

M. Basagaña,  
V. Cardona\*, O. Luengo,  
E. Muñoz, J. L. Eserverri

Secció d'Al·lèrgia i  
Immunologia Clínica  
Pediàtrica. Hospital  
Universitari Vall d'Hebron.  
Barcelona.

\*Secció d'Al·lèrgia, Servei de  
Medicina Interna. Hospital  
Universitari Vall d'Hebron.  
Barcelona.

## Original

# Eficacia y seguridad a largo plazo del tratamiento con tacrolimus por vía tópica en niños con dermatitis atópica grave

*Introducción:* Tacrolimus es un inmunosupresor tipo macrólido. Recientemente se ha introducido como un nuevo tratamiento para la dermatitis atópica (DA). Su acción se basa en la inhibición de la transcripción de citocinas en las células inflamatorias y del sistema inmunitario.

*Objetivos:* Determinar la eficacia y seguridad a largo plazo (12 meses) del tratamiento con tacrolimus por vía tópica en pacientes con DA grave.

*Métodos:* Estudio abierto de seguimiento prospectivo de eficacia y seguridad en niños de 2 a 12 años de edad con DA grave. Se prescribió tratamiento durante tres meses con dos aplicaciones diarias de tacrolimus por vía tópica sobre las regiones afectas. Durante el seguimiento se reiniciaron nuevos ciclos cuando presentaron exacerbaciones. La gravedad de la DA se determinó con el índice SCORAD al inicio y mensualmente durante el seguimiento. Se realizaron pruebas de laboratorio al inicio y final de cada tanda de tratamiento. Se pasó un cuestionario de efectos adversos una vez al mes.

*Resultados:* Se incluyeron nueve pacientes en el estudio, 5 varones y 4 mujeres, con una edad media de 6,3 años y una duración media de la DA de 51 meses. Tras el tratamiento se observó una reducción del índice SCORAD estadísticamente significativa ( $p = 0,011$  al mes;  $p = 0,012$  a los dos meses;  $p = 0,012$  a los tres meses de tratamiento y  $p = 0,018$  al mes de suspenderlo). Un 75% de los pacientes presentaron un aumento leve del prurito y enrojecimiento en las lesiones en las primeras aplicaciones de minutos a horas de duración. No detectamos alteraciones analíticas ni efectos adversos relevantes.

*Conclusiones:* Tacrolimus en su forma de aplicación tópica es un tratamiento eficaz y seguro para los niños afectados de DA grave. El mantenimiento de dicha eficacia a largo plazo parece relacionarse con la gravedad inicial de la DA.

**Palabras clave:** Dermatitis atópica. Tacrolimus.

## Efficacy and safety long-term study of tacrolimus ointment in children with severe atopic dermatitis

*Background:* Tacrolimus is a macrolide-immunosuppressor. It has recently been introduced as a new treatment of atopic dermatitis (AD). Its action is based on the inhibition of cytokine transcription in inflammatory and immune cells.

*Objectives:* To determine long-term efficacy and safety of tacrolimus ointment treatment in patients with severe AD.

Correspondencia:  
María Basagaña  
Servicio de Alergia.  
Hospital Vall d'Hebrón.  
Po Vall d'Hebrón, 119-129.  
08035 Barcelona.  
E-mail: 34917mbt@comb.es

**Methods:** Prospective open long-term study of safety and efficacy of tacrolimus ointment in 2 to 12 years old children with severe AD. Tacrolimus ointment was prescribed for three months twice a day over affected areas. New cycles of treatment were prescribed during the follow up period when severe AD reappeared. Severity of AD was determined based on SCORAD index, at the beginning and monthly during the follow-up period (12 months). A blood sample was taken at the beginning and after every cycle of treatment. Any adverse effect was registered monthly.

