

Nuevos inmunosupresores en trasplante renal

F. Valdés.

Servicio Nefrología. Hospital Juan Canalejo, La Cotuña, España.

INTRODUCCION

Hasta fechas bien recientes, el manejo de la inmunosupresión en el trasplante se ha sustentado sobre un arsenal terapéutico relativamente escaso consistente en corticoides, azatioprina, ciclosporina y diversos anticuerpos policlonales y monoclonales.

La introducción de ciclosporina A (CsA) en los años 80 supuso un aporte cualitativo en el tratamiento del paciente trasplantado. Su uso incrementó la supervivencia de los injertos entre un 10-20% respecto a la obtenida con la medicación convencional previa, permitió una mayor amplitud de los criterios de inclusión de donantes y receptores en los diferentes programas y facilitó la generalización de todo tipo de trasplantes. La ciclosporina inauguró además una nueva era de supresión selectiva de la respuesta inmune centrada en la inhibición funcional linfocitaria, preservando en mayor medida que la inmunosupresión convencional la función de polimorfonucleares, macrófagos y células killer naturales, que constituyen las bases más primarias de la respuesta inmune antimicrobiana. A pesar de sus logros, la CsA no resolvió el problema de las pérdidas de injerto que se producen de manera constante a partir del primer año postrasplante. Además, generó otros nuevos derivados de su toxicidad, en particular nefrotoxicidad, y de la variabilidad en la absorción, biodisponibilidad y consecución de niveles sanguíneos adecuados con su formulación oral original (Sandimún).

En los últimos años, fruto de los esfuerzos de la investigación farmacéutica y básica, se han conseguido nuevos agentes inmunosupresores biológicos y farmacológicos en diferentes grados de desarrollo y aplicación clínica. Algunos están involucrados en protocolos experimentales y otros en distintos niveles de estudio desde la fase I a la fase III en diferentes protocolos clínicos. Otros tienen ya un uso clínico sin restricciones.

En las líneas que siguen se tratará de analizar algunas de las peculiaridades de los mecanismos de

acción de estos nuevos agentes y de señalar la evidencia que sobre su utilidad clínica se puede obtener de algunos estudios diseñados a tal efecto.

BASES CELULARES Y MOLECULARES DEL RECHAZO AGUDO

Presentación y reconocimiento de antígenos

El rechazo agudo se pone en marcha tras sobreexpresión de moléculas de adhesión en las células endoteliales del injerto que interactúan con ligandos presentes en los linfocitos T del receptor^{1, 2}, facilitando su tránsito al interior del injerto, donde se encuentran con células presentadoras de antígeno del donante o del propio receptor³.

Las células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas, linfocitos B...) expresan en su superficie péptidos de origen endógeno o exógeno siempre ligados a moléculas de histocompatibilidad (MHC) de clase I o de clase II, respectivamente^{4, 5}. El mecanismo de presentación y reconocimiento se denomina directo cuando la célula presentadora procede del donante e indirecto cuando procede del receptor^{4, 6}. Observaciones recientes sugieren un importante papel para el mecanismo indirecto en la patogenia del rechazo agudo y crónico⁶⁻⁹.

El complejo péptido-MHC es reconocido y fijado por el linfocito T del receptor por medio de un complejo formado por un receptor específico (TCR) asociado a la molécula CD3¹⁰. Este anclaje intercelular se completa y estabiliza con otros correceptores del linfocito T: CD4 si la molécula MHC expresada en la célula presentadora de antígeno es de clase II y CD8 si lo es de tipo I. Por tanto, la naturaleza de la molécula MHC asociada al péptido determina el fenotipo de los linfocitos involucrados en el reconocimiento. Los linfocitos T que expresan CD4 son facilitadores/inductores, y los que expresan CD8, citotóxicos/supresores¹¹⁻¹³. En el rechazo, los linfocitos sujetos del reconocimiento son CD4⁺ al asociarse el péptido antigénico a moléculas MHC de clase II^{4, 5, 13}.

