



**HAL**  
open science

## Synthèse des recommandations de l'International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT) sur le suivi thérapeutique pharmacologique du tacrolimus

F. Lemaître, C. Monchaud, J.-B. Woillard, N. Picard, Philippe Marquet

### ► To cite this version:

F. Lemaître, C. Monchaud, J.-B. Woillard, N. Picard, Philippe Marquet. Synthèse des recommandations de l'International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT) sur le suivi thérapeutique pharmacologique du tacrolimus. *Therapies*, 2020, 75 (6), pp.681-685. 10.1016/j.therap.2020.06.004 . hal-02934300

**HAL Id: hal-02934300**

**<https://hal.science/hal-02934300>**

Submitted on 10 Sep 2020

**HAL** is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

## THERAPIES

### HEADING : Suivi thérapeutique pharmacologique

### Synthèse des recommandations de l'*International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology* (IATDMCT) sur le suivi thérapeutique pharmacologique du tacrolimus\*

*Summary of the recommendations of the International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology (IATDMCT) on the therapeutic drug monitoring of tacrolimus*

Recommandations IATDMCT sur le STP du tacrolimus

**Florian Lemaitre<sup>a,b,\*</sup>, Caroline Monchaud<sup>c,d</sup>, Jean-Baptiste Woillard<sup>c,d,e</sup>, Nicolas Picard<sup>c,d,f</sup>, Pierre Marquet<sup>c,d,e</sup>**

Reçu le 11 février 2020 ; accepté le 21 avril 2020

<sup>a</sup> *Univ Rennes, CHU Rennes, Inserm, EHESP, Irset (Institut de recherche en santé, environnement et travail) - UMRS 1085, 35000 Rennes, France*

<sup>b</sup> *INSERM, centre d'investigation clinique 1414, 35000 Rennes, France*

<sup>c</sup> *CHU Limoges, service de pharmacologie, toxicologie et pharmacovigilance, 87000 Limoges, France*

<sup>d</sup> *INSERM, UMR-1248, 87000 Limoges, France*

<sup>e</sup> *Univ Limoges, faculté de médecine, 87000 Limoges, France*

<sup>f</sup> *Univ Limoges, faculté de pharmacie, 87000 Limoges, France*

**\*Auteur correspondant.** Laboratoire de pharmacologie, Hôpital Pontchaillou, CHU de Rennes, 2, rue Henri Le Guilloux, 35033 Rennes cedex, France.

Adresse e-mail : [florian.lemaitre@chu-rennes.fr](mailto:florian.lemaitre@chu-rennes.fr) (F. Lemaitre)

\*Cet article est une synthèse des recommandations de l'IATDMC sur le STP du tacrolimus publié avec autorisation des auteurs et de l'éditeur de l'article original de Brunet M, van Gelder T, Åsberg

A, Haufroid F, Hesselink DA, Langman L, et al. Therapeutic Drug Monitoring of Tacrolimus-Personalized Therapy: Second Consensus Report. *Ther Drug Monit* 2019;41(3):261-307.

### Summary

Recently, the International Association of Therapeutic Drug Monitoring (IATDMCT), that is the learning society for biological pharmacology and toxicology, issued recommendations on the therapeutic drug monitoring (TDM) of tacrolimus. This is the second consensus after the one issued in 2009. In this document, the role of tacrolimus TDM for the four principal transplanted organs is discussed. The analytical aspects, pharmacogenetics, TDM alternative approaches and the positioning of biomarkers are also presented. Stronger recommendations are about trough concentration targets in kidney and liver transplantation and for other indication of tacrolimus use. For the first time an area under the curve of tacrolimus concentrations target is recommended for recipients management. Eventually, another set of recommendations are proposed for pharmacodynamic biomarkers used in patients' follow-up.

**Keywords:** Calcineurin inhibitors; Transplantation; Pharmacokinetics; Rejection; Adverse events

### Résumé

Tout récemment, la société savante internationale de pharmacologie-toxicologie biologique a émis des recommandations sur le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) du tacrolimus. Cette conférence de consensus fait suite à la première du genre, laquelle avait été publiée en 2009. Dans ce document, la place du STP du tacrolimus pour les quatre principaux organes transplantés (rein, foie, cœur, poumon) est ainsi discutée. Les aspects analytiques, la pharmacogénétique, les approches alternatives de STP et l'utilisation de biomarqueurs sont également abordés. Les recommandations les plus fortes concernent les cibles de concentrations résiduelles qu'il convient d'utiliser en transplantation rénale, hépatique ainsi que dans les autres situations où le tacrolimus est utilisé. Pour la première fois une cible d'aire sous la courbe est également recommandée pour le suivi des patients transplantés. Enfin, la place des biomarqueurs pharmacodynamique dans le suivi des patients transplantés d'organe fait également l'objet de recommandations.