**Results:** Nine patients were included, five males and four females, with a medium age of 6.3 years and medium duration of AD of 51 months. The SCORAD index was significantly reduced after treatment ( $p=0.011$  at first month;  $p=0.012$  two months;  $p=0.012$  three and  $p=0.018$  one month after having finished the treatment). Seventy and five per cent of the patients presented a low increase of pruritus and burning in the first applications that disappeared in minutes-hours. Analytical alterations and clinical adverse events were not detected.

**Conclusions:** Tacrolimus ointment is a safe and effective treatment for children with severe AD. The long-term efficacy seems to be related to the initial severity of AD.

**Key words:** Atopic dermatitis. Tacrolimus

## INTRODUCCIÓN

La dermatitis atópica (DA) es el trastorno crónico de la piel más frecuente en la infancia; afecta a un 10% de la población pediátrica de los países desarrollados. Se define como una inflamación crónica de la piel caracterizada por eritema, edema, prurito intenso, exudación, formación de costras y descamación aunque ninguna de estas lesiones sea específica de la DA. A pesar de esto, el diagnóstico de la DA es fundamentalmente clínico y los criterios de Hanifin y Rajka son los que se aceptan universalmente para el diagnóstico de la DA<sup>1</sup>.

Los corticoides tópicos han sido, por su efecto antiinflamatorio, el tratamiento clásico de elección en este trastorno. Sin embargo, esta opción terapéutica no siempre es eficaz ni carece de efectos adversos. En los casos de DA más grave el uso mantenido de los corticoides puede tener efectos secundarios sistémicos importantes, como la

insuficiencia suprarrenal y el retraso del crecimiento, y locales, como la atrofia cutánea, la hipopigmentación y la formación de estrías.

Por este motivo se han probado otros fármacos alternativos como ciclosporina por vía oral que se ha mostrado eficaz pero cuyo uso se ve limitado por sus efectos tóxicos sistémicos. Ciclosporina no es activa por vía tópica por su baja penetración a través de la piel<sup>2</sup>.

Tacrolimus o FK506 es un inmunosupresor de tipo macrólido aislado a partir del *Streptomyces tsukubaensis* con un perfil de acción similar al de la ciclosporina. Por su elevada potencia y su bajo peso molecular puede usarse por vía tópica<sup>3</sup> y aparece como una nueva alternativa terapéutica en la DA.

Tacrolimus, se ha utilizado clásicamente para evitar rechazos tras el trasplante, ha demostrado ser por vía tópica en diversos ensayos clínicos multicéntricos un tratamiento seguro y eficaz, tanto en la población adulta como en la pediátrica<sup>4,6</sup>.

Tacrolimus actúa directamente sobre los linfocitos, especialmente sobre los CD4+, uniéndose a las inmunofilinas (FK-binding proteins.) Este complejo se une a la calcineurina, inhibiéndola e impidiendo su acción activadora de IL-2, IL-3, IL-4, IL-5, GM-CSF, TNF- $\alpha$  y IFN- $\gamma$ , moléculas que participan en la activación linfocitaria que constituye la respuesta inmunitaria precoz implicada en la patogenia de la DA. A su vez impide la liberación de los mediadores inflamatorios de los mastocitos y basófilos y disminuye la expresión de la proteína de membrana F $\delta$ c RI en las células de Langerhans.

## MÉTODOS

### Diseño del estudio

Estudio prospectivo de seguimiento a largo plazo no comparativo que se llevó a cabo en la consulta del Servicio de Alergia e Inmunología Pediátrica desde noviembre de 2001 a mayo de 2003. Se seleccionaron pacientes con dermatitis atópica que acudían en primera visita o visita sucesiva a partir de la fecha señalada.

### Selección de los pacientes, diagnóstico y tratamiento

A los pacientes que cumplían los criterios de inclusión/exclusión (Tabla I) se les trató durante tres meses, de acuerdo con ensayos clínicos previos<sup>5</sup>. Se pautaron dos

**Tabla I.** Criterios de inclusión/exclusión del estudio

Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Edad: 2-15 años	Otras enfermedades cutáneas graves
Diagnosticada con los criterios de Hanifin y Rajka	Enfermedades sistémicas que contraindiquen el uso de tacrolimus
SCORAD > 65	Enfermedad crónica que no esté en fase estable
Falta de respuesta clínica / efectos adversos a tratamientos tradicionales	Uso de otros inmunosupresores
Consentimiento informado	

aplicaciones diarias en capa fina de tacrolimus (al 0,03% en menores de 4 años y al 0,1% en mayores de 4 años) sobre las regiones afectas.