Coestimulación celular

El reconocimiento del complejo péptido-MHC expresado por las células presentadoras de antígeno es una condición necesaria pero insuficiente para inducir la activación del linfocito T. Se precisa de una «segunda señal» coestimuladora independiente de antígeno que se produce a consecuencia de la unión entre CD28,CD2/CTLA4 y LFA-1 por parte del linfocito T con B7, LFA-3 e ICAM-1 por parte de la célula presentadora de antígeno¹⁴⁻¹⁶. En ausencia de esta segunda señal no sólo no se produce activación del linfocito T, sino que, por el contrario, se puede generar una expansión clonal anérgica antígeno-dependiente^{17, 18}. Como se verá más adelante, el bloqueo de esta segunda señal abre una vía interesante para producir tolerancia operativa a los injertos¹⁹⁻²¹.

Señales de transducción y transcripción celulares

Como consecuencia de los anclajes moleculares implicados en el proceso de reconocimiento de antígenos se producen cambios conformacionales en cada estructura molecular y en sus dominios intracelulares. Los cambios intracelulares de los complejos TCR-CD3, CD4 y demás moléculas accesorias del linfocito T inducen la activación en cadena de diferentes proteínas citoplasmáticas con el resultado de activar en el citoplasma, o generar en el núcleo, factores de transcripción capaces de ligarse al ADN e inducir la síntesis de diversas moléculas efectoras responsables de la activación y proliferación, amplificada y redundante, de linfocitos T y B, cuyas funciones interconectadas conducen a lesión y eventualmente a la destrucción del injerto²²⁻²⁴.