### MOTS-CLÉS

Inhibiteur de calcineurine ; Transplantation ; Pharmacocinétique ; Rejet ; Effets indésirables

### Abréviations

AUC : aire sous la courbe (*area under curve*)

CYP3A5: génotypage du gène codant pour le cytochrome 3A5

IATDMCT: International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology

NFAT : *nuclear factor of activated T-cell*

STP : suivi thérapeutique pharmacologique

## **Introduction**

Récemment, l'*International Association of Therapeutic Drug Monitoring and Clinical Toxicology* (IATDMCT ; la société savante internationale de pharmacologie-toxicologie biologique) a émis des recommandations sur le suivi thérapeutique pharmacologique (STP) du tacrolimus [1]. Trente-sept experts internationaux, dont cinq français, ont été invités à participer à ce consensus visant à remettre à jour les données pharmacologiques et cliniques dans le but d'optimiser l'utilisation de cet immunosuppresseur majeur en transplantation d'organes et de cellules souches et dans le traitement de certaines pathologies auto-immunes. Il s'agit de la seconde conférence de consensus sur ce sujet, après la première publiée en 2009 [2].

Depuis le précédent consensus, la prise en charge du patient transplanté et le STP du tacrolimus ont considérablement évolué. Le suivi biologique du tacrolimus s'est affiné pour plus d'efficacité tout en diminuant la fréquence des effets indésirables. De nouvelles stratégies visant à personnaliser le traitement ont également été développées. La montée en puissance de l'utilisation de la spectrométrie de masse autorisant une plus grande sensibilité des méthodes de STP s'est également accompagnée du développement croissant des aspects de qualité de l'analyse avec des exigences de plus en plus importantes.

Après une recherche bibliographique exhaustive, les auteurs ont émis, lorsque c'était possible, des recommandations assorties d'une gradation et d'un niveau de preuve. La place du STP du tacrolimus pour les quatre principaux organes transplantés (rein, foie, cœur, poumon) a ainsi été discutée. Les aspects analytiques, la pharmacogénétique, les approches alternatives de STP et l'utilisation de biomarqueurs ont été également abordés.

L'objet de cet article est de faire une synthèse des recommandations et informations principales contenues dans ce document.

En dehors des recommandations visant à préciser les cibles de concentrations en transplantation d'organes, le texte ouvre également la discussion sur un certain nombre d'autres thématiques :

- Les experts rappellent ainsi que, même si la démonstration de son efficacité sur un critère clinique dur (rejet, survie) n'a pas été faite, le génotypage du gène codant pour le cytochrome 3A5 (*CYP3A5*) peut être utile aux patients transplantés à l'initiation du traitement [3]. La plupart des données ont été obtenues en transplantations rénales et les informations contenues dans le consensus s'entendent essentiellement pour cette indication. La dose initiale de tacrolimus nécessaire pour atteindre la zone thérapeutique chez les patients expresseurs du *CYP3A5* est 50 % supérieure à celle nécessaire chez les non-expresses. Dans une moindre mesure, le génotypage du cytochrome 3A4 peut apporter des informations complémentaires également utiles au choix de la dose initiale.

- Concernant le suivi des traitements immunosuppresseurs par tacrolimus, les adaptations de posologies guidées par une approche de modélisation permettent l'atteinte des cibles de concentrations plus efficacement et une estimation fiable de l'aire sous la courbe (AUC) des patients avec un minimum de prélèvements sanguins. En outre, les auteurs proposent, afin d'affiner l'individualisation des doses, d'intégrer à ces modèles les données génétiques du *CYP3A5* et du *CYP3A4* des patients.

