

Universidad de Sevilla
Facultad de Medicina
DEPARTAMENTO DE CIRUGÍA

Tesis doctoral

**Seguridad y Eficacia de los
Inhibidores de mTOR en Pacientes
Trasplantados Hepáticos**

presentada por

Juan Antonio García Martínez

Licenciado en Medicina y Cirugía

Para optar al grado de

**DOCTOR POR LA
UNIVERSIDAD DE SEVILLA**

Directores:

Francisco Javier Padillo Ruiz

José María Álamo Martínez

Sevilla, Octubre 2015

Agradecimiento especial a mi tutor, quien siempre me apoyó y sin el que este trabajo no hubiese sido posible.

Dedicada a mi familia y en especial a mis padres, aunque lejos, siempre cerca...

ÍNDICE

	Pág.
1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. Historia de la inmunosupresión en el trasplante hepático.....	6
1.2. Inmunosupresión en el trasplante hepático.....	8
1.2.1. Inhibidores de la calcineurina.....	11
1.2.1.1. Tacrolimus.....	12
1.2.1.2. Ciclosporina.....	14
1.2.2. Micofenolato-mofetilo.....	16
1.2.3. AntiCD25.....	21
1.3. Toxicidad de los inhibidores de la calcineurina.....	22
1.4. Bases farmacológicas de los mMTRi.....	26
1.5. mTORi y función renal.....	37
1.6. Diabetes y nefropatía hipertensiva.....	38
1.7. mTORi en el campo de la oncología.....	39
1.8. mTORi y hepatocarcinoma.....	42
2. HIPÓTESIS	43
3. OBJETIVOS	45
4. MATERIAL Y MÉTODOS	47
4.1. Muestra y Metodología.....	48
4.2. Toxicidad y eficacia en la prevención del rechazo.....	50
4.3. mTORi y función renal.....	51
4.4. mTORi, hepatocarcinoma y tumores de novo.....	51
4.5. Análisis Estadístico.....	53
5. RESULTADOS	54
5.1. Toxicidad y eficacia en la prevención del rechazo.....	55
5.2. mTORi y función renal.....	67
5.3. mTORi, hepatocarcinomas y neoplasias de novo.....	72

6.	DISCUSIÓN.....	80
6.1.	Toxicidad y eficacia de los mTORi en la prevención del rechazo en el TOH.....	81
6.2.	mTORi y función renal.....	83
6.3	mTORi y tumores.....	84
7.	CONCLUSIONES.....	93
8.	BIBLIOGRAFÍA.....	95

1. INTRODUCCIÓN

Dada la amplia gama de fármacos inmunosupresores útiles en el trasplante hepático (TH), la tendencia actual es hacia la búsqueda de protocolos individualizados. Por el momento, no se ha hallado ningún fármaco ideal para todos los pacientes, por lo que parece razonable tratar de escoger el inmunosupresor específico para cada caso tanto en el momento de recibir el órgano y para las diferentes situaciones a lo largo del tiempo pos-TH (inducción, rechazo celular, mantenimiento a largo plazo, rechazo crónico, etc.)

Los objetivos del tratamiento inmunosupresor son evitar el rechazo, tanto en el momento de recibir el órgano como para las diferentes situaciones que se puedan producir y al mismo tiempo minimizar los efectos secundarios (infecciones, tumores *de novo*, recidiva de la enfermedad viral de base, disfunción renal, hipertensión, dislipemia, diabetes, etc.) [1]

1.1. HISTORIA DE LA INMUNOSUPRESIÓN EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO.

Durante la década de los 60, la inmunosupresión básica se fundamentaba en azatioprina (AZA), y prednisona [1], con la cual se conseguía la supervivencia de los injertos a costa de múltiples efectos secundarios debido a las dosis elevadas de esteroides (EST) requeridas. Como consecuencia, la mortalidad por infecciones y/o a rechazos incontrolados era muy elevada. A finales de dicho periodo, se introdujeron las gammaglobulinas antilinfocitarias policlonales, obtenidas mediante la inmunización de animales como el caballo o el ratón, con linfocitos humanos.

La introducción de la ciclosporina (CsA) en la práctica clínica en 1978 [2] cambió radicalmente el panorama del trasplante de órganos sólidos y por tanto el del TH, dada su especificidad en la prevención del rechazo y su menor alteración de la capacidad de defensa ante las infecciones. Junto a las mejoras en la técnica quirúrgica, en el manejo anestésico y en la selección de los pacientes, fue una de las piezas claves para la mejoría en las tasas de supervivencia al año, desde el 25-30% en las primeras épocas, al 75-80% que se alcanzó en la década de los 80. La ciclosporina permitió estandarizar el TH como tratamiento en las hepatopatías terminales.

En 1984 se descubrió un nuevo inhibidor de la calcineurina, el tacrólimus (TAC) (FK 506), con propiedades similares a la CsA aunque con mayor potencia. A partir del año 1989, Starzl *et al* lo introdujeron inicialmente como alternativa a la CsA en los rechazos refractarios o crónicos y posteriormente como inmunosupresión primaria, consiguiendo supervivencias al año del 90%. Al final de la década de los noventa se introdujo un nuevo inhibidor de la síntesis de purinas, el micofenolato de mofetilo (MMF) [3], el cual se presentaba como una alternativa más selectiva y con mayor capacidad inmunosupresora que la AZA.

Posteriormente, la introducción de agentes antiproliferativos como los inhibidores de la m-TOR (sirolimus y everolimus) así como los anticuerpos monoclonales quiméricos o humanizados contra los receptores de la IL-2 (AntiCD25) han permitido establecer novedosas pautas terapéuticas y avanzar en el tratamiento de los problemas a largo plazo de la inmunosupresión. Además, se están estudiando otras moléculas con capacidad inmunosupresora como la mizoribina, la deoxispergualina, el brequinar, la leflunomida, AEB, etc [1, 4-7]. (Tablas 1 y 2)

<1989	>1989
<ul style="list-style-type: none"> -Esteroides. -Irradiación corporal total. -6-mercaptopurina. -Azatioprina. -Aza-ciclofosfamida+drenaje conducto torácico. -Aza+Esteroides. -ALG/ATG. -Ciclosporina+ Esteroides. 	<ul style="list-style-type: none"> -OKT3. -Tacrólimus. -MMF. -Sirolimus, everolimus. -Anti-IL-2R monoclonal (quimérico basiliximab/humanizado daclizumab). -Otros en investigación: brequinar, 15-deoxyspergualin, bloqueadores de moléculas de adhesión, inhibidores de células presentadoras de antígenos, FK 778, MR4, timoglobulina.

Tabla 1.1. Evolución de los fármacos inmunosupresores.

Año	Investigador	Inmunosupresor
1951	Birmingham y Medawar	EST
1959	Schawrtz y Dameshek	AZA
1967	Starzl	Anticuerpos policlonales linfocitarios
1972	Borel	CsA
1978	Calne (uso clínico)	
1979	Kölher y Milstein	Anticuerpos monoclonales antiCD3 (OKT3)
1984	Kino y Hatanaka	FK506 (Tacrólimus)
1989	Starzl (uso clínico)	
1988	Winter	Anticuerpos monoclonales quiméricos (basiliximab, daclizumab)
1995	Sollinger	Micofenolato mofetil (MMF)
1999	Groth	Rapamicina
En estudio	Chong, Okubo, Iwasawa y Cramer	Brequinar sódico 15-Deoxispergualina Mizoribina, Leflunomida Análogos de la PGE

Tabla 1.2. Hitos históricos de la inmunosupresión.

Todos estos avances, han posibilitado establecer nuevas pautas terapéuticas y progresar en las posibilidades del tratamiento de los problemas a largo plazo de la inmunosupresión, como es el rechazo crónico (RC), la producción de tumores y la nefrotoxicidad o insuficiencia renal crónica (IRC), permitiendo adaptar en cada caso según cada paciente la pauta inmunosupresora más idónea en función de sus características clínicas, evolución y presencia de complicaciones.

1.2. INMUNOSUPRESIÓN EN EL TRASPLANTE HEPÁTICO.

El objetivo de administrar fármacos inmunosupresores a los pacientes receptores de un injerto hepático es evitar el rechazo agudo y crónico del órgano trasplantado. Este rechazo es el resultado natural de la incompatibilidad genética entre donante y receptor que hace reaccionar al sistema inmunitario del receptor contra los antígenos de histocompatibilidad del donante. La inmunosupresión del receptor comporta riesgos importantes al afectar la capacidad de defensa frente a las infecciones y también el desarrollo de tumores. La clave del éxito del trasplante está en una correcta modulación de la inmunosupresión que mantenga este difícil equilibrio entre rechazo con riesgo de pérdida del injerto e infecciones con riesgo de pérdida del individuo.

Los fármacos que disponemos actualmente son cada vez más potentes pero sobre todo más selectivos. Los grandes avances en el conocimiento de la inmunobiología del rechazo ha permitido conocer los mecanismos de actuación de los fármacos y al mismo tiempo conocer cuáles son los puntos claves de la reacción inmunitaria cuyo bloqueo es más efectivo para evitar el rechazo. (Tabla 3).

Fase	Inmunosupresores
Fase G-0. Función macrófago-monocitaria (APC, MHC-TCR/CD3, IL-1, IL-6)	Esteroides OKT3: antiCD3 monoclonal murino ALG, ATG: anti-T policlonal Deoxyspergualina
Fase G-1. Síntesis de citoquinas Transducción de la señal IL-2. IL2R	CsA A (Neoral) Tacrólimus. Anti IL-2R monoclonales. - Quimérico basiliximab (Simulect) - Humano daclizumab (Zenapax) Rapamicina (Sirolimus). P70 S6 kinasa SDZ-RAD
Fase S. Síntesis de DNA Proliferación de las células T	Azatiopirina (Imurel) Mofetil Micofenolato (Cell Cept) Brequinar sódico Mizoribina Leflunomida

Tabla 1.3. Mecanismo de acción de los inmunosupresores.

La inmunosupresión debe adaptarse a las distintas fases pos-TH. Así, en la fase inicial o de inducción en que la capacidad de reacción del receptor es máxima se administran dosis altas de varios fármacos: esteroides, CsA o TAC, MMF en los protocolos triples e incluso anticuerpos monoclonales o policlonales antilinfocitarios en protocolos de cuádruple terapia. Una vez superadas las primeras semanas disminuye la inmunorreactividad y entramos en la fase de mantenimiento, pudiendo disminuir las dosis de inmunosupresión al mínimo necesario.

La tercera situación, es el rechazo agudo en la que debemos administrar rápidamente dosis altas de esteroides (EST) y ajustar los niveles de la inmunosupresión basal (CsA o TAC) para asegurar un nivel terapéutico. Si el rechazo no responde a los EST, se puede optar por convertir precozmente a TAC a los pacientes que presentan rechazos córtico-resistentes mientras reciben CsA, o añadir MMF que ha demostrado su efectividad en el trasplante renal y hepático.

La enorme experiencia acumulada en los últimos 20 años hace vislumbrar una nueva época en que la inmunosupresión deberá adaptarse a las circunstancias de cada receptor; la edad, sexo, raza, indicación de trasplante, enfermedades víricas, enfermedades asociadas, situación general del paciente etc. Los objetivos del tratamiento inmunosupresor ya no sólo son el mantenimiento del injerto y, por tanto la vida del individuo, sino que valoran también la calidad de vida del paciente trasplantado y los distintos avatares o situaciones que atraviesa en una vida totalmente activa; maternidad, ejercicio físico, cambios estéticos, obesidad, arterioesclerosis, riesgo cardiovascular, neoplasias *de novo* etc.

Los efectos secundarios y tóxicos de los distintos inmunosupresores (HTA, IRA, IRC, DM, alteraciones oculares, osteopatía, hipercolesterolemia, efecto antitumorales de algunas drogas etc.), deben valorarse en el momento de decidir el mejor tratamiento inmunosupresor para un receptor determinado, que puede presentar alguna de estas patologías antes del trasplante. Finalmente, la posibilidad de adquirir un estado de tolerancia específico, definido como la ausencia de rechazo del aloinjerto una vez retirada toda la inmunosupresión, sería el gran éxito del trasplante de órganos.

Se está investigando intensamente el fenómeno del microquimerismo, persistencia de células del donante en los tejidos del receptor años después del trasplante, que podría indicar un estado de tolerancia específico hacia estas células. La potenciación de este fenómeno mediante la administración de una transfusión de células de la médula ósea del donante al mismo tiempo que el órgano es una de las líneas de investigación actuales. El bloqueo de la reacción de rechazo mediante la administración de anticuerpos monoclonales específicos durante la fase de inducción o de péptidos análogos a los que forman el complejo mayor de histocompatibilidad parece que también favorecería la aparición de este estado de tolerancia.

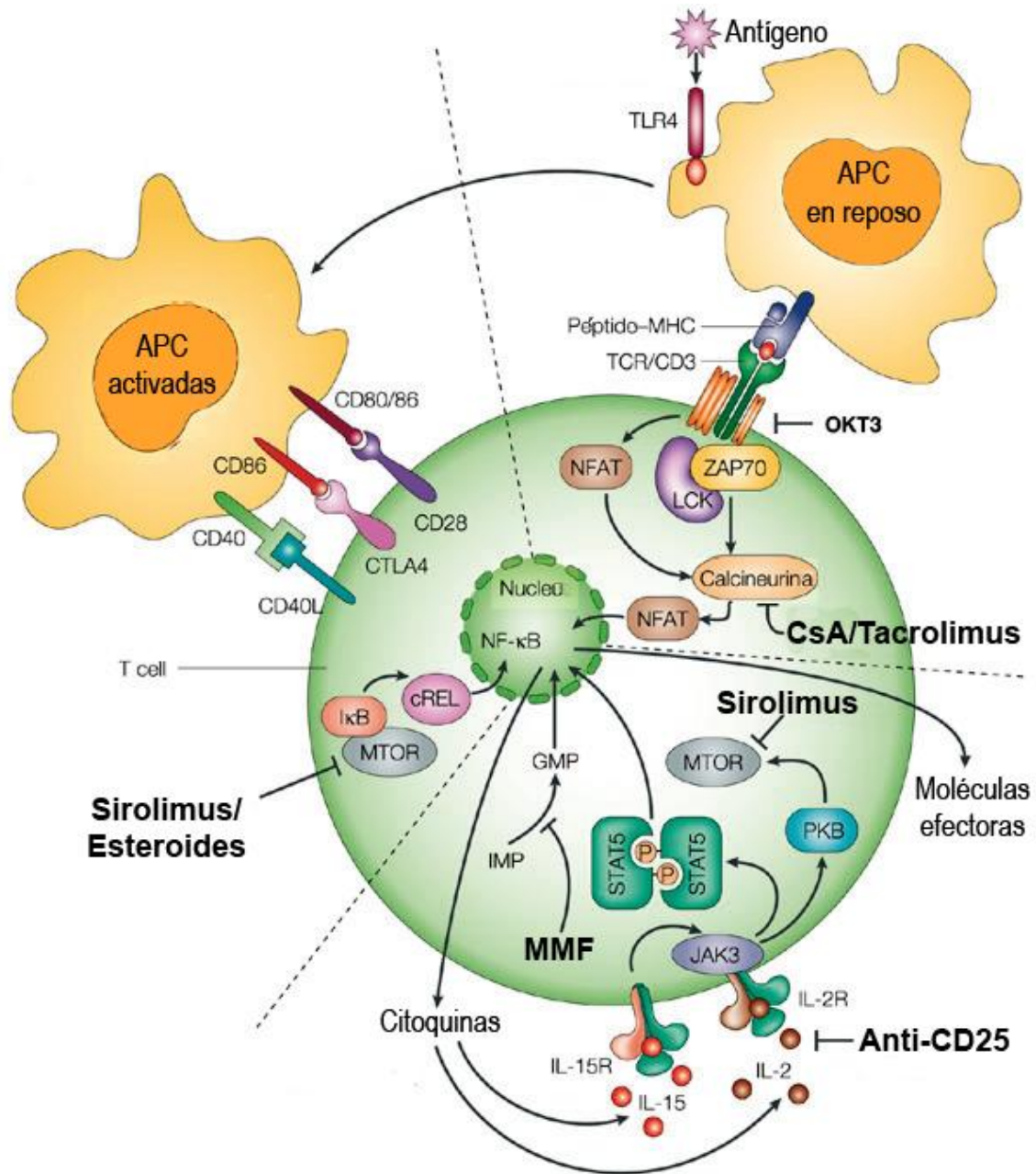


Figura 1.1. Mecanismo de acción de los distintos fármacos inmunosupresores.

1.2.1. Inhibidores de la calcineurina.

Los anticalcineurínicos (CsA y TAC) se unen a la calcineurina, inhibiendo la activación calcio-dependiente de la síntesis y liberación de IL-2, entre otras citoquinas, y produciendo una disminución de la respuesta del linfocito T a la IL-1. (Figura 2).

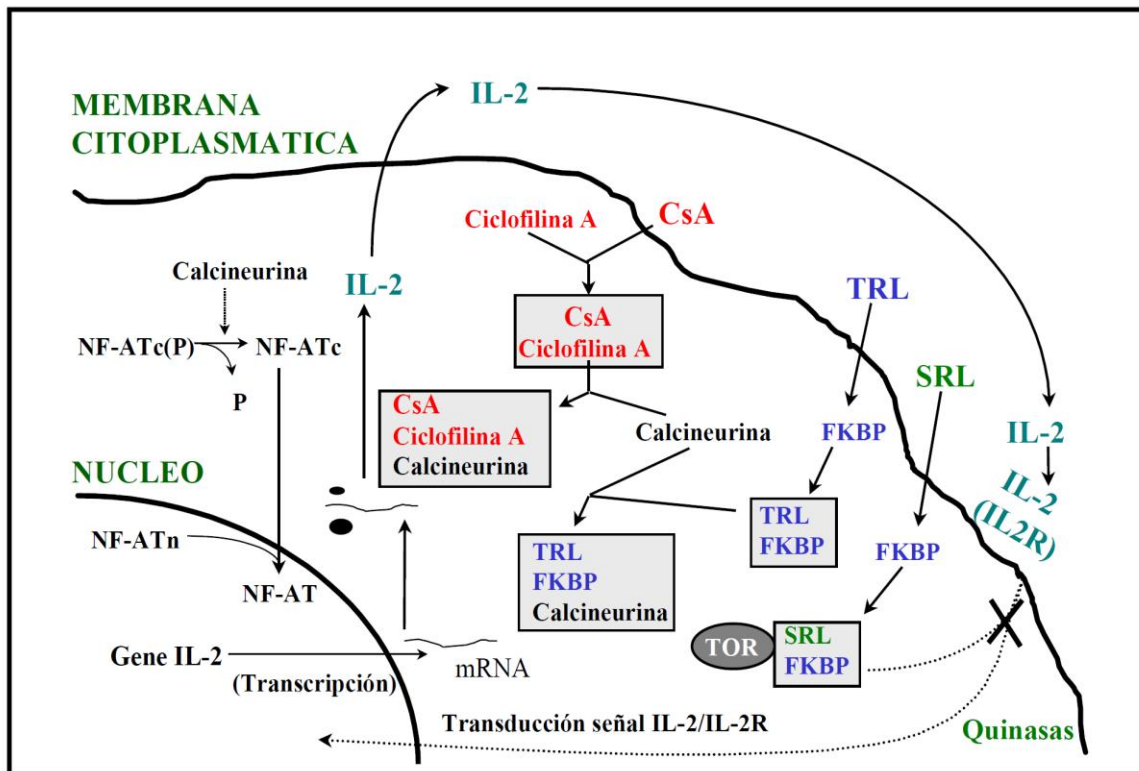


Figura 1.2. Mecanismo de acción de ciclosporina, tacrolimus y sirolimus.

En la actualidad, los anticalcineurínicos son la base de los protocolos de tratamiento inmunosupresor tras el TH. Por este motivo, se han realizado diversos estudios para comparar TAC y CsA con la finalidad de decidir el fármaco de elección en base a su eficacia y su seguridad. La mayoría de estudios comparaban el TAC con la CsA en su formulación clásica, por lo que sus conclusiones no podían extrapolarse a la CsA en microemulsión, dadas sus diferencias en cuanto a la biodisponibilidad, monitorización y eficacia [1]. Otros estudios que compararon TAC y CsA en microemulsión concluyeron que TAC debiera ser el fármaco de elección [8, 9, 10], aunque cabe destacar que la monitorización se llevó a cabo según los niveles de C_0 .

En términos globales, parece ser que el TAC es más potente pero algo más tóxico que la CsA, por lo que en la actualidad no disponemos de datos objetivos para decidir cuál de ellos debiera ser el anticalcineurínico de elección si es que uno de ellos lo fuera para todos los pacientes. Diversos estudios como el LIS2T que comparan el uso de TAC vs CsA en microemulsión monitorizándola según C_2 , muestran que ambos fármacos son similares en cuanto a eficacia inmunosupresora y efectos secundarios, excepto por una mayor incidencia de diabetes y diarreas en el TAC [11, 12].

Un meta-análisis que incluye 16 ensayos clínicos que comparan ambos fármacos, también concluye que el TAC es superior a la CsA en cuanto a su capacidad de prevenir el RA y mejorar la supervivencia de los pacientes y los injertos, aunque aumenta la diabetes post-TH [13, 14].

1.2.1.1. TACROLIMUS.

También denominado como FK 506, es un macrólido aislado *del Streptomyces tsubaensis*, de naturaleza liposoluble, con un mecanismo de acción similar al de la CsA, a pesar de su distinta estructura química y con una potencia de 50 a 100 veces superior. El primer paciente que recibió TAC lo hizo en la Universidad de Pittsburgh, bajo la decisión y dirección del Prof. Thomas Starzl. Inicialmente se administró junto a CsA como tratamiento de rescate [15].

1.2.1.1.1. Mecanismo de acción.

De forma similar a la CsA, actúa como un profármaco, activándose tras unirse a su receptor intracelular, una inmunofilina denominada fugifilina o FK 506 binding protein-12 (FKBP12). El complejo tacrólimus-fugifilina se une a la calcineurina, inhibiendo la síntesis y liberación de calcio dependiente de IL-2 y la expresión del receptor de IL-2. Tal como sucedía con la CsA, el complejo fugilina-tacrólimus no posee efecto en la activación calcio-independiente de las células T, como la desencadenada por la molécula CD28. A diferencia de la CsA, el TAC posee la propiedad adicional de interferir en la expresión de los receptores de IL-4 de los linfocitos B, de inhibir la síntesis de IL-5 (factor de diferenciación de los linfocitos B), de reducir la expresión de las moléculas de adhesión en las células endoteliales y bloquear la respuesta de los leucocitos a la IL-8. Al igual que la CsA, el FK 506 detiene el ciclo celular entre la fase G0 y G1 [16].

1.2.1.1.2. Farmacocinética

La absorción se produce en duodeno y yeyuno, sin depender de la producción biliar, por lo que tal como sucede con la CsA en microemulsión, también es posible su administración en el post-TH inmediato. Su concentración máxima se obtiene entre 1,5 y 2 horas de su administración por vía oral. Su biodisponibilidad es baja (20-25%) y su vida media oscila entre 8,5-17 horas. El 80% del fármaco viaja unido a los hematíes y el 98,9% de su fracción plasmática se une estrechamente a las proteínas plasmáticas,

especialmente la albúmina, por lo que no es dializable. La fracción libre es la activa, por lo que el hematocrito o las variaciones en las proteínas pueden modificarla sustancialmente. Se distribuye ampliamente por todo el organismo. Su metabolismo es fundamentalmente hepático, a través del citocromo P-450, eliminándose por la bilis. Por ese motivo, la insuficiencia hepática produce un aumento en sus niveles plasmáticos, de su vida media y disminuye su aclaramiento. Por ello es necesario monitorizar estrechamente sus niveles en esa situación. Menos del 1% se elimina de forma activa por vía renal o fecal, por lo que no precisa modificar su dosis en caso de insuficiencia renal (a no ser que el fallo renal se atribuya al fármaco). De forma análoga a la CsA, aquellos fármacos que utilicen la vía del citocromo P-450 interaccionan con el FK 506 [16]. Dado que su toxicidad, tal como sucede con la CsA, está relacionada con su mecanismo de acción, junto a su estrecha ventana terapéutica, obliga a la monitorización sistemática de sus niveles para optimizar su uso como inmunosupresor.

1.2.1.1.3. Eficacia

En cuanto a la eficacia comparada con CsA, en la mayoría de los estudios no se han hallado diferencias significativas [17,18], aunque otros han hallado superioridad del TAC [19-22]. De todos modos, aunque los resultados a largo plazo no muestran diferencias entre CsA y TAC, a corto plazo parece que el TAC presenta menos incidencia de RA y riesgo cardiovascular, lo que ha motivado que muchas unidades de trasplantes se inclinen por su utilización.

1.2.1.2. CICLOSPORINA A.

Es un polipéptido cíclico, obtenido a partir del hongo *Tolypocladium inflatum gans*. Es una sustancia neutra, muy lipofílica y por tanto insoluble en agua. El descubrimiento de la CsA y su posterior aplicación en clínica por parte de R. Calne en 1978 supuso una revolución en el campo de la inmunosupresión en el trasplante de órganos sólidos [1].

Hasta su introducción en la clínica al inicio de la década de los ochenta, la mayoría de pacientes trasplantados morían de rechazo o de infecciones como consecuencia de las altas dosis de inmunosupresión inespecífica (EST y AZA) a la que eran sometidos y que les suprimía toda capacidad de defensa.

1.2.1.2.1. Mecanismo de acción.

Produce una inhibición reversible de la activación de los linfocitos T por medio de su unión a un receptor de membrana de éstos, penetrando en la célula, donde actúa como un profármaco, dado que se activa al unirse a su receptor intracelular, una inmunofilina denominada ciclofilina. El complejo CsA-ciclofilina entra en el núcleo, uniéndose a la calcineurina, alterando la transcripción del RNA mensajero codificado para la síntesis de citoquinas calciodependiente, inhibiendo así la producción de IL-2 y disminuyendo la respuesta a la IL-1. De este modo disminuye la proliferación de los linfocitos T activados por la IL-2 y suprime la proliferación de los linfocitos citotóxicos. La CsA detiene el ciclo celular entre la fase G0 y G1. Carece de efectos en la activación calcioindependiente de las células T, como la desencadenada por la molécula CD28. También bloquea la producción del factor inhibitorio de migración de los macrófagos, del IFN y del factor de crecimiento de las células B [23].

La CsA se puede administrar vía oral o endovenosa. Cuando se administra por vía oral, su biodisponibilidad es muy baja (20-50%). Su absorción tiene lugar en el intestino delgado. La formulación inicial requería de la presencia de bilis, y por tanto su absorción se afectaba en procesos como la gastroenteritis aguda, la enfermedad inflamatoria intestinal, la insuficiencia hepática y en el post-TH inmediato. En cambio, la formulación utilizada en la actualidad, introducida en nuestro país en 1995, en forma de microemulsión y denominada CsA neoral, posee una biodisponibilidad un 15-30% mayor, con una absorción intestinal más regular, menos dependiente de la bilis o de los alimentos, y por tanto, con un perfil farmacocinético más predecible. Su desarrollo ha permitido el uso eficaz en el post-TH inmediato, incluso en pacientes con drenajes biliares, en situaciones de colestasis, pudiendo evitar el uso de la vía endovenosa.

El 99% de la CsA se metaboliza en el hígado, a través del sistema del citocromo P-450, lo cual explica la influencia que pueden tener la insuficiencia hepática o la interacción con fármacos inhibidores del sistema enzimático microsomal (eritromicina, andrógenos, metilprednisolona, antagonistas del calcio) o estimuladores (rifampicina, fenobarbital, fenitoína, carbamacepina, ácido valproico).

Su vida media oscila entre 12 y 17 horas. Su excreción se realiza fundamentalmente por la bilis, existiendo una circulación entero-hepática. Únicamente un 0,1% se excreta en forma metabólicamente activa vía renal, por lo que la insuficiencia renal no afecta de modo significativo a sus niveles [16].

La monitorización de la CsA se realiza habitualmente utilizando muestras extraídas en el denominado nivel valle, que corresponde al momento antes de administrar la siguiente dosis (C_{min}). Al analizar las concentraciones de los pacientes que presentaban toxicidad y la concentración mínima eficaz para establecer el intervalo terapéutico tomando muestras siempre en el mismo momento, se denominó a ésta C_0 . Se estableció un nivel valle de 250 ng/ml como límite superior del supuesto intervalo terapéutico, estableciéndose como límite inferior la cifra de 100 ng/ml. Utilizando la monitorización según la C_0 , pronto se observó que no existía una correlación clara con la ausencia de rechazo o la toxicidad, debido a que la C_0 no parece reflejar la biodisponibilidad del fármaco. A pesar de ello, la determinación basal (C_0), continúa siendo la estrategia rutinaria en muchos grupos [24, 25]. Diversos trabajos han mostrado convincentemente que mientras la exposición a la CsA determina la eficacia de la inmunosupresión y la toxicidad, dicha exposición no se correlaciona estrechamente con la C_0 [24, 26].

1.2.2. Micofenolato-mofetilo.

El uso en humanos del inmunosupresor MMF, fue aprobado por la *Food Drug Administration* en 1995. Inicialmente, fue aprobado para ser usado como antibiótico y agente anticancerígeno. En los años 70, se desarrollaron ensayos clínicos para el tratamiento de la psoriasis, que no llegaron a completarse [27, 28].

El interés por este fármaco, se reanudó cuando se constató que poseían efectos antiproliferativos y selectivos para los linfocitos, el AMF tenía estas características.

1.2.2.1. Mecanismo de acción

Dos fueron las observaciones que sugirieron que la vía *de novo* de las síntesis de las purinas, y no la vía de recuperación, era crucial para la respuesta proliferativa de los linfocitos T y B humanos.