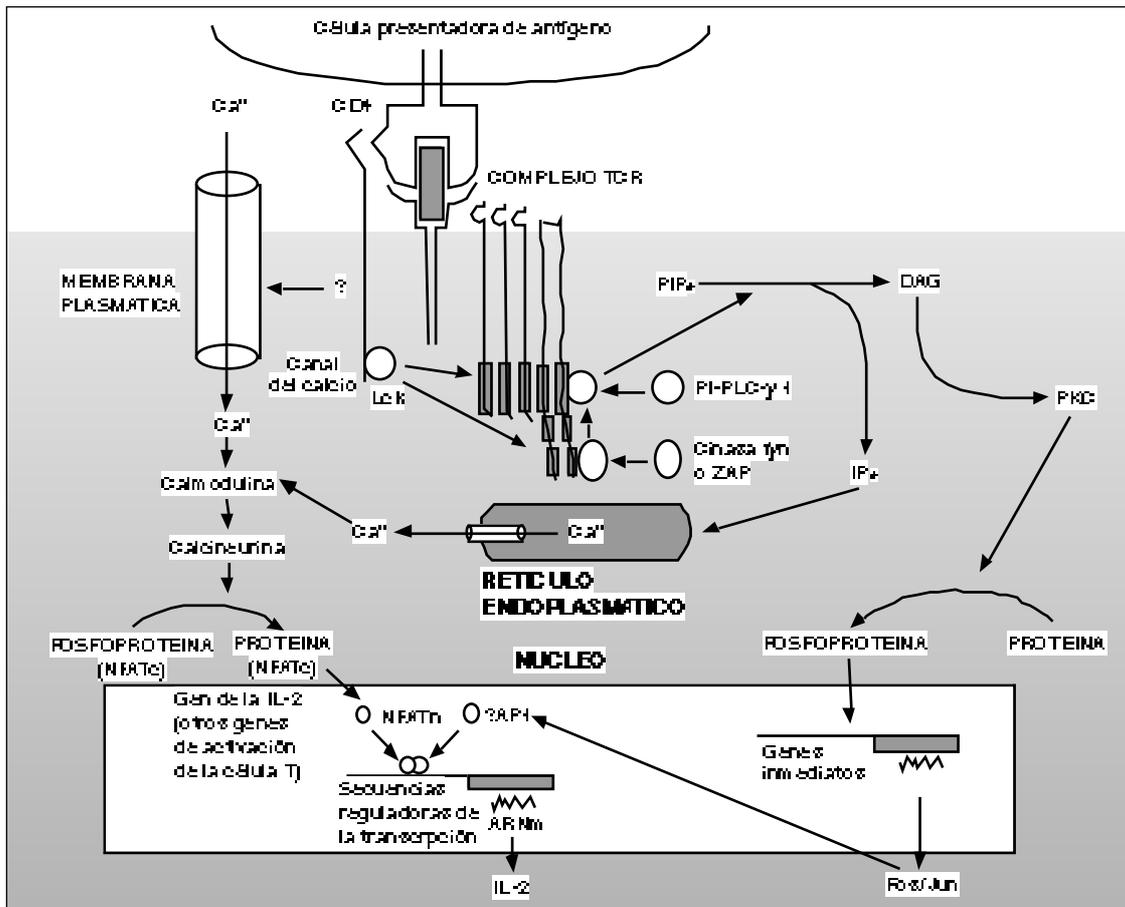


Fig. 1.—Vías de señalización intra celular para la activación de células T (Abbas¹³).

Conviene profundizar algo más en los mecanismos de activación del linfocito T y en su respuesta efectora, puesto que constituyen los principales objetivos de buena parte de los nuevos inmunosupresores.

Se conocen dos vías de generación de factores de transcripción (fig. 1):

a) La más conocida se basa en la activación de diversas tirosin cinasas (ZAP, P59 fyn y P56 lck) que fosforilizan diferentes proteínas, incluyendo Fosfolipasa C, la cual a su vez hidroliza al fosfatidilinositol 4-5 bifosfato de la membrana para generar 2 potentes mensajeros: inositol 1,4,5 trifosfato (IP3) y 1-2 diacilglicerol (DAG). El primero de ellos moviliza calcio de los depósitos intracelulares y el segundo en presencia de un incremento en la concentración de Ca²⁺, se liga y activa la proteincinasa C^{25, 26}. Finalmente, como consecuencia del incremento de Ca²⁺ procedente de los depósitos intracelulares y del exterior, se activa la calcineurina, que es una fosfatasa dependiente de calmodulina²⁷. El complejo calcineurina-calmodulina desfosforiliza a los denominados factores nucleares de linfocitos T activados: NFAT p (preexistente) y NFAT c (citoplásmico), permitiendo su entrada al núcleo, en el cual, con la ayuda de *c-fos* y *c-jun* se fijan al promotor del gen para la interleuquina 2 (IL-2) y su receptor (IL-2R), iniciando su transcripción^{22-24, 28}.

b) La segunda vía es menos conocida. Involucra a las proteínas Shc, Grb2 y mSos y provoca la activación de la proteína Ras, la cual estimula la producción de un factor nuclear (NF-AT n) que, como en el caso de los NF-AT p y NFAT c ya mencionados, se fija de igual manera al promotor, favoreciendo la transcripción por el gen correspondiente de IL-2 y su receptor²⁹.

Diferenciación y proliferación celular

Los linfocitos T activados tras la unión de IL-2 y su receptor influyen sobre otras células; «ayudan» y coestimulan a otros linfocitos T CD4⁺ y CD8⁺, induciendo en éstos la expresión de serin esterases y por tanto, favoreciendo su actividad citopática. También favorecen la actividad de linfocitos B y de las células presentadoras de antígeno. La síntesis de IL-4, IL-5 e IL-10 favorece la producción de anticuerpos específicos por los linfocitos B, y el interferón (INF-1) la expresión celular de moléculas MHC de clase I^{30, 31}.

Los mecanismos de actuación de IL-2 no son bien conocidos. En cualquier caso los cambios que su unión produce en los dominios intracelulares de su receptor (cadenas β y γ) estimulan la acción de otras proteincinasas (Raf-1...) y la expresión de proteínas capaces de ligarse al DNA como bcl-2, c-

fos, c-jun y c-myc, que contribuyen al progreso del ciclo celular³².

Tras una estimulación prolongada, los linfocitos T pueden asumir dos patrones diferentes de secreción de citoquinas: TH1 o TH2. En el primero existe una preponderancia de citoquinas inmunoestimuladoras (IL-2 e INF), mientras que en el segundo predominan las de tipo inmunosupresor-tolerante (IL-1, IL-5, IL-8 e IL-10)^{13, 33}.