- Un autre aspect émergent du STP du tacrolimus est de considérer la variabilité des concentrations résiduelles de tacrolimus au cours du temps (variabilité intra-individuelle). En effet, cette variabilité est directement reliée aux effets cliniques (apparition d'anticorps anti-donneur, rejet, perte de greffon, mortalité) et ce, quel que soit l'organe greffé. Certains auteurs suggèrent que ces variations de concentration résiduelles sur une période de temps (coefficient de variation d'au moins trois mesures consécutives) pourraient éventuellement constituer un marqueur d'inobservance des patients à distance de la transplantation (au moins 6 mois) mais qu'elles pourraient également être un marqueur de risque précoce d'évènements indésirables (dès la fin de la première semaine dans certains travaux) [4]. Il pourrait s'agir là d'un nouveau « biomarqueur » d'intérêt pour les pharmaciens et les cliniciens prenant en charge des patients transplantés.

- Les méthodes faisant appel aux microprélèvements sanguins (STP fait à partir d'une goutte de sang prélevé au bout du doigt du patient) sont également mises en avant dans le document pour leur caractère innovant et leur probable rapport coût-efficacité favorable. Le STP par microprélèvements ouvre la possibilité d'un STP du transplanté à domicile et offre un accès plus simple aux AUC de tacrolimus. Cette approche possède néanmoins des écueils qu'il faut pouvoir maîtriser : nécessaire formation des utilisateurs, biais analytiques liés au volume de prélèvement, à l'hématocrite, risques d'erreur liés à la stabilité des analytes...

- Les dosages intracellulaires et intra-tissulaires de tacrolimus sont également proposés comme de nouvelles approches de l'exposition des cibles (cellules ou organes) au médicament. Bien qu'il existe des résultats encourageants en la matière, une harmonisation et une stricte maîtrise des

processus pré-analytiques et méthodes analytiques sont nécessaires avant d'envisager une diffusion de ces nouvelles modalités de surveillance biologique en pratique clinique.

- Enfin, la conférence de consensus a proposé des recommandations concernant les biomarqueurs pharmacodynamiques qui pourraient permettre d'individualiser les traitements par tacrolimus, dont la plupart ne sont pas encore rentrés dans la pratique clinique.

Les recommandations de la conférence de consensus assorties de leur gradation et niveau de preuve sont détaillées dans cet article.

## **Cibles de concentrations**

### **En transplantation rénale**

Chez les patients à faible risque immunologique :

- Une cible de concentration résiduelle de 4 à 12 ng/mL (mais préférentiellement > 7 ng/mL) est recommandée dans le cas d'un traitement associant induction par anticorps anti-récepteur de l'interleukine-2 (basiliximab), acide mycophénolique et corticoïdes (A I).

- Une cible de 4 à 7 ng/mL initialement puis de 2 à 4 ng/mL à partir de M3 est recommandée dans le cas d'un traitement associant induction par basiliximab ou thymoglobuline, évérolimus et corticoïdes (B II).

- Faute de données nouvelles, des concentrations plus élevées restent recommandées chez les patients à risque immunologique plus élevé (10-15 ng/mL initialement) [B II] ainsi qu'en pédiatrie (10-20 ng/mL initialement) [C II].

- Pour la première fois, une cible d'AUC est recommandée pour le suivi des patients transplantés adultes. Ainsi, les auteurs recommandent qu'une  $AUC_{0-12} > 150$  ng.h/mL soit visée lors d'un traitement par tacrolimus à libération immédiate (B II). Des AUC correspondant à des cibles de concentrations résiduelles sont également proposées pour la forme à libération prolongée (Advagraf) mais pas encore pour le LCP-tacro (Envarsus).

Ces recommandations se basent sur les deux plus grands essais cliniques jamais réalisés en transplantation rénale : SYMPHONY et TRANSFORM. Dans l'étude SYMPHONY, menée chez 1600 patients, la supériorité du bras tacrolimus « minimisé », associé au mycophénolate mofétil, des corticoïdes et une induction par anticorps anti-récepteur de l'IL-2 a été démontrée. En dépit de la cible de concentration résiduelle prédéfinie à 3-7 ng/mL pour le tacrolimus, les trois quarts des patients de ce bras présentaient des concentrations comprises entre 4 et 11 ng/mL [5]. Une étude récente montrant que les patients dont les concentrations étaient inférieures à 7 ng/mL développaient

plus de rejets et d'anticorps anti-donneur a conduit au resserrement des concentrations résiduelles cibles à 7-12 ng/mL avec un schéma thérapeutique associant une induction par basiliximab, tacrolimus, acide mycophénolique et corticoïdes [6]. De son côté, l'essai TRANSFORM mené chez plus de 2000 patients a démontré que la stratégie associant une induction par agents déplétants ou basiliximab, des corticoïdes, l'évérolimus et une minimisation extrême des concentrations de tacrolimus (4-7 ng/mL initialement, puis 2-4 ng/mL à partir de M3) était une stratégie non-inférieure au standard actuel [7].

