms and conditions, or any related information. Creative Commons disclaims all liability for damages resulting from their use to the fullest extent possible.

Using Creative Commons Public Licenses

Creative Commons public licenses provide a standard set of terms and conditions that creators and other rights holders may use to share original works of authorship and other material subject to copyright and certain other rights specified in the public license below. The following considerations are for informational purposes only, are not exhaustive, and do not form part of our licenses.

Considerations for licensors: Our public licenses are intended for use by those authorized to give the public permission to use material in ways otherwise restricted by copyright and certain other rights. Our licenses are irrevocable. Licensors should read and understand the terms and conditions of the license they choose before applying it. Licensors should also secure all rights necessary before applying our licenses so that the public can reuse the material as expected. Licensors should clearly mark any material not subject to the license. This includes other CC-licensed material, or material used under an exception or limitation to copyright.

Considerations for the public: By using one of our public licenses, a licensor grants the public permission to use the licensed material under specified terms and conditions. If the licensor’s permission is not necessary for any reason—for example, because of any applicable exception or limitation to copyright—then that use is not regulated by the license. Our licenses grant only permissions under copyright and certain other rights that a licensor has authority to grant. Use of the licensed material may still be restricted for other reasons, including because others have copyright or other rights in the material. A licensor may make special requests, such as asking that all changes be marked or described. Although not required by our licenses, you are encouraged to respect those requests where reasonable.

Creative Commons Attribution 4.0 International Public License

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode>

1/6

By exercising the Licensed Rights (defined below), You accept and agree to be bound by the terms and conditions of this Creative Commons Attribution 4.0 International Public License ("Public License"). To the extent this Public License may be interpreted as a contract, You are granted the Licensed Rights in consideration of Your acceptance of these terms and conditions, and the Licensor grants You such rights in consideration of benefits the Licensor receives from making the Licensed Material available under these terms and conditions.

Section 1 – Definitions.

- a. **Adapted Material** means material subject to Copyright and Similar Rights that is derived from or based upon the Licensed Material and in which the Licensed Material is translated, altered, arranged, transformed, or otherwise modified in a manner requiring permission under the Copyright and Similar Rights held by the Licensor. For purposes of this Public License, where the Licensed Material is a musical work, performance, or sound recording, Adapted Material is always produced where the Licensed Material is synched in timed relation with a moving image.
- b. **Adapter's License** means the license You apply to Your Copyright and Similar Rights in Your contributions to Adapted Material in accordance with the terms and conditions of this Public License.
- c. **Copyright and Similar Rights** means copyright and/or similar rights closely related to copyright including, without limitation, performance, broadcast, sound recording, and Sui Generis Database Rights, without regard to how the rights are labeled or categorized. For purposes of this Public License, the rights specified in Section 2(b)(1)-(2) are not Copyright and Similar Rights.
- d. **Effective Technological Measures** means those measures that, in the absence of proper authority, may not be circumvented under laws fulfilling obligations under Article 11 of the WIPO Copyright Treaty adopted on December 20, 1996, and/or similar international agreements.
- e. **Exceptions and Limitations** means fair use, fair dealing, and/or any other exception or limitation to Copyright and Similar Rights that applies to Your use of the Licensed Material.
- f. **Licensed Material** means the artistic or literary work, database, or other material to which the Licensor applied this Public License.
- g. **Licensed Rights** means the rights granted to You subject to the terms and conditions of this Public License, which are limited to all Copyright and Similar Rights that apply to Your use of the Licensed Material and that the Licensor has authority to license.
- h. **Licensor** means the individual(s) or entity(ies) granting rights under this Public License.
- i. **Share** means to provide material to the public by any means or process that requires permission under the Licensed Rights, such as reproduction, public display, public performance, distribution, dissemination, communication, or importation, and to make material available to the public including in ways that members of the public may access the material from a place and at a time individually chosen by them.
- j. **Sui Generis Database Rights** means rights other than copyright resulting from Directive 96/9/EC of the European Parliament and of the Council of 11 March 1996 on the legal protection of databases, as amended and/or succeeded, as well as other essentially equivalent rights anywhere in the world.
- k. **You** means the individual or entity exercising the Licensed Rights under this Public License. **Your** has a corresponding meaning.