La activación de células B tiene lugar en los linfáticos, en el bazo, y desde luego, en el injerto. Los linfocitos B, mediante sus receptores Ig de superficie, se enlazan con la región polimórfica del complejo péptido-MHC solubilizado del donante promoviendo su endocitosis. Posteriormente, la célula B presenta el péptido desnaturalizado unido a moléculas MHC de clase II del receptor a la célula T CD4⁺³⁴. La interacción de ambas células promueve la secreción de citoquinas por la célula T que afectan a las células B, induciendo su expansión y diferenciación clonal específica para el antígeno inmunizante^{35, 36}.

BASES RACIONALES DE LA INMUNOSUPRESION Y TOLERANCIA OPERATIVA

Con todo lo anterior se comprende que los los diferentes agentes usados para inducir tolerancia o inmunosupresión eficaz actúen sobre la membrana, citoplasma, o núcleo celular con el fin de impedir la interacción del linfocito con el endotelio, evitar el reconocimiento del complejo péptido-MHC, inhibir la primera señal o bloquear la coestimulación, actuar sobre las señales de transducción y transcripción genéticas o bloquear los receptores de las moléculas efectoras y sus efectos finales. En una palabra, impidiendo la progresión del ciclo celular de los clones de linfocitos involucrados en la reacción de rechazo. (Tabla I)

Tabla I. Topología y mecanismos de acción de nuevos inmunosupresores.

Reconocimiento Transducción Transcripción	Metabolismo nucleótidos	Efectos inciertos
Anticuerpos anti-ICAM-1	Micofenolato mofetil	Gusperimus
Anticuerpos anti-CD45	Mizoribina	
Péptidos sintéticos MHC	Brequinar	
CTLA4Ig	Leflunomide	
Anticuerpos anti-TCR/CD3		
Ciclosporina		
Tacrolimus		
Sirolimus		
Anticuerpos anti-IL-2R		

AGENTES BIOLÓGICOS

Anticuerpos anti-CD45

Se dirigen frente a células dendríticas y leucocitos pasajeros del injerto³⁷. En la actualidad hay diversos estudios en marcha para evaluar su eficacia cuando se administran en perfusión directa del injerto, ya que algunos resultados preliminares sugieren que disminuyen la incidencia de rechazo agudo³⁸⁻⁴⁰.

Anticuerpos anti-CD54

La molécula CD54 o ICAM-1 está involucrada, través de su unión con LFA-1, en la adhesión intercelular y en la señalización para la activación de linfocitos T. Se ha hecho un ensayo en humanos con un anticuerpo monoclonal anti-CD54 (B1RR1). El estudio se realizó con 18 receptores de trasplante renal con riesgo elevado de retraso en la función inicial del injerto por isquemia prolongada e hipersensibilización y con objeto de limitar el daño isquémico bloqueando la unión de leucocitos al endotelio del injerto. Los resultados se compararon con los obtenidos en los receptores no tratados del riñón contralateral. La incidencia de rechazo agudo y de retraso en la función inicial del injerto fueron menores en el grupo tratado. Entre los receptores tratados no hubo casos de fallo primario del injerto y la supervivencia tras un seguimiento entre 16 y 30 meses fue del 78%. Por el contrario, entre los receptores del injerto contralateral hubo tres casos de fallo renal primario y la supervivencia del injerto fue del 56%. Son necesarios nuevos estudios para valorar la utilidad clínica de este agente y su papel en el control de la inflamación, del rechazo o de ambos en los posibles beneficios derivados de su uso⁴¹.

Péptidos-MHC

Existe evidencia de la utilidad de la administración de péptidos sintéticos relacionados con el complejo MHC en la regulación de la respuesta inmune en modelos experimentales⁴². Se ha demostrado ausencia de respuesta antígeno específica tras la administración de péptidos polimórficos y supresión de la respuesta inmune con péptidos no polimórficos en animales trasplantados^{43, 44}. Se han completado estudios con humanos en fase I y se han comenzado estudios en fase II con péptidos derivados de MHC no polimórficos de clase I⁴⁵.