Por una parte, los niños con déficit de adenosín desaminasa (ADA), enzima que regula la conversión de adenosín monofosfato (AMP) en inosín monofosfato (IMP), y viceversa, ofrecían una disminución selectiva en el número y función de los linfocitos T y B, con recuentos de neutrófilos, eritrocitos y plaquetas normales [29].

Por otra parte, los pacientes jóvenes con déficit de la enzima hipoxantin-guanosín-fosforribosil-transferasa (HGPRT, síndrome de Lesch-Nyhan), que interviene en la síntesis de purinas por la vía de ahorro, no presentaban esta alteración linfocitaria [30]. Posteriormente, por estas propiedades que presenta, el MMF se ha utilizado tanto en la prevención como en el tratamiento del rechazo en el trasplante de órganos, ya que su eficacia ha quedado ampliamente demostrada [31]. A su vez, el tratamiento con MMF fue eficaz en varios modelos experimentales de rechazo crónico, sin embargo, en los pacientes TH se sigue estudiando este efecto.

1.2.2.1. Uso clínico

En la actualidad, también es usado fundamentalmente como alternativa a la AZA asociado a anticalcineurínicos o como fármaco a añadir en caso de toxicidad a CsA o TAC dada la necesidad de disminuir la dosis de éstos por los efectos secundarios que causan [1, 16].

La sustitución de AZA por MMF ha demostrado ser muy eficaz en la reducción del RA (40,8% con AZA vs 19,8% con MMF 2g/d y 16,5% con MMF 3g/d), aunque no se encontraron diferencias en la supervivencia del injerto al año y a los 3 años de evolución [32-34]. Posteriormente, un análisis multivariante [35], sobre los datos registrados de 13.000 pacientes, reveló que los pacientes tratados con MMF presentaban no sólo menor incidencia de RA, sino también menor riesgo de pérdida del injerto (el 83% del riesgo con AZA) [36].

También se ha observado, que la utilización de MMF tiene un efecto beneficioso en la prevención de la nefropatía crónica del injerto, que en parte es independiente de la reducción de la tasa de RA.

1.2.2.2. Farmacocinética

El MMF es el morfolinoetil éster del ácido micofenólico, también denominado 2-morfolinoetil (E)-6-(1,3-dihidro -4-hidroxi -6-metoxi -7-metil -3-oxo -5-isobenzofuranil)- 4-metil-4-hexenoato. Se trata de un ácido débil, de peso molecular 433,5 y fórmula empírica C₂₃H₃₁NO₇ (Figura 7). Se encuentra en forma de polvo cristalino blanco, ligeramente soluble en agua (43 µg/ ml a pH 7,4), más en medio ácido (4,27 mg/ ml a pH 3,6), y totalmente soluble en acetona y metanol.

El MMF es un profármaco hidrosoluble que carece de actividad farmacológica. Tras su administración oral se absorbe de forma completa en el intestino delgado, y no es detectable en plasma ya que sufre un proceso de desesterificación en la propia pared intestinal, hepática y sanguínea mediante el cual se transforma en AMF, su metabolito activo. Éste alcanza la concentración plasmática máxima unos 50 minutos tras su administración oral. La biodisponibilidad media del micofenolato de mofetilo por vía oral, se determinada mediante el área bajo la curva (AUC) del AMF, es del 94% en comparación con la del MMF intravenoso. Los alimentos no tienen ningún efecto en el grado de absorción (AUC del MMF) del MMF administrado a dosis de 1-1,5g/ dos veces al día, en pacientes TH. Sin embargo, se produce una disminución aproximadamente del 40% en la C_{max} del AMF en presencia de alimentos.

El AMF, se une en un 97% a la albúmina plasmática, lo que justifica en parte una semivida de eliminación prolongada, en torno a 16 horas. La concentración activa del fármaco es la correspondiente a la fracción no unida a proteínas. Su metabolismo se lleva a cabo en el hígado, donde es conjugado con el ácido glucorónico mediante la acción metabolizadora de la glucuronil-transferasa, convirtiéndose en glucurónido fenólico de AMF (GAMF), metabolito sin actividad farmacológica que circula unido a albúmina y que se excreta por la bilis, con una gran circulación entero-hepática. Posiblemente esta circunstancia sea la responsable de los efectos adversos gastrointestinales, ya que en esta localización se encuentra a altas concentraciones. Se ha identificado un metabolito del AMF, el acil-glucurónido del AMF, que se piensa que puede ser el causante de algunos de los efectos tóxicos de la droga a través de la liberación de citoquinas proinflamatorias, como IL-6 y TNF- α [37]. Este efecto no se ha observado con AMF ni con su glucurónidofenólico.

En duodeno, las bacterias intestinales hidrolizan el GAMF condicionando una circulación enterohepática del AMF. Ello explica la variación intersujetos de la vida media del AMF, así como de la presencia de un segundo pico de concentración plasmática que habitualmente se detecta entre 6-12 horas tras la ingesta de MMF.

Por otro lado, la coadministración de colestiramina produce una reducción de AMF del orden del 40 %, lo que es identificativo de una circulación enterohepática importante. El fármaco principalmente se elimina por vía renal (93%), en forma de GAMF, empleando mecanismos de filtrado glomerular y secreción tubular. Una pequeña proporción del GAMF (6%) se elimina sin hidrolizar por las heces. En caso de insuficiencia renal o función renal retardada del injerto, el aclaramiento de GAMF se ve reducido, si bien el hecho de que este metabolito carezca de efectos farmacológicos explica la ausencia de necesidad de ajuste de dosis. El AMF y el GAMF, no se eliminan por hemodiálisis a las concentraciones encontradas a nivel clínico. Sin embargo, a concentraciones plasmáticas elevadas de GAMF (>100 microgramos/ml), se eliminan pequeñas cantidades del mismo. En cualquier caso, la falta de experiencia clínica con dosis elevadas de MMF aconseja evitar la administración de dosis diarias superiores a 3 g/día, siendo la dosis habitual utilizada en el TH de 2g/día.

En el postoperatorio inmediato (<40 días al trasplante), los pacientes sometidos a TH tienen unos valores medios del AUC del AMF aproximadamente un 30% más bajo y una C_{max} aproximadamente un 40% también menor si lo comparamos con el periodo postoperatorio tardío (3 - 6 meses posteriores al trasplante).

1.2.2.3. Efectos del MMF

La respuesta inmunológica que conlleva el rechazo del aloinjerto, depende principalmente de la capacidad de proliferación linfocitaria. Las células proliferan por división mitótica, necesitando para ello la síntesis de ADN, que precisa nucleótidos de purina y pirimidina.

En los linfocitos activados existe un aumento de la síntesis de las purinas, siendo su principal vía la *de novo*, es decir, la mediada por la inosina monofosfato deshidrogenasa (IMPDH). El AMF es un potente inhibidor no competitivo y reversible de una enzima

clave para la síntesis de nucleótidos *de novo* de purina, la inosín 5´monofostato deshidrogenasa (IMPDH) [38] necesaria para que las células B y T activadas puedan proliferar. Por tanto, la principal consecuencia de esta inhibición de la IMPDH es la depleción de la guanosina monofosfato intracitoplasmática (y, consecuentemente del GTP y dGTP) por lo que el ciclo celular se detiene en la fase S, lo que producirá un efecto antiproliferativo en los linfocitos más potente que en otros tipos celulares [38, 39]. Además, la isoforma tipo II de la IMPDH, presente en linfocitos en estado de proliferación, es cuatro veces más sensible a la inhibición por AMF que la isoforma de tipo I, expresada en la mayoría de las células [40].

Su actuación específica sobre los linfocitos B y T lo hace más selectivo que la AZA. El MMF también disminuye la capacidad de adherencia de los linfocitos activados al endotelio mediante la alteración de la expresión de la molécula de adhesión VLA-4, por lo que disminuye su capacidad de ataque y lesión. Además inhibe la proliferación fibroblástica del músculo liso arterial, lo que lo hace interesante como tratamiento en el rechazo tipo vascular y el crónico [1, 16].

Los principales efectos descritos derivados de la depleción de nucleótidos de guanosina son: inhibición de la proliferación celular, alteración en la glicosilación de moléculas de adhesión, síntesis de citoquinas, producción de anticuerpos, inducción de apoptosis tras la activación celular e inhibición de la enzima sintasa del óxido nítrico inducible (iNOS), síntesis de otros nucleótidos y maduración y función de células dendríticas. Además de éstos existen otros efectos que se han ido constatando a lo largo de los años mediante la investigación de líneas celulares, cultivos primarios, modelos animales en rata o ratón y análisis de pacientes que han recibido este inmunosupresor [31].

1.2.2.4. Toxicidad por MMF en pacientes trasplantados

Debido a su mecanismo de acción, altera otros tipos de células en división, por lo que fundamentalmente entre sus efectos secundarios destacan las alteraciones gastrointestinales, la toxicidad medular y en menor medida las infecciones oportunistas y afecciones del tracto respiratorio.

a) Trastornos digestivos: En un 30% de los pacientes, son habituales los casos de diarrea, náuseas, vómitos o dolor abdominal. Éstos suelen implicar la suspensión del tratamiento sólo en un 5% de los casos.

b) Mielotoxicidad: es tan frecuente como con la AZA, presentándose en la mayoría de casos, durante el primer mes de tratamiento. La anemia es excepcional, mientras que la leucopenia y la trombopenia se hallan en una 11% y 4% de casos respectivamente [17].

c) Infecciones oportunistas: Todos los pacientes trasplantados tienen mayor riesgo de padecer infecciones oportunistas, las más comunes en pacientes tratados con MMF (2 ó 3 g/día) en TH, son fúngicas (principalmente por *Candida micocutánea*) y víricas (viremia/enfermedad por CMV y Herpes simplex). La que nos encontramos en mayor proporción de pacientes (13,5%) son viremias/síndrome por CMV, durante el primer año de tratamiento.

A diferencia de otros fármacos inmunosupresores utilizados en el TH, para este no se han encontrado efectos adversos clínicamente significativos como consecuencia directa del uso de MMF tales como nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, o inducción de mutagénesis.

1.2.3. AntiCD25

Existen diversos trabajos [46-49], que han demostrado los efectos beneficiosos de la asociación de anticuerpos monoclonales anti-IL-2 al tratamiento inmunosupresor en el trasplante de órganos sólidos, reduciendo la incidencia de RA sin aumentar los efectos adversos. Se usan normalmente en combinación con CsA en microemulsión o tacrólimus, asociando generalmente EST y/o micofenolato, aunque probablemente su potencia y especificidad permitan evitar el tratamiento esteroideo [50].

1.2.3.1. Daclizumab

El daclizumab es un anticuerpo monoclonal humanizado [51] en que sólo un dominio (CDRs) es de origen murino mientras que el resto, las regiones constantes y variable, son humanas.

1.2.3.1.1. Mecanismo de acción

Es muy poco inmunogénico por lo que alcanza niveles altos en suero y su eliminación es muy lenta, parecida a los anticuerpos endógenos (su vida media es de 20 días).

El receptor de IL-2 consta de 3 subunidades, la beta y gamma, que se expresan constitutivamente y la subunidad ILR alfa también llamada CD25 que sólo aparece en los linfocitos activados. Por tanto, la acción de estos anticuerpos que bloquean únicamente al CD25 es muy selectiva sobre las células activadas.

1.2.3.1.2. Efectos secundarios

Presentan una gran ventaja que es la ausencia de efectos secundarios debido a su naturaleza humanizada. Los estudios realizados muestran que la administración de 5 dosis de daclizumab produce una disminución de las tasas de RA de un 30%.

1.3. TOXICIDAD DE LOS INHIBIDORES DE LA CALCINEURINA.

Desafortunadamente, los anticalcineurínicos presentan múltiples y relativamente frecuentes efectos secundarios adversos. Los más frecuentes y relevantes son la nefrotoxicidad y la neurotoxicidad, sin olvidar las neoplasias de novo [16].

a. Toxicidad renal.

La CsA puede dar lugar a dos cuadros diferentes de nefrotoxicidad. El primero, se denominarse insuficiencia renal aguda (IRA) reversible y se caracteriza por un descenso del filtrado glomerular y del flujo plasmático renal que producen un aumento de la creatinina y la urea. Estos fenómenos se deben a la alteración sobre el flujo sanguíneo renal debido a la vasoconstricción de la arteriola aferente y la disminución de la perfusión renal, siendo en general reversibles al disminuir la dosis. La insuficiencia renal inicial puede tener un origen multifactorial (politransfusión, hipotensión, otros nefrotóxicos, etc.), ocurriendo en general con ciclosporinemias normales o bajas.

Por otro lado, el cuadro de nefrotoxicidad crónica (NC) que se produce a largo plazo tras 6-12 meses del inicio del tratamiento, se caracteriza por el desarrollo de insuficiencia renal crónica (IRC) cuya fisiopatología se caracteriza por desarrollo fibrosis intersticial y la aparición de esclerosis vascular renal, no siendo reversible a

pesar de descender la dosis y en algún caso progresando a una IR terminal y diálisis. En ocasiones se asocia a acidosis e hiperpotasemia. La NC suele ocurrir en hipertensos, con IR previa o con el uso concomitante de otros fármacos nefrotóxicos.

b. Neoplasias de novo.

La primera percepción de que el riesgo neoplásico podía aumentar en los pacientes trasplantados está en la actualidad sobradamente demostrada, dada la elevada incidencia de cáncer en estos pacientes y el claro incremento del riesgo de cáncer en comparación a la población general.

La incidencia de cáncer postrasplante tiene una clara relación con el tiempo de exposición al tratamiento inmunosupresor (Figura 1.1). Esta elevada incidencia conlleva un riesgo neoplásico de 2,7 a 13,7 veces mayor al de la población general, pero también sensiblemente superior al de los pacientes en lista de espera para trasplante hepático. Por todo ello, el cáncer es en la actualidad uno de los mayores limitantes de la expectativa y calidad de vida del paciente portador de trasplante de órgano sólido.

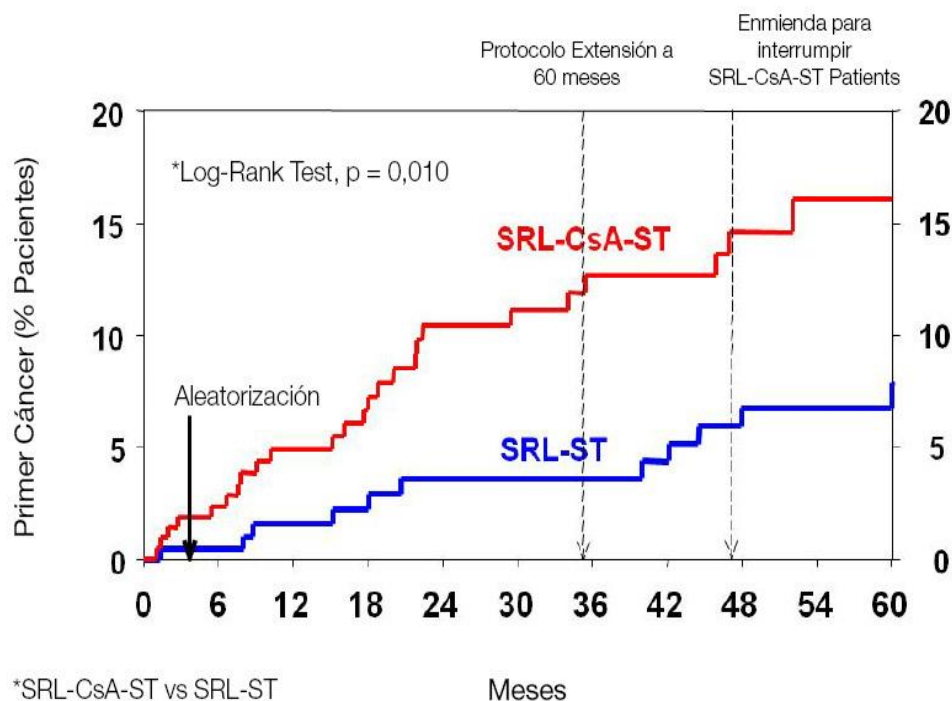


Figura 1.1. Incidencia de primeras neoplasias en trasplantados renales tratados con inhibidores de mTOR con o sin inhibidor de calcineurina. SRL: Sirolimus, CsA: Ciclosporina, ST: Esteroides. Extraída de Campistol y col. (2006).

Una clara vinculación entre tratamiento inmunosupresor y cáncer es que la intensidad del primero determina el riesgo del segundo. Al menos un estudio prospectivo y aleatorizado y diversos estudios retrospectivos han demostrado que dosis mayores de ciclosporina (CsA) se correlacionan con incrementos en la incidencia de cáncer postrasplante. En otros casos, la utilización de regímenes inmunosupresores más potentes, y no sólo la variación de dosis de un único agente, comportan un aumento del riesgo de cáncer. Otra constatación de este fenómeno es que los pacientes receptores de trasplante no renal, generalmente tratados con una inmunosupresión más potente que los trasplantados renales, presentan comparativamente a estos últimos un claro incremento del riesgo neoplásico. Como ejemplo, la incidencia acumulada de cáncer comunicada por el Registro internacional de trasplante cardíaco y pulmonar (ISHLT) es la más elevada de las publicadas por cualquier otro registro, aproximadamente el 35% a los 60 meses postrasplante (Figura 1.2). Finalmente, hay que mencionar el hecho de que una inmunosupresión más potente se relaciona también con una mayor agresividad tumoral, en términos de un acelerado crecimiento y metástasis, y una menor supervivencia de los pacientes.

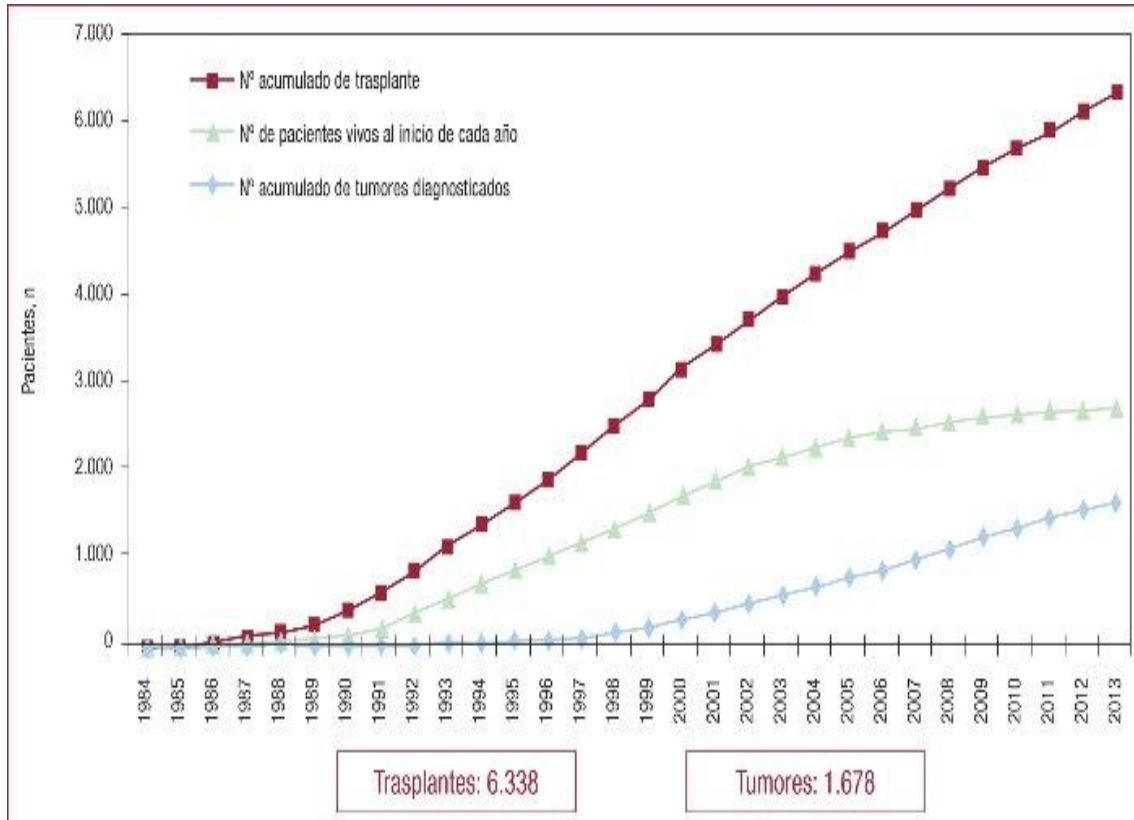


Figura 1.2. Número de trasplantes cardíacos y tumores acumulados, sin eliminar a los pacientes fallecidos en los primeros 3 meses.

El riesgo aumentado de cáncer en el paciente trasplantado es debido a la convergencia de múltiples factores:

1. Factores medioambientales y genéticos, comunes a la población general.
2. La acción de diversos oncovirus y la facilitación de la supervivencia de las clonas cancerosas, posibilitada por la depresión inmunológica.
3. Efectos prooncogénicos y antioncogénicos directos de los fármacos inmunosupresores.

Con respecto a estos últimos, los datos epidemiológicos revelan sólo de forma parcial la información necesaria para obtener conclusiones rigurosas en este campo. Los ensayos clínicos aleatorizados rara vez incluyen el número necesario de pacientes, o un seguimiento suficientemente prolongado, mientras que los registros rara vez poseen información detallada sobre los inmunosupresores utilizados y sus dosis a lo largo del tiempo. Frente a esto, existe un enorme y creciente volumen de datos experimentales acerca de los efectos oncogénicos directos de los fármacos inmunosupresores que podrían ser de enorme valor para esclarecer esta cuestión en el escenario clínico.

Como grupo, y excluyendo los anticuerpos monoclonales dirigidos frente al receptor de IL-2 o CD25 (anti-CD25), los anticuerpos antilinfocitarios han demostrado aumentar el riesgo de cáncer, principalmente del tipo asociado a oncovirus. Sin embargo, pequeñas diferencias entre los distintos anticuerpos en el rango de actividad frente a los antígenos de superficie linfocitarios podrían ser relevantes. En este sentido, es muy llamativa la disminución de riesgo neoplásico con la utilización de ATG-Fresenius, en comparación a otros agentes de este grupo, observada en algunos estudios y que deberá ser confirmada en el futuro. Tan sólo los anti-CD25 poseen el privilegio de haber demostrado su eficacia inmunosupresora reduciendo las tasas de rechazo agudo y, simultáneamente, carecer de forma consistente de evidencias que demuestren un incremento en el riesgo neoplásico asociado a su utilización.

El efecto inmunosupresor de los anticalcineurínicos (AC), además de su capacidad de inhibición de la actividad fosfatasa de la calcineurina, reside también en el incremento de producción del factor de crecimiento transformante beta (TGF-β). Gracias al trabajo pionero de Hojo y cols., se sabe también que el TGF-β uno de los mediadores principales en la adquisición del fenotipo maligno por la célula expuesta a los AC. *In vivo*, este efecto es independiente del sistema inmunológico, y ha sido demostrado tanto para CSA como para tacrolimus. Sin embargo, la participación del TGF-β en la actividad oncogénica de los AC no se limita a sus efectos celulares, pues actúa inhibiendo la respuesta inmune del receptor, aumenta la secreción de matriz extracelular e incrementa la neoangiogénesis. Este último fenómeno, observado en animales tratados con CSA, ha sido relacionado con el aumento de la secreción no sólo de TGF-β, sino también por el aumento del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) asociado al tratamiento con este fármaco. Clínicamente no se evidencian grandes diferencias en el riesgo de cáncer asociado a CSA frente a Tac. Parece que la mayor potencia inmunosupresora de Tac podría asociarse a una mayor tasa de ELP, mientras que su menor potencial oncogénico reduce levemente el riesgo de tumores sólidos en comparación a CSA.

1.4. BASES FARMACOLÓGICAS DE LOS MTORI.

a. Nociones generales.

El SRL es un antibiótico macrólido producido por la fermentación natural de un hongo actinomiceto (*Streptomyces Hygroscopicus*) descubierto en la isla de Pascua (Rapa Nui) y presentado por primera vez en 1975 como fármaco antifúngico [52], demostrando posteriormente su actividad inmunosupresora *in vitro*. Este fármaco, de estructura molecular muy parecida al tacrolimus tiene, sin embargo, un mecanismo de acción completamente diferente, siendo el primer representante de un nuevo grupo terapéutico definido por su mecanismo de acción que es la inhibición de la vía metabólica intracelular denominada mTOR (*mammalian target of rapamycin*) (figura 3).

b. Estructura molecular de sirolimus y everolimus.

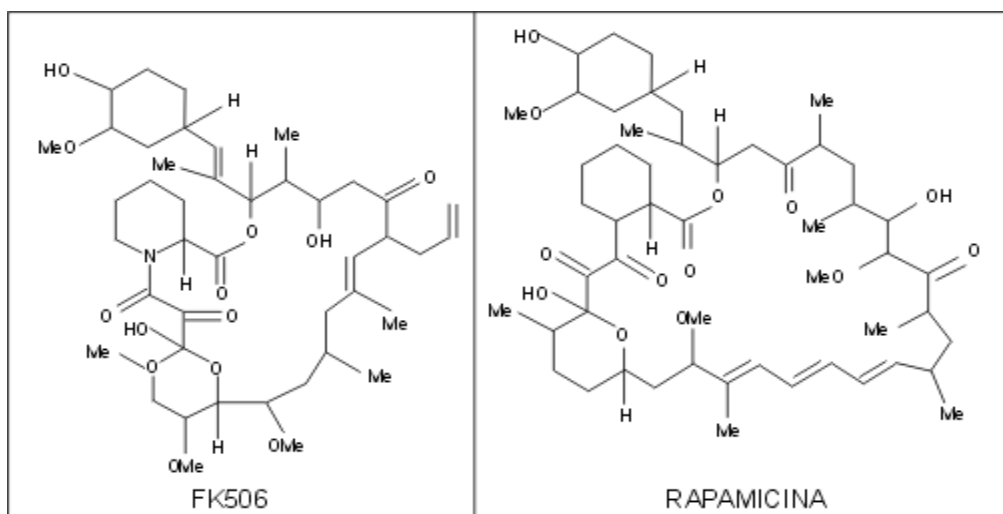


Figura 1.3: Estructura molecular de Tacrolimus (FK-506) y Rapamicina

Sirolimus, también conocido como rapamicina, es un macrólido estructuralmente similar al FK 506 obtenido a partir del hongo *Streptomyces higroscopicus* [1, 16]. Se descubrió en muestras de tierra de Rapa Nui (Isla de Pascua), de donde recibió su nombre inicial. Su interés de estudio era como antifúngico, pero en las investigaciones se observó un potente efecto inmunosupresor *in vitro* [52].

En los últimos años se ha desarrollado un segundo fármaco con mecanismo de acción prácticamente idéntico, el Everolimus (EVE), con algunas ventajas teóricas desde el punto de vista farmacocinético, al menos.

c. Mecanismo de acción.

Este grupo terapéutico también ha sido llamado *Inhibidores de la Señal de Proliferación* (ISP o en inglés PSI de *Proliferation Signal Inhibitors*) y tiene algunas ventajas sobre los inmunosupresores clásicos que han hecho despertar un gran interés. Se unen a la misma inmunofilina que el tacrólimus (la FKBP12 o fugifilina), pero a pesar de que *in vitro* compite con él, no sucede lo mismo *in vivo*. De todos modos, su acción es totalmente diferente a la del TAC, dado que no inhibe la calcineurina [53, 54]. En el citoplasma de la célula, el complejo sirolimus-fugifilina se une a unas proteínas mTOR (*mammalian target of rapamycin*) que inhiben la división celular de este modo bloquea el proceso de transmisión de señales desde la membrana al núcleo.

El resultado es una inhibición de la proliferación de los linfocitos T inducida por IL-2, pero sin afectar a la producción de IL-2, impidiendo el paso de la fase G1 a la fase S del ciclo celular. A diferencia de los anticalcineurínicos, bloquea la expansión de células T mediada por estímulos independientes del calcio [55].

Su potencia inmunosupresora es similar a la del TAC. Tiene un efecto sinérgico con los anticalcineurínicos, con los que se pueden administrar para aumentar su potencia disminuyendo las dosis y por tanto la toxicidad.

Dados sus efectos antiproliferativos, es útil en la arteriopatía del RC. Además de bloquear la progresión del ciclo celular inducida por IL-2, facilita la apoptosis, actuando sinérgicamente con el bloqueo de la señal co-estimuladora en la reducción de linfocitos aloreactivos, lo cual también la diferencia de los anticalcineurínicos, que bloquean la apoptosis. Esto tiene relevancia porque se ha relacionado la apoptosis con el desarrollo de mecanismos de tolerancia a los aloinjertos [1, 16, 52]. Existe experiencia en humano que ha sugerido incluso una menor incidencia de recurrencia de hepatocarcinoma al asociar sirolimus al protocolo inmunosupresor [56, 57].

En España, no está aprobada su indicación en TH salvo como uso compasivo ante la presencia de efectos secundarios a los anticalcineurínicos. La conversión de una pauta de inmunosupresión basada en inhibidores de la calcineurina a una basada en el uso de la rapamicina es eficaz para disminuir la nefrotoxicidad y la neurotoxicidad secundarias a TAC o CsA sin que eso suponga una mayor tasa de rechazo [58].

d.1. Farmacocinética del Sirolimus.

Absorción

Tras su administración oral sirolimus se absorbe de manera rápida. La concentración plasmática máxima (C_{max}) se alcanza a la hora de la administración de una dosis única y a las 2 horas (t_{max}) en pacientes trasplantados renales que han recibido dosis múltiples [59, 60]. La administración conjunta con alimentos grasos retrasa la velocidad de absorción; de esta forma la C_{max} disminuye en un 34%, la t_{max} se incrementa 3,5 veces, y el área bajo la curva de concentraciones plasmáticas vs. tiempo (ABC) también se incrementa en un 35% al compararlo con los valores en ayunas [61].