Section 2 – Scope.

a. License grant.

1. Subject to the terms and conditions of this Public License, the Licensor hereby grants You a worldwide, royalty-free, non-sublicensable, non-exclusive, irrevocable license to exercise the Licensed Rights in the Licensed Material to:
 - A. reproduce and Share the Licensed Material, in whole or in part; and
 - B. produce, reproduce, and Share Adapted Material.
2. Exceptions and Limitations. For the avoidance of doubt, where Exceptions and Limitations apply to Your use, this Public License does not apply, and You do not need to comply with its terms and conditions.
3. Term. The term of this Public License is specified in Section 6(a).
4. Media and formats; technical modifications allowed. The Licensor authorizes You to exercise the Licensed Rights in all media and formats whether now known or hereafter created, and to make technical modifications necessary to do so. The Licensor waives and/or agrees not to assert any right or authority to forbid You from making technical modifications necessary to exercise the Licensed Rights, including technical modifications necessary to circumvent Effective Technological Measures. For purposes of this Public License, simply making modifications authorized by this Section 2(a)(4) never produces Adapted Material.
5. Downstream recipients.
 - A. Offer from the Licensor – Licensed Material. Every recipient of the Licensed Material automatically receives an offer from the Licensor to exercise the Licensed Rights under the terms and conditions of this Public License.
 - B. No downstream restrictions. You may not offer or impose any additional or different terms or conditions on, or apply any Effective Technological Measures to, the Licensed Material if doing so restricts exercise of the Licensed Rights by any recipient of the Licensed Material.
6. No endorsement. Nothing in this Public License constitutes or may be construed as permission to assert or imply that You are, or that Your use of the Licensed Material is, connected with, or sponsored, endorsed, or granted official status by, the Licensor or others designated to receive attribution as provided in Section 3(a)(1)(A)(i).

b. Other rights.

1. Moral rights, such as the right of integrity, are not licensed under this Public License, nor are publicity, privacy, and/or other similar personality rights; however, to the extent possible, the Licensor waives and/or agrees not to assert any such rights held by the Licensor to the limited extent necessary to allow You to exercise the Licensed Rights, but not otherwise.
2. Patent and trademark rights are not licensed under this Public License.
3. To the extent possible, the Licensor waives any right to collect royalties from You for the exercise of the Licensed Rights, whether directly or through a collecting society under any voluntary or waivable statutory or compulsory licensing scheme. In all other cases the Licensor expressly reserves any right to collect such royalties.

Section 3 – License Conditions.

Your exercise of the Licensed Rights is expressly made subject to the following conditions.

a. Attribution.

1. If You Share the Licensed Material (including in modified form), You must:
 - A. retain the following if it is supplied by the Licensor with the Licensed Material:
 - i. identification of the creator(s) of the Licensed Material and any others designated to receive attribution, in any reasonable manner requested by the Licensor (including by pseudonym if designated);
 - ii. a copyright notice;
 - iii. a notice that refers to this Public License;
 - iv. a notice that refers to the disclaimer of warranties;
 - v. a URI or hyperlink to the Licensed Material to the extent reasonably practicable;
 - B. indicate if You modified the Licensed Material and retain an indication of any previous modifications; and
 - C. indicate the Licensed Material is licensed under this Public License, and include the text of, or the URI or hyperlink to, this Public License.
2. You may satisfy the conditions in Section 3(a)(1) in any reasonable manner based on the medium, means, and context in which You Share the Licensed Material. For example, it may be reasonable to satisfy the conditions by providing a URI or hyperlink to a resource that includes the required information.
3. If requested by the Licensor, You must remove any of the information required by Section 3(a)(1)(A) to the extent reasonably practicable.
4. If You Share Adapted Material You produce, the Adapter's License You apply must not prevent recipients of the Adapted Material from complying with this Public License.

Section 4 – Sui Generis Database Rights.