Anticuerpos anti-CD3/TCR

El anticuerpo monoclonal OKT3 es uno de los agentes más utilizados en trasplante en protocolos de inducción o en el tratamiento del rechazo agudo y su utilidad clínica está claramente establecida⁴⁶. Se fija a una de las subunidades (20 Kd) del complejo CD3 inactivándolo y promoviendo su endocitosis. Las células T desprovistas de este receptor pierden su capacidad de respuesta frente a antígenos y son rápidamente opsonizadas y eliminadas por vía del sistema reticuloendotelial⁴⁶. El proceso desencadenado por el anticuerpo promueve una liberación masiva de citoquinas por parte de las células CD3⁺ que explica el denominado síndrome de la «primera dosis», que puede ser grave en algunos casos⁴⁷. Al ser un anticuerpo de ratón induce la producción de anticuerpos humanos anti-ratón (AHAR), que disminuyen su eficacia después de un primer ciclo de tratamiento^{48, 49}. Se han construido anticuerpos humanizados a expensas de la región constante y no hipervariable de la molécula (gOKT3) o mediante el cambio de un aminoácido en la región Fc (Glu 235)⁵⁰. Ambos anticuerpos retienen la capacidad terapéutica del OKT3 murino, pero al ser menos inmunogénicos inducen una menor respuesta de anticuerpos y una menor incidencia de síndrome de primera dosis por liberación de linfoquinas⁵⁰.

Se ha usado un agente (BMA 031) dirigido directamente al receptor TCR. Se estudió su efecto en 36 receptores randomizados de trasplante renal y se comparó su eficacia con un grupo placebo en estudios en fases II y III. Los efectos secundarios fueron de escasa consideración, pero la incidencia de rechazo agudo durante el primer mes no varió en el grupo tratado respecto al control. La supervivencia del injerto a los 30 meses fue inferior en el grupo tratado (68% vs 87%)⁵¹.

Anticuerpos anti CD4

Existen diversos anticuerpos murinos y humanizados capaces de reconocer diferentes porciones de la molécula CD4 que han demostrado experimentalmente sus efectos inmunomoduladores⁵². Un estudio piloto de fase I llevado a cabo en 30 receptores de trasplante renal tratados en fase de inducción durante 12 días con un anticuerpo anti-CD4 (OKT4A) e inmunosupresión triple de mantenimiento no mostró efectos secundarios notables ni registró ninguna pérdida de injerto. La tasa de rechazo agudo clínico y confirmado con biopsia fue 37 y 26%, respectivamente a los 3 meses⁵². Se precisan más estudios para establecer la utilidad clínica de estos anticuerpos.

CTLA4-Ig

La unión entre B7 de la célula presentadora de antígeno con CD28 y CTLA4 de los linfocitos activados constituye, como ha sido mencionado anteriormente, una de las más importantes señales coestimuladoras conocidas hasta ahora. El uso de una proteína soluble construida con el dominio extracelular de CTLA4 e inmunoglobulina humana (CTLA4-Ig) produjo tolerancia en un modelo de trasplante de islotes pancreáticos y prolongó la supervivencia en otros modelos de trasplante^{53,54}. En la actualidad están en marcha estudios en humanos con esta molécula, cuyo mecanismo de acción y perspectivas se revelan muy prometedores¹⁹⁻²¹.

Anticuerpos anti-IL-2R

El receptor para la interleuquina 2 se compone de dos subunidades: una cadena β de 75 Kd (P75) y una cadena α de 55 Kd (P55, CD 55 o antígeno Tac)⁵⁵. La cadena β se expresa constitucionalmente, pero tiene poca afinidad por la IL-2. La cadena α por el contrario, tiene una mayor afinidad y se expresa en mayor medida por los linfocitos T activados. Se han empleado en clínica dos anticuerpos monoclonales anti-Tac: uno humanizado y otro quimérico. La compañía Roche dispone de uno humanizado excepto en las regiones complementarias determinantes (RCDs), y Sandoz de otro humanizado en la región constante. Ambos grupos promueven estudios en fase III en la actualidad. Los resultados preliminares muestran que estos anticuerpos tienen una vida media prolongada (18 días el humano y 13 el quimérico), baja inmunogenicidad y buena tolerancia^{56, 57}.