Bien qu'anciennes et avec de petits effectifs, deux études cliniques ont démontré un lien entre AUC et survenue d'un rejet aigu en transplantation rénale [8,9]. L'AUC étant le meilleur marqueur de l'exposition au tacrolimus et sa relation avec la concentration résiduelle, bien que généralement bonne, pouvant être parfois médiocre dans certaines études, le recours à la mesure d'AUC se justifie à la période précoce post-transplantation mais aussi une fois l'état stable atteint.

### **En transplantation hépatique**

- En cas d'association du tacrolimus à l'acide mycophénolique ou à l'évérolimus et à des corticoïdes, la cible recommandée de concentration résiduelle de tacrolimus est de 6 à 10 ng/mL au cours du premier mois et de 5 à 8 ng/mL au-delà (A I).
- Lors de traitements par tacrolimus en monothérapie, ou associant uniquement une induction, ou en cas de traitement sans corticoïdes, la cible de concentration résiduelle initiale recommandée est de 10 à 15 ng/mL (C1 II). Dans les deux premiers cas, une cible de 5 à 10 ng/mL peut être visée à partir du quatrième mois.

Ces recommandations sont fondées sur plusieurs travaux repris dans la méta-analyse de Rodriguez-Peralvarez *et al.* et qui montre que les patients dont les concentrations résiduelles étaient supérieures à 10 ng/mL présentaient plus d'effets indésirables rénaux, sans bénéfice en termes de rejet [10]. Bien qu'il n'existe pas de preuve sur l'intérêt d'une minimisation plus importante au cours du premier mois post-transplantation, une cible de concentration entre 5 et 8 ng/mL peut être proposée dès M2. Dans tous les cas, des concentrations résiduelles supérieures à 15 ng/mL devraient être évitées [11]. La surveillance des patients transplantés hépatiques devrait être renforcée durant les 3 premiers mois. Au-delà, la fonction hépatique devenant stable, cette surveillance peut être espacée.

### **En transplantation cardiaque et pulmonaire**

- Les concentrations résiduelles cibles sont comprises entre 10 et 15 ng/mL au cours des premières semaines de traitement (B II).



Les données en transplantation thoracique (cardiaque, pulmonaire et cardio-pulmonaire) sont anciennes et les recommandations datant de 20 ans font état d'une cible de 15 à 20 ng/mL qui n'est plus d'actualité [12]. Deux études récentes, l'une en transplantation cardiaque et l'autre en transplantation pulmonaire, suggèrent que des concentrations résiduelles au-delà de 15 ng/mL au cours des 2 premières semaines post-transplantation sont péjoratives au plan rénal pour les patients [13,14]. Les données disponibles à ce jour ne permettent pas de recommander une minimisation plus importante de l'exposition au tacrolimus dans ces indications.

### **Dans les autres indications**

- En transplantation de cellules souches hématopoïétiques, une cible de concentration résiduelle de 10 à 20 ng/mL peut être visée chez les adultes et les enfants lorsque le tacrolimus administré par voie orale est associé au méthotrexate (B II). La littérature suggère que cette association pourrait être supérieure à l'association ciclosporine – méthotrexate dans cette indication [15–18].

- Dans toutes les maladies auto-immunes pour lesquelles le tacrolimus est indiqué (maladies inflammatoires du tube digestif, lupus, psoriasis, dermatite atopique), le niveau de preuve est insuffisant pour établir des recommandations (C II).

### **Biomarqueurs pharmacodynamiques**

- Le niveau d'expression résiduelle des gènes régulés par NFAT (*nuclear factor of activated T-cell*) permet d'identifier les patients à risque de rejet, d'infection opportuniste, de cancer et de maladies cardiovasculaires en transplantation rénale (B II). C'est un complément au STP du tacrolimus qui peut être utile pour l'adaptation de posologie (B III).

- La mesure de l'interféron gamma intracellulaire dans le lymphocyte T avant et après transplantation rénale et hépatique permet d'identifier les patients à risque de rejet (B II) ou les candidats à une minimisation du traitement (B II).