Por este motivo y para disminuir la variabilidad, se recomienda administrar sirolimus de manera regular, bien sea con o sin alimentos¹¹. Puede administrarse con agua o zumos de fruta, a excepción de zumo de pomelo, ya que este puede alterar el metabolismo intestinal mediado por la isoenzima del citocromo P450 3A4 (CYP 3A4) [81-83].

La biodisponibilidad de sirolimus es aproximadamente del 14%. La baja magnitud de este valor es debida a un importante metabolismo por parte de la isoenzima CYP 3A4, tanto intestinal como hepática (efecto de primer paso) y por su eliminación contra gradiente por la glicoproteína P intestinal [59, 60].

Distribución

Sirolimus se distribuye ampliamente en los elementos formes de la sangre, la fracción libre en plasma es de alrededor de 8%. En el ser humano se une principalmente con la albúmina sérica (97%), la α 1-glicoproteína ácida y lipoproteínas. Después de dosis múltiples en pacientes trasplantados renales, el volumen de distribución estimado (Vd) es de aproximadamente 1,7 l/kg [59, 60].

Metabolismo

Sirolimus sufre un extenso metabolismo oxidativo a nivel hepático, mediante reacciones de desmetilación e hidroxilación. De esta forma se originan un gran número de metabolitos, y en apariencia estos conservan parcialmente la actividad de la molécula original [64].

Excreción

Su excreción es mayoritariamente fecal (91,1%), siendo la eliminación por vías urinarias baja (2,2%). Tal como se ha podido comprobar tras la administración de una dosis única de sirolimus marcado radioactivamente a voluntarios sanos [65]. Después de la administración de dosis múltiples a pacientes trasplantados renales, la semivida de eliminación ($t_{1/2}$) fue de 62 horas y el aclaramiento total (Cl/F) 210 ml/h/kg [82].

Situaciones especiales

INSUFICIENCIA HEPÁTICA

Sirolimus se ha estudiado en pacientes con insuficiencia hepática clase A y B de la clasificación de Child-Pugh. Tras la administración de una sola dosis de 15mg vía oral ni la C_{max} ni la t_{max} se modificaron, pero el ABC se incrementó 61% y el aclaramiento disminuyó 33%. No hubo diferencias respecto al volumen de distribución en estado de equilibrio entre voluntarios sanos y pacientes con insuficiencia hepática. Por este motivo, la dosis de sirolimus en estos pacientes debe reducirse un tercio de la posología habitual realizándose una monitorización periódica de las concentraciones sanguíneas del fármaco [66].

INSUFICIENTE RENAL

No se conoce el efecto de la insuficiencia renal sobre la farmacocinética del sirolimus, pero dado que su excreción es mayoritariamente fecal, no parece que se modifique en este grupo de pacientes [88]. En un estudio de tolerancia en pacientes pediátricos en diálisis, tras la administración de sirolimus a dosis crecientes por vía oral, se observó un aumento estadísticamente significativo del aclaramiento total (Cl/F) en el grupo de pacientes de 5 a 11 años. Debido a que los niños más pequeños pueden requerir dosis mayores, la posología debe instaurarse en base a la superficie corporal total del individuo. Es también necesario realizar una monitorización periódica de las concentraciones de sirolimus [66].

Otros

Los estudios clínicos realizados con sirolimus, no incluyeron un número suficiente de pacientes que permitan obtener conclusiones respecto a la influencia de la edad en su farmacocinética [66]. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre los parámetros farmacocinéticos de individuos de raza negra y caucásica [66]. Los varones tienen un aclaramiento total 12% menor que el de las mujeres, pero una t_{1/2} significativamente más alta. No obstante, estas diferencias no requieren un ajuste especial de dosis [66].

d.2. Farmacocinética del Everolimus.

Absorción

El everolimus alcanza su concentración máxima al cabo de 1 o 2 horas después de la administración oral. En los pacientes trasplantados, las concentraciones sanguíneas de everolimus son proporcionales a la dosis en el intervalo de 0,25 a 15 mg. Tomando como base el cociente de áreas bajo la curva de concentraciones/tiempo (cociente de AUC), la biodisponibilidad relativa del comprimido dispersable frente al comprimido convencional es de 0,90 (IC del 90% 0,76 - 1,07).

Efecto de los alimentos: La C_{max} y AUC del everolimus se reducen a un 60% y 16% cuando el comprimido se administra con una comida rica en grasas.

Distribución

La razón sangre/plasma del everolimus depende de la concentración y varía del 17% al 73% en el intervalo de 5 a 5000 ng/ml. La fijación a las proteínas plasmáticas es aproximadamente del 74% en los individuos sanos y en los pacientes con insuficiencia hepática moderada. El volumen de distribución asociado a la fase terminal (V_Z/F) en pacientes con trasplante renal en fase de mantenimiento es de 342 ± 107 l.

Metabolismo

El everolimus es uno de los sustratos de la CYP3A4 y de la glucoproteína P. Las principales vías metabólicas identificadas en el ser humano son las monohidroxilaciones y las 0-desalquilaciones. Se forman dos metabolitos principales por hidrólisis de la lactona cíclica. El everolimus es la forma predominante en la circulación sanguínea. Ninguno de los metabolitos principales contribuye de forma significativa a la actividad inmunodepresora del everolimus.

Excreción

Tras la administración de una dosis única de everolimus radiactivo a pacientes tratados con ciclosporina tras el trasplante, la mayor parte de la radioactividad (el 80%) se encontró en las heces y sólo una pequeña proporción (el 5%) en la orina. Ni en la orina ni en las heces se detectó el compuesto original.

Farmacocinética en Situaciones Especiales

ESTADO ESTACIONARIO

La farmacocinética es similar en los pacientes con trasplante de riñón o de corazón tratados simultáneamente con everolimus dos veces al día y ciclosporina para microemulsión. Hacia el cuarto día se alcanza el estado estacionario con una acumulación 2 a 3 veces superior de concentraciones sanguíneas si se compara con la exposición tras la primera dosis. El $T_{m\acute{a}x.}$ tiene lugar entre 1 y 2 horas después de la administración. La $C_{m\acute{a}x.}$ media es igual a $11,1 \pm 4,6$ y a $20,3 \pm 8,0$ ng/ml y el AUC medio igual a 75 ± 31 y 131 ± 59 ng-h/ml con las dosis de 0,75 y 1,5 mg administradas dos veces al día, respectivamente. Las concentraciones sanguíneas mínimas antes de la administración (C_{min}) fueron en promedio iguales a $4,1 \pm 2,1$ y a $7,1 \pm 4,6$ ng/ml con las dosis de 0,75 y 1,5 mg administradas dos veces al día, respectivamente. La exposición al everolimus permanece invariable con el tiempo durante el primer año después del trasplante. La C_{min} se correlaciona de forma significativa con el AUC; el valor del coeficiente de correlación es de entre 0,86 y 0,94. El análisis farmacocinético de la población indica que la depuración oral (CL/F) es de 8,8 l/h (un 27 % de variación interindividual) y el volumen de distribución central (V_c/F) es de 110 l (un 36 % de variación interindividual). La variabilidad residual de las concentraciones sanguíneas es del 31 %. La semivida de eliminación es de 28 ± 7 h.

INSUFICIENCIA HEPÁTICA

El AUC del everolimus en ocho pacientes con insuficiencia hepática moderada (clase B de Child-Pugh) fue en promedio el doble del observado en ocho individuos sanos. El AUC guardaba una correlación positiva con la concentración de bilirrubina plasmática y con la prolongación del tiempo de protrombina, y una correlación negativa con la concentración de la albúmina plasmática. El AUC de everolimus tendía a ser superior al de los individuos sanos si la concentración de la bilirrubina era >34 $\mu\text{mol/l}$, la RNI $>1,3$ (tiempo de protrombina >4 segundos de prolongación) y la concentración de albúmina <35 g/l. No se ha evaluado la repercusión de la insuficiencia hepática grave (clase C de Child-Pugh), pero el efecto que ejerce sobre el AUC del everolimus probablemente sea tan grande o incluso mayor que el de la insuficiencia moderada.

INSUFICIENCIA RENAL

La insuficiencia renal posterior al trasplante (Cl_{crea}, 11-107 ml/min) no afectó la farmacocinética de everolimus.

NIÑOS Y ADOLESCENTES

La depuración aparente del everolimus (CL/F) aumenta de forma lineal con la edad del paciente (1 a 16 años), la superficie corporal (0,49-1,92 m²) y el peso (11-77 kg). La CL/F en el estado estacionario es de $10,2 \pm 3,0$ l/h/m² y la semivida de eliminación, de 30 ± 11 h. Diecinueve pacientes pediátricos con trasplante renal de novo (de 1 a 10 años) recibieron los comprimidos dispersables en dosis de 0,8 mg/m² (máx. 1,5 mg) dos veces diarias con la ciclosporina para microemulsión. Se logró un AUC de everolimus de 87 ± 27 ng·h/ml, semejante al de los adultos tratados con 0,75 mg dos veces al día. Las concentraciones mínimas (C₀) en el estado estacionario fueron de $4,4 \pm 1,7$ ng/ml.

PACIENTES DE EDAD AVANZADA

Se estimó que la depuración de everolimus por vía oral puede verse reducida un 0,33 % por año en los adultos (la franja de edad estudiada fue de 16 a 70 años). El ajuste de la dosis no se considera necesario.

GRUPO ÉTNICO

El análisis farmacocinético de la población indicó que la depuración por vía oral es, en promedio, un 20 % mayor en los pacientes trasplantados de raza negra.

e. Farmacodinámica

La activación del linfocito T comprende dos fases principales, la primera que sigue a la activación del receptor del linfocito T resulta en la activación de la transcripción de genes de citocinas y conduce al linfocito T desde el estado quiescente, de reposo (G₀) al estado competente o activo (G₁).

La segunda fase comprende la respuesta del linfocito T, incluyendo la secreción de citocinas promotoras del crecimiento, como la interleucina-2 (IL-2) o la 4 (IL-4), de forma autocrina (para actuar sobre la misma célula) o paracrina (sobre las células cercanas). Además hace que los linfocitos T competentes entren en la fase de

proliferación celular (paso de fase G1 a S, de síntesis de DNA) con la subsiguiente expansión clonal y la adquisición de las funciones efectoras por parte del linfocito T.

El mecanismo de acción del SRL es distinto del de la CsA o del TCR [67], que inhiben la primera fase de la activación del linfocito T. Estas drogas interrumpen la señal desde el receptor bloqueando la calcineurina, una serin-treonin fosfatasa que es necesaria para la activación transcripcional del gen de la IL-2 en respuesta a la unión del antígeno con el receptor de la célula T. Por tanto inhiben la producción de IL-2 y la subsiguiente estimulación de la célula T. Por el contrario el SRL interfiere con la segunda fase de la estimulación de la célula T. Interrumpe la señal desde el receptor de la IL-2 y los receptores de otras citocinas y factores de crecimiento. Los mTORi bloquean la señal de transducción requerida para la progresión de las células estimuladas por la IL-2 desde la fase G1 a la fase S, por tanto suprimiendo la proliferación de las células T estimuladas por las citocinas.

La mayoría de los efectos adversos producidos por los ACN son consecuencia de la inhibición de la calcineurina (hipertensión arterial, neurotoxicidad, nefrotoxicidad, etc) por lo que los fármacos del grupo mTOR no tienen estos efectos. Es interesante destacar que el TCR y el SRL tienen la misma diana intracelular, la proteína FKBP12, mientras que la CsA se une a otro receptor intracelular, la ciclofilina P [67].

Por este mecanismo de acción inicialmente se pensaba que el efecto del SRL podría ser complementario de los ICN y que podría ser más adecuada su combinación con la CsA para evitar la teórica competencia con el TCR por el FKBP12, pero esto se ha demostrado que no es así. Por un lado no parece haber competencia entre ambas drogas y por otro la combinación con CsA ha demostrado una potenciación de la nefrotoxicidad de la misma que en general la han desaconsejado.

El bloqueo del mTOR induce por tanto una inhibición de la proliferación de los linfocitos dependiente de citocinas como la IL-2. Además interfieren en el reconocimiento antigénico, a través de la inhibición de la maduración de las células presentadoras de antígenos.

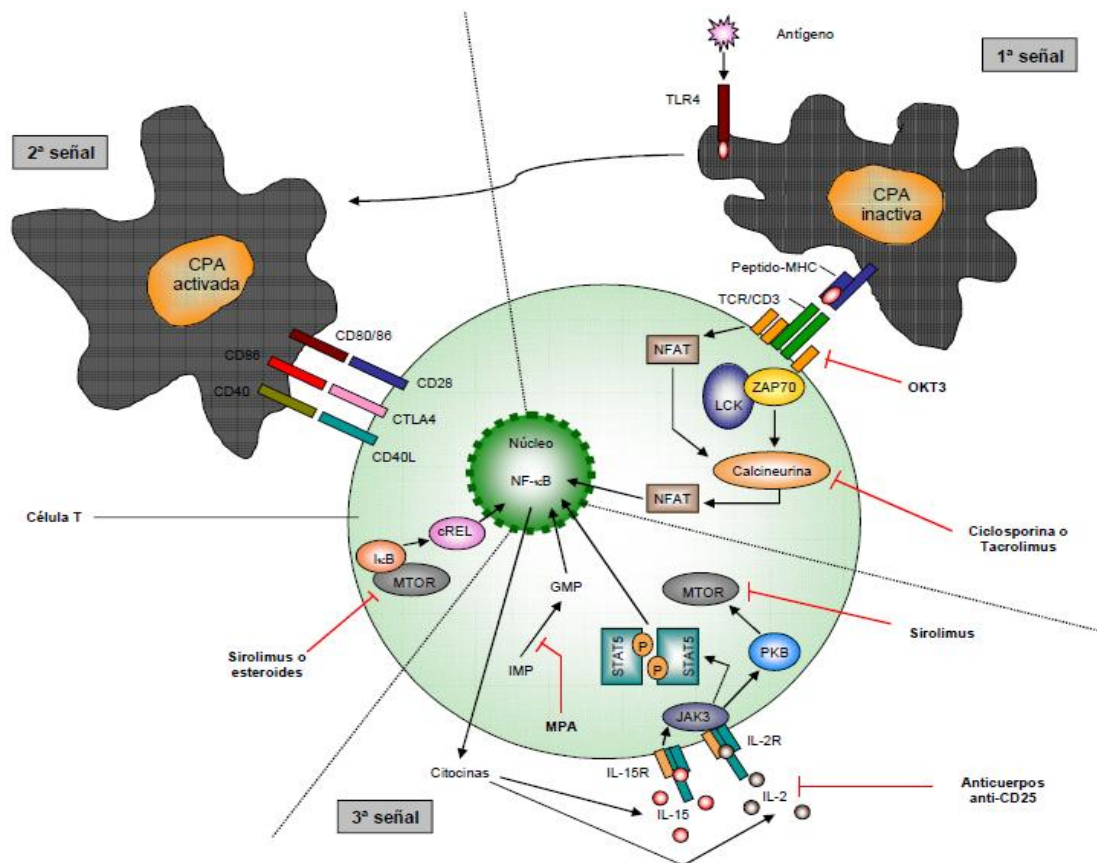


Figura 1.4: El OKT3, la ciclosporina y el tacrolimus actúan sobre la progresión de la fase G0 a G1, requerida por la primera señal de activación. El sirolimus y los esteroides actúan sobre la coestimulación (2ª señal), que también interviene en el paso G0-G1. Los anticuerpos monoclonales anti-CD25 impiden la unión de la IL2 con su receptor. El sirolimus actúa sobre la traducción de la señal de las citocinas (3ª señal). Y finalmente el ácido micofenólico inhibe la síntesis de guanosina (fase S). CPA: célula presentadora de antígenos; CTLA4, cytotoxic T lymphocyte antigen 4; GMP, guanosine monophosphate; I B, inhibitory B; IMP, inosine monophosphate; JAK3, Janus kinase 3; L, ligand; MTOR, mammalian target of rapamycin; NFAT, nuclear factor of activated T cells; NF- B, nuclear factor- B; PKB, protein kinase B; R, receptor; STAT5, signal transducer and activator of transcription 5; TCR, Tcell receptor; TLR4, Toll-like receptor 4; ZAP70 chain-associated protein 70.

La vía del mTOR no solo participa en la activación de la respuesta inmune a nivel del linfocito sino que su distribución celular es mucho más amplia, participando en la regulación del crecimiento y proliferación celular de forma generalizada por los diferentes tejidos (líneas celulares mesenquimal y epitelial especialmente). Esto hace que no solo tenga efectos inmunosupresores, sino también otros, entre los que los efectos antiproliferativos (y entre ellos los antifibróticos) y los antineoplásicos cobran particular importancia por los potenciales beneficios que pueden implicar en los pacientes que los reciban. SRL y EVE son potentes inhibidores de la proliferación y emigración de las células del músculo liso.

A nivel del trasplante de órganos sólidos, este efecto antiproliferativo y antifibrótico se ha especulado que podría tener un efecto beneficioso (independiente de la respuesta inmune) dado que la fibrosis es la consecuencia final del daño del injerto, sea cual sea la causa del mismo. Este efecto lo llevan a cabo a través de la estimulación de la expresión de la kinasa inhibidora de la división celular p27Kip1.

En modelos experimentales de lesión vascular mecánica inducida por la insuflación del balón de un catéter se produce una lesión en el vaso similar a la producida en el rechazo crónico. Estos dos fármacos, SRL y EVE previenen la aparición de esta lesión como demostró el grupo de Morris en el año 2000 en un modelo de primates [68].

f. Efectos secundarios de los mTORi

El principal es la hiperlipidemia, presente en aproximadamente el 44% de los casos [69, 70], un porcentaje mayor que el observado con la CsA [71]. También es muy frecuente la presencia de trombopenia (78%) y leucopenia (63%), aunque ambas son reversibles en el 90% de los casos [72].

Como ya hemos comentado, las mTOR constituyen un grupo de proteínas kinasas relacionadas con los procesos de proliferación y crecimiento celular. Las drogas capaces de bloquear dicha proteína poseen un potente efecto inmunosupresor con ventajas respecto a los anticalcineuríticos tales con una relativa ausencia de nefrotoxicidad unida a una potente inhibición de la proliferación celular. Están especialmente indicados en pacientes con insuficiencia renal o cáncer, poseyendo dichas moléculas la ventaja adicional de no inducir diabetes mellitus o hipertensión arterial, describiéndose más recientemente un efecto antiangiogénico en los pacientes tratados con dichos fármacos.

Debido a su buena tolerancia y a sus efectos preventivos en la morbimortalidad cardiovascular así como en la prevención tumoral, los mTORi se posicionan para su uso en la inmunosupresión postrasplante. Es más, algunos estudios han mostrado una mayor supervivencia del injerto mientras que otros han descrito una relativa mielosupresión. La mTOR, está regulada en las células eucariotas mediante la vía metabólica PI3K/Akt. Aquellas células con mutación en los genes PTEN y PI3K presentan una liberación del control de esta vía, por lo que la inhibición del mTOR actuaría eficazmente en el control

neoplásico. Cabe destacar que existe un trabajo inicial que describe un mayor riesgo de trombosis arterial en los pacientes que recibieron sirolimus, aunque este hallazgo no se ha reproducido en otros estudios [73].

Existen al menos 4 moléculas dentro de este grupo en pleno desarrollo clínico, incluyendo sirolimus, everolimus, temsirolimus, y AP23537. Uno de los mayores retos ha sido definir la dosis máxima tolerada, aunque, en general estos fármacos son bien tolerados por los pacientes. En la actualidad hay 2 inhibidores de mTOR en el mercado: everolimus (Certican, Novartis) y sirolimus (Rapamune, Wyeth). Por el momento, nos reservamos el uso compasivo de estos fármacos en el trasplante de hígado para casos de neoplasias (carcinoma hepatocelular, colangiocarcinoma, tumores neuroendocrinos metastásicos), tumores malignos "de novo" (carcinomas cutáneos, cáncer gástrico, cáncer de mama, etc), insuficiencia renal asociada a CNI, insuficiencia renal previa que no mejora tras trasplante e inmunosupresión en pacientes con rechazo agudo o crónico corticorresistente.

1.5. MTORI Y FUNCIÓN RENAL

Cuando inicialmente se estudió el efecto de sirolimus sobre la función renal, se observó que este no presentaba la nefrotoxicidad asociada a la ciclosporina, tanto en modelos animales [74] como en ensayos clínicos de pacientes con psoriasis [75]. Sin embargo, las combinaciones de sirolimus con ciclosporina parecían exhibir mayor nefrotoxicidad que esta última sola [76]. Podder y cols., comprobaron la existencia de esta sinergia nefrotóxica en ratas y lo atribuyeron a un aumento de la concentración intrarrenal de ciclosporina. Así, los ensayos que han comparado la terapia con sirolimus tras la suspensión de los inhibidores de calcineurina han encontrado una mejor función renal frente al mantenimiento conjunto de estos con sirolimus. En modelos murinos parece que la combinación de sirolimus con ciclosporina es más nefrotóxica que con tacrolimus [77]. Este mismo hallazgo se ha repetido en algunas experiencias clínicas en trasplante hepático [78, 79] o renal, aunque otros autores no han encontrado este patrón [80]. La información disponible respecto a si la combinación mantenida de tacrolimus con sirolimus es más nefrotóxica que la combinación más estándar con micofenolato es más escasa debido a la existencia de estudios con menor reclutamiento, pero hay más trabajos que así lo sugieren [81-83], que los que sugieren lo contrario [84].

Por otra parte, las cifras séricas de potasio en tratamiento con sirolimus tienden a ser inferiores que cuando se les comparan con azatioprina, placebo o ciclosporina, existiendo una buena respuesta a los suplementos de potasio [85, 86]. En contraposición a lo que ocurre con ciclosporina, sirolimus parece no afectar los niveles séricos de ácido úrico ni magnesio [86].

Las primeras experimentaciones animales con sirolimus que evaluaron la función renal no analizaron la proteinuria. Recientemente, Bonegio y cols., han mostrado que sirolimus disminuye la inflamación y la fibrosis en un modelo experimental murino de nefritis membranosa con proteinuria [87], y en modelos NZB/WF1 lúpicos disminuye la proteinuria [88,89].

1.6. DIABETES Y NEFROPATÍA HIPERTENSIVA

Dado que los pacientes cada vez viven más tiempo tras el trasplante ortotópico hepático (TOH), la acumulación de efectos secundarios debido a los agentes inmunosupresores es cada vez más importante. La búsqueda de regímenes inmunosupresores que reduzcan al mínimo la toxicidad a largo plazo se ha convertido en un objetivo prioritario [90]. Hasta el 18% de los receptores de TOH tratados con ciclosporina y tacrolimus, los pilares actuales de la terapia inmunosupresora, desarrollarán disfunción renal grave [91]. En estos pacientes se requiere a largo plazo y con frecuencia diálisis renal o peritoneal, experimentando una mayor mortalidad [92]. Los tratamientos basadas en CNI que reducen o eliminan la inmunosupresión tienen el potencial de prevenir o mejorar el deterioro renal observado habitualmente tras el TOH.

Los inhibidores de mTOR , sirolimus y everolimus (mTORi) bloquean la proliferación celular dependiente de la interleucina-2 a través de su interacción con las quinasas MTOR [93], mientras que la ciclosporina y el tacrolimus son inhibidores de la calcineurina, las cuales bloquean la producción de interleucina-2 así como otras citoquinas en un paso previo del ciclo celular [94]. Hasta la fecha, los mTORi se han investigado más ampliamente en pacientes con trasplante renal, demostrándose en algunos estudios que la eliminación o sustitución de la ciclosporina por sirolimus o everolimus preserva la función del injerto [95-97]. Pequeñas series de casos no controlados han sugerido que estos fármacos pueden conducir a la mejora de la función

renal al reducir o eliminar la exposición a los inhibidores de la calcineurina ya que éstos añaden cierta nefrotoxicidad [98-101]. Sin embargo no hay estudios controlados acerca del efecto de los mTORi en receptores de trasplante hepático con daño renal crónico previo secundario a diabetes y/o hipertensión, y en los que se ha identificado un empeoramiento de la proteinuria así como un deterioro progresivo de la función renal. Es probable que, en pacientes con diabetes mellitus (DM), hipertensión (HT) y/o proteinuria, la mejora en la función renal sea reducida.

Los riesgos potenciales de los mTORi, que incluyen hipercolesterolemia, trombosis y problemas en la cicatrización de heridas, también han sido destacados en este segmento de población [102]. Ningún estudio controlado ha examinado estos puntos finales críticos en el entorno del TOH.

En este contexto, nuestro estudio se centró en comparar retrospectivamente las tasas de disfunción renal entre las cohortes expuestas a mTORi con diabetes mellitus, hipertensión y / o proteinuria.

1.7. MTORI EN EL CAMPO DE LA ONCOCOLOGÍA

La incidencia de neoplasias de novo que se producen tras el trasplante ortotópico hepático (THO) es significativamente mayor que la de los tumores malignos desarrollados en la población general y esto se ha atribuido, al menos en parte, a la inmunosupresión que de por vida deben seguir los receptores de dicho TOH [103].

La terapia inmunosupresora disminuye la respuesta inmune contra células malignas y contra una gran variedad de virus con propiedades oncogénicas. Del mismo modo, se ha descrito en un ensayo randomizado recientemente publicado que los pacientes cirróticos de origen enólico tenían un riesgo de neoplasia no hepática muy superior en el caso de haber sido trasplantado a diferencia de los que no se trasplantaron y siguieron un tratamiento estándar para su patología (a 5 años, el riesgo de neoplasia fue del 37% frente a 6%). Este aumento del riesgo es especialmente alto en neoplasias relacionadas con infecciones virales, 7, tales como linfoma no Hodgkin, sarcoma de Kaposi y cáncer de cuello de útero. El riesgo de padecer cáncer de piel también está incrementado en gran medida en estos pacientes [104-108].

La incidencia de otros cánceres comunes parece estar aumentada igualmente, pero este riesgo no es tan alto. Algunas series han demostrado que la incidencia de cáncer colorrectal [104, 106], de pulmón [109], cabeza y cuello [110], urológico [104], y carcinomas hepatocelulares [111] se incrementa tras recibir terapia inmunosupresora de por vida. En algunos casos, la causa de este aumento del riesgo puede ser una asociación específica entre determinadas causas propias de la enfermedad hepática y factores de riesgo para el desarrollo de ciertos tipos de neoplasia en la población general: existe una asociación entre la colangitis esclerosante primaria y la colitis ulcerosa, la cual aumenta notablemente el riesgo de cáncer colorrectal.

En pacientes con enfermedad hepática alcohólica, se asocia un mayor riesgo de cáncer de esófago y cáncer de cabeza y cuello, pudiendo ser debido a la asociación entre el consumo elevado de alcohol y el tabaquismo, el cual es un factor de riesgo muy importante para algunos de los tumores diagnosticados con mayor frecuencia en los pacientes trasplantados.

Por último, el riesgo de padecer otros tipos de neoplasias tan comunes como el cáncer de próstata, parece ser más igualmente más elevado en los receptores de trasplante hepático que en la población general.

La mTOR, proteína del grupo de las quinasas, está implicada en la regulación metabólica celular PI3K/Akt. Su activación, en respuesta a señales de crecimiento, nutrientes y de energía, conduce a un aumento en la síntesis de proteínas necesarias para el desarrollo y crecimiento de tumores. Esta característica convierte a la mTOR en una importante diana para la terapia contra el cáncer.

Los inhibidores de mTOR de primera generación (mTORi), derivados del sirolimus (rapálogos), han sido ampliamente evaluados en pacientes con cáncer. Tanto everolimus como temsirolimus fueron aprobados para el tratamiento del carcinoma de células renales mientras que el temsirolimus lo fue además para el tratamiento del linfoma de células del manto. Estos fármacos, además del ridaforolimus (anteriormente deforolimus) y sirolimus, están siendo actualmente probados en ensayos clínicos de diversos tipos de tumores. Por otra parte, los mTORi de segunda generación, pequeñas moléculas con acción en el ámbito de las quinasas, se encuentran igualmente en pleno

desarrollo clínico. Los ensayos clínicos están en marcha para identificar patologías malignas adicionales que respondan a mTORi, ya sea en terapia única o combinada. Futuras investigaciones deberían evaluar los regímenes terapéuticos más apropiados así como las poblaciones dianas.

Los efectos antiproliferativos del sirolimus pueden tener un rol en el tratamiento del cáncer. Recientemente se demostró que el sirolimus inhibía la progresión del Sarcoma de Kaposi en pacientes con trasplante renal. Otros inhibidores de la mTOR tales como el temsirolimus (CCI-779) o everolimus (RAD001) están siendo probados para su uso en cánceres como el glioblastoma multiforme y linfoma de células de manto.

La combinación de doxorrubicina y sirolimus ha demostrado llevar los linfomas AKT positivos a la remisión en ratones. Las señales mediadas por las AKT promueven la supervivencia celular en linfomas AKT positivos y actúa previniendo los efectos citotóxicos de los fármacos quimioterápicos como la doxorrubicina o ciclofosfamida. El sirolimus bloquea las señales de las AKT y las células pierden la resistencia a la quimioterapia. Por otro lado, ni los linfomas Bcl-2-positivos o aquellos con expresión IF4E fueron sensibles a la terapia con sirolimus [112-115].

El panobinostat ha demostrado actuar sinérgicamente con el sirolimus para eliminar células pancreáticas en el laboratorio, en un estudio de la clínica Mayo. En el mencionado estudio, los investigadores encontraron que esta combinación destruía hasta el 65% de las células pancreáticas tumorales cultivadas. El hallazgo es significativo porque las tres líneas celulares estudiadas eran todas resistentes a los efectos de la quimioterapia, como la mayoría de los tumores pancreáticos [116].