Se determinó la sensibilización tanto mediante la prueba del *prick* usando baterías estándar (Aristegui®) como mediante la determinación de IgE específica por la técnica CAP (Pharmacia®)

La intensidad de la DA se determinó con el índice SCORAD (*Consensus Report of the European Task Force on Atopic Dermatitis*), al inicio y todos los meses durante el seguimiento.

Se realizaron extracciones de sangre para hemograma, estudio de función renal y hepática, estudio de poblaciones linfocitarias y concentraciones de inmunoglobulinas a nivel basal y al finalizar cada ciclo de tratamiento.

Se administró un cuestionario de efectos adversos todos los meses durante los doce de seguimiento, que consistía de una pregunta abierta "¿Ha tenido lugar algún acontecimiento adverso durante el período de seguimiento?". En caso afirmativo, se anotaba la descripción, especificando acontecimientos previos, la duración, la intensidad, la evolución y la acción tomada.

Durante el estudio se prohibió la administración concomitante de corticoides tópicos pero todos los pacientes mantuvieron las medidas higiénicas e hidratantes habituales, es decir, el uso de cremas emolientes en las regiones no afectas, los jabones líquidos para el baño y la administración de antihistamínicos por vía oral a demanda.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Se realizó con el programa estadístico SPSS 9.0. Las variables cualitativas se analizaron con la prueba del  $\chi^2$ , y las cuantitativas con las pruebas no paramétricas Wilcoxon y U-Man-Whitney.

## RESULTADOS

### Características de los pacientes

Las características clínicas y demográficas de los pacientes incluidos en el estudio se exponen en la Tabla II.

### Evolución del SCORAD durante el primer ciclo de tratamiento

Observamos una disminución del SCORAD que se mantuvo durante todo el tratamiento e incluso un mes después de suspenderlo (Fig. 1.) La media del SCORAD experimentó una reducción estadísticamente significativa tanto al mes de tratamiento ( $p = 0,011$ ), a los dos meses ( $p = 0,012$ ), a los tres meses ( $p = 0,012$ ) y al mes de suspender el primer ciclo ( $p = 0,018$ .) Los valores absolutos de la media del SCORAD fueron de 79 en T0, 45 en T1, 44 en T2, 37 en T3 y de 45 un mes después de finalizar el tratamiento (Fig. 2.). Los pacientes y sus familias refirieron una mejoría de las lesiones, ya evidente durante los primeros días de tratamiento.

En dos pacientes que tenían un SCORAD en T0 superior al 90%, la respuesta durante el primer ciclo de tratamiento fue más lenta que en el resto; en un paciente se observó incluso una exacerbación de las lesiones durante el primer mes de tratamiento (Fig. 3).

### Evolución del SCORAD durante el seguimiento

De los 9 niños a los que se siguió a largo plazo (12 meses), cuatro se han mantenido estables después de fina-

**Tabla II.** Características de los pacientes

-Pacientes:	5 v /4 m
-Edad:	6,3 años (2-12)
-Sensibilizados:	50%
-Inicio DA:	10,5 meses
-Duración:	51 meses (18 a 120)
-Otras manifestaciones de atopia:	
• Asma	50%
• Rinoconjuntivitis	20%
• UA/AE	11%
-Ttos previos:	
• corticoides tópicos	100%
• corticoides vo	33%
• Ab vo	55%
• CsA	11%

Los resultados se expresan en porcentaje o en media (rango)



Fig. 1. Imágenes de un paciente antes y después del tratamiento.