Where the Licensed Rights include Sui Generis Database Rights that apply to Your use of the Licensed Material:

- a. for the avoidance of doubt, Section 2(a)(1) grants You the right to extract, reuse, reproduce, and Share all or a substantial portion of the contents of the database;
- b. if You include all or a substantial portion of the database contents in a database in which You have Sui Generis Database Rights, then the database in which You have Sui Generis Database Rights (but not its individual contents) is Adapted Material; and
- c. You must comply with the conditions in Section 3(a) if You Share all or a substantial portion of the contents of the database.

For the avoidance of doubt, this Section 4 supplements and does not replace Your obligations under this Public License where the Licensed Rights include other Copyright and Similar Rights.

Section 5 – Disclaimer of Warranties and Limitation of Liability.

- a. **Unless otherwise separately undertaken by the Licensor, to the extent possible, the Licensor offers the Licensed Material as-is and as-available, and makes no representations or warranties of any kind concerning the Licensed Material, whether express, implied, statutory, or other. This includes, without limitation, warranties of title, merchantability, fitness for a particular purpose, non-infringement, absence of latent or other defects, accuracy, or the presence or absence of errors, whether or not known or discoverable. Where disclaimers of warranties are not allowed in full or in part, this disclaimer may not apply to You.**
- b. **To the extent possible, in no event will the Licensor be liable to You on any legal theory (including, without limitation, negligence) or otherwise for any direct, special, indirect, incidental, consequential, punitive, exemplary, or other losses, costs, expenses, or damages arising out of this Public License or use of the Licensed Material, even if the Licensor has been advised of the possibility of such losses, costs, expenses, or damages. Where a limitation of liability is not allowed in full or in part, this limitation may not apply to You.**
- c. The disclaimer of warranties and limitation of liability provided above shall be interpreted in a manner that, to the extent possible, most closely approximates an absolute disclaimer and waiver of all liability.

Section 6 – Term and Termination.

- a. This Public License applies for the term of the Copyright and Similar Rights licensed here. However, if You fail to comply with this Public License, then Your rights under this Public License terminate automatically.
- b. Where Your right to use the Licensed Material has terminated under Section 6(a), it reinstates:
 1. automatically as of the date the violation is cured, provided it is cured within 30 days of Your discovery of the violation; or
 2. upon express reinstatement by the Licensor.

For the avoidance of doubt, this Section 6(b) does not affect any right the Licensor may have to seek remedies for Your violations of this Public License.
- c. For the avoidance of doubt, the Licensor may also offer the Licensed Material under separate terms or conditions or stop distributing the Licensed Material at any time; however, doing so will not terminate this Public License.
- d. Sections 1, 5, 6, 7, and 8 survive termination of this Public License.

Section 7 – Other Terms and Conditions.

- a. The Licensor shall not be bound by any additional or different terms or conditions communicated by You unless expressly agreed.

- b. Any arrangements, understandings, or agreements regarding the Licensed Material not stated herein are separate from and independent of the terms and conditions of this Public License.

Section 8 – Interpretation.

- a. For the avoidance of doubt, this Public License does not, and shall not be interpreted to, reduce, limit, restrict, or impose conditions on any use of the Licensed Material that could lawfully be made without permission under this Public License.
- b. To the extent possible, if any provision of this Public License is deemed unenforceable, it shall be automatically reformed to the minimum extent necessary to make it enforceable. If the provision cannot be reformed, it shall be severed from this Public License without affecting the enforceability of the remaining terms and conditions.
- c. No term or condition of this Public License will be waived and no failure to comply consented to unless expressly agreed to by the Licensor.
- d. Nothing in this Public License constitutes or may be interpreted as a limitation upon, or waiver of, any privileges and immunities that apply to the Licensor or You, including from the legal processes of any jurisdiction or authority.