Como con todos los medicamentos inmunosupresores, el sirolimus disminuye la actividad antioncogénica del organismo y permite la proliferación de algunos cánceres los cuales serían normalmente destruidos. Los pacientes inmunosuprimidos tienen un riesgo de cáncer de 10 a 100 veces más alto que la población general. Además, los pacientes que actualmente padecen o han sido tratados por cáncer, desarrollan una tasa más elevada de progresión tumoral así como de recurrencia en relación a los pacientes con un sistema inmune intacto.

1.8. MTORI Y HEPATOCARCINOMA

El carcinoma hepatocelular (CHC) es un cáncer común que posee la tercera tasa de mortalidad relacionada con cáncer más alta en el mundo. Aunque potencialmente curable con trasplante si se detecta a tiempo, la mayoría de los casos se diagnostican en una etapa avanzada por lo que se limitan las opciones de tratamiento disponibles. La única terapia sistémica probada para avanzada CHC es sorafenib, un inhibidor de la multi-quinasa que ha demostrado eficacia modesta y tolerabilidad razonable en pacientes con CHC avanzado. Cinco años después de la aprobación del sorafenib, ningún otro agente ha demostrado ser beneficioso en primera o segunda línea de tratamiento contra el CHC avanzado. Mientras que los estudios moleculares han puesto de relieve varios objetivos potenciales en el CHC, los mTORi se han convertido en un objetivo interesante para la terapia del cáncer, incluido el CHC.

Los datos de laboratorio han vinculado el eje 3-kinase/AKT/mTOR fosfatidilinositol a diversos procesos oncogénicos, incluyendo la supervivencia y la angiogénesis. Históricamente, los inhibidores de mTOR se han utilizado por sus propiedades inmunosupresoras, pero más recientemente han sido aprobados como agentes anticancerígenos. Estudios retrospectivos sobre el CHC sugieren que la inclusión de los mTORi como parte de un régimen inmunosupresor después del trasplante puede reducir la recurrencia de HCC en comparación con otros agentes inmunosupresores tales como los inhibidores de la calcineurina. Más recientemente, estudios de un solo brazo, en fase I / II han demostrado que los mTORi también tienen actividad en monoterapia en casos de HCC recurrente o de novo, avanzados [117].

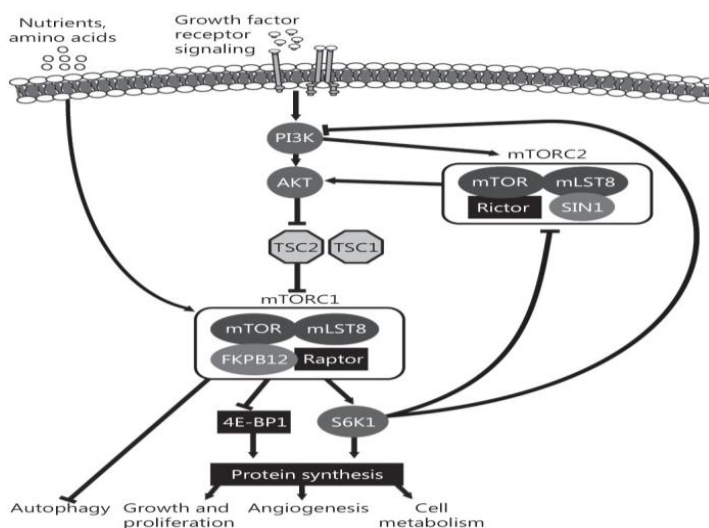


Figura 1.5. Dianas de los mTORi

2. HIPÓTESIS

1. Los mTORi son fármacos seguros como terapia inmunosupresora en el TOH, con escasa toxicidad y un bajo índice de rechazo.
2. Los mTORi suponen una terapia eficaz en la preservación de la función renal en el paciente trasplantado hepático.
3. Los mTORi, como fármacos antiproliferativos e inmunosupresores, mejoran la supervivencia en pacientes con TOH por hepatocarcinoma o que presenten neoplasias de novo.

3. OBJETIVOS

1. Evaluar la toxicidad de los mTORi en el TOH, así como su eficacia frente a la aparición de rechazo.
2. Demostrar la eficacia de los mTORi en la preservación de la función renal en el paciente trasplantado hepático.
3. Estudiar la supervivencia de los pacientes con TOH por hepatocarcinoma o que presenten neoplasias de novo tras conversión a terapia con mTORi.

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 MUESTRA Y METODOLOGÍA

Se trata de un estudio retrospectivo utilizando una muestra de pacientes extraída de la totalidad de pacientes trasplantados hepáticos en el Hospital Virgen del Rocío entre los años 1990 y 2012. En total, el número de pacientes TOH fue de 884, de los cuales 87 pacientes fueron convertidos a mTORi por los motivos expuestos en la tabla.

MOTIVOS DE CONVERSIÓN

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	HEPATOCARCINOMA	24	27,6	27,9
	NEOPLASIA DE NOVO	22	25,3	25,6
	NEFROPATÍA	26	29,9	30,2
	SÍNDROME METABÓLICO	1	1,1	1,2
	RECHAZO AGUDO	4	4,6	4,7
	RECHAZO CRÓNICO	2	2,3	2,3
	AFECTACIÓN NEUROLÓGICA	3	3,4	3,5
	ACN			
	RECIDIVA	2	2,3	2,3
	HEOPATOCARCINOMA			
	COLANGIOCARCINOMA	1	1,1	1,2
	OSTEOPENIA	1	1,1	1,2
	Total		86	98,9
Perdidos	Sistema	1	1,1	
Total		87	100,0	

Tabla4.1. Motivos de conversión de los pacientes de CNI a mTORi.

La mediana de edad fue de 59 años (20-77). La distribución por sexos fue de 14 mujeres (16,1%) y 73 hombres (83,9%). 50 (57,5%) de ellos fueron tratados con sirolimus y 37 (42,5%) con everolimus. La mayor parte de los pacientes fueron trasplantados por cirrosis hepática de origen enólico (44), seguidos por HVB (17) y HVC (10). Se describen las principales causas de conversión, por orden de frecuencia: nefropatía (26), hepatocarcinoma (24) y las neoplasias de novo (22) seguidas de lejos por el rechazo (6), afectación neurológica (3) y recidiva (2).

ETIOLOGÍA

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos			
ALCOHOL	44	50,6	50,6
VHC	10	11,5	11,5
VHB	17	19,5	19,5
COLESTÁSICAS	6	6,9	6,9
CRIPTOGENÉTICA	3	3,4	3,4
FHF	3	3,4	3,4
HEPATOBLASTOMA	1	1,1	1,1
WILSON	1	1,1	1,1
TRAUMA HEPÁTICO	1	1,1	1,1
EHNA	1	1,1	1,1
Total	87	100,0	100,0

Tabla4.2. Etiología de los pacientes con TOH que fueron convertidos a mTORi.

MTORi

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos			
Sirolimus	50	57,5	57,5
Everolimus	37	42,5	42,5
Total	87	100,0	100,0

Tabla4.3. mTORis utilizados.

SEXO

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos			
H	73	83,9	83,9
M	14	16,1	16,1
Total	87	100,0	100,0

Tabla4.3. Pacientes según el sexo.

La conversión de CNI (ciclosporina o tacrolimus) a mTORi se realizó gradualmente durante 15 días, en cuyo momento el CNI fue retirado, quedando el paciente en doble terapia con micofenolato a dosis de 1 gr/día. La dosis de mantenimiento de mTORi necesaria se pautó para obtener un nivel valle en las primeras semanas de 5-10 ng / ml, quedando posteriormente a niveles adecuados al paciente de forma individualizada en base a la estabilidad de la función del injerto.

La metodología del trabajo ha seguido el orden de las hipótesis y objetivos del mismo, dividiendo el método en tres bloques bien diferenciados:

1. Evaluar la toxicidad de los mTORi en el TOH, así como su eficacia frente a la aparición de rechazo: análisis observacional.
2. Demostrar la eficacia de los mTORi en la preservación de la función renal en el paciente trasplantado hepático: análisis observacional.
3. Estudiar la supervivencia de los pacientes con TOH por hepatocarcinoma o que presenten neoplasias de novo tras conversión a terapia con mTORi: análisis comparativo con pacientes tratados con anticalcineurínicos.

Detallamos a continuación el método utilizado en cada bloque.

4.2. TOXICIDAD Y EFICACIA EN LA PREVENCIÓN DEL RECHAZO

Los criterios de valoración de seguridad, tolerabilidad y eficacia fueron determinados tras un seguimiento medio de 48 meses (DT: 56,8, rango=0 a 241). La conversión de CNI a mTORi, tal y como hemos descrito previamente, se realizó gradualmente durante 15 días.

Las variables a estudio para valorar tanto la toxicidad como el rechazo fueron:

1. Valores sanguíneos de colesterol, triglicéridos para monitorizar dislipemias.
 - 1.1. Hipercolestolemia: > 200 mg/dl.
 - 1.2. Hipertrigliceridemia: > 150 mg/dl.
2. Parámetros hematológicos:
 - 2.1. Cifras de hemoglobina, leucocitos y plaquetas.
 - 2.2. Anemia: descenso de las cifras de hemoglobina respecto a las cifras pre-conversión.
 - 2.3. Leucopenia: descenso de las cifras de leucocitos respecto a las cifras pre-conversión.
 - 2.4. Trombocitopenia: descenso de las cifras de plaquetas respecto a las cifras pre-conversión.

3. Toxicidad clínica: aparición de aftas bucales, edemas faciales o distales, diarrea, síndrome febril, neumonitis tóxica, infección vírica, bacteriana o fúngica.
4. Rechazo agudo, como parámetros de eficacia.

4.3. mTORi Y FUNCIÓN RENAL

El mTORi se introdujo con una mediana de 48 meses (DT: 56,8, rango=0 a 241) tras el TOH, y los pacientes continuaron dicho tratamiento (seguimiento) durante una mediana de 40,6 meses (DT: 18,0, rango=18 a 76).

Las variables a estudio en este caso, fueron:

1. La evolución de los niveles séricos de creatina.
2. Proteinuria.
3. Hemos querido observar la evolución de la función renal en relación a la presencia de nefropatía previa por diabetes mellitus (DM) y/o hipertensión arterial (HTA).

4.4. mTORi, HEPATOCARCINOMA Y TUMORES DE NOVO

En este caso, hemos optado por un estudio de casos y controles. De los 884 pacientes trasplantados, se identificaron 119 con carcinoma hepatocelular (HCC), 1 con colangiocarcinoma y 73 con neoplasias "de novo". 40 de éstos pacientes fueron tratados con mTORi, y 167 con inhibidores de la calcineurina (CNI).

En la tabla, se puede ver el número de pacientes incluidos en cada grupo constituidos por los diferentes tipos de cáncer. El seguimiento fue de entre 3-53 meses (m = 16) en el grupo de los mTORi por 3-89 meses (m = 29) en el grupo de los CNI.

La conversión a mTORi se hizo progresivamente, retirándose los CNI en 15 días, hasta la obtención de niveles en torno a 5-10 ng/dl, tal y como se explicó previamente.

Las variables a estudio en este caso fueron:

1. Supervivencia.
2. Tasa de recidiva.
3. Periodo libre de enfermedad.

Neoplasia	mTORi	ACN
Hepatocarcinoma	23	89
Carcinoma cutáneo NM	4	22
SLPT	3	2
ORL	4	10
Urológicos	2	2
Gástrico	1	2
Broncopulmonar	1	7
Mama	2	3

Tabla4.4. Distribución de Neoplasias según inmunosupresión utilizada.

4.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A efectos del presente análisis, los datos fueron extraídos de la base de datos en forma de cohortes tanto para sirolimus como para everolimus. Desde el punto de vista clínico y demográfico, los datos recogidos fueron: edad, raza, sexo, etiología de la enfermedad hepática, presencia de carcinoma hepatocelular, motivo para conversión a mTORi, fecha del trasplante, altura, peso, antecedentes de trasplante previo, historia de diabetes mellitus y/o hipertensión previa al trasplante, así como parámetros hematológicos tales como presencia de anemia, leucopenia y/o trombopenia. También se obtuvo una historia completa de la medicación inmunosupresora incluyendo plazos y duración del tratamiento con mTORi. Los datos de laboratorio incluyeron creatinina sérica evaluada al momento de la conversión, a los 6, 12, 18 meses y el último valor mientras se registraba la administración de mTORi. Un investigador independiente auditó el 10 % de los datos encontrando una concordancia de los mismos > 99 %.

Presentamos medias y desviaciones estándares para datos paramétricos así como medianas y cuartiles para los no paramétricos. La comparación de las variables categóricas se realizaron con la prueba exacta de Fisher. Las variables de distribución no normal se compararon con el test de Mann-Whitney, mientras que las variables de distribución normal se analizaron con la prueba t de dos colas.

Se utilizó una regresión lineal para evaluar el efecto de la exposición de los mTORi en la creatinina final. Ésta fue la última creatinina obtenida sin dejar de tomar mTORi o la creatinina al final del seguimiento. La exposición a mTORi se examinó tanto como variable dicotómica así como variable continua (número de días de exposición a mTORi).

Para los modelos ajustados, se analizaron únicamente las variables de confusión que afectaban a la estimación puntual en un 10% o más (19). A efectos de regresión lineal, inicialmente realizamos la transformación inversa de todos los valores de creatinina. Un valor de $P < 0,05$ fue considerado significativamente estadístico, utilizándose two-sided tests. Todos los análisis se realizaron con el programa de análisis estadístico SPSS 15.0.

5. RESULTADOS

5.1. TOXICIDAD Y EFICACIA EN LA PREVENCIÓN DEL RECHAZO

5.1.1. EFICACIA COMO INMUNOSUPRESOR

En cuanto a la eficacia de estos fármacos como inmunosupresor hemos analizado la aparición de rechazo tras la conversión.

RECHAZO		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	73	83,9	83,9
	SÍ	14	16,1	16,1
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.1. Incidencia de rechazo en la serie tratada con mTORi.

1. De los 87 pacientes tratados, un 84% no mostró signo alguno de rechazo, por un 16% que sí lo mostró.
2. El índice de rechazo postconversión no es mayor que los índices de rechazo descritos con los ACN.
3. Todos los rechazos fueron subclínicos, se manifestaron únicamente como un incremento de fermentos hepáticos en suero, y todos se recuperaron con la optimización de dosis y niveles de los mTORi. Ningún paciente precisó retrasplante.

5.1.2. TOXICIDAD DE LOS mTORi

1. A nivel abdominal, sólo un 24% presentó diarreas y ésta estuvo acompañada de dolor de abdomen en un 11.5% del global.
2. A nivel extra-abdominal, se describieron aftas en 23 pacientes (26.4%), edema facial en un 5.7% y edema distal de miembros inferiores en otro 26.4%. Respecto al edema facial, desapareció en la totalidad de los casos tras reducir dosis/niveles del fármaco. Los edemas distales persistieron durante más tiempo pero no motivaron la suspensión del mTORi en ningún caso.

3. Nueve casos de infección vírica (Herpes Virus y CMV) y 10 de infección bacteriana, además de otros 10 pacientes afectados de neumonitis tóxica y otros 10 de síndrome febril.
4. La aparición de candidiasis oral se produjo en el 11% de los pacientes.
5. Se detectaron dos casos de síndrome febril sin aislamiento microbiológico, uno de ellos por neumonitis tóxica probablemente dosis dependiente. En ambos pacientes la fiebre desapareció tras la optimización de la dosis de mTORi.
6. En el ámbito de la mielotoxicidad, se ha observado trombocitopenia en el 12.6% de los pacientes, leucopenia en el 28.7%, y anemia en un 30%. Todos ellos, sin embargo, de carácter leve, sin sintomatología asociada y con recuperación completa tras la optimización de dosis/niveles de mTORi.
7. La incidencia de alteración en el metabolismo de lípidos fue importante: 40% de hipercolesterolemia y 25% de hipertrigliceridemia, aunque todos los pacientes fueron controlados con éxito mediante dieta o tratamiento hipolipemiante. Las medias que se describen indican la escasa entidad del ascenso en las cifras de lípidos.
8. También registramos un caso de alopecia.
9. No hemos descrito muertes asociadas al uso de inhibidores de mTOR.
10. En ningún caso, los efectos secundarios requirieron la suspensión del inhibidor de mTOR.
11. No se encontraron diferencias en cuanto a toxicidad y eficacia entre sirolimus y everolimus.

AFTAS

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	64	73,6	73,6
	SÍ	23	26,4	26,4
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.3. Aparición de aftas tras la conversión a mTORi.

DIARREA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	66	75,9	75,9
	SÍ	21	24,1	24,1
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.4. Pacientes que describieron diarreas en nuestra serie.

DOLOR ABDOMINAL

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	77	88,5	88,5
	SÍ	10	11,5	11,5
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.5 Casos descritos de dolor abdominal.

EDEMA FACIAL

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	82	94,3	94,3
	SÍ	5	5,7	5,7
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.6. Incidencia de edema facial en los pacientes convertidos a mTORi.

EDEMAS DISTALES MMII

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	64	73,6	73,6
	SÍ	23	26,4	26,4
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.7. Edemas distales identificados en los pacientes tratados en nuestro estudio.

SÍNDROME FEBRIL

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	77	88,5	88,5
	SÍ	10	11,5	11,5
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.8. Síndromes febriles descritos en la serie de casos convertidos.

INFECCIÓN BACTERIANA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	77	88,5	88,5
	SÍ	10	11,5	11,5
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.8. Casos identificados de infección bacteriana.

INFECCIÓN VÍRICA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	78	89,7	89,7
	SÍ	9	10,3	10,3
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.9. Infecciones víricas descritas en nuestra serie.

INFECCIÓN FÚNGICA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	85	97,7	97,7
	SÍ	2	2,3	2,3
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.10. Infecciones fúngicas halladas tras la conversión.

Las medias de los parámetros analíticos se describen en las siguientes tablas:

	N		Media	Desv. típ.	Mínimo	Máximo
	Válidos	Perdidos				
CR1	87	0	1,169	,5107	,5	4,2
CR2	86	1	1,256	,6338	,5	3,9
COLEST1	87	0	191,207	61,7962	82,0	563,0
COLEST2	86	1	209,903	74,8776	126,0	583,0
TRIGLI1	87	0	150,1839	83,33102	34,00	456,00
TRIGLI2	86	1	188,0000	185,15628	40,00	1222,00
LEUC1	87	0	5,323	1,9245	1,7	9,7
LEUC2	86	1	5,839	2,3028	,8	13,0
HB1	87	0	13,557	9,8276	7,7	102,0
HB2	86	1	14,201	13,2803	7,1	134,0
PLAQ1	87	0	158,564	80,8810	13,5	448,0
PLAQ2	86	1	183,550	91,0561	9,5	501,0

Tabla 5.11. Estudio estadístico de las variables hematológicas referentes a toxicidad.(CR1: creatina sérica pre-conversión; CR2: creatina sérica actual; COLEST1, colesterol sérico pre-conversión; COLEST2, colesterol sérico actual; TRIGLI1, triglicéridos séricos pre-conversión, TRIGLI2, triglicéridos séricos actual; LEUC1, leucocitos séricos pre-conversión; LEUC2, leucocitos séricos actual; HB1, hemoglobina sérica pre-conversión; HB2, hemoglobina sérica actual; PLAQ1, plaquetas séricas pre-conversión; PLAQ2, plaquetas séricas actual)

	Percentiles		
	25	50	75
CR1	,900	1,100	1,390
CR2	,900	1,100	1,420
COLESTEROL	154,000	186,000	221,000
COLEST2	172,000	197,000	218,250
TRIGLI1	92,0000	135,0000	187,0000
TRIGLI2	105,5000	136,0000	195,2500
LEUC1	4,000	5,150	6,200
LEUC2	4,668	5,650	6,975
HB1	11,100	12,800	14,200
HB2	11,100	12,800	14,700
PLAQ1	106,250	145,000	206,000
PLAQ2	130,500	177,000	212,000

Tabla 5.12. Distribución percentil.

		CR1	CR2	COLESTE ROL	COLEST2	TRIGLI1	TRIGLI2
N	Válidos	87	86	87	86	87	86
	Perdidos	9	10	9	10	9	10
Media		1,169	1,256	191,207	209,903	150,1839	188,0000
Mediana		1,100	1,100	186,000	197,000	135,0000	136,0000
Moda		1,0	1,0	152,0 ^a	183,0 ^a	89,00 ^a	111,00 ^a
Desv. típ.		,5107	,6338	61,7962	74,8776	83,33102	185,15628
Varianza		,261	,402	3818,771	5606,655	6944,059	34282,847
Mínimo		,5	,5	82,0	126,0	34,00	40,00
Máximo		4,2	3,9	563,0	583,0	456,00	1222,00
Percentiles	25	,900	,900	154,000	172,000	92,0000	105,5000
	50	1,100	1,100	186,000	197,000	135,0000	136,0000
	75	1,390	1,420	221,000	218,250	187,0000	195,2500

Tabla 5.13. Estadísticos descritos en nuestro estudio para los parámetros contemplados.

ANEMIA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	NO	61	70,1	70,1	70,1
	SÍ	26	29,9	29,9	100,0
Total		87	100,0	100,0	

Tabla 5.14. Anemia detectada tras la conversión a mTORi.

Percentiles

		Percentiles				
		5	10	25	50	75
Promedio	HB1	8,610	9,240	11,100	12,750	14,200
ponderado(definición 1)	HB2	8,570	9,200	11,100	12,800	14,700

Percentiles

		Percentiles	
		90	95
Promedio	HB1	15,500	16,195
ponderado(definición 1)	HB2	16,000	16,560

Estadísticos de contraste^b

		HB2 - HB1
Z		-1,174 ^a
Sig. asintót. (bilateral)		,240

a. Basado en los rangos negativos.

b. Prueba de los rangos con signo de Wilcoxon

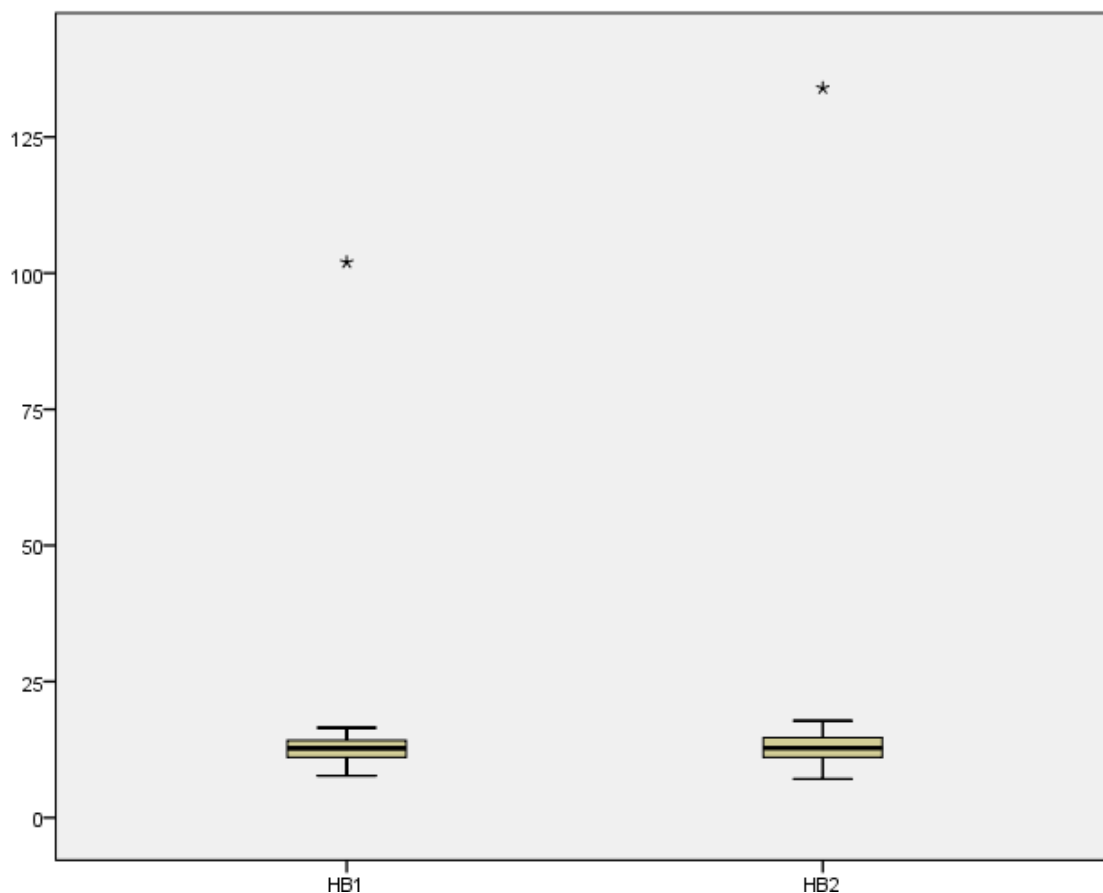


Figura 5.1. Distribución de los valores de Hb pre y post conversión.

LEUCOPENIA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido
Válidos	NO	62	71,3	71,3
	SÍ	25	28,7	28,7
	Total	87	100,0	100,0

Tabla 5.15. Incidencia de leucopenia entre los pacientes convertidos, en nuestro estudio.

Percentiles

		Percentiles				
		5	10	25	50	75
Promedio	LEUC1	2,722	2,897	4,000	5,135	6,170
ponderado	LEUC2	1,858	2,850	4,668	5,650	6,975

Percentiles

		Percentiles	
		90	95
Promedio	LEUC1	8,630	9,065
ponderado(definición 1)	LEUC2	8,650	10,160

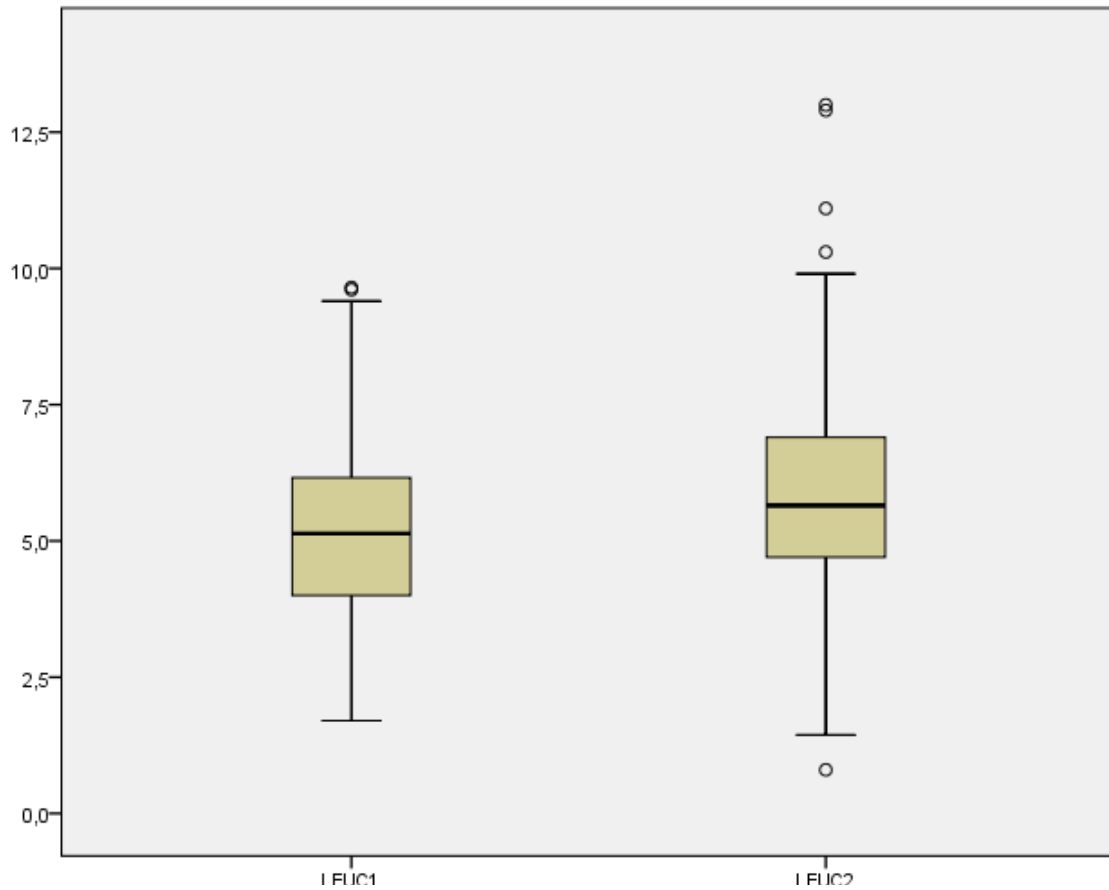


Figura 5.2. Distribución de los valores de Leucocitos pre y post conversión.

Estadísticos de contraste^b

	LEUC2 - LEUC1
	-2,605 ^a
Sig. asintót. (bilateral)	,009

TROMBOPENIA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	NO	76	87,4	87,4	87,4
	SÍ	11	12,6	12,6	100,0
	Total	87	100,0	100,0	

Tabla 5.16. Casos de trombopenia descritos en nuestra serie.