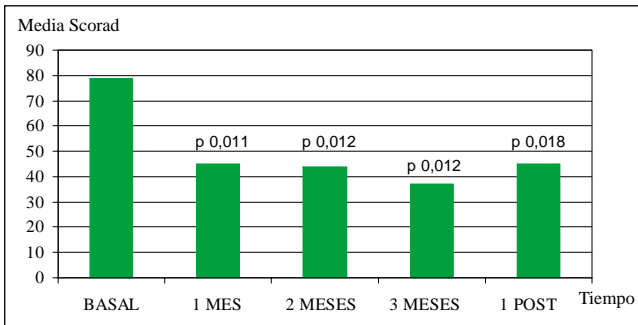


Fig. 2. Evolución de la media del SCORAD durante el primer ciclo de tratamiento. Cada una de las columnas representa la media en los primeros meses de tratamiento y al mes de suspender el primer ciclo. Los valores de la p se refieren a la comparación respecto al SCORAD basal.

lizar el primer ciclo de tratamiento con un buen control de su enfermedad y una disminución de los síntomas subjetivos. Los cinco restantes, en cambio, han presentado durante el seguimiento brotes graves de DA, que han requerido reiniciar nuevos ciclos de tratamiento. Observamos que en todos ellos la nueva aplicación del producto consigue un buen control del brote pero las lesiones reaparecen al suspenderlo (Fig. 4).

Un paciente que presentaba un SCORAD de 76 un mes después del tratamiento tuvo que suspender el segundo ciclo de tacrolimus al mes de haberlo iniciado por la aparición de poliadenopatías que precisaron estudio, motivo por el cual estuvo sin tacrolimus hasta el noveno mes

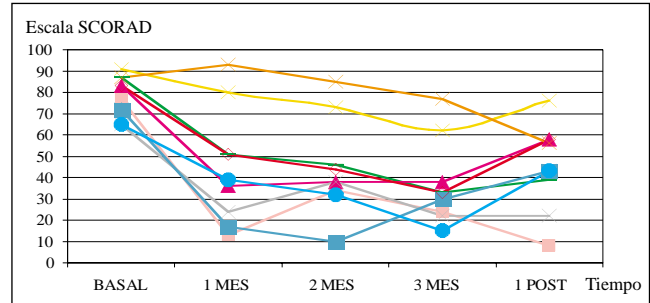


Fig. 3. Evolución del SCORAD durante el primer ciclo de tratamiento. Cada línea representa a un paciente. Las líneas en naranja y amarillo representan los dos pacientes con una respuesta más lenta.

de seguimiento, momento en que inició el tercer ciclo que completó sin más incidencias.

Otro paciente tuvo una evolución errática de las lesiones y de los síntomas subjetivos motivados por una falta de cumplimiento terapéutico.

Durante el seguimiento se definieron dos grupos en función del requerimiento o no de nuevos ciclos de tratamiento, con características diferenciales que analizamos.

El primer grupo, que precisó únicamente un ciclo de tratamiento, correspondía a niños con una edad y un tiempo de evolución inferiores que presentaban un SCORAD basal y una extensión de las lesiones en el tiempo cero inferior al del otro grupo (Tabla III).

### Efectos secundarios

Siete de los nueve pacientes (75% de la muestra) manifestaron eritema y prurito en las primeras aplicaciones de minutos a horas de duración, y que iban desapareciendo en las aplicaciones sucesivas. En ningún caso esto motivó la suspensión del tratamiento. Los cinco pacientes que precisaron más de un ciclo de tratamiento no presentaron este efecto en las aplicaciones sucesivas.