DROGAS FIJADORAS DE INMUNOFILINAS

La ciclosporina, el tacrolimus y sirolimus comparten la propiedad de unirse y formar complejos con proteínas citoplasmáticas (inmunofilinas), con lo que consiguen modificar profundamente la actividad celular. Ciclosporina y tacrolimus bloquean la progresión del ciclo celular de la fase G0 a G1 y sirolimus de G1 a S^{58, 59}. Los complejos formados por ciclosporina y tacrolimus con su inmunofilina correspondiente (ciclofilina y FKBP, respectivamente)⁶⁰⁻⁶² inhiben la acción fosfatasa de la calcineurina, impidiendo la activación de los factores de transcripción (NF-AT) y, por tanto, la transcripción de IL-2 por el linfocito T. El sirolimus, a pesar de su similitud con tacrolimus, con el que comparte su capacidad para fi-

jarse a FKBP, tiene un mecanismo inmunosupresor diferente⁵⁸. El complejo formado por sirolimus y FKBP actúa sobre un grupo de proteínas denominadas TOR (target of rapamycin) en la levadura⁶³, y RAFTs (Target for rapamycin and FK) en mamíferos⁶⁴⁻⁶⁶. Estas proteínas pertenecen a la familia de las fosfatidil-inositol-cinasas, capaces de producir un segundo mensajero fosfolipídico en respuesta a IL-2 y favorecer la progresión celular de G1 a S⁶⁷⁻⁷⁰. El sirolimus bloquea la respuesta a IL-2 inhibiendo la actividad de algunas de estas fosfatidil-inositol-cinasas. También podría actuar inhibiendo la señal de coestimulación mediada por CD28 y la acción del receptor de IL-2 sobre c-myc y bcl-2 necesarios para la transcripción de ciclina A⁷¹.

Ciclosporinas

A diferencia de sus predecesores, la ciclosporina produce una inhibición selectiva de la respuesta inmune. Una inmunosupresión segura y eficaz precisa de una absorción oral fiable, y la preparación convencional de CsA tiene una absorción biliar-dependiente y relativamente impredecible. De hecho, en el periodo inicial del trasplante una pobre absorción puede llevar a un incremento en la incidencia de rechazo agudo⁷². Recientemente, Sandoz ha desarrollado una nueva formulación en forma de microemulsión (neoral) cuya absorción es independiente de la vía biliar y, por tanto, más predecible, como reflejan las curvas dosis-respuesta⁷³⁻⁷⁵. Con esta nueva formulación se pretende la obtención de niveles sanguíneos más adecuados y fiables y, por tanto, disminuir la incidencia de rechazo agudo. La conversión de los pacientes de la forma convencional a la microemulsión precisa entre un 10-15% menos dosis en mg/kg para conseguir niveles sanguíneos similares⁷⁶. Recientemente se han dado a conocer los resultados de un estudio multicéntrico británico con 293 pacientes procedentes de 17 centros. El estudio fue abierto, los pacientes se randomizaron en cada centro en proporción 2:1 para neoral y sandimún respectivamente y la duración del estudio se estableció en 12 meses. La supervivencia de pacientes e injertos fue similar en los dos grupos de tratamiento, pero hubo una significativa reducción en la incidencia de rechazo agudo y de rechazos múltiples en el grupo tratado con neoral (tabla II). Por otra parte, la frecuencia y severidad de los episodios de toxicidad fueron similares, y no se encontraron tampoco diferencias en la incidencia o severidad de episodios de infección o de sobreinmunosupresión⁷⁷.

Con objeto de disminuir su toxicidad se han testado más de 1.000 variantes de ciclosporina. La ci-

ciclosporina G ha completado estudios en fase III. Aunque presenta una menor nefrotoxicidad que CsA, sin embargo es más hepatotóxica y su desarrollo parece incierto⁷⁸.

Tabla II. Resultados del estudio británico multicéntrico con neoral vs sandimún^{77*}.

Resultados	Neoral		Sandimún		p
	%	n	%	n	
Supervivencia de pacientes	96,4	187	96	95	NS
Supervivencia de injertos	88,3	173	88,9	88	NS
Incidencia de rechazo agudo	35,9	70	52	51	< 0,01
Incidencia de rechazos múltiples	9,7	19	18,4	8	< 0,05
Incidencia de rechazo corticorresistente	10,2	20	12,2	12	

*P. Lodge. Comunicación personal.