Percentiles

		Percentiles				
		5	10	25	50	75
Promedio	PLAQ1	47,750	63,700	106,250	145,000	206,000
ponderado(definición 1)	PLAQ2	59,450	78,400	130,500	177,000	212,000

Percentiles

		Percentiles	
		90	95
Promedio	PLAQ1	260,900	316,350
ponderado(definición 1)	PLAQ2	305,500	377,950

Estadísticos de contraste^b

	PLAQ2 - PLAQ1
Z	-4,028 ^a
Sig. asintót. (bilateral)	p<0.001

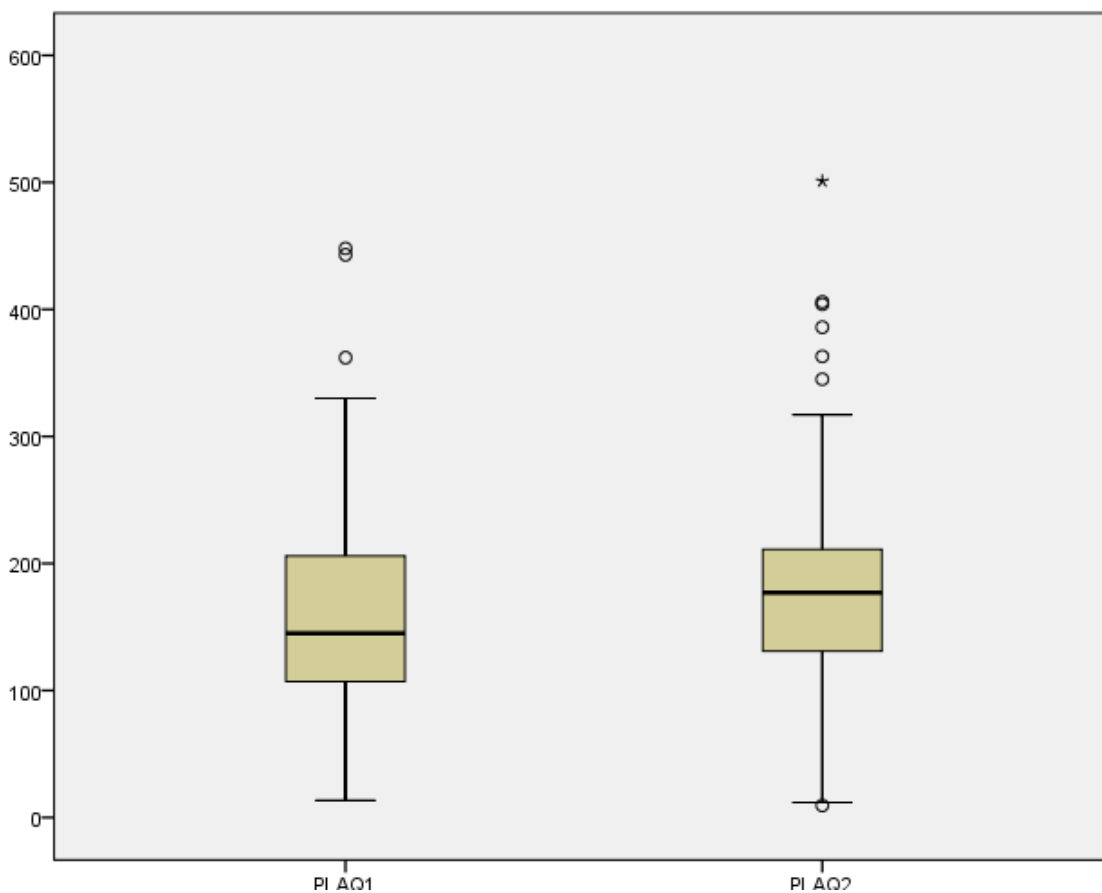


Figura 5.3. Distribución de los valores de Plaquetas pre y post conversión.

HIPERCOLESTEROLEMIA

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	NO	47	54,0	54,0	54,0
	SÍ	40	46,0	46,0	100,0
Total		87	100,0	100,0	

Tabla 5.17. Casos de hipercolesterolemia tras la conversión.

Percentiles

		Percentiles				
		5	10	25	50	75
Promedio	COLESTEROL	100,400	124,700	153,500	186,000	221,000
ponderado(definición 1)	COLEST2	138,050	144,700	172,000	197,000	218,250

Percentiles

		Percentiles	
		90	95
Promedio	COLESTEROL	241,300	288,300
ponderado(definición 1)	COLEST2	265,900	325,300

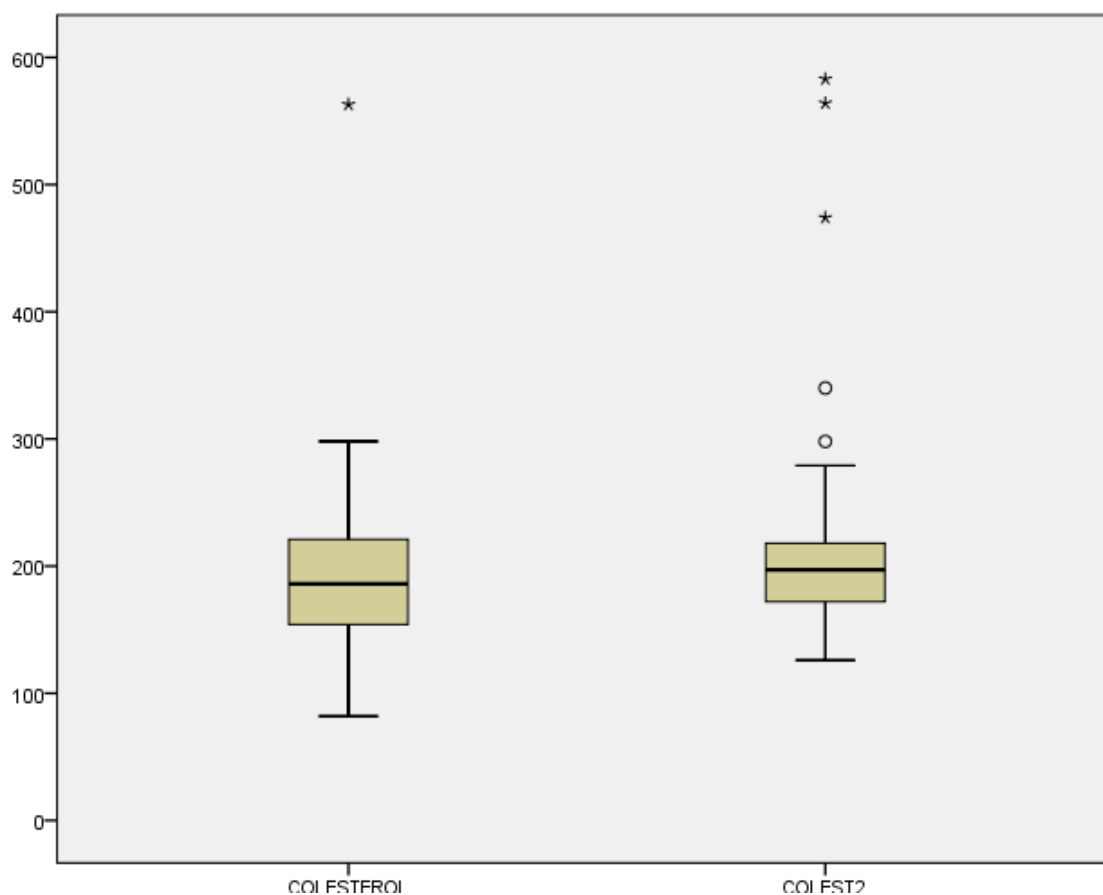


Figura 5.4. Distribución de los valores de colesterol pre y post conversión.

Estadísticos de contraste^b

	COLEST2 – COLEST1
Z	-2,839 ^a
Sig. asintót. (bilateral)	,005

HIPERTRIGLICERIDEMIA

	Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos NO	62	71,3	71,3	71,3
SÍ	25	28,7	28,7	100,0
Total	87	100,0	100,0	

Tabla 5.17. Casos de hipercolesterolemia tras la conversión.

Percentiles

		Percentiles				
		5	10	25	50	75
Promedio	TRIGLI1	59,0000	69,4000	91,2500	136,5000	187,2500
ponderado(definición 1)	TRIGLI2	68,1000	79,0000	105,5000	136,0000	195,2500

Percentiles

		Percentiles	
		90	95
Promedio	TRIGLI1	257,5000	357,3000
ponderado(definición 1)	TRIGLI2	296,9000	537,5500

Estadísticos de contraste^b

	TRIGLI2 - TRIGLI1
Z	-1,896 ^a
Sig. asintót. (bilateral)	,058

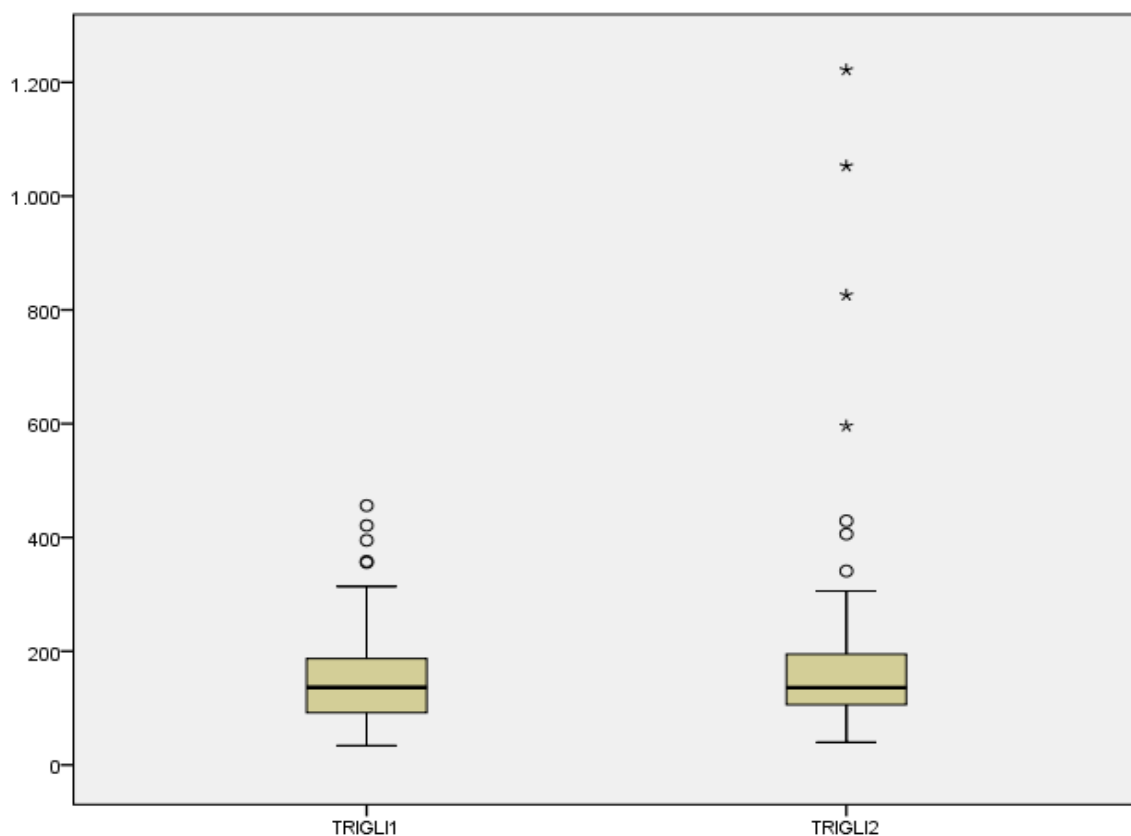


Figura 5.5. Distribución de los valores de Plaquetas pre y post conversión.

Fue necesario suspender el tratamiento en 9 pacientes, (10.3%), alcanzando el porcentaje de éxitos, una vez concluido nuestro estudio, el 18.4% de los casos tratados, todos ellos por motivos ajenos al tratamiento con mTORi.

SUSPENSIÓN

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	NO	78	89,7	89,7	89,7
	SÍ	9	10,3	10,3	100,0
	Total	87	100,0	100,0	

Tabla 5.18. Casos de suspensión del tratamiento.

ÉXITUS

		Frecuencia	Porcentaje	Porcentaje válido	Porcentaje acumulado
Válidos	NO	71	81,6	81,6	81,6
	SÍ	16	18,4	18,4	100,0
	Total	87	100,0	100,0	

Tabla 5.19. Pacientes fallecidos en nuestra serie.

5.2. mTORi Y FUNCIÓN RENAL

1. La creatinina inicial de los pacientes en el momento de la conversión (con una mediana de 48 meses tras el TOH) fue de 1,31 mg/dl.
2. El seguimiento de los valores de creatinina tras la conversión a mTORi, fue (mg/dl) 1,19, 1,19, 1,22 a los 6, 12 y 18 meses, y 1,23 mg/dl al final del estudio.
3. No hubo diferencias significativas entre la creatinina inicial y final durante el tratamiento con mTORi: 1,31 mg/dl y 1,22 mg/dl ($p=0,92$). Éste fue un análisis global en todos los pacientes, tanto los convertidos por disfunción renal como los pacientes convertidos debido a cualquier otra razón.
4. Observamos la misma escasa diferencia cuando se analizan los pacientes convertidos con niveles de creatinina sérica $> 1,3$ mg / dl (1,87 mg/dl y 1,73 mg/dl, $p=0,78$).
5. Sólo los pacientes convertidos a causa de la insuficiencia renal con creatinina sérica $> 1,5$ mg/dl muestran una mejora significativa de la función renal, con niveles iniciales de 2,14 y finales de 1,77 mg / dl ($p=0,02$) (Fig. 5.1).
6. En el análisis del subgrupo de aquellos pacientes con DM, no se objetiva mejoría alguna en los niveles de creatinina sérica (1,31 mg/dl a 1,37 mg/dl) en comparación con los pacientes sin DM (1,31 mg/dl a 1,15 mg/dl) ($p = 0,01$). (Fig.2)
7. Encontramos similar resultado comparando pacientes hipertensos (1,48 mg/dl a 1,5 mg/dl) con pacientes no-HT (1,21 mg/dl a 1,08 mg/dl), y pacientes con proteinuria (1,44 mg/dl a 1,41 mg/dl) respecto con los que no la tienen (1,31 mg/dl a 1,11 mg/dl).
8. En cuanto a los pacientes con DM, HTA y proteinuria (Fig. 3), a pesar de la conversión a mTORi, éstos continuaban empeorando su función renal (1,35 mg/l a 2,07 mg/dl) en comparación con los que sólo padecían uno de estos factores ($p=0,04$).

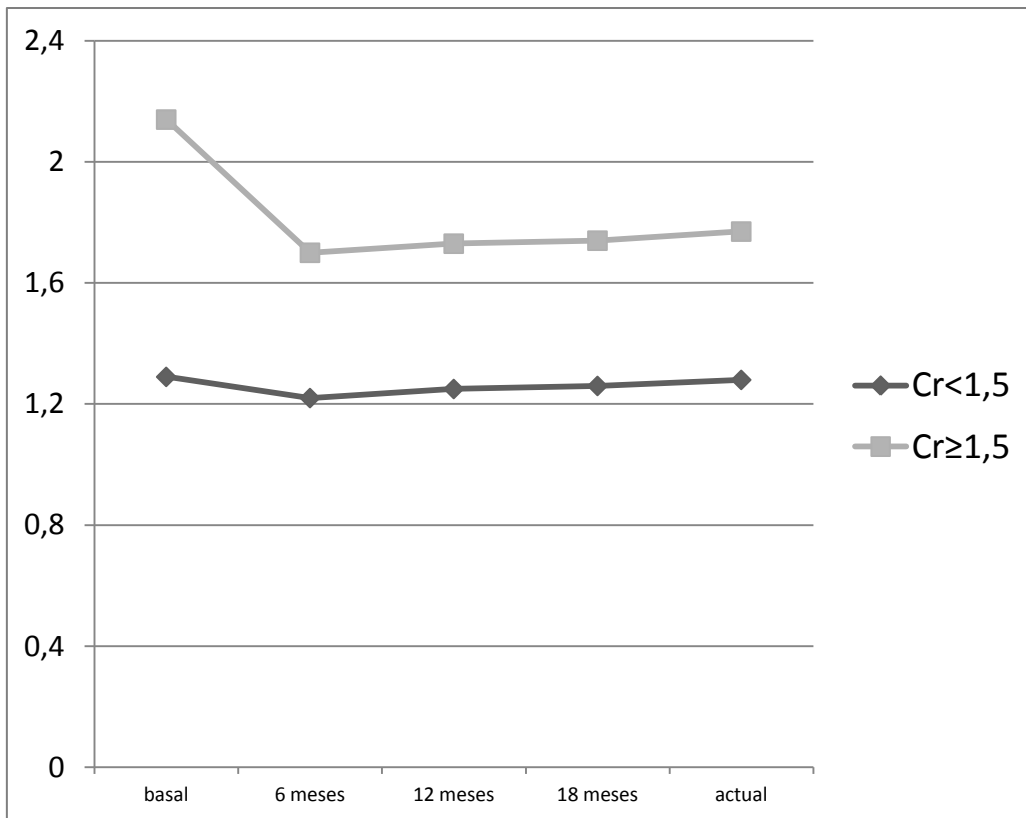


Gráfico 5.1. Variación en los niveles de creatinina(Cr) tras la conversión con niveles previos < o > 1,5.

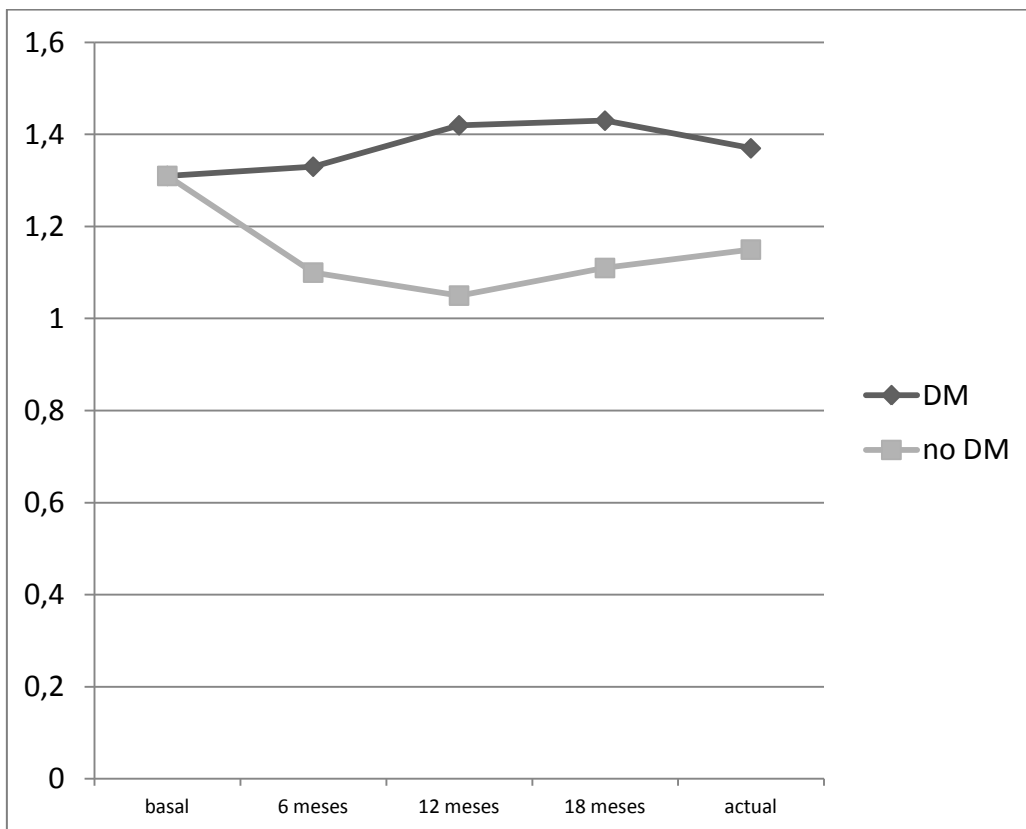


Gráfico 5.2. Variación en los niveles de creatinina tras la conversión según diabetes mellitus (DM).

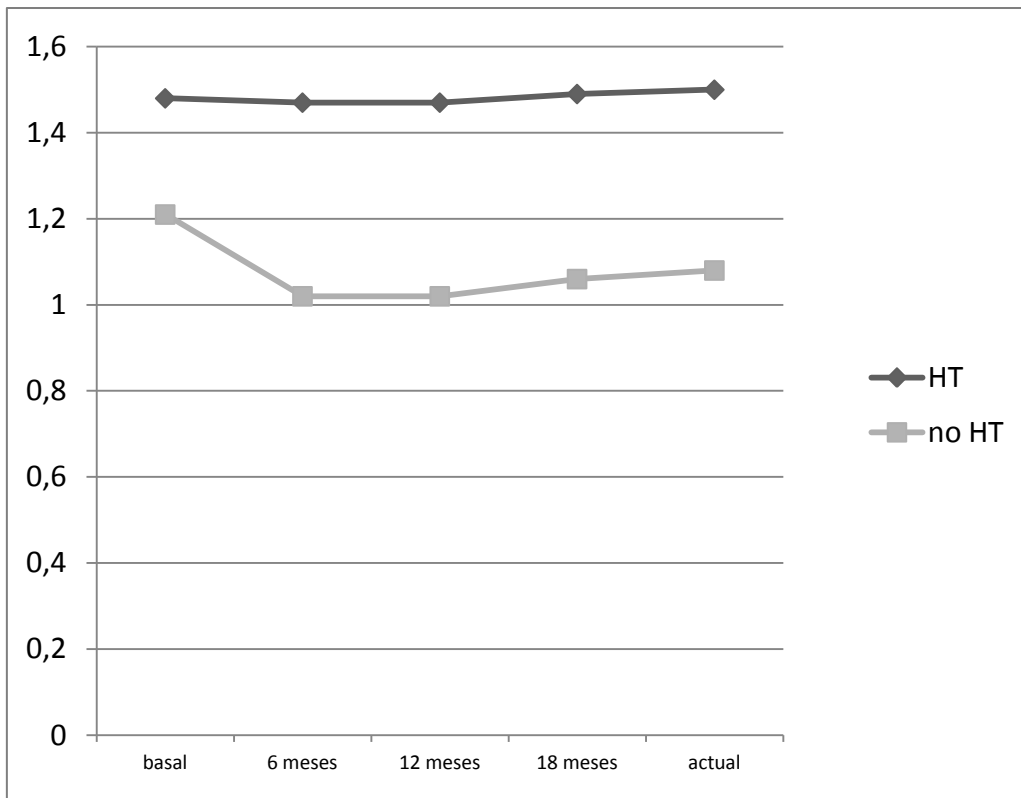


Gráfico 5.3. Variación en los niveles de creatinina tras la conversión según HTA.

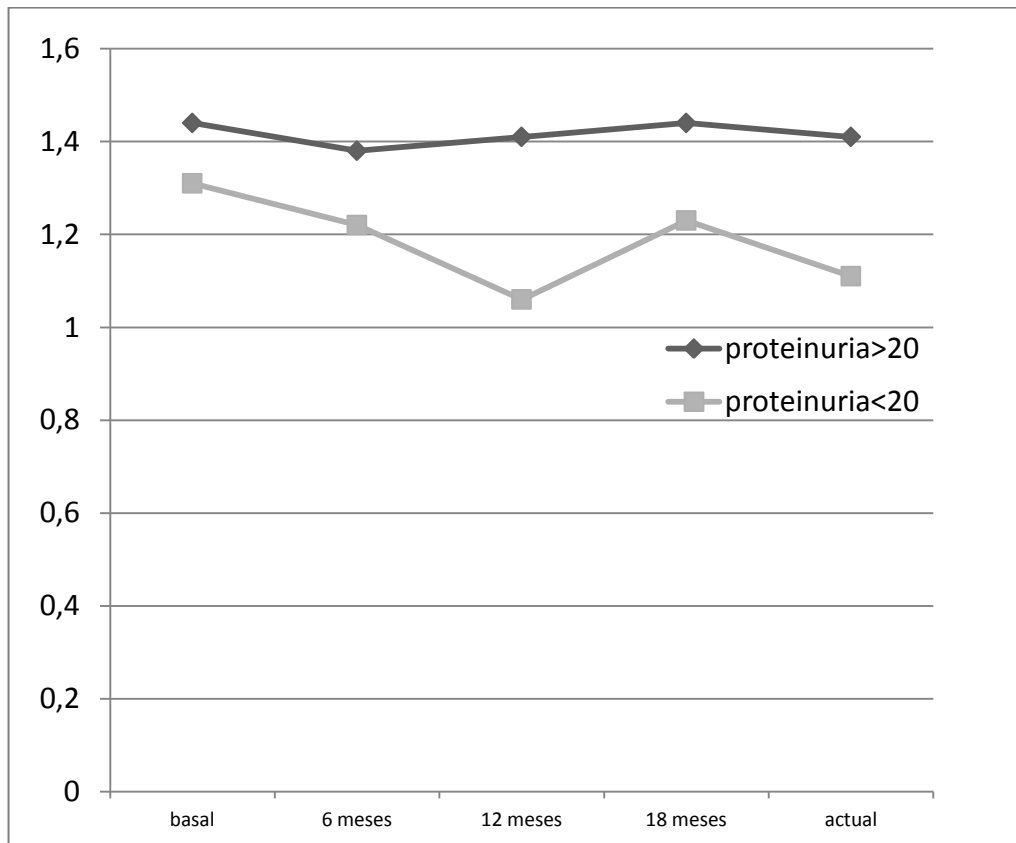


Gráfico 5.4. Variación en los niveles de creatinina tras la conversión según proteinuria.

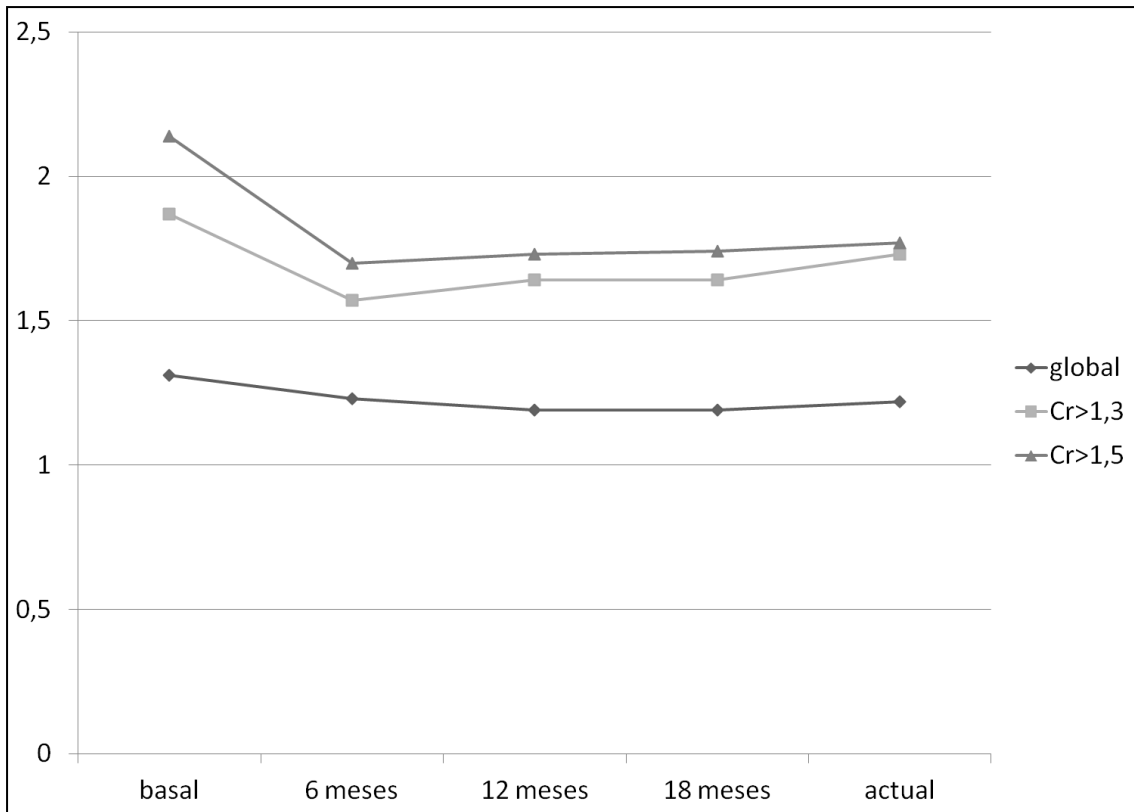


Gráfico 5.5. Variación en los niveles de creatinina tras la conversión según creatinina previa y global.

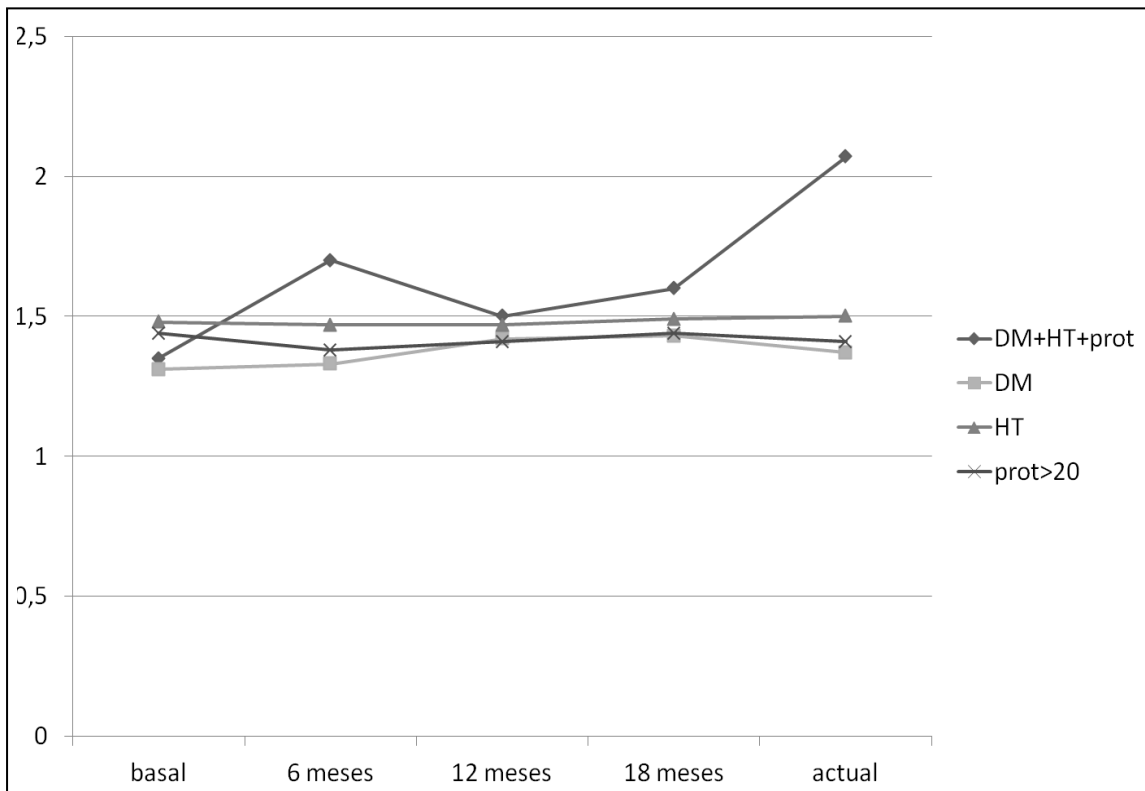


Gráfico 5.6. Variación en los niveles de creatinina tras la conversión según factores de riesgo previos.