À l'heure actuelle, seuls deux biomarqueurs pharmacodynamiques peuvent se prévaloir d'un niveau de preuve suffisant pour bénéficier d'une recommandation. L'évaluation quantitative de l'expression des gènes régulés par NFAT (IL-2, IFN- $\gamma$  et GM-CSF) dans les cellules mononucléées par PCR en temps-réel présente l'avantage d'être reproductible mais elle nécessite deux prélèvements (l'un en situation résiduelle et l'autre au pic). Plusieurs études ont montré que le niveau d'expression résiduelle des gènes régulés par NFAT était associé risque de rejet ou d'infection [19–22]. La concentration intracellulaire d'IFN- $\gamma$  dans le lymphocyte T est également un biomarqueur d'intérêt



pour identifier des populations à risque en transplantation. Ainsi en transplantation hépatique, le pourcentage de cellules CD4<sup>+</sup> et CD8<sup>+</sup> exprimant l'IFN- $\gamma$  apparaît comme un marqueur de substitution pour le risque de rejet et permet d'identifier les patients indument surexposés au tacrolimus [23,24]. Une étude multicentrique menée en transplantation rénale et hépatique a également montré que l'expression intracellulaire de ce biomarqueur (ainsi que l'expression intracellulaire d'IL-2 dans les cellules CD8<sup>+</sup>) augmentait lors d'un épisode de rejet [25].

## **Conclusion**

Cette seconde conférence de consensus sur le suivi thérapeutique pharmacologique du tacrolimus, fruit du travail de pharmacologues du monde entier, fixe les éléments essentiels à une prise en charge optimisée des patients traités par ce médicament. En intégrant les données collectées au cours de la dernière décennie à un rappel des notions élémentaires de sa pharmacologie, ce document constitue une synthèse des connaissances sur le tacrolimus. La mise à disposition de cibles de concentrations résiduelles consensuelles en transplantation rénale et hépatique laisse envisager une harmonisation des objectifs dans les centres transplantateurs. En parallèle, de nouvelles approches pharmacocinétiques ou pharmacodynamiques sont présentées, dévoilant les futurs axes de progression dans le traitement des patients transplantés par tacrolimus.

## **Déclaration de liens d'intérêts**

Les auteurs n'ont pas de conflits d'intérêts à déclarer

## **Références**

- [1] 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.
- [2] Wallemacq P, Armstrong VW, Brunet M, Haufroid V, Holt DW, Johnston A, et al. Opportunities to optimize tacrolimus therapy in solid organ transplantation: report of the European consensus conference. *Ther Drug Monit* 2009;31(2):139–52.
- [3] Woillard JB, Chouchana L, Picard N, Lorient MA, French Network of Pharmacogenetics (RNPGX). Pharmacogenetics of immunosuppressants: State of the art and clinical implementation - recommendations from the French National Network of Pharmacogenetics (RNPGx). *Therapie* 2017;72(2):285–99.

- [4] Rayar M, Tron C, Jézéquel C, Beaurepaire JM, Petitcollin A, Houssel-Debry P, et al. High inpatient variability of tacrolimus exposure in the early period after liver transplantation is associated with poorer outcomes. *Transplantation* 2018;102(3):e108–14.
- [5] Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vítko S, Nashan B, Gürkan A, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007 20;357(25):2562–75.
- [6] Gatault P, Kamar N, Büchler M, Colosio C, Bertrand D, Durrbach A, et al. Reduction of extended-release tacrolimus dose in low-immunological-risk kidney transplant recipients increases risk of rejection and appearance of donor-specific antibodies: a randomized study. *Am J Transplant* 2017;17(5):1370–9.
- [7] Pascual J, Berger SP, Witzke O, Tedesco H, Mulgaonkar S, Qazi Y, et al. Everolimus with reduced calcineurin inhibitor exposure in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2018;29(7):1979–91.
- [8] Kuypers DRJ, Claes K, Evenepoel P, Maes B, Vanrenterghem Y. Clinical efficacy and toxicity profile of tacrolimus and mycophenolic acid in relation to combined long-term pharmacokinetics in de novo renal allograft recipients. *Clin Pharmacol Ther* 2004;75(5):434–47.
- [9] Undre NA, van Hooff J, Christiaans M, Vanrenterghem Y, Donck J, Heeman U, et al. Low systemic exposure to tacrolimus correlates with acute rejection. *Transplant Proc* 1999;31(1-2):296–8.
- [10] Rodríguez-Perálvarez M, Germani G, Darius T, Lerut J, Tsochatzis E, Burroughs AK. Tacrolimus trough levels, rejection and renal impairment in liver transplantation: a systematic review and meta-analysis. *Am J Transplant* 2012;12(10):2797–814.
- [11] Venkataramanan R, Shaw LM, Sarkozi L, Mullins R, Pirsch J, MacFarlane G, et al. Clinical utility of monitoring tacrolimus blood concentrations in liver transplant patients. *J Clin Pharmacol* 2001;41(5):542–51.
- [12] Taylor DO, Barr ML, Meiser BM, Pham SM, Mentzer RM, Gass AL. Suggested guidelines for the use of tacrolimus in cardiac transplant recipients. *J Heart Lung Transplant* 2001;20(7):734-8.