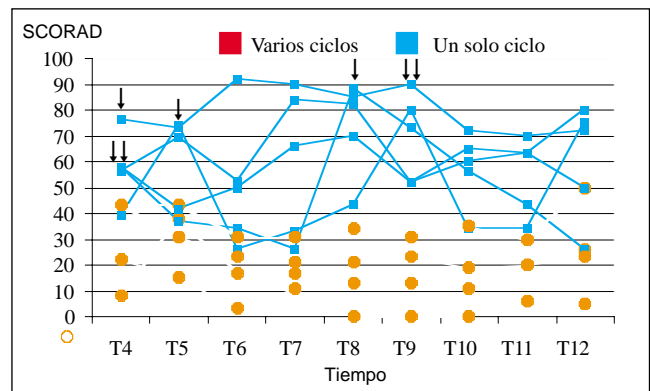


Fig. 4. Evolución del SCORAD durante los 12 meses de tratamiento. Cada una de las líneas representa a una paciente. Las flechas verticales en negro indican el inicio de un nuevo ciclo.

**Tabla III.** Comparación entre los pacientes que precisaron uno o más ciclos de tacrolimus

	GRUPO 1	GRUPO 2	p
Nº ciclos	1	> 1	-
Muestra	4/9	5/9	NS
Edad	5 a	7 a	NS
Duración	3 a	5 a	NS
Extensión TO	60%	75%	NS
SCORAD TO	70	86	0,032

En ningún caso se detectaron alteraciones analíticas significativas.

### Incidencias

Se detectaron mediante el cuestionario de efectos adversos una serie de incidencias que a nuestro parecer no se relacionaban con el tratamiento, sino con su enfermedad alérgica (Tabla IV).

Dos pacientes presentaron a lo largo del seguimiento poliadenopatías. El primero presentó durante el segundo ciclo de tratamiento adenopatías axilares, retroauriculares y en la cadena mamaria derecha. De forma cautelara se suspendió el tratamiento y se llevó a cabo una evaluación exhaustiva junto al Servicio de Oncohematología Pediátrica. Las pruebas serológicas frente a virus fueron negativas, las pruebas de imagen fueron normales y el estudio anatomopatológico demostró que se trataba de una adenitis reactiva con histiocitosis sinusal. El cuadro se resolvió sin tratamiento.

**Tabla IV.** Incidencias durante el tratamiento

Dermatitis de contacto	1/9 (11%)
Erupción pápulo-eritematosa por sudor	1/9 (11%)
Episodio de rinoconjuntivitis	3/9 (33%)
Infección cutánea (4 <i>S aureus</i> , 1 <i>Molluscum contagiosum</i> , 1 Herpes labial)	6/9 (67%)
Crisis de broncoespasmo	5/9 (56%)
Prurito genito-anal	1/9 (11%)
Mancha hipopigmentada en EID	1/9 (11%)
Episodio de urticaria aguda	2/9 (22%)
Neumonía basal derecha	1/9 (11%)
Poliadenopatías*	2/9 (22%)
Exantema variceliforme de Kaposi*	1/9 (11%)
Impétigo*	1/9 (11%)

Señalamos con \* las incidencias que serán ampliamente descritas en el texto.

En el segundo paciente se detectaron adenopatías durante el control del primer ciclo; el tratamiento se suspendió y el estudio, similar al anterior, fue normal.

Una paciente presentó en el control del segundo ciclo de tratamiento una erupción variceliforme de Kaposi que requirió ingreso. En los hemocultivos creció *S. aureus* sensible a cloxacilina y en el de las lesiones cutáneas herpes simple. La paciente presentó una evolución favorable con tratamiento antibiótico y antivírico por vía intravenosa. Quince días después del primer ingreso, sin haber reiniciado el tratamiento con tacrolimus, esta paciente volvió a ingresar por un impétigo con afectación del estado general. El frotis cutáneo fue positivo para *S. aureus* sensible a cloxacilina. Se inició tratamiento antibiótico por vía intravenosa y antisepsia tópica que resolvieron el cuadro.

En los tres pacientes se reinició el tratamiento con tacrolimus tópico con buena tolerancia.

## DISCUSIÓN

Tacrolimus es el primer fármaco de una nueva familia terapéutica para el tratamiento de la dermatitis atópica.