Percentiles

		Percentiles				
		5	10	25	50	75
Promedio	CR1	,614	,691	,900	1,070	1,392
ponderado(definición 1)	CR2	,600	,635	,900	1,100	1,420

Percentiles

		Percentiles	
		90	95
Promedio	CR1	1,569	1,865
ponderado(definición 1)	CR2	1,930	2,713

Estadísticos de contraste^b

	CR2 - CR1
Z	-,832 ^a
Sig. asintót. (bilateral)	,405

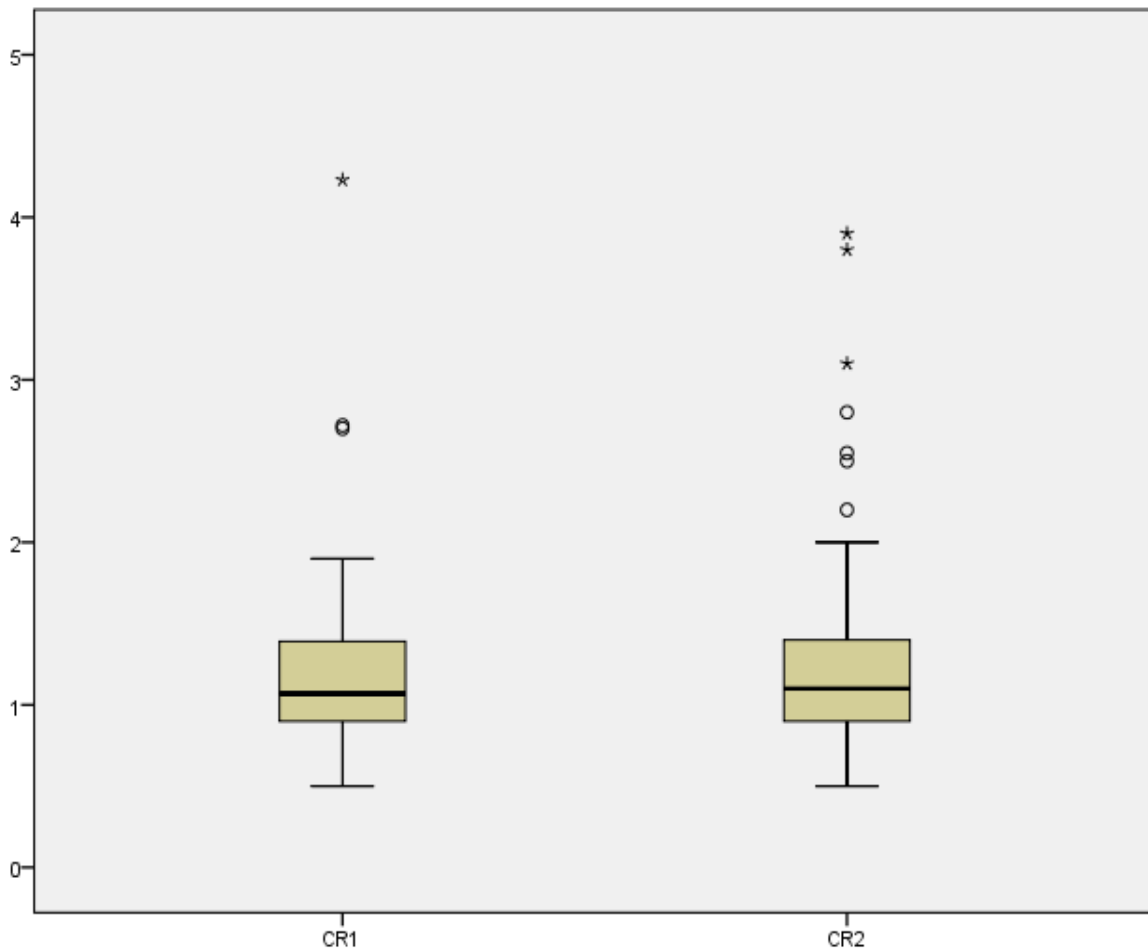


Figura 5.6. Niveles de creatinina pre y postconversión.

5.3. mTORi, HEPATOCARCINOMAS Y NEOPLASIAS DE NOVO

1. La supervivencia global fue del 68,5% en el grupo mTORi frente al 45,7% del grupo de los CNI.
2. La tasa general de recidiva tumoral fue de 15,2% y 36,8%, respectivamente ($p < 0,05$) (tablas 1 y 2).
3. En los pacientes con carcinoma hepatocelular (HCC), la supervivencia fue del 100% en aquellos tratados con mTORi mientras que los del grupo de los CNI sólo alcanzaron un 61,5%, con tasas de recurrencia del tumor del 6,2% y 19,1%, respectivamente ($p < 0,05$). Fue muy significativo el hecho de que la supervivencia en los casos de recaída por hepatocarcinoma alcanzó el 100% en el grupo de los mTORi mientras que en el del CNI fue nula.
4. La supervivencia del grupo de pacientes tratados con mTORi, donde a posteriori aparecía un HCC, fue del 60% con una mediana de supervivencia de los que murieron de 7,5 meses, en comparación con la ausencia de supervivencia y 3,8 meses de mediana de sobrevida en el grupo control.
5. En los pacientes con carcinoma de piel distinto al melanoma, sobrevivieron todos los pacientes en ambos grupos, aunque el índice de recurrencia fue nulo en el grupo mTORi frente al 18% en el de los CNI ($p < 0,05$).
6. En cuanto a los síndromes linfoproliferativos, no se detectaron recurrencias en los pacientes tratados con mTORi, mientras que en los tratados con CNI ascendió al 50%, con una supervivencia del 66,6% y 50% respectivamente.
7. En pacientes con cáncer de la esfera laringofaríngea, la supervivencia fue del 100% en el grupo de los mTORi, en comparación con el 50% del grupo control; no hubo recurrencia en los pacientes tratados con mTORi mientras que en el grupo control, ésta alcanzó un 20%.

8. El único paciente con cáncer gástrico tratado con mTORi, vive en la actualidad sin presentar recidiva, mientras que de los dos pacientes del grupo de control, ninguno vive y el cáncer reapareció en uno de ellos.

9. Con respecto a los cánceres urológicos, la supervivencia es del 100% y 50% respectivamente, con una tasa de recurrencia del 0% y 100%, para mTORi y CNI.

10. En cuanto a las pacientes con cáncer de mama tratadas con mTORi, el 50% sobreviven, con una tasa de recurrencia tumoral del 50%, mientras que en el grupo control, la supervivencia fue del 66,6% con un 33,3% de recurrencia.

11. Dentro de los pacientes que se convirtieron a mTORi con finalidad paliativa por neoplasias no tratables, ninguno de los afectados por cáncer de pulmón sobrevive a día de hoy, con una media de supervivencia de 12 meses para los pacientes del grupo mTORi frente a 5,4 meses en el control.

12. Como datos anecdóticos, señalar que un paciente en el que recidivó su colangiocarcinoma, sobrevivió 36 meses, y en otro con cáncer de mama, la supervivencia fue de 20 meses (5,4 meses del grupo control).

13. La mediana de supervivencia de los pacientes con cáncer laringofaríngeo incurable fue de 29 meses frente a los 10 meses del grupo control.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
CHC	7,5m	3,8m	5m	11-20m
COLANGIOCA	36m			5-8m
MAMA	20m			24 m
BRONCOPULMONAR	12m	5,4m		6-9m
ORL	29m	10m	6m	6m

Cuadro 5.1. Evolución de tumores tratados con **CARÁCTER PALIATIVO**.

	mTORi	ACN
n	35	162
Supervivencia	68,5%	45,72
Recidiva	15,2 %	36,8%

Cuadro 5.2. Datos globales de **EVOLUCIÓN TUMORAL** según inmunosupresión utilizada post TH

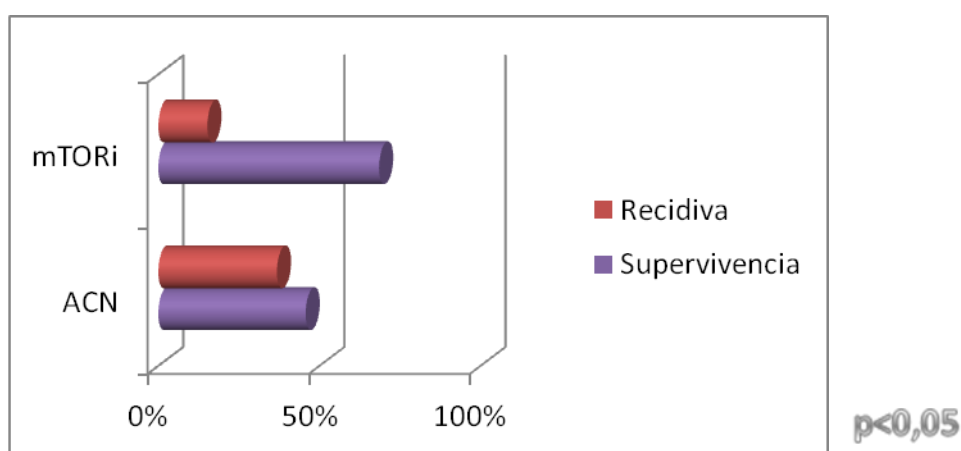


Figura 5.7. Recidiva y supervivencia tumoral según inmunosupresor.

NEOPLASIA	mTORi (n)	Superviv. Actual	Recurrencia	CNI (n)	Superviv.	Recurrencia
Carcinoma	19	94,7% (18)	5,3% (1)	89	61,5%	19,5%
Hepatocelular						
Cáncer cutáneo no melanoma	4	100%	0%	22	100%	18,8%
Síndrome linfoproliferativo	3	66,6%	0%	2	50%	50%
Cáncer otorrinolaringológico	4	100%	0%	10	50%	20%
Cáncer de Próstata	2	100%	0%	2	50%	100%
Cáncer Gástrico	1	100%	0%	2	0%	50%
Cáncer de Mama	2	50%	50%	3	66,7%	33,3%
Total	35	88,1%	8,0%	130	54,0%	41,7%

Tabla 5.20. Hepatocarcinomas y neoplasias de novo tratadas.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	16	89		
Supervivencia	100%	61,5%	70%	70%
Recidiva	6,2 %	19,1%	20%	48%
Superv. recidiva	100%	0%	22%	24%

Cuadro 5.3. Evolución del **HEPATOCARCINOMA**.

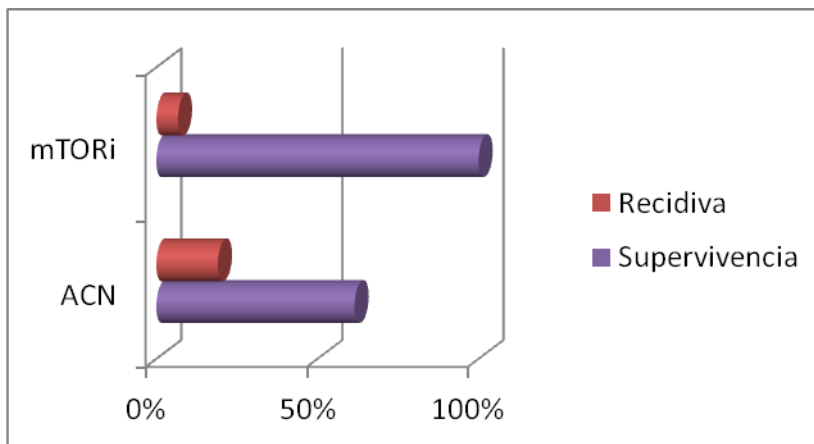


Figura 5.8. Recidiva y supervivencia en hepatocarcinoma.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	5	13		
Supervivencia	60%	0%	22%	40%
T medio supervivenc	7,5 m	3,8 m	5m	

Cuadro 5.4. Evolución del **HEPATOCARCINOMA RECIDIVADO**.

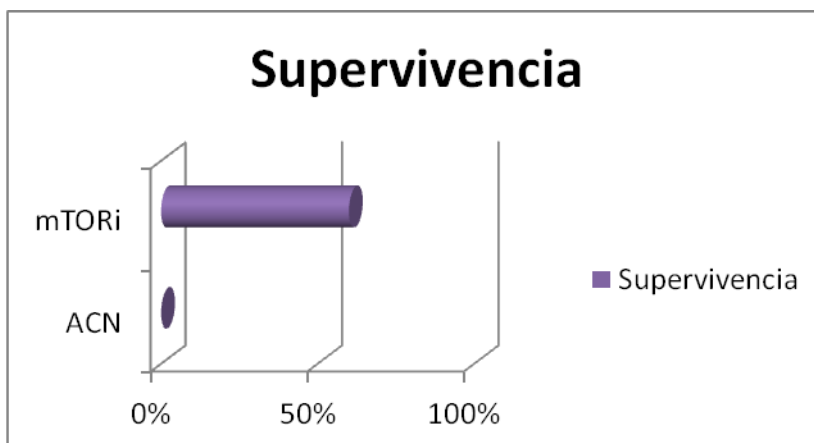


Figura 5.9. Supervivencia en hepatocarcinoma recidivado.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	4	22		
Supervivencia	100%	100%		13-30%
Recidiva	0%	18%	62% 2 años	30-90%

Cuadro 5.5. Evolución del **CÁNCER CUTÁNEO NO MELANOCÍTICO**.

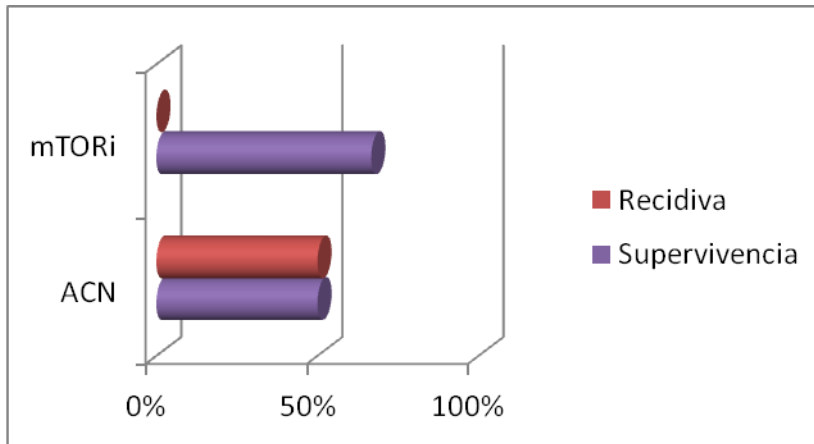


Figura 5.10. Recidiva y supervivencia en cáncer cutáneo no melanocítico.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	3	2		
Supervivencia	66,6%	50%	42-73	21-84%
Recidiva	0%	50%		9-55%

Cuadro 5.6. Evolución de **SÍNDROMES LINFOPROLIFERATIVOS**.

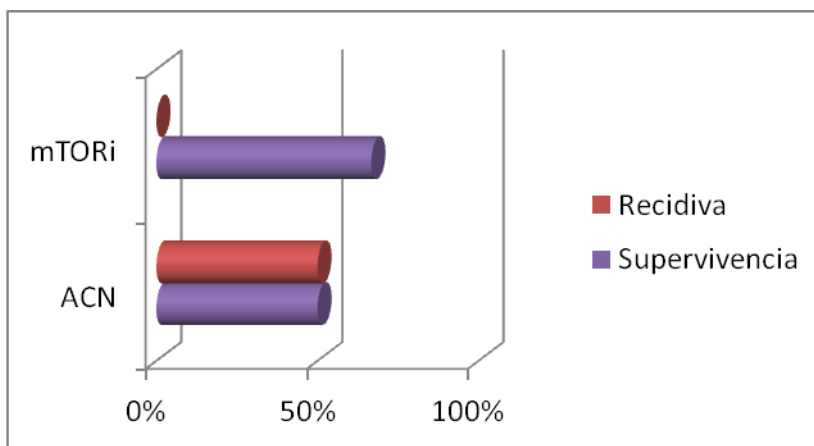


Figura 5.11. Recidiva y supervivencia en síndromes linfoproliferativos.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	4	10		
Supervivencia	100%	50%	41,5%	24-65%
Recidiva	0%	20%		48%

Cuadro 5.7. Evolución de cánceres de la esfera **ORL**.

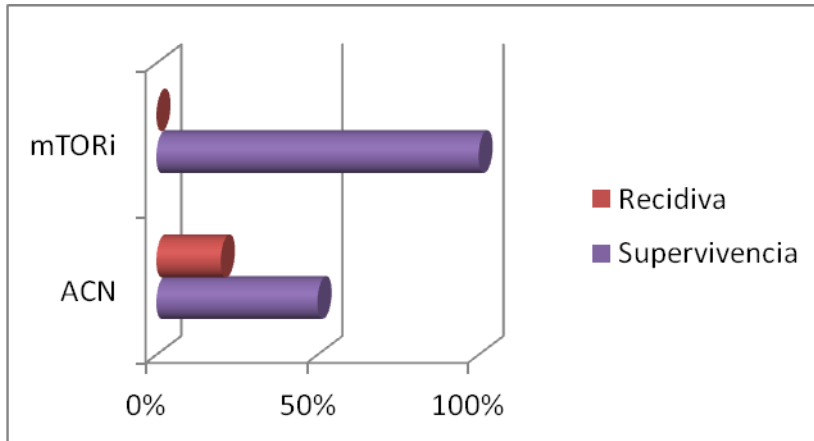


Figura 5.12. Recidiva y supervivencia en cánceres ORL.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	1	2		
Supervivencia	100%	0%		
Recidiva	0%	50%		

Cuadro 5.8. **CARCINOMAS GÁSTRICOS**.

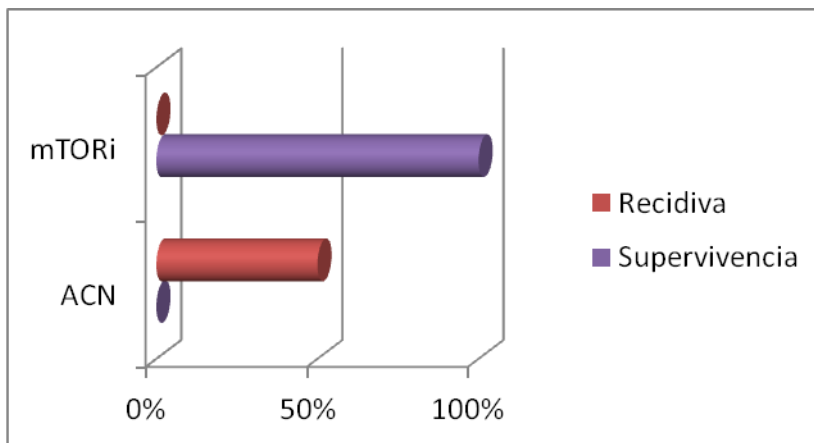


Figura 5.13. Recidiva y supervivencia en carcinomas gástricos.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	2	2		
Supervivencia	100%	50%		65.5%
Recidiva	0%	100%		20%

Cuadro 5.7. Evolución de **NEOPLASIAS UROLÓGICAS**.

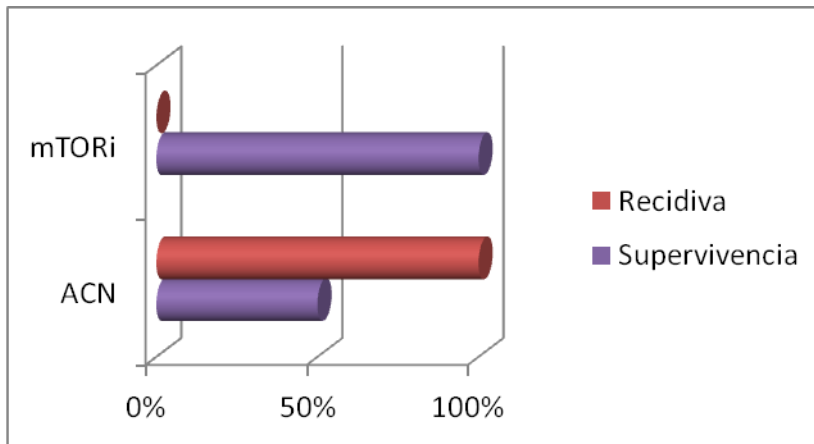


Figura 5.13. Recidiva y supervivencia en cánceres urológicos.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	1	7		
Supervivencia	0%	0%		10,7%
Tiempo supervivencia	12m	5,4m		12m

Cuadro 5.8. Evolución del **CARCINOMA BRONCOPULMONAR**.

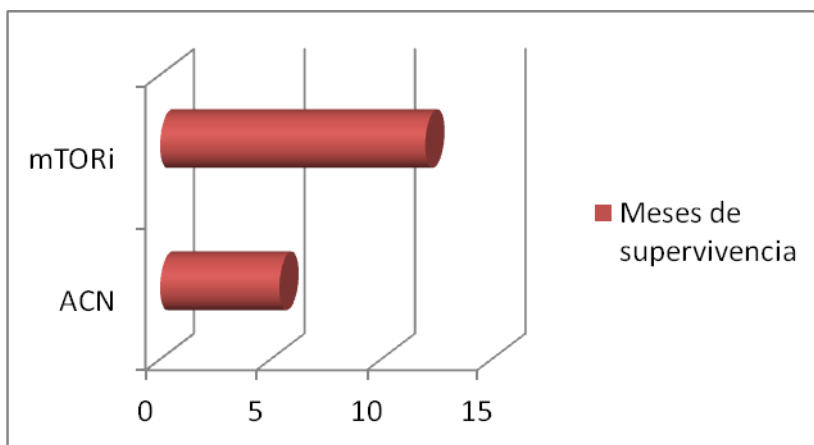


Figura 5.14. Meses de supervivencia en carcinoma broncopulmonar.

	mTORi	ACN	TOH	no TOH
n	2	3		
Supervivencia	50%	66,6%		78%
Tiempo supervivencia	50%	33,3%		6-10%

Cuadro 5.8. Evolución del **CARCINOMA DE MAMA**.

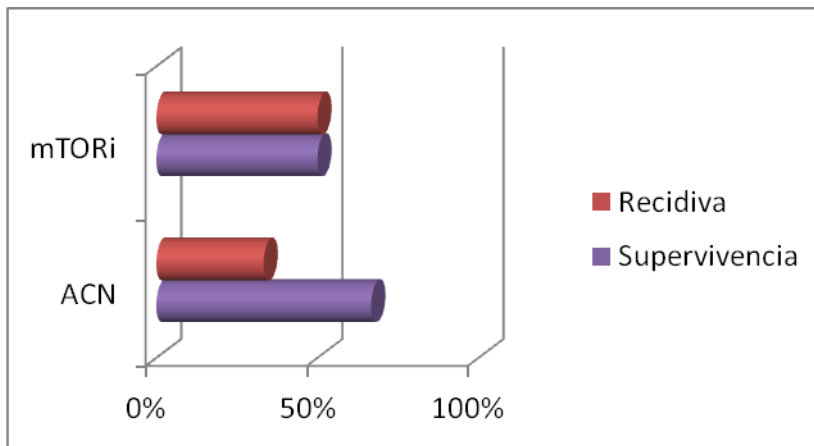


Figura 5.15. Recidiva y supervivencia en carcinoma de mama.

- A modo de resumen de los resultados obtenidos respecto a los mTORi en la esfera oncológica, podemos decir que proporciona una inmunosupresión segura y eficaz en el paciente trasplantado hepático con perfil oncológico, con nulas tasas de rechazo y de toxicidad grave.
- Los mTORi se asocian a un aumento de la supervivencia actuarial de los pacientes oncológicos respecto a los ACN.
- Los mTORi parecen reducir las tasas de recidiva tumoral en comparación con los ACN.
- Los mTORi pueden prolongar la supervivencia en aquellos pacientes con cáncer incurable.

6. DISCUSIÓN

6.1. TOXICIDAD Y EFICACIA DE LOS mTORi EN LA PREVENCIÓN DEL RECHAZO EN EL TOH

Los inhibidores de mTOR inhiben la acción de la interleuquina-2 pero carecen de efecto anticalcineurínico; por lo tanto, no causan los efectos secundarios más frecuentes de los CNI tales como nefrotoxicidad, neurotoxicidad, hipertensión o diabetes mellitus (DM), [118,119]. En nuestra serie, la aparición de hipertensión o DM "de novo" o de HTA fue nula. Sin embargo, el riesgo de enfermedad cardiovascular se vio incrementada por la aparición de hiperlipemia en el 40% de los pacientes aunque de manera dependiente a la dosis. En todos éstos pacientes se pudo controlar con fármacos hipolipemiantes. Las ventajas de estas moléculas en comparación con los CNI son significativas; no hemos observado insuficiencia renal, intolerancia a hidratos de carbono o hipertensión, efectos secundarios típicos de los CNI.

El tratamiento oral con fármacos mTORi se toleró bien; no se observó ningún caso de dispepsia o dolor abdominal describiéndose diarrea sólo en el 7% (todos ellos autolimitados tras el ajustes de dosis). No se observó una mayor incidencia de trombosis arterial o venosa, aunque en ningún caso fue el fármaco administrado antes de los tres meses tras el trasplante. Vale la pena señalar el posible papel de los mTORi como medicación de rescate en el rechazo crónico. Neff et al., en una serie de 21 pacientes con rechazo crónico refractarios al tratamiento con tacrólimus, demostraron la resolución en el 61,9% de los casos tras la adición de sirolimus. En nuestra serie, ningún paciente mejoró su perfil hepático tras la conversión de CNI a mTORi. En cuanto al tratamiento del rechazo agudo, la tasa de éxito mostró un significativo 33%, una cifra importante cuando se trata de casos de rechazo cortico resistentes, donde el único tratamiento que resta es el retrasplante. Podemos ofrecer un caso paradigmático en el que los niveles de bilirrubina alcanzaron 40 mg/dl durante el episodio de rechazo agudo para normalizarse por completo tras el tratamiento con 2 mg de everolimus al día.

Los estudios publicados describen que entre un 28% y un 50% de los pacientes tratados con mTORi requieren su suspensión por toxicidad severa [121]. En nuestra serie no fue necesario suspender el tratamiento por dicha causa. Recogemos sin embargo dos casos de toxicidad por niveles tóxicos: uno por fiebre asociada a

neumonitis radiológica sin aislamiento microbiológico (no se descarta que fueran neumonitis por drogas, hecho descrito por algunos autores [122]), otro de pancitopenia grave con síndrome asténico asociado, ambos casos autolimitados tras ajustar la dosis.

La incidencia de toxicidad medular es variable en las series publicadas [124, 125]. Estas series describían una anemia de novo, secundaria al tratamiento en monoterapia del everolimus tras el trasplante ortotópico hepático, similar a la descrita en los pacientes tratados con CsA. En la nuestra, observamos principalmente anemia (39%), y en menor medida (14%), leucopenia y trombocitopenia. Ningún paciente tuvo que suspender el tratamiento por este motivo y todos mejoraron tras el ajuste farmacológico.

Los casos de infección intercurrente no fueron superiores a los descritos utilizando otros inmunosupresores: un caso de herpes zoster, uno de esofagitis por CMV y uno de candidiasis oral (11%). Sin embargo, destacamos fiebre sin aislamiento microbiológico en 2 pacientes, uno de ellos, probablemente dosis-dependiente y secundarios a neumonitis tóxica. En ambos casos, los episodios de toxicidad se resolvieron tras el ajuste de la dosis. Otros efectos secundarios de los medicamentos incluyeron edema facial (4%), maleolar (21%), alopecia (4%), aftas orales (11%) y parestesias (4%), desapareciendo en su totalidad tras un ajuste apropiado de la dosis.

Esta falta del efecto anticalcineurínico pudiera conllevar un posible aumento en la incidencia de rechazo agudo, siendo éste uno de los motivos de rechazo hacia estos fármacos por parte de algunos grupos de trasplante hepático. En nuestra serie hubo una baja incidencia de episodios de rechazo agudo (7%), siendo todos ellos tratados satisfactoriamente mediante la optimización de los niveles, hablando en favor de su eficacia en la terapia inmunosupresora tras el trasplante hepático, al menos en lo que se refiere al control del rechazo agudo. Esta tasa de rechazo es comparable a la existente en la literatura en casos de conversión a micofenolato. Respecto a la incidencia de rechazo crónico en estos pacientes, sería necesario definir un tiempo de observación más largo antes de llegar a conclusiones relevantes.

6.2. mTORi Y FUNCIÓN RENAL

La eficacia en el tratamiento de la función renal en los casos de insuficiencia es prometedora, alcanzando una mejora en el 50% de los pacientes convertidos además de estabilizar el 33% de los casos tratados. Es probable que su eficacia sea más importante para la prevención y mejora en las etapas iniciales de la insuficiencia renal que cuando ésta ya está plenamente establecida.

Nuestro estudio muestra de manera retrospectiva como la conversión a mTORi supone una mejora en la función renal de pacientes con niveles de creatinina sérica por encima de 1,5 mg/dl, sin que la conversión en pacientes con una mejor función renal supusiera mejora alguna. Aunque la mejoría descrita había sido citada en algunos estudios ya publicados, ninguno de ellos había demostrado que a peor función renal, mayor era la mejoría registrada [126-131]. No obstante, resultados a largo plazo y en cohortes mayores aún están por ver pero parecen confirmar los resultados que vislumbra nuestro trabajo. Otra cualidad no despreciable de estos fármacos es el fácil manejo y la seguridad que su uso conlleva cuando es utilizado como inmunosupresor tras el trasplante de diversos órganos sólidos tales como hígado, riñón y corazón.