Creative Commons is not a party to its public licenses. Notwithstanding, Creative Commons may elect to apply one of its public licenses to material it publishes and in those instances will be considered the “Licensor.” The text of the Creative Commons public licenses is dedicated to the public domain under the [CC0 Public Domain Dedication](#). Except for the limited purpose of indicating that material is shared under a Creative Commons public license or as otherwise permitted by the Creative Commons policies published at [creativecommons.org/policies](#), Creative Commons does not authorize the use of the trademark “Creative Commons” or any other trademark or logo of Creative Commons without its prior written consent including, without limitation, in connection with any unauthorized modifications to any of its public licenses or any other arrangements, understandings, or agreements concerning use of licensed material. For the avoidance of doubt, this paragraph does not form part of the public licenses.

Creative Commons may be contacted at [creativecommons.org](#).

Additional languages available: العربية, čeština, Deutsch, Ελληνικά, Español, euskara, suomeksi, français, hrvatski, Bahasa Indonesia, italiano, 日本語, 한국어, Lietuvių, latviski, te reo Māori, Nederlands, norsk, polski, português, română, русский, Slovenščina, svenska, Türkçe, українська, 中文, 華語. Please read the [FAQ](#) for more information about official translations.

A2. Licença de utilização da Figura 2

18/09/2020

RightsLink Printable License

JOHN WILEY AND SONS LICENSE TERMS AND CONDITIONS

Sep 18, 2020

This Agreement between Inês Ferreira ("You") and John Wiley and Sons ("John Wiley and Sons") consists of your license details and the terms and conditions provided by John Wiley and Sons and Copyright Clearance Center.

License Number 4911831173234

License date Sep 18, 2020

Licensed Content Publisher John Wiley and Sons

Licensed Content Publication American Journal of Transplantation

Licensed Content Title A Steady-State Head-to-Head Pharmacokinetic Comparison of All FK-506 (Tacrolimus) Formulations (ASTCOFF): An Open-Label, Prospective, Randomized, Two-Arm, Three-Period Crossover Study

Licensed Content Author R. R. Alloway, E. S. Woodle, J. Weinberg, et al

Licensed Content Date Aug 2, 2016

Licensed Content Volume 17

Licensed Content Issue 2

Licensed 11

<https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet>

1/6

18/09/2020

RightsLink Printable License

Content
Pages

Type of use Dissertation/Thesis

Requestor
type University/Academic

Format Print and electronic

Portion Figure/table

Number of
figures/tables 1

Will you be
translating? Yes, without English rights

Number of
languages 1

Title Farmacocinética e monitorização das concentrações séricas do tacrolimus

Institution
name Faculdade de Farmácia da Universidade de Lisboa

Expected
presentation
date Nov 2020

Portions Figure 3

Specific
Languages Portuguese

Requestor
Location Inês Ferreira
Rua da Casquilha no 14, 2o esquerdo

Requestor
Location Lisboa, 1500-152
Portugal
Attn: Inês Ferreira

Publisher EU826007151

<https://s100.copyright.com/AppDispatchServlet>

2/6

Tax ID

Total 0.00 EUR

Terms and Conditions

TERMS AND CONDITIONS

This copyrighted material is owned by or exclusively licensed to John Wiley & Sons, Inc. or one of its group companies (each a "Wiley Company") or handled on behalf of a society with which a Wiley Company has exclusive publishing rights in relation to a particular work (collectively "WILEY"). By clicking "accept" in connection with completing this licensing transaction, you agree that the following terms and conditions apply to this transaction (along with the billing and payment terms and conditions established by the Copyright Clearance Center Inc., ("CCC's Billing and Payment terms and conditions"), at the time that you opened your RightsLink account (these are available at any time at <http://myaccount.copyright.com>).