Recientemente se han realizado dos grandes ensayos clínicos a corto plazo (3 semanas), uno en niños y otro en adultos. Se comparó el tratamiento con tacrolimus tópico con un corticosteroide tópico, hasta ahora el fármaco de elección en la DA. En el ensayo con población adulta<sup>7</sup>, tacrolimus al 0,1% se comparó con una pomada de 17-butilato de hidrocortisona al 0,1%, un corticosteroide tópico de potencia moderada-alta, y se demostró una eficacia similar con ambos tratamientos. La mejoría clínica fue también sustancial en los pacientes tratados con tacrolimus al 0,03%, pero inferior a la observada con tacrolimus al 0,1% o butirato de hidrocortisona al 0,1%. En el ensayo pediátrico<sup>8</sup>, se comparó el acetato de hidrocortisona al 1%, de potencia baja, con tacrolimus tópico y se demostró que éste era significativamente más eficaz tanto al 0,1% como al 0,03%.

Las concentraciones de pomada de tacrolimus (0,1% y 0,03%), en estudios anteriores controlados con vehículo<sup>4,5</sup>, han demostrado tener la misma eficacia y seguridad en la población pediátrica. En nuestro estudio administramos arbitrariamente la menor concentración en los niños menores de cuatro años y la mayor en los niños mayores.

Valoramos la eficacia clínica de tacrolimus tópico por el índice SCORAD, y observamos una disminución

del SCORAD durante el tratamiento que fue estadísticamente significativa y que se mantenía al mes de suspenderlo.

Durante el seguimiento a largo plazo (12 meses) hubo algunos pacientes que presentaron brotes graves de DA que requirieron nuevos ciclos de tratamiento, por lo que se definieron dos grupos en función del número de ciclos de tacrolimus requeridos. Los pacientes controlados con un solo ciclo tenían una edad menor, un tiempo de evolución de la DA menor y un SCORAD basal y una extensión inferior a las del grupo que requirió diversos ciclos, aunque la diferencia tan sólo resultó significativa para el SCORAD basal. La poca homogeneidad del grupo y el pequeño tamaño muestral podrían explicar que la diferencia en el resto de variables no alcanzara la significación estadística. El mantenimiento de la eficacia a largo plazo parece estar relacionado con el SCORAD basal, de forma que la eficacia de tacrolimus administrado en DA menos intensas podría prolongarse.

Evaluamos también la seguridad de tacrolimus tópico mediante un cuestionario de efectos adversos y análisis de sangre. No observamos cambios en la inmunidad celular ni humoral después del tratamiento. No obstante, nuestros pacientes presentaban en el estudio basal un cociente CD4+/CD8+ aumentado (considerado una característica inmunitaria de la DA). No se observaron tendencias anormales en ningún valor de laboratorio durante el seguimiento.

El 75% de los pacientes presentaron quemazón local y un aumento de prurito transitorios, que tenían una relación clara con el tratamiento con tacrolimus<sup>9</sup>. Estos episodios tan sólo duraron unos 10 minutos<sup>6,7</sup> y desaparecían en aplicaciones sucesivas. Esto se debe probablemente a que la gravedad basal de la enfermedad contribuye a aumentar la irritación local al inicio del tratamiento y a que la piel se hace más resistente al cicatrizar.

No observamos en ningún paciente el efecto secundario clásico de los tratamientos prolongados con corticoides tópicos de la atrofia cutánea, dado que tacrolimus no afecta al metabolismo del colágeno<sup>9</sup>.

La incidencia de infecciones tanto cutáneas como no cutáneas observada en este estudio fue ligeramente superior a la de estudios anteriores, probablemente debido al sesgo que supone una muestra reducida y a la gravedad de las DA incluidas en este estudio; la mayoría de los estudios se han realizado en DA moderada-grave. Por ejemplo Kang y cols.<sup>6</sup> de un total de 255 niños de 2-15 años de edad con DA moderada-grave observaron un 32% de

infecciones cutáneas en las lesiones frente al 67% de nuestro estudio. Dos pacientes requirieron hospitalización para controlar la infección cutánea. En nuestro estudio hubo un paciente que requirió hospitalización en dos ocasiones para controlar un impétigo con afectación del estado general y por un exantema variceliforme de Kaposi. Los tipos de infección encontrados son similares a lo de los estudios anteriores (*Staphylococcus aureus*, *Molluscum contagiosum*, herpes simple y herpes varicela-zóster).