- [13] Sikma MA, Hunault CC, van de Graaf EA, Verhaar MC, Kesecioglu J, de Lange DW, et al. High tacrolimus blood concentrations early after lung transplantation and the risk of kidney injury. *Eur J Clin Pharmacol* 2017;73(5):573–80.
- [14] Sikma MA, Hunault CC, Kirkels JH, Verhaar MC, Kesecioglu J, de Lange DW. Association of whole blood tacrolimus concentrations with kidney injury in heart transplantation patients. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2018;43(3):311–20.
- [15] Hiraoka A, Ohashi Y, Okamoto S, Moriyama Y, Nagao T, Koderu Y, et al. Phase III study comparing tacrolimus (FK506) with cyclosporine for graft-versus-host disease prophylaxis after allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2001;28(2):181–5.
- [16] Ram R, Gafter-Gvili A, Yeshurun M, Paul M, Raanani P, Shpilberg O. Prophylaxis regimens for GVHD: systematic review and meta-analysis. *Bone Marrow Transplant* 2009;43(8):643–53.
- [17] Oshima K, Sato M, Terasako K, Kimura S, Okuda S, Kako S, et al. Target blood concentrations of CYA and tacrolimus in randomized controlled trials for the prevention of acute GVHD after hematopoietic SCT. *Bone Marrow Transplant* 2010;45(4):781–2.
- [18] Nash RA, Antin JH, Karanes C, Fay JW, Avalos BR, Yeager AM, et al. Phase 3 study comparing methotrexate and tacrolimus with methotrexate and cyclosporine for prophylaxis of acute graft-versus-host disease after marrow transplantation from unrelated donors. *Blood* 2000;96(6):2062–8.
- [19] Steinebrunner N, Sandig C, Sommerer C, Hinz U, Giese T, Stremmel W, et al. Reduced residual gene expression of nuclear factor of activated T cells-regulated genes correlates with the risk of cytomegalovirus infection after liver transplantation. *Transpl Infect Dis* 2014;16(3):379–86.
- [20] Bremer S, Vethe NT, Skauby M, Kasbo M, Johansson ED, Midtvedt K, et al. NFAT-regulated cytokine gene expression during tacrolimus therapy early after renal transplantation. *Br J Clin Pharmacol* 2017;83(11):2494–502.

- [21] Sommerer C, Schnitzler P, Meuer S, Zeier M, Giese T. Pharmacodynamic monitoring of cyclosporin A reveals risk of opportunistic infections and malignancies in renal transplant recipients 65 years and older. *Ther Drug Monit* 2011;33(6):694–8.
- [22] Sommerer C, Zeier M, Meuer S, Giese T. Individualized monitoring of nuclear factor of activated T cells-regulated gene expression in FK506-treated kidney transplant recipients. *Transplantation* 2010;89(11):1417–23.
- [23] Millán O, Benitez C, Guillén D, López A, Rimola A, Sánchez-Fueyo A, et al. Biomarkers of immunoregulatory status in stable liver transplant recipients undergoing weaning of immunosuppressive therapy. *Clin Immunol* 2010;137(3):337–46.
- [24] Millán O, Rafael-Valdivia L, Torrademé E, López A, Fortuna V, Sánchez-Cabus S, et al. Intracellular IFN- $\gamma$  and IL-2 expression monitoring as surrogate markers of the risk of acute rejection and personal drug response in de novo liver transplant recipients. *Cytokine*. 2013;61(2):556–64.
- [25] Millán O, Rafael-Valdivia L, San Segundo D, Boix F, Castro-Panete MJ, López-Hoyos M, et al. Should IFN- $\gamma$ , IL-17 and IL-2 be considered predictive biomarkers of acute rejection in liver and kidney transplant? Results of a multicentric study. *Clin Immunol* 2014;154(2):141–54.