Terms and Conditions

- The materials you have requested permission to reproduce or reuse (the "Wiley Materials") are protected by copyright.
- You are hereby granted a personal, non-exclusive, non-sub licensable (on a stand-alone basis), non-transferable, worldwide, limited license to reproduce the Wiley Materials for the purpose specified in the licensing process. This license, **and any CONTENT (PDF or image file) purchased as part of your order**, is for a one-time use only and limited to any maximum distribution number specified in the license. The first instance of republication or reuse granted by this license must be completed within two years of the date of the grant of this license (although copies prepared before the end date may be distributed thereafter). The Wiley Materials shall not be used in any other manner or for any other purpose, beyond what is granted in the license. Permission is granted subject to an appropriate acknowledgement given to the author, title of the material/book/journal and the publisher. You shall also duplicate the copyright notice that appears in the Wiley publication in your use of the Wiley Material. Permission is also granted on the understanding that nowhere in the text is a previously published source acknowledged for all or part of this Wiley Material. Any third party content is expressly excluded from this permission.
- With respect to the Wiley Materials, all rights are reserved. Except as expressly granted by the terms of the license, no part of the Wiley Materials may be copied, modified, adapted (except for minor reformatting required by the new Publication), translated, reproduced, transferred or distributed, in any form or by any means, and no derivative works may be made based on the Wiley Materials without the prior permission of the respective copyright owner. **For STM Signatory Publishers clearing permission under the terms of the [STM Permissions Guidelines](#) only, the terms of the license are extended to include subsequent editions and for editions in other languages, provided such editions are for the work as a whole in situ and does not involve the separate exploitation of the permitted figures or extracts**, You may not alter, remove or suppress in any manner any copyright, trademark or other notices displayed by the Wiley Materials. You may not license, rent, sell, loan, lease, pledge, offer as security, transfer or assign the Wiley Materials on a stand-alone basis, or any of the rights granted to you hereunder to any other person.

- The Wiley Materials and all of the intellectual property rights therein shall at all times remain the exclusive property of John Wiley & Sons Inc, the Wiley Companies, or their respective licensors, and your interest therein is only that of having possession of and the right to reproduce the Wiley Materials pursuant to Section 2 herein during the continuance of this Agreement. You agree that you own no right, title or interest in or to the Wiley Materials or any of the intellectual property rights therein. You shall have no rights hereunder other than the license as provided for above in Section 2. No right, license or interest to any trademark, trade name, service mark or other branding ("Marks") of WILEY or its licensors is granted hereunder, and you agree that you shall not assert any such right, license or interest with respect thereto
- NEITHER WILEY NOR ITS LICENSORS MAKES ANY WARRANTY OR REPRESENTATION OF ANY KIND TO YOU OR ANY THIRD PARTY, EXPRESS, IMPLIED OR STATUTORY, WITH RESPECT TO THE MATERIALS OR THE ACCURACY OF ANY INFORMATION CONTAINED IN THE MATERIALS, INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, ANY IMPLIED WARRANTY OF MERCHANTABILITY, ACCURACY, SATISFACTORY QUALITY, FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE, USABILITY, INTEGRATION OR NON-INFRINGEMENT AND ALL SUCH WARRANTIES ARE HEREBY EXCLUDED BY WILEY AND ITS LICENSORS AND WAIVED BY YOU.
- WILEY shall have the right to terminate this Agreement immediately upon breach of this Agreement by you.
- You shall indemnify, defend and hold harmless WILEY, its Licensors and their respective directors, officers, agents and employees, from and against any actual or threatened claims, demands, causes of action or proceedings arising from any breach of this Agreement by you.
- IN NO EVENT SHALL WILEY OR ITS LICENSORS BE LIABLE TO YOU OR ANY OTHER PARTY OR ANY OTHER PERSON OR ENTITY FOR ANY SPECIAL, CONSEQUENTIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, EXEMPLARY OR PUNITIVE DAMAGES, HOWEVER CAUSED, ARISING OUT OF OR IN CONNECTION WITH THE DOWNLOADING, PROVISIONING, VIEWING OR USE OF THE MATERIALS REGARDLESS OF THE FORM OF ACTION, WHETHER FOR BREACH OF CONTRACT, BREACH OF WARRANTY, TORT, NEGLIGENCE, INFRINGEMENT OR OTHERWISE (INCLUDING, WITHOUT LIMITATION, DAMAGES BASED ON LOSS OF PROFITS, DATA, FILES, USE, BUSINESS OPPORTUNITY OR CLAIMS OF THIRD PARTIES), AND WHETHER OR NOT THE PARTY HAS BEEN ADVISED OF THE POSSIBILITY OF SUCH DAMAGES. THIS LIMITATION SHALL APPLY NOTWITHSTANDING ANY FAILURE OF ESSENTIAL PURPOSE OF ANY LIMITED REMEDY PROVIDED HEREIN.
- Should any provision of this Agreement be held by a court of competent jurisdiction to be illegal, invalid, or unenforceable, that provision shall be deemed amended to achieve as nearly as possible the same economic effect as the original provision, and the legality, validity and enforceability of the remaining provisions of this Agreement shall not be affected or impaired thereby.
- The failure of either party to enforce any term or condition of this Agreement shall not constitute a waiver of either party's right to enforce each and every term and condition of this Agreement. No breach under this agreement shall be deemed waived or excused by either party unless such waiver or consent is in writing signed by the party granting such waiver or consent. The waiver by or consent of a party to a breach of any provision of this Agreement shall not operate or be construed as a waiver of or