Dos pacientes con DA muy intensas (SCORAD basal del 100%) presentaron poliadenopatías con un estudio anatomopatológico de adenitis reactiva probablemente secundaria al elevado recambio celular que presentaban.

La linfadenopatía se ha descrito en raras ocasiones en los ensayos clínicos (0,8%)<sup>10</sup> y en la mayoría de estos casos se relacionaron con infecciones (cutáneas, respiratorias, odontógenas) y se solucionaron con la antibióticoterapia adecuada. Dado que los pacientes trasplantados con tratamiento inmunosupresor con tacrolimus sistémico presentan un mayor riesgo de linfoma, en los pacientes que reciben tacrolimus por vía tópica y presenten linfadenopatías debe aclararse su causa. A pesar de esto se considera que la absorción sistémica de tacrolimus es escasa o nula después de su aplicación tópica. Las concentraciones sanguíneas de tacrolimus medidas en pacientes con tratamientos tópicos son sustancialmente inferiores a las que se asocian a un aumento de su toxicidad (> 20 ng/ml) observadas en pacientes trasplantados que reciben tacrolimus por vía intravenosa. En el estudio de Boguniewicz y cols.<sup>4</sup> sólo el 2,8% de las determinaciones sanguíneas de tacrolimus superaba levemente 1 ng/ml.

## CONCLUSIONES

Este estudio indica que tacrolimus tópico es un tratamiento eficaz en los niños afectados de DA grave que no han respondido al resto de los tratamientos tradicionales. El mantenimiento de esta eficacia parece relacionarse con el SCORAD (gravedad) de la DA.

Las incidencias observadas durante el período de estudio, características de la evolución natural de la DA grave, no se han podido relacionar con el tratamiento con tacrolimus, lo que apoya la seguridad demostrada en estudios previos.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Hanifin JM, Rajka G. Diagnostic features of atopic dermatitis. *Acta Derm Venereol Suppl (Stockh)* 1980;92: 44-47.
2. Susan J. Tofte: Current management and therapy of atopic dermatitis. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: S13-16.
3. Nagakawa H, Etoh T, Isibashi Y. Tacrolimus ointment for atopic dermatitis. *Lancet* 1994; 344: 883.
4. Boguniewicz M. A randomized, vehicle-controlled trial of tacrolimus ointment for treatment of atopic dermatitis in children. *J Allergy Clin Immunol* 1998; 102: 637-644.
5. Paller A. A 12-week study of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in pediatric patients. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: S47-57.
6. Kang S. Long-term safety and efficacy of tacrolimus ointment for the treatment of atopic dermatitis in children. *J Am Acad Dermatol* 2001; 44: S58-64.
7. Reitamo S, Rustin M, Ruzicka T, Cambazard F, Kalimo K, Friedmann PS, et al. European Tacrolimus Ointment Study Group. Efficacy and safety of tacrolimus ointment compared with hydrocortisone butyrate ointment in adult patients with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 547-554.
8. Reitamo S, Van Leent EJ, Ho V, Harper J, Ruzicka T, Kalimo K, et al. European/Canadian Tacrolimus Ointment Study Group. Efficacy and safety of tacrolimus ointment compared with hydrocortisone acetate in children with atopic dermatitis. *J Allergy Clin Immunol* 2002; 109: 539-546.
9. Reitamo S, Rissanen J, Remitz A, Granlund H, Erkkö P, Elg P, et al. Tacrolimus ointment does not affect collagen synthesis: results of a single-center randomized trial. *J Invest Dermatol* 1998; 111: 396-398.
10. Fujisawa Healthcare, Inc. Protopic® package insert. Deerfield, IL: 2000 December.