El tratamiento con mTORi se inició con una mediana de ocho meses tras el trasplante hepático por diversas razones. Los niveles de creatinina al inicio del estudio fueron similares entre las cohortes de mTORi y la de inhibidores de la calcineurina. Por otra parte, la presencia de factores de riesgo conocidos para el desarrollo de disfunción renal, como la diabetes mellitus y la hipertensión fueron similares entre ambas cohortes y se ajustaron al modelo multivariante. Además, realizamos el ajuste debido a que, por la mayor prevalencia de carcinoma hepatocelular en el grupo mTORi, la exposición a la quimioterapia podría haber afectado con mayor intensidad a la función renal. A pesar de nuestros esfuerzos, reconocemos que todavía es posible que los factores de confusión se distribuyeran de manera desigual entre las dos cohortes. Esta posibilidad existe siempre fuera de los ensayos controlados aleatorios, y sólo un estudio prospectivo a gran escala sería definitivo a la hora de abordar esta cuestión.

Hemos separado los grupos de pacientes con DM, hipertensión, proteinuria y pacientes con estas tres enfermedades. De este modo hemos visto cómo, en pacientes hipertensos

y con proteinuria no mejora la función renal después de la conversión a mTORi, pero detiene el deterioro progresivo secundario al tratamiento con inhibidores de la calcineurina. Sin embargo, en aquellos pacientes en los que convergen DM, hipertensión y proteinuria, la función renal empeora a pesar de la conversión a mTORi. No obstante, éstos resultados podrían variar en estudios prospectivos a gran escala.

La nefropatía diabética (ND) es una complicación grave de la diabetes tipo 1 y tipo 2. Es una de las principales causas de enfermedad renal en su etapa terminal así como de fracaso renal. Se estima que está presente en el origen de al menos un tercio de los casos de enfermedad renal terminal [132]. La prevalencia de la diabetes y las complicaciones de la misma, tales como la nefropatía diabética, que se caracteriza inicialmente por microalbuminuria y más tarde por esclerosis glomerular, están aumentando rápidamente. Los podocitos juegan un papel crítico en la prevención de proteinuria que presentan estos pacientes. La lesión y pérdida de éstos se cree que contribuyen al desarrollo de la nefropatía diabética. La disfunción podocitaria se postula como un evento crítico asociado a la proteinuria y glomeruloesclerosis en las enfermedades glomerulares. Sin embargo, los mecanismos moleculares de esta disfunción en el desarrollo de la nefropatía diabética aún no se comprenden bien. Se ha demostrado que la actividad del complejo mTOR1 (mTORC1), una quinasa que detecta la disponibilidad de nutrientes, se encuentra aumentada en los podocitos de los animales diabéticos. Es más, la activación de mTORC1 específica podocitaria, inducida por la ablación de un regulador negativo en un paso previo (PcKOTsc1), propicia muchas características de la ND, incluyendo la pérdida de podocitos, engrosamiento de la membrana basal glomerular, expansión mesangial así como proteinuria en ratones jóvenes y adultos no diabéticos. La activación anormal del mTORC1 produce una traslocación proteica que induce disfunción podocitaria. Por último, la deplección genética de los mTORC1 específicos podocitarios en animales diabéticos, suprime el desarrollo de ND. Estos resultados indican que la activación del mTORC1 en podocitos supone un evento crítico en el desarrollo de ND y sugieren que la reducción de la actividad mTORC1 podocitaria es una potencial estrategia terapéutica para prevenirla [133].

La diana de la rapamicina (TOR) juega un papel importante en el crecimiento celular así como en el control del tamaño de la misma. Los mTOR forman dos complejos estructural y funcionalmente distintos, mTORC1 y mTORC2. La rapamicina inhibe

selectivamente al mTORC1 pero no al mTORC2. Se ha observado en las primeras etapas de la nefropatía diabética un aumento de la actividad mTORC1 e hipertrofia de los podocitos. Por otra parte, se ha descrito el uso de rapamicina para prevenir la nefropatía diabética en modelos de ratón. Paradójicamente, la rapamicina provoca proteinuria y esclerosis glomerular en algunos pacientes [133]. En estudios animales se demostró que un estrecho control de la actividad mTOR fue crucial para mantener la función podocitaria glomerular, mientras que su desregulación facilitó el desarrollo de enfermedades glomerulares. La delección genética del complejo mTOR1 (mTORC1) en los podocitos de ratón indujo proteinuria y glomeruloesclerosis progresiva. Por otra parte, la supresión simultánea de ambos mTORC1 y mTORC2 agravó lesiones glomerulares, revelando la importancia de ambos complejos de mTOR para la homeostasis podocitaria. En contraste, un aumento de la actividad de mTOR acompaña la nefropatía diabética humana, caracterizada por hipertrofia glomerular temprana e hiperfiltración. La coartación genética de la señal a mTORC1 en ratones mediante la reducción del número de copias mTORC1 en los podocitos impidió el desarrollo de glomeruloesclerosis y mejoró significativamente la progresión de la enfermedad glomerular en la nefropatía diabética. Estos resultados demuestran la importancia de la actividad de mTOR en el buen equilibrio de la homeostasis podocitaria y sugieren que su inhibición puede proteger a éstos y prevenir la nefropatía diabética progresiva [134]. En nuestro estudio se observa que estos resultados experimentales son corroborados clínicamente en pacientes con trasplante hepático y nefropatía diabética.

En cuanto a la nefropatía hipertensiva no hay estudios que relacionen al mTORi con eficacia en estos pacientes. En nuestra serie, podemos ver como la función renal, aunque no mejora después de la conversión a mTORi, se estabiliza tras el cambio en el régimen inmunosupresor.

La proteinuria se desarrolla comúnmente tras la suspensión del CNI y el inicio del tratamiento con mTORi en receptores de trasplantes renales y otros trasplantes de órganos sólidos [135-140]. Wadei et al demostraron que los pacientes que desarrollaron proteinuria masiva tenían 3.3 veces más riesgo de un deterioro mayor de la función renal tras la conversión a mTORi, mientras que una proteinuria menor de 1.000 mg/día no mostró una asociación similar, e indicó que el aumento en niveles de mTORi, en diabetes post-TH, y bajo filtrado glomerular en el momento de la conversión a mTORi,

se asociaban con el desarrollo de proteinuria masiva post-mTORi [135]. Otro estudio señalaba mejores resultados en cuanto a la respuesta frente al rechazo del grupo tratado con sirolimus tras trasplante renal en pacientes añosos en relación con el tratado con MMF aunque a expensas de un incremento significativo en la proteinuria [136] e incluso mejor función del injerto cuando se comparó con anticalcineurínicos [137]. Por otro lado, se vio que pacientes tratados con SRL tras trasplante cardiaco mantuvieron su función renal y la proteinuria desarrollada se controló con ECAs [138]. Del mismo modo, la conversión de CNI a SRL fue satisfactoria en el trasplante hepático y la mejora en la función renal evidente a pesar de un aumento significativo de la proteinuria [139].

Globalmente, los pacientes con nefropatía crónica del injerto tratados con CNI, mejoraron sustancialmente su función renal tras ser convertidos a sirolimus aunque un 33% desarrollaron una importante proteinuria [140] al tiempo que se ha relacionado la aparición de glomeruloesclerosis focal segmentaria en pacientes tratados con altas dosis de sirolimus [141]. Estos resultados están en concordancia con los informes recientes que demuestran un efecto dependiente de la dosis de mTORi en la excreción urinaria de proteínas y la expresión de la proteína de los podocitos [137-141]. Elevados niveles de proteinuria antes de la conversión fueron igualmente correlacionados con proteinuria masiva postconversión.

Nuestros resultados no apoyan estos estudios ya que muestran que en los pacientes con proteinuria, la conversión a mTORi conduce a una estabilización de la misma y de los niveles séricos de creatinina.

Reconocemos varias limitaciones en este estudio. No medimos rutinariamente el aclaramiento de creatinina ni estimamos la tasa de filtración glomerular con las ecuaciones de Cockcroft-Gault o la MDRD. Estas mediciones y ecuaciones son imprecisas y no validadas en la población receptora de TOH.

En conclusión, hemos demostrado que tras el trasplante hepático, la conversión de la inmunosupresión basada en inhibidores de la calcineurina a un régimen basado en mTORi sólo mejora la disfunción renal, en comparación con los pacientes que no se sometieron a la conversión, cuando los niveles de creatinina son >1,5 mg/dl. En los pacientes diabéticos o con nefropatía hipertensiva, la conversión a mTORi no mejora la

función renal, pero estabiliza los niveles plasmáticos de creatinina. La proteinuria no es una contraindicación para la conversión a mTORi: también se estabiliza la función renal. Sólo en pacientes diabéticos, hipertensos y con proteinuria se debe evitar la conversión a mTORi, porque en este caso empeoran. La comprensión completa del perfil de efectos secundarios de mTORi requiere de ensayos controlados aleatorios que permitan la aplicación adecuada de esta terapia de manera prospectiva y a gran escala.

6.3 mTORi Y TUMORES

La terapia con mTORi ha demostrado propiedades anticancerígenas tanto en modelos *in vitro* como en animales, ya sea en monoterapia o en combinación con doxorubicina o sorafenib [146-151]. El sirolimus limita la angiogénesis al interferir con el factor de crecimiento vascular del endotelio (vía VEGF) mediado por las células endoteliales, reduciendo de este modo tanto el crecimiento tumoral [146] como el desarrollo de tumores establecidos, mediante la inducción extensa de microtrombos [148, 152]. A pesar de que estos hallazgos en modelos animales son evidentes, los estudios clínicos en humanos son menos convincentes. Existe gran cantidad de estudios publicados, pero todos ellos con un escaso número de pacientes y/o una media corta de seguimiento. Los grupos de la Universidad de Colorado en Denver y la Universidad de Fudan en Shanghai mostraron mejores tasas de supervivencia en el grupo de pacientes trasplantados y en tratamiento con mTORi en comparación con el grupo tratado con CNI [153-155]. Aunque todos muestran tendencias similares, estos estudios retrospectivos incluyen un número limitado de pacientes y las posibles variables de confusión no pudieron tenerse en cuenta debido al tamaño limitado de la muestra. El uso de sirolimus tanto en el tratamiento así como en la prevención de la proliferación tumoral sigue siendo una incógnita a día de hoy [156-157].

Los efectos inmunosupresores y antitumorales del sirolimus comparten el mismo mecanismo de acción: inhibir los receptores de la rapamicina en mamíferos (mTOR), previniendo el rechazo agudo del injerto mediado por interleucina-2, bloqueando la transducción de señales mediadas por citoquinas, y por tanto inhibiendo directamente la proliferación de células tumorales.

Estos efectos están respaldados por los resultados clínicos conseguidos por los mTORi en el trasplante de órganos. Kneteman et al [158], siguieron 21 pacientes con HCC más allá de los criterios de Milán y que fueron sometidos a TOH siendo tratados con un protocolo inmunosupresor basado en sirolimus. La tasa de supervivencia a 1 y 4 años fue del 90,5% y 82,9%, respectivamente. Sólo se encontraron recidivas en 4 pacientes con un tiempo medio postrasplante de 17 meses, siendo la mediana de supervivencia post-recidiva de 15,5 meses. Toso C, ha publicado recientemente que los mTORi se asocian a un aumento de la supervivencia en los pacientes tras un trasplante hepático por hepatocarcinoma. En este mismo estudio multicéntrico, únicamente la terapia con inducción de anticuerpos anti-CD25 unida a un mantenimiento con sirolimus, fue asociada a un mayor incremento en la tasa de supervivencia postrasplante por CHC (hazard ratio [HR] 0,64, intervalo de confianza del 95% [IC]: 0,45 hasta 0,9, P <0,01; HR 0,53, IC del 95%: desde 0,31 hasta 0,92, P <0,05, respectivamente). Los otros fármacos estudiados, incluyendo los CNI, no demostraron un efecto significativo [159]. Del mismo modo, existen estudios multicéntricos prospectivos y meta-análisis que confirman los resultados para esta patología [160-161].

En nuestra serie, los pacientes trasplantados por HCC e inmunosuprimidos con mTORi tienen mejores tasas de supervivencia que el grupo tratado con CNI, sin que hayamos tenido casos de mortalidad y con un bajo índice de recurrencia. A destacar, que el caso de recurrencia se produjo en un paciente en el que se suspendió el mTORi para someterlo a una hepaticoyeyunostomía por estenosis biliar. Siguiendo la misma línea, destacamos la evidencia de que la supervivencia es superior en aquellos pacientes con recurrencia tumoral cuando son tratados con mTORi que cuando lo son con anticalcineurínicos.

Existen pruebas convincentes de que el sirolimus puede ser capaz de reducir la morbimortalidad por cáncer de piel, especialmente en los pacientes trasplantados. De este modo, podemos afirmar que la conversión a sirolimus tras la inmunosupresión inicial basada en CNI se realiza con criterios de seguridad a los 3 meses del trasplante, y debe ser considerada en todos los pacientes con antecedentes de cáncer de piel [162]. Nuestro estudio confirma estos datos, sin recurrencia en el grupo de los mTORi, frente al 18% en los pacientes del grupo de los CNI. En pacientes no trasplantados, la recurrencia por cáncer de piel es de entre 30-90%. Así parece razonable considerar la inmunosupresión

con sirolimus en aquellos pacientes trasplantados y que presenten historia previa o recidiva de cáncer de piel. Esto debe ser considerado ante la aparición del primer cáncer de piel ya que las tasas de recurrencia y metástasis en dichos tumores son especialmente altas.

La enfermedad linfoproliferativa postrasplante (ELPT) es una entidad de singular importancia con importante riesgo de desarrollo tras el trasplante hepático. En aquellos pacientes diagnosticados de ELPT, las opciones terapéuticas incluyen la reducción de la inmunosupresión, el tratamiento con rituximab, la radiación, la escisión quirúrgica, los anticuerpos monoclonales, el interferón-alfa, la quimioterapia y la inmunoterapia adoptiva. La incorporación del rituximab a los regímenes terapéuticos, ha proporcionado mejoras evidentes en el tratamiento de la ELPT, al tiempo que la inmunoterapia también podría tener un papel relevante [163-165]. El uso activo de agentes antivirales puede ser útil en la prevención de la ELPT junto con la reducción de la carga inmunosupresora. No se han descrito en la literatura los efectos de los mTORi en ELPT tras el trasplante hepático. Nuestros datos sugieren que éstos podrían desempeñar un papel relevante en el tratamiento de esta entidad ya que no se han producido recurrencias tumorales en los tres pacientes tratados, frente al 50% de recurrencias en el grupo control.

Se ha demostrado de manera evidente una activación en las mTOR de las células del cáncer gástrico. Los datos preclínicos sugieren que la supresión de la vía de las mTOR inhibe la proliferación de dichas células así como un retraso en la progresión tumoral, tanto en modelos in vitro como animales. En el ámbito clínico, el everolimus ha sido bien tolerado en estudios fase I / II en pacientes con cáncer gástrico metastásico refractarios a quimioterapia. Sobre la base de estos resultados, el everolimus está siendo probado tanto en monoterapia como en combinación con agentes quimioterápicos ya en ensayos clínicos en fase II / III [166]. Sin embargo no ha sido publicado ningún resultado sobre cáncer gástrico en receptores de trasplante hepático. Nuestros datos muestran que el tratamiento con mTORi sería útil en dichos pacientes ya que no se han observado recurrencias y la mortalidad a día de hoy es nula, al tiempo que no existen supervivientes en el grupo control, describiéndose una recurrencia del 50%.

Respecto al cáncer laringofaríngeo, la ausencia de activación de la vía de los mTOR parece ser un predictor significativo en la supervivencia libre de enfermedad tanto en modelos uni como multivariantes. La expresión de mTOR en el cáncer de laringe puede ser útil en la detección de pacientes con mayor riesgo de recurrencia, al tiempo que permite identificar aquellos pacientes con mayor riesgo de recidiva locorregional, y que en principio podrían beneficiarse de una terapia más agresiva [167]. De este modo, es obligatoria la investigación del papel de los mTORi en las terapias multimodales contra el cáncer laríngeo. Tampoco se han publicado estudios en pacientes trasplantados hepáticos, pero tenemos indicios de que los mTORi podrían suponer un buen tratamiento a fin de obtener supervivencias más prolongadas. Es más, frente a una mortalidad del 50% de los pacientes del grupo control, con una recidiva del 20%, no fue descrita ninguna recurrencia en nuestro grupo a estudio. En cuanto a los pacientes tratados de forma paliativa con mTORi por cáncer orofaríngeo incurable, la supervivencia fue significativamente mayor respecto al grupo control: 29 meses por 10 del grupo CNI, y de 9-12 meses en pacientes no trasplantados.

En cuanto al cáncer de mama, sólo en el caso del triple negativo (forma de cáncer, que se define por la ausencia de receptores de estrógenos (ER), receptores de progesterona (PR) y la sobreexpresión de HER2) se ha estudiado el uso de mTORi. La expresión de mTOR y p-mTOR fue medida mediante inmunohistoquímica en 89 TNBCs y 99 no TNBCs. Mientras que la expresión de mTOR se limita al citoplasma de las células tumorales, la tinción de p-mTOR se encuentra en el núcleo, en el área perinuclear y en el citoplasma. De potencial importancia se muestra el hallazgo de que la p-mTOR nuclear se encontró con mayor frecuencia en los cánceres triple negativo que en el resto ($p < 0,001$). Estos resultados sugieren que la mTOR puede desempeñar un papel importante en la progresión de esta forma de cáncer [167]. No hay series sobre el tratamiento con mTORi en receptores de trasplante hepático con cáncer de mama, sin que nuestros datos confirmen diferencias en cuanto a supervivencia y recurrencia entre distintos esquemas inmunosupresores. En cuanto a los pacientes paliativos, el tratamiento con mTORi prolongó la supervivencia hasta los 20 meses.

Se ha demostrado que la señalización entre los receptores de andrógenos y las mTOR puede ser crucial para las células del cáncer de próstata en cuanto a la tolerancia en la bajada de andrógenos y de las condiciones nutricionales producidas por la terapia de

privación de los mismos. El aumento compensatorio en la función de los receptores androgénicos secundario a una inhibición de las mTOR puede ser positivo en términos de supervivencia. La interrupción de este ciclo en el inicio de la terapia de deprivación androgénica podría retrasar o incluso prevenir la recurrencia del cáncer de próstata [168]. El temsirolimus (CCI-779), un análogo de la rapamicina recientemente sintetizado, inhibe específicamente las mTOR y ha sido aprobado para uso clínico en el carcinoma de células renales. Tampoco se han publicado series sobre el cáncer de próstata en receptores de trasplante hepático, pero nuestros resultados muestran una ausencia de recurrencia en el grupo con inmunosupresión basada en mTORi con una supervivencia del 100%, sin que esto ocurra en el grupo de los CNI.

Recientemente se ha descrito el efecto inhibitor del temsirolimus en el crecimiento del carcinoma de pulmón de células no escamosas. Se ha demostrado la reducción del tamaño tumoral en ratas [169]. Guba et al. (146-148) encontraron que, a diferencia de la ciclosporina, el sirolimus inhibió el crecimiento de metástasis pulmonares en modelo murino de cáncer de colon. Otros autores encontraron que el sirolimus igualmente inhibe el factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) in vivo e in vitro, lo que conduce a la disminución de la neovascularización de las metástasis de pulmón. Estos datos apoyan nuestros hallazgos en los pacientes trasplantados hepáticos afectados de cáncer de pulmón y que se convirtieron a mTORi, con un incremento en la supervivencia (12 meses) respecto a los tratados con CNI (5,4 meses) y a los no trasplantados (6-9 meses).

Los mTORi han sido probados en el colangiocarcinoma con buenos resultados. La rapamicina inhibe eficazmente, en estudios experimentales, el crecimiento de las líneas celulares de colangiocarcinoma, presentando un efecto sinérgico con la gemcitabina, ofreciendo de este modo una nueva estrategia terapéutica a la hora de inhibir el crecimiento de dicho tumor [171]. De especial relevancia fue el hecho de que un paciente afecto de recurrencia por colangiocarcinoma y metástasis mediastínica, tuviera una supervivencia de 36 meses tras ser tratado con mTORi, muy superior a los 5-8 meses que se recoge en los pacientes no trasplantados (y no tratados con mTORi) afectados por colangiocarcinoma no resecable.

Probablemente, el efecto antitumoral de los mTORi sea doble: por el efecto antiproliferativo que el mTORi posee per se, y por la supresión de un agente oncogénico como el anticalcineurínico. En nuestra serie, no se detectaron recurrencias tumorales con un seguimiento medio de 11,21 meses, tiempo que se adivina como insuficiente para evaluar la incidencia de la recurrencia tumoral a largo plazo. Sin embargo, en pacientes trasplantados por hepatocarcinoma, es difícil mejorar una tasa de recurrencia tan baja como la recogida en nuestra serie de 95 trasplantes hepáticos por dicha causa, la cuál alcanza el 12.5% con tasas de supervivencia cercanas al 80% a los 10 años.

La ausencia de aleatorización así como diferencias en el período de seguimiento y el hecho de que el tamaño muestral sea pequeño si diferenciamos cada tumor, excepto para el grupo de los HCC, supone una limitación a la hora de extrapolar las conclusiones de nuestro estudio. Sin embargo y de forma global, se detectan sorprendentes diferencias en cuanto a supervivencia y tasas de recurrencia tumoral del grupo tratado con mTORi respecto a los controles. La conversión de la terapia inmunosupresora de CNI a mTORi se presenta como segura, sin que aumente la incidencia de rechazo o se aprecie una toxicidad significativa, por lo que parece ser razonable intentar la conversión a terapia inmunosupresora basada mTORi en pacientes trasplantados hepáticos por tumor primario de hígado (HCC, colangiocarcinoma) o en aquellos en los que aparezcan neoplasias "de novo", sobre todo en la esfera laringofaríngea, síndromes linfoproliferativos y tumores cutáneos. No obstante, son necesarios estudios prospectivos adicionales con un mayor número de pacientes afectados de cáncer y en tratamiento de larga duración con mTORi a fin de confirmar estos hallazgos.

7. CONCLUSIONES

1. Toxicidad y eficacia frente al rechazo:

- a) Los mTORi parecen ser fármacos seguros como terapia inmunosupresora en los pacientes trasplantados hepáticos, con escasa toxicidad y efectos secundarios.
- b) Los mTORi son eficaces en la prevención del rechazo, presentando tasas similares a los CNI, y siempre reversible tras la optimización de los niveles plasmáticos.

2. mTORi y función renal:

- a) Los mTORi son eficaces en la preservación de la función renal de los pacientes trasplantados hepáticos, mejorando los niveles séricos de creatinina tras la conversión.
- b) En pacientes con nefropatía diabética o hipertensiva, aunque no mejora, la función renal se estabiliza tras la conversión de CNI a mTORi.
- c) La presencia de proteinuria no contraindica el uso de mTORi, estabilizándose la función renal tras su uso en estos pacientes.

3. mTORi , hepatocarcinoma y neoplasias de novo:

- a) El uso de mTORi en pacientes trasplantados por hepatocarcinoma parece reducir la tasa de recidiva y aumentar su supervivencia.
- b) El uso de mTORi en pacientes trasplantados hepáticos con neoplasias de novo, reduce la tasa de recidiva y aumenta la supervivencia de éstos, incluso en casos de tumores incurables.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Margarit, C. and I. Bilbao, *Evolución de la inmunosupresión en el trasplante hepático*. Cir Esp, 2002. 71(Supl 1): p. 34-40.
2. Calne, R.Y., et al., *Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors*. Lancet, 1978. 2(8104-5): p. 1323-7.
3. Sollinger, H.W., *Mycophenolate mofetil*. Kidney Int Suppl, 1995. 52: p. S14-7.
4. Cohn, R.G., et al., *Mycophenolic acid increases apoptosis, lysosomes and lipid droplets in human lymphoid and monocytic cell lines*. Transplantation, 1999. 68(3): p. 411-8.
5. Cramer, D.V., et al., *The effect of a new immunosuppressive drug, brequinar sodium, on concordant hamster-to-rat cardiac xenografts*. Transplant Proc, 1992. 24: p. 720-1.
6. Okubo, M., et al., *Effect of Bredinin on cellular and humoral immune responses and on canine kidney allograft survival*. Transplant Proc, 1980. 12(3): p. 515-9.
7. Iwasawa, H., et al., *Synthesis of (-)-15-deoxyspergualin and (-)-spergualin-15-phosphate*. J Antibiot (Tokyo), 1982. 35(12): p. 1665-9.
8. Bilbao, I., I. Pou, and M. C., *Tacrolimus en el trasplante hepático*, in *Tacrolimus*, M. Brunet, J.M. Campistol, and A. Rimola, Editors. 2000, Drug Farma: Madrid. p. 133-148.
9. Rafecas, A., et al., *Immunosuppression with calcineurin inhibitors and polyclonal antibodies in liver transplantation*. Transplant Proc, 2002. 34(1): p. 107.
10. O'Grady, J.G., et al., *Tacrolimus versus microemulsified ciclosporin in liver transplantation: the TMC randomised controlled trial*. Lancet, 2002. 360(9340): p. 1119-25.
11. Levy, G., et al., *Results of lis2t, a multicenter, randomized study comparing cyclosporine microemulsion with C2 monitoring and tacrolimus with C0 monitoring in de novo liver transplantation*. Transplantation, 2004. 77(11): p. 1632-8.
12. Tanaka, K., et al., *Comparison of cyclosporine microemulsion and tacrolimus in 39 recipients of living donor liver transplantation*. Liver Transpl, 2005. 11(11): p. 1395-402.
13. McAlister, V.C., et al., *Cyclosporin versus tacrolimus as primary immunosuppressant after liver transplantation: a meta-analysis*. Am J Transplant, 2006. 6(7): p. 1578-85.
14. Haddad, E.M., et al., *Cyclosporin versus tacrolimus for liver transplanted patients*. Cochrane Database Syst Rev, 2006(4): p. CD005161.
15. Lloveras, J., *Tacrolimus: historia de su descubrimiento y desarrollo*, in *Tacrolimus*, M. Brunet, J.M. Campistol, and A. Roimola, Editors. 2000, Drug Farma: Madrid. p. 9-19.
16. Cuervas-Mons, V., *Medicamentos inmunosupresores e infección*. In: , in *Infecciones en pacientes trasplantados*, J.M. Aguado, Editor. 2000, Harcourt: Madrid. p. 57-75.
17. Fisher, R.A., et al., *A prospective randomized trial of mycophenolate mofetil with neoral or tacrolimus after orthotopic liver transplantation*. Transplantation, 1998. 66(12): p. 1616-21.
18. Van Buren, D., et al., *Impact of Sandimmune, Neoral, and Prograf on rejection incidence and renal function in primary liver transplant recipients*. Transplant Proc, 1998. 30(5): p. 1830-2.
19. Klupp, J., et al., *Mycophenolate mofetil added to immunosuppression after liver transplantation--first results*. Transpl Int, 1997. 10(3): p. 223-8.
20. Mayer, A.D., et al., *Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group*. Transplantation, 1997. 64(3): p. 436-43.

21. Pirsch, J.D., et al., *A comparison of tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression after cadaveric renal transplantation. FK506 Kidney Transplant Study Group.* Transplantation, 1997. 63(7): p. 977-83.
22. Wiesner, R.H., *A long-term comparison of tacrolimus (FK506) versus cyclosporine in liver transplantation: a report of the United States FK506 Study Group.* Transplantation, 1998. 66(4): p. 493-9.
23. Martorell, J., *Aspectos Inmunológicos: rechazo e infección en el trasplante*, in *Infecciones en pacientes trasplantados.*, J.M. Aguado, Editor. 2000, Harcourt: Madrid. p. 41-53.
24. Levy, G.A., *C2 monitoring strategy for optimising cyclosporin immunosuppression from the Neoral formulation.* BioDrugs, 2001. 15(5): p. 279-90.
25. Levy, G.A., *New strategies to optimize clinical outcomes with cyclosporine in liver transplantation.* Gastroenterol Hepatol, 2002. 25(4): p. 289-93.
26. Levy, G., et al., *Patient management by Neoral C(2) monitoring: an international consensus statement.* Transplantation, 2002. 73(9 Suppl): p. S12-8.
27. Epinette, W.W., et al., *Mycophenolic acid for psoriasis. A review of pharmacology, long-term efficacy, and safety.* J Am Acad Dermatol, 1987. 17(6): p. 962-71.
28. Lynch, W.S. and H.H. Roenigk, Jr., *Mycophenolic acid for psoriasis.* Arch Dermatol, 1977. 113(9): p. 1203-8.
29. Giblett, E.R., et al., *Adenosine-deaminase deficiency in two patients with severely impaired cellular immunity.* Lancet, 1972. 2(7786): p. 1067-9.
30. Allison, A.C., et al., *Immunological observations on patients with Lesch-Nyhan syndrome, and on the role of de-novo purine synthesis in lymphocyte transformation.* Lancet, 1975. 2(7946): p. 1179-83.
31. Allison, A.C. and E.M. Eugui, *Mycophenolate mofetil and its mechanisms of action.* Immunopharmacology, 2000. 47(2-3): p. 85-118.
32. *Mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation. US Renal Transplant Mycophenolate Mofetil Study Group.* Am J Kidney Dis, 1999. 34(2): p. 296-303.
33. Browne, B.J., *The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Trial.* Transplantation, 1996. 62(11): p. 1697.
34. *Mycophenolate mofetil in renal transplantation: 3-year results from the placebo-controlled trial. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group.* Transplantation, 1999. 68(3): p. 391-6.
35. Schnitzler, M.A., K.E. Graig, and R.S. Woodward, *A contemporaneous comparison of MMF and AZA in the USRDS data base. Program and Abstracts of Transplant 2001: The joint American Transplant Meeting; May 11-16, 2001. Concurrent session 42: Pathology, Techiques, and results of transplant transplantation. Abstract 840.*
36. Ojo, A.O., et al., *Mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent of acute rejection.* Transplantation, 2000. 69(11): p. 2405-9.
37. Wieland, E., et al., *Induction of cytokine release by the acyl glucuronide of mycophenolic acid: a link to side effects?* Clin Biochem, 2000. 33(2): p.107-13.
38. Allison, A.C. and E.M. Eugui, *Immunosuppressive and other effects of mycophenolic acid and an ester prodrug, mycophenolate mofetil.* Immunol Rev, 1993. 136: p. 5-28.
39. Allison, A.C. and E.M. Eugui, *Inhibitors of de novo purine and pyrimidine synthesis as immunosuppressive drugs.* Transplant Proc, 1993. 25(3 Suppl 2): p. 8-18.