consent to any other or subsequent breach by such other party.

- This Agreement may not be assigned (including by operation of law or otherwise) by you without WILEY's prior written consent.
- Any fee required for this permission shall be non-refundable after thirty (30) days from receipt by the CCC.
- These terms and conditions together with CCC's Billing and Payment terms and conditions (which are incorporated herein) form the entire agreement between you and WILEY concerning this licensing transaction and (in the absence of fraud) supersedes all prior agreements and representations of the parties, oral or written. This Agreement may not be amended except in writing signed by both parties. This Agreement shall be binding upon and inure to the benefit of the parties' successors, legal representatives, and authorized assigns.
- In the event of any conflict between your obligations established by these terms and conditions and those established by CCC's Billing and Payment terms and conditions, these terms and conditions shall prevail.
- WILEY expressly reserves all rights not specifically granted in the combination of (i) the license details provided by you and accepted in the course of this licensing transaction, (ii) these terms and conditions and (iii) CCC's Billing and Payment terms and conditions.
- This Agreement will be void if the Type of Use, Format, Circulation, or Requestor Type was misrepresented during the licensing process.
- This Agreement shall be governed by and construed in accordance with the laws of the State of New York, USA, without regards to such state's conflict of law rules. Any legal action, suit or proceeding arising out of or relating to these Terms and Conditions or the breach thereof shall be instituted in a court of competent jurisdiction in New York County in the State of New York in the United States of America and each party hereby consents and submits to the personal jurisdiction of such court, waives any objection to venue in such court and consents to service of process by registered or certified mail, return receipt requested, at the last known address of such party.

WILEY OPEN ACCESS TERMS AND CONDITIONS

Wiley Publishes Open Access Articles in fully Open Access Journals and in Subscription journals offering Online Open. Although most of the fully Open Access journals publish open access articles under the terms of the Creative Commons Attribution (CC BY) License only, the subscription journals and a few of the Open Access Journals offer a choice of Creative Commons Licenses. The license type is clearly identified on the article.

The Creative Commons Attribution License

The [Creative Commons Attribution License \(CC-BY\)](#) allows users to copy, distribute and transmit an article, adapt the article and make commercial use of the article. The CC-BY license permits commercial and non-

Creative Commons Attribution Non-Commercial License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial \(CC-BY-NC\) License](#) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited and is not used for commercial purposes.(see below)

Creative Commons Attribution-Non-Commercial-NoDerivs License

The [Creative Commons Attribution Non-Commercial-NoDerivs License](#) (CC-BY-NC-ND) permits use, distribution and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited, is not used for commercial purposes and no modifications or adaptations are made. (see below)

Use by commercial "for-profit" organizations

Use of Wiley Open Access articles for commercial, promotional, or marketing purposes requires further explicit permission from Wiley and will be subject to a fee.

Further details can be found on Wiley Online Library
<http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-410895.html>

Other Terms and Conditions:

v1.10 Last updated September 2015

Questions? customercare@copyright.com or +1-855-239-3415 (toll free in the US) or +1-978-646-2777.