40. Carr, S.F., et al., *Characterization of human type I and type II IMP dehydrogenases*. J Biol Chem, 1993. 268(36): p. 27286-90.
41. Giovanelli, J., K.L. Campos, and S. Kaufman, *Tetrahydrobiopterin, a cofactor for rat cerebellar nitric oxide synthase, does not function as a reactant in the oxygenation of arginine*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1991. 88(16): p. 7091-5.
42. Yu, C.C., et al., *Mycophenolate mofetil reduces renal cortical inducible nitric oxide synthase mRNA expression and diminishes glomerulosclerosis in MRL/lpr mice*. J Lab Clin Med, 2001. 138(1): p. 69-77.
43. Jones, E.A. and D.A. Shoskes, *The effect of mycophenolate mofetil and polyphenolic bioflavonoids on renal ischemia reperfusion injury and repair*. J Urol, 2000. 163(3): p. 999-1004.
44. Fujihara, C.K., et al., *Mycophenolate Mofetil Reduces Renal Injury in the Chronic Nitric Oxide Synthase Inhibition Model*. Hypertension, 2001. 37(1): p. 170-175.
45. Qiu, Y., et al., *Mycophenolic acid-induced GTP depletion also affects ATP and pyrimidine synthesis in mitogen-stimulated primary human T-lymphocytes*. Transplantation, 2000. 69(5): p. 890-7.
46. Ekberg, H., et al., *Daclizumab prevents acute rejection and improves patient survival post transplantation: 1 year pooled analysis*. Transpl Int, 2000. 13(2): p. 151-9.
47. Figueras, J., et al., *Steroid-free regimen with daclizumab, mycophenolate mofetil, and tacrolimus in liver transplant recipients*. Transplant Proc, 2002. 34(5): p. 1511-3.
48. Ramirez, C.B. and I.R. Marino, *The role of basiliximab induction therapy in organ transplantation*. Expert Opin Biol Ther, 2007. 7(1): p. 137-48.
49. Sellers, M.T., et al., *Two-dose daclizumab induction therapy in 209 liver transplants: a single-center analysis*. Transplantation, 2004. 78(8): p.1212-7.
50. Liu, C.L., et al., *Interleukin-2 receptor antibody (basiliximab) for immunosuppressive induction therapy after liver transplantation: a protocol with early elimination of steroids and reduction of tacrolimus dosage*. Liver Transpl, 2004. 10(6): p. 728-33.
51. Eckhoff, D., et al., *The safety and efficacy of a two dose daclizumab (Zenapax) induction therapy in liver transplantation, in 18 th AST Annual Meeting, 1999; Abs. Book:101*. 1999.
52. *Rapamune (sirolimus). Summary of product Characteristics.*, FDA, Editor. 2000.
53. Dumont, F.J., et al., *The immunosuppressive macrolides FK-506 and rapamycin act as reciprocal antagonists in murine T cells*. J Immunol, 1990. 144(4): p. 1418-24.
54. Vu, M.D., et al., *Tacrolimus (FK506) and sirolimus (rapamycin) in combination are not antagonistic but produce extended graft survival in cardiac transplantation in the rat*. Transplantation, 1997. 64(12): p. 1853-6.
55. Bercedo, J., *Factores que afectan al rechazo agudo corticorresistente en el Trasplante hepático (tesis doctoral)*. 1993, Madrid: Universidad complutense de Madrid.
56. Kneteman, N.M., et al., *Sirolimus-based immunosuppression for liver transplantation in the presence of extended criteria for hepatocellular carcinoma*. Liver Transpl, 2004. 10(10): p. 1301-11.
57. Thomson, A.W., et al., *Effects of combined administration of FK 506 and the purine biosynthesis inhibitors mizoribine or mycophenolic acid on lymphocyte DNA synthesis and T cell activation molecule expression in human mixed lymphocyte cultures*. Transpl Immunol, 1993. 1(2): p. 146-50.
58. Forgacs, B., et al., *Successful conversion to rapamycin for calcineurin inhibitor-related neurotoxicity following liver transplantation*. Transplant Proc, 2005. 37(4): p. 1912-4.

59. MacDonald A, Scarola J, Burke JT, et al. *Clinical pharmacokinetics and therapeutic drug monitoring of sirolimus*. Clin Ther 2000; 22 (Suppl. B): B101-B121.
60. Zimmerman JJ, Kahan BD. *Pharmacokinetics of sirolimus in stable renal transplant patients after multiple oral dose administration*. J Clin Pharmacol 1997;37:405-15.
61. Zimmerman JJ, Ferron GM, Heng-Keang L, et al. *The effect of high fat meal on the oral bioavailability of the immunosuppressant sirolimus (Rapamycin)*. J Clin Pharmacol 1999;39:1155-61.
62. Lampen A, Zhang Y, Hackbarth I, et al. *Metabolism and transport of the macrolide immunosuppressant sirolimus in the small intestine*. J Pharmacol Exp Ther 1998;285:1104-12.
63. Sattler M, Guengerich FP, Yun C-H, et al. *Cytochrome P-450 3A enzymes are responsible for biotransformation of FK 506 and rapamycin in man and rat*. Drug Metab Dispos 1992;20:753-61.
64. Leung LY, Lim H-K, Hicks D, et al. *Sirolimus (rapamycin): Metabolite characterization in rat and human liver microsomal incubations and trough whole blood of renal transplant patients treated with sirolimus, cyclosporine and prednisone*. ISSX Proc 1996;10:366.
65. Leung LY, Zimmerman J, Lim HK. *Rapamycin (sirolimus): Biotransformation in healthy male subjects after a single oral dose of the 14C-radiolabeled drug (nominal 40 mg)*. Wyeth-Ayerst GTR-29528, 1997.
66. Rapamune Prescribing Information. Wyeth-Ayerst Pharmaceutical, 2000.
67. Browne, B.J., *The Tricontinental Mycophenolate Mofetil Trial*. Transplantation, 1996. 62(11): p. 1697.
68. *Mycophenolate mofetil in renal transplantation: 3-year results from the placebo-controlled trial*. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. Transplantation, 1999. 68(3): p. 391-6.
69. Kniepeiss, D., et al., *Dyslipidemia during sirolimus therapy in patients after liver transplantation*. Clin Transplant, 2004. 18(6): p. 642-6.
70. Trotter, J.F., et al., *Dyslipidemia during sirolimus therapy in liver transplant recipients occurs with concomitant cyclosporine but not tacrolimus*. Liver Transpl, 2001. 7(5): p. 401-8.
71. Moore, R., D. Hernandez, and H. Valantine, *Calcineurin inhibitors and post-transplant hyperlipidaemias*. Drug Saf, 2001. 24(10): p. 755-66.
72. Hong, J.C. and B.D. Kahan, *Sirolimus-induced thrombocytopenia and leukopenia in renal transplant recipients: risk factors, incidence, progression, and management*. Transplantation, 2000. 69(10): p. 2085-90.
73. Fortin, M.C., et al., *Increased risk of thrombotic microangiopathy in patients receiving a cyclosporin-sirolimus combination*. Am J Transplant, 2004. 4(6): p. 946-52.
74. Andoh TF, Burdmann EA, Fransechini N, Houghton DC, Bennett WM: *Comparison of acute rapamycin nephrotoxicity with cyclosporine and FK506*. Kidney Int 50 (4): 1110-1117, 1996.
75. Reitamo S, Spuls P, Sassolas B, Lahfa M, Claudy A, Griffiths CE: *Efficacy of sirolimus (rapamycin) administered concomitantly with a subtherapeutic dose of cyclosporin in the treatment of severe psoriasis: a randomized controlled trial*. Br J Dermatol 145 (3): 438-445, 2001.
76. Andoh TF, Lindsley J, Franceschini N, Bennett WM: *Synergistic effects of cyclosporine and rapamycin in a chronic nephrotoxicity model*. Transplantation 62 (3): 311-316, 1996.
77. Lloberas N, Alperovich G, Torras J, Herrero-Fresneda I, Riera M, Franquesa M y cols.: *The Association of Rapamycin Either with FK506 or Cyclosporine Produce a Different Functional and Structural Pattern of Nephrotoxicity*. En: *J Am Soc Nephrol*; 2003; American Society of Nephrology. Renal Week 2003. San Diego, November 12-17, 2003; 2003.

78. Trotter JF: *Sirolimus in liver transplantation*. *Transplant Proc* 35 (3 Supl.): S193-S200, 2003.
79. Trotter JF, Bak T, Pearson M, Wachs M, Kugelmas M, Kam I y cols.: Nephrotoxicity is more common with cyclosporine A than tacrolimus in liver transplant recipients receiving sirolimus as primary immunosuppression. En: *Liver Transpl*; 2002, p. C18.
80. Saeed MI, Kumar MSA, Heifets M, Sierka D, Xiao SG, Moritz MJ y cols.: *comparison of tacrolimus (tac) and sirolimus (slr) versus cyclosporine (csa) and slr in kidney transplant recipients maintained on steroid free immunosuppression*. En: *Am J Transplant*; 2004; American Transplant Congress, May 14-19, 2004, Boston, MA; 2004.
81. Méndez R, Gonwa T, Yang HC, Weinstein S, Jensik S, Steinberg S: A prospective, randomized trial of tacrolimus in combination with sirolimus or mycophenolate mofetil in kidney transplantation: results at 1 year. *Transplantation* 80 (3): 303-309, 2005.
82. Vitko S, Wlodarczyk Z, Kyllonen L, Czajkowski Z, Margreiter R, Backman L y cols.: Tacrolimus Combined with Two Different Dosages of Sirolimus in Kidney Transplantation: Results of a Multicenter Study. *American Journal of Transplantation* 6 (3): 531-538, 2006.
83. Meier-Kriesche HU, Schold JD, Srinivas TR, Howard RJ, Fujita S, Kaplan B: Sirolimus in combination with tacrolimus is associated with worse renal allograft survival compared to mycophenolate mofetil combined with tacrolimus. *Am J Transplant* 5 (9): 2273-2280, 2005.
84. Radovancevic B, Vrtovec B: Sirolimus therapy in cardiac transplantation. *Transplant Proc* 35 (3 Supl.): S171-S176, 2003.
85. Kreis H, Cisterne JM, Land W, Wramner L, Squifflet JP, Abramowicz D y cols.: Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 69 (7): 1252-1260, 2000.
86. Morales JM, Wramner L, Kreis H, Durand D, Campistol JM, Andres A y cols.: Sirolimus does not exhibit nephrotoxicity compared to cyclosporine in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2 (5): 436-442, 2002.
87. Bonegio RGB, Fuhro R, Wang Z, Valeri CR, Andry C, Salant DJ y cols.: Rapamycin Ameliorates Proteinuria-Associated Tubulointerstitial Inflammation and Fibrosis in Experimental Membranous Nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 16 (7): 2063- 2072, 2005.
88. Alperovich G, Lloberas N, Torras J, Rama I, Rama I, la Franquesa M y cols.: *Amelioration of lupus nephritis with rapamycin in a murine model*. En: 2005; XLII ERA-EDTA Congress, June 4-7, 2005, Istanbul (Turkey); 2005.
89. Piñera C, Ramos A, Buelta L, De Cos MA, Setién MA, Merino R y cols.: *Efecto de rapamicina en la prevención de la nefropatía lúpica del modelo de lupus murino nzb/wf1*. En: *Nefrología*; 2004; Congreso de la SEN, Tenerife, 2-6 Octubre de 2004; 2004.
90. Post DJ, Douglas DD, Mulligan DC. Immunosuppression in liver transplantation. *Liver Transpl* 2005; 11: 1307.
91. Gonwa TA, Mai ML, Melton LB et al. End-stage renal disease (ESRD) after orthotopic liver transplantation (OLT) using calcineurin-based immunotherapy: risk of development and treatment. *Transplantation* 2001; 72: 1934.
92. Pawarode A, Fine DM, Thuluvath PJ. Independent risk factors and natural history of renal dysfunction in liver transplant recipients. *Liver Transpl* 2003; 9: 741.
93. Sehgal SN. Rapamune (sirolimus, rapamycin): an overview and mechanism of action. *Ther Drug Monit* 1995; 17: 660.

94. Liu J, Farmer JD Jr., Lane WS, Friedman J, Weissman I, Schreiber SL. Calcineurin is a common target of cyclophilin-cyclosporin A and FKBP-FK506 complexes. *Cell* 1991; 66: 807.
95. Diekmann F, Waiser J, Fritsche L, Dragun D, Neumayer HH, Budde K. Conversion to rapamycin in renal allograft recipients with biopsy-proven calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *Transplant Proc* 2001; 33: 3234.
96. Johnson RW, Kreis H, Oberbauer R, Brattstrom C, Claesson K, Eris J. Sirolimus allows early cyclosporine withdrawal in renal transplantation resulting in improved renal function and lower blood pressure. *Transplantation* 2001; 72: 777.
97. Groth CG, Backman L, Morales JM et al. Sirolimus (rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. Sirolimus European Renal Transplant Study Group. *Transplantation* 1999; 67: 1036.
98. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Tscheliessnigg KH. Sirolimus in patients after liver transplantation. *Transplant Proc* 2003; 35: 815.
99. Neff GW, Montalbano M, Slapak-Green G et al. Sirolimus therapy in orthotopic liver transplant recipients with calcineurin inhibitor related chronic renal insufficiency. *Transplant Proc* 2003; 35: 3029.
100. Sanchez EQ, Martin AP, Ikegami T et al. Sirolimus conversion after liver transplantation: improvement in measured glomerular filtration rate after 2 years. *Transplant Proc* 2005; 37: 4416.
101. Campbell MS, Rai J, Kozin E. Effects of sirolimus vs. calcineurin inhibitors on renal dysfunction after orthotopic liver transplantation. *Clin Transplant* 2007; 21: 377–384
102. Neff GW, Montalbano M, Tzakis AG. Ten years of sirolimus therapy in orthotopic liver transplant recipients. *Transplant Proc* 2003; 35: 209S.
103. Jain AB, Yee LD, Nalesnik MA, et al. Comparative incidence of de novo nonlymphoid malignancies after liver transplantation under tacrolimus using surveillance epidemiologic end result data. *Transplantation* 1998; 66: 1193–200.
104. Haagsma EB, Hagens VE, Schaapveld M, van den Berg AP, de Vries EG, Klomp maker IJ, et al. Increased cancer risk after liver transplantation: a population-based study. *J Hepatol* 2001;34:84-91.
105. Sheiner PA, Magliocca JF, Bodian CA, Kim-Schluger L, Altaca G, Guarrera JV, et al. Long-term medical complications in patients surviving \geq 5 years after liver transplant. *Transplantation* 2000;69:781-789.
106. Oo YH, Gunson BK, Lancashire RJ, Cheng KK, Neuberger JM. Incidence of cancers following orthotopic liver transplantation in a single center: comparison with national cancer incidence rates for England and Wales. *Transplantation* 2005;80:759-764.
107. Åberg F, Pukkala E, Höckerstedt K, Sankila R, Isoniemi H. Risk of malignant neoplasms after liver transplantation: a population-based study. *Liver Transpl* 2008;14:1428- 1436.
108. Herrero JI, España A, Quiroga J, Sangro B, Pardo F, Álvarez-Cienfuegos J, Prieto J. Non-melanoma skin cancer after liver transplantation. Study of risk factors. *Liver Transpl* 2005;11:1100-1106.
109. Fung JJ, Jain A, Kwak EJ, Kusne S, Dvorchik I, Egtesad B. De novo malignancies after liver transplantation: a major cause of death. *Liver Transpl* 2001;7:S109–S118.
110. Herrero JI, Alegre F, Quiroga J, Pardo F, Iñarrairaegui M, Sangro B, et al. Usefulness of a program of neoplasia surveillance in liver transplantation. A preliminary report. *Clin Transplant* 2009;23:532-538.
111. Hoffmann CJ, Subramanian AK, Cameron AN, Engels EA. Incidence and risk factors for hepatocellular carcinoma after solid organ transplantation. *Transplantation* 2008; 86:784-790

112. Sun SY, Rosenberg LM, Wang X, *et al.* (August 2005). *Activation of Akt and eIF4E survival pathways by rapamycin-mediated mammalian target of rapamycin inhibition.* *Cancer Res.* 65 (16): pp. 7052–8. doi:10.1158/0008-5472.CAN-05-0917. PMID 16103051.
113. Chan S (2004). «Targeting the mammalian target of rapamycin (mTOR): a new approach to treating cancer». *Br J Cancer* 91 (8): pp. 1420–4. doi:10.1038/sj.bjc.6602162. PMID 15365568.
114. Wendel HG, De Stanchina E, Fridman JS, *et al.* (March 2004). *Survival signalling by Akt and eIF4E in oncogenesis and cancer therapy.* *Nature* 428 (6980): pp.332-7. doi:10.1038/nature02369. PMID 15029198. Resumen divulgativo – *ScienceDaily* (2004-03-18).
115. Novak, Kristine (May 2004). *Therapeutics: Means to an end.* *Nature Reviews Cancer* 4: pp. 332. doi:10.1038/nrc1349.
116. Mayo Clinic Researchers Formulate Treatment Combination Lethal To Pancreatic Cancer Cells.
117. *Current and Future Treatment Strategies for Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma: Role of mTOR Inhibition.* *Liver Cancer.* 2012 November;1(3-4):247-256.
118. Jain A, Reyes J, Kashyap R, *et al:* *What have we learned about primary liver transplantation under tacrolimus immunosuppression? Long term follow-up of the first 1.000 patients.* *Ann Surg* 230:441, 1999.
119. Roque J, Rios G, J Hepp, *et al:* *Sirolimus for rescue and recurrent acute rejection in liver transplant diabetes mellitus.* *Chile Rev Med* 133:1221, 2005.
120. Neff G, Montalbano M, Slapak-Green G, *et al:* *A retrospective review of sirolimus (Rapamune) therapy in orthotopic liver transplant recipients diagnosed with chronic rejection.* *Liver Transpl* 9:477, 2003.
121. Kniepeiss D, Ibero F, Crass B, *et al:* *Mycophenolate mofetil and sirolimus after liver transplantation.* *Transpl Int* 16:504, 2003.
122. Nocera A, Andorno E, Tagliamacco A: *Sirolimus therapy in liver transplant patients: an initial experience at a single center.* *Transplant Proc* 40:1950, 2008.
123. Kniepeiss D, Ibero F, Grasser B: *Mycophenolate mofetil and sirolimus after liver transplantation.* *Transpl Int* 16:504, 2003.
124. Masetti F, Rompianesi G, Montalti R: *Effects of monotherapy everolimus on hematological parameters and iron homeostasis in de novo liver transplant recipients: preliminary results.* *Transplant Proc* 40:1947, 2008.
125. Levy G, Schmidli H, Punch J: *Safety, tolerability, and efficacy of everolimus in de novo liver transplant recipients: 12- and 36-month results.* *Liver Transpl* 12:1571, 2006.
126. Alamo JM, Bernal C, Marín LM. Antitumor efficacy of mammalian target of rapamycin inhibitor therapy in liver transplant recipients with oncological disease: a case-control study. *Transplant Proc.* 2012 Sep;44(7):2089-92
127. Alamo JM, Barrera L, Casado MD. Efficacy, tolerance, and safety of mammalian target of rapamycin inhibitors as rescue immunosuppressants in liver transplantation. *Transplant Proc.* 2009 Jul-Aug;41(6):2181-3
128. Martínez JM, Pulido LB, Bellido CB Rescue immunosuppression with mammalian target of rapamycin inhibitor drugs in liver transplantation. *Transplant Proc.* 2010 Mar;42(2):641-3
129. Kushwaha SS, Khalpey Z, Frantz RP *et al.* Sirolimus in cardiac transplantation: use as a primary immunosuppressant in calcineurin inhibitor-induced nephrotoxicity. *J Heart Lung Transplant* 2005: 24: 2129.

130. Kniepeiss D, Iberer F, Grasser B, Schaffellner S, Tscheiliessnigg KH. Sirolimus in patients after liver transplantation. *Transplant Proc* 2003; 35: 815.
131. Neff GW, Montalbano M, Slapak-Green G et al. Sirolimus therapy in orthotopic liver transplant recipients with calcineurin inhibitor related chronic renal insufficiency. *Transplant Proc* 2003; 35: 3029.
132. Rossing P, et al. Need for better diabetes treatment for improved renal outcome. *Kidney Int.* 2011; 79:28–32.
133. Inoki K, et al. mTORC1 activation in podocytes is a critical step in the development of diabetic nephropathy in mice. *J Clin Invest.* 2011;121:2181–2196
134. Gödel M, et al. Role of mTOR in podocyte function and diabetic nephropathy in humans and mice. *J Clin Invest.* 2011;121:2197–2209.
135. Wadei HM et al. Proteinuria following sirolimus conversion is associated with deterioration of kidney function in liver transplant recipients. *Transplantation* 2012;93: 1006Y1012)
136. Diekmann F, Gutierrez-Dalmau A, Lopez S, et al. Influence of sirolimus on proteinuria in de novo kidney transplantation with expanded criteria donors: Comparison of two CNI-free protocols. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 2316.
137. Stephany BR, Augustine JJ, Krishnamurthi V, et al. Differences in proteinuria and graft function in de novo sirolimus-based vs. calcineurin inhibitor-based immunosuppression in live donor kidney transplantation. *Transplantation* 2006; 82: 368.
138. Aliabadi AZ, Pohanka E, Seebacher G, et al. Development of proteinuria after switch to sirolimus-based immunosuppression in longterm cardiac transplant patients. *Am J Transplant* 2008; 8: 854.
139. Morard I, Dumortier J, Spahr L, et al. Conversion to sirolimus-based immunosuppression in maintenance liver transplantation patients. *Liver Transpl* 2007; 13: 658.
140. Thomusch O, Tittelbach-Helmrich D, Seifert G, et al. Late-onset proteinuria after antithymocyte globulin induction and de novo sirolimus monotherapy in kidney transplant recipients. *Transplantation* 2011; 92: e62.
141. Stallone G, Infante B, Pontrelli P, et al. Sirolimus and proteinuria in renal transplant patients: Evidence for a dose-dependent effect on slit diaphragm-associated proteins. *Transplantation* 2011; 91: 997.
142. Izzedine H, Brocheriou I, Frances C. Post-transplantation proteinuria and sirolimus. *N Engl J Med* 2005; 353: 2088.
143. Sartelet H, Toupance O, Lorenzato M, et al. Sirolimus-induced thrombotic microangiopathy is associated with decreased expression of vascular endothelial growth factor in kidneys. *Am J Transplant* 2005; 5: 2441.
144. Bumbea V, Kamar N, Ribes D, et al. Long-term results in renal transplant patients with allograft dysfunction after switching from calcineurin inhibitors to sirolimus. *Nephrol Dial Transplant* 2005; 20: 2517.
145. Letavernier E, Bruneval P, Mandet C, et al. High sirolimus levels may induce focal segmental glomerulosclerosis de novo. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 326.
146. Guba M, von Breitenbuch P, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumor growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nat Med* 2002;8:128-135.
147. Guba M, Graeb C, Jauch KW, Geissler EK. Pro- and anti-cancer effects of immunosuppressive agents used in organ transplantation. *Transplantation* 2004; 77: 1777-1782.

148. Guba M, Yezhelyev M, Eichhorn ME, Schmid G, Ischenko I, Papyan A, et al. Rapamycin induces tumor-specific thrombosis via tissue factor in the presence of VEGF. *Blood* 2005;105:4463-4469.
149. Schumacher G, Oidtmann M, Rueggeberg A, Jacob D, Jonas S, Langrehr JM, et al. SRLolimus inhibits growth of human hepatoma cells alone or combined with tacrolimus, while tacrolimus promotes cell growth. *World J Gastroenterol* 2005;11:1420-1425.
150. Piguët AC, Semela D, Keogh A, Wilkens L, Stroka D, Stoupis C, et al. Inhibition of mTOR in combination with doxorubicin in an experimental model of hepatocellular carcinoma. *J Hepatol* 2008;49:78-87.
151. Wang Z, Zhou J, Fan J, Qiu SJ, Yu Y, Huang XW, et al. Effect of rapamycin alone and in combination with sorafenib in an orthotopic model of human hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:5124-5130.
152. Schumacher G, Oidtmann M, Rueggeberg A, Jacob D, Jonas S, Langrehr J, et al. SRLolimus inhibits growth of human hepatoma cells alone or combined with tacrolimus, while tacrolimus promotes cell growth. *World J Gastroenterol* 2005;11:1420-1425.
153. Toso C, Meeberg GA, Bigam DL, Oberholzer J, Shapiro AM, Gutfreund K, et al. De novo SRLolimus-based immunosuppression after liver transplantation for hepatocellular carcinoma: long-term outcomes and side effects. *Transplantation* 2007;83:1162-1168.
154. Zimmerman MA, Trotter JF, Wachs M, Bak T, Campsen J, Skibba A, et al. SRLolimus-based immunosuppression following liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2008;14:633-638.
155. Zhou J, Wang Z, Wu ZQ, Qiu SJ, Yu Y, Huang XW, et al. SRLolimus based immunosuppression therapy in liver transplantation for patients with hepatocellular carcinoma exceeding the Milan criteria. *Transplant Proc* 2008;40:3548-3553.
156. Huang S, Houghton PJ. Mechanisms of resistance to rapamycins. *Drug Resist Updat* 2001; 4: 378-391
157. Campistol JM, Gutierrez-Dalmau A, Torregrosa JV. Conversion to SRLolimus: a successful treatment for posttransplantation Kaposi's sarcoma. *Transplantation* 2004; 77: 760-762
158. Kneteman NM, Oberholzer J, Al Saghier M, Meeberg GA, Blitz M, Ma MM, Wong WW, Gutfreund K, Mason AL, Jewell LD, Shapiro AM, Bain VG, Bigam DL. Sirolimus-based immunosuppression for liver transplantation in the presence of extended criteria for hepatocellular carcinoma. *Liver Transpl* 2004; 10: 1301-1311
159. Toso C, Merani S, Bigam D, Shapiro AM, Kneteman N. SRLolimus-Based Immunosuppression Is Associated with Increased Survival After Liver Transplantation for Hepatocellular Carcinoma. *Hepatology*, 2010, Vol. 51, No. 4: 1237-43
160. Schnitzbauer AA, Zuelke C, Graeb C, Rochon J, Bilbao I. A prospective randomised, open-labeled, trial comparing sirolimus-containing versus mTOR-inhibitor-free immunosuppression in patients undergoing liver transplantation for hepatocellular carcinoma. *BMC Cancer*. 2010 May 11;10:190.
161. Liang W, Wang D, Ling X, Cao AA, Kong Y, Shang Y, Guo Z, He X. Sirolimus-based immunosuppression in liver transplantation for hepatocellular carcinoma: A Meta-analysis. *Liver Transpl*. 2011 Sep 30. doi: 10.1002/lt.22441. [Epub ahead of print]
162. Leblanc KG Jr, Hughes MP, Sheehan DJ. The role of sirolimus in the prevention of cutaneous squamous cell carcinoma in organ transplant recipients. *Dermatol Surg*. 2011 Jun;37(6):744-9
163. Kamdar KY, Rooney CM, Heslop HE. Posttransplant lymphoproliferative disease following liver transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2011 Jun;16(3):274-80.

164. Leblond V, Choquet S. Lymphoproliferative disorders after liver transplantation. *J Hepatol.* 2004 May;40(5):728-35.
165. Everly MJ, Bloom RD, Tsai DE, Trofe J. Posttransplant lymphoproliferative disorder. *Ann Pharmacother.* 2007 Nov; 41(11):1850-8.
166. Al-Batran SE, Ducreux M, Ohtsu A. mTOR as a therapeutic target in patients with gastric cancer. *Int J Cancer.* 2011 (26): 10.1002/ijc.26396.
167. Marioni G, Staffieri A, Giacomelli L, Lionello M. Mammalian target of rapamycin expression and laryngeal squamous cell carcinoma prognosis: novel preliminary evidence. *Histopathology* 2011 Jun;58(7):1148-56
168. Walsh S, Flanagan L, Quinn C, Evoy D, McDermott EW, Pierce A, Duffy MJ. mTOR in breast cancer: Differential expression in triple-negative and non-triple-negative tumors. *Breast*, 2011 Sep 28. [Epub ahead of print]
169. Wu Y, Chhipa RR, Cheng J, Zhang H, Mohler JL, Ip C. Androgen receptor-mTOR crosstalk is regulated by testosterone availability: implication for prostate cancer cell survival. *Anticancer Res.* 2010 Oct;30(10):3895-901.
170. Ohara T, Takaoka M, Toyooka S. Inhibition of mTOR by temsirolimus contributes to prolonged survival of mice with pleural dissemination of non-small-cell lung cancer cells. *Cancer Science.* 2011 Jul; 102(7):1344-9
171. Okada T, Sawada T, Kubota K. Rapamycin inhibits growth of cholangiocarcinoma cells. *Hepatology.* 2009 Jan-Feb;56(89):6-10.