Tacrolimus (Prograf)

Es un macrólido derivado de *Streptomyces tsuka-baensis*, y aunque difiere en su estructura tiene mecanismos de acción similares a la CsA. Como ella, se une a un receptor citoplasmático (FKBP o proteína ligadora de FK), con el que forma un complejo que inactiva a la calcineurina^{58, 62}. Tiene dos formulaciones: IV y oral. Se absorbe en el intestino delgado, y al contrario que la CsA, es independiente de las sales biliares. Por su eficacia y constancia en la absorción rara vez es preciso el uso de la vía IV, pudiendo administrarse por sonda nasogástrica en el postrasplante inmediato. La dosis recomendada inicial es de 0,15-0,30 mg/kg/día, administrada cada 12 horas para mantener unos niveles entre 5-20 ng/ml en el periodo inicial del trasplante. Los resultados de los primeros estudios multicéntricos y randomizados en trasplante hepático para comparar su eficacia respecto a CsA mostraron similares supervivencias de pacientes e injertos, pero una menor incidencia de rechazo agudo, rechazo agudo refractario y rechazo crónico entre los pacientes tratados con tacrolimus. El perfil y mecanismos de toxicidad de este agente son similares a los de ciclosporina; no obstante, comparado con CsA, el tacrolimus muestra mayor afectación neurológica y más trastornos metabólicos, pero una menor incidencia de hipertrofia gingival, hirsutismo y probablemente hipertensión arterial^{79, 80}. Un estudio no randomizado efectuado en trasplante renal comparó los resultados obtenidos en 234 pacientes trata-

dos con tacrolimus con los de 191 medicados con CsA. La supervivencia de pacientes e injertos al año fue del 90 y 94% y del 74 y 77% en los grupos tratados con tacrolimus y ciclosporina, respectivamente. La incidencia de rechazo agudo y la necesidad de tratamiento con OKT3 fue similar en ambos grupos⁸¹.

Recientemente se han conocido los resultados de 2 estudios prospectivos y randomizados, uno europeo y otro norteamericano, comparando tacrolimus con CsA en receptores de trasplante renal tratados además con azatioprina y prednisona. El estudio norteamericano se efectuó con primeros y re-trasplantes, y la inmunosupresión consistió en tacrolimus a dosis de 0,1 mg/kg cada 12 horas para mantener niveles entre 10-25 ng/ml durante los 3 primeros meses (205 pacientes) o ciclosporina a dosis de 5 mg/kg/cada 12 horas para conseguir niveles entre 150-400 ng/ml (207 pacientes)⁸². El estudio europeo incluyó 303 receptores tratados con tacrolimus a dosis de 0,3 mg/kg cada 12 horas para mantener niveles iniciales entre 5-20 ng/ml, y otros 145 pacientes en tratamiento con ciclosporina en dosis de 8 mg/kg/día⁸³. Ambos estudios mostraron un descenso en la incidencia de rechazo agudo y rechazo agudo refractario clínico y confirmado por biopsia en los pacientes tratados con tacrolimus. Sin embargo, no hubo diferencias en la supervivencia de pacientes e injertos, y la toxicidad e incidencia de infección o neoplasia también fue similar en ambos grupos. En el estudio norteamericano, sobre todo, se observó una mayor incidencia de diabetes y un incremento en la necesidad de tratamiento con insulina en el grupo tratado con tacrolimus. (Tabla III).

Otro estudio, abierto, con 120 pacientes randomizados para tratamiento con ciclosporina o FK506 en tres regímenes de dosis diferentes, mostró una menor incidencia de rechazo agudo a los 42 días entre los pacientes tratados con tacrolimus (14% vs

Tabla III. Metaanálisis de los estudios cooperativos norteamericano y europeo con FK506 vs CsA^{79, 80}.

Resultados	Tacrolimus	Ciclosporina	p
	n = 508	n = 352	
Supervivencia paciente	94%	96%	NS
Supervivencia injerto	86%	87%	NS
Incidencia rechazo agudo con biopsia	27,7%	45,7%	0,001
Incidencia rechazo corticorresistente ..	11%	23%	NS

32%); sin embargo, la incidencia de rechazo agudo susceptible de tratamiento al año fue similar en ambos grupos (33% vs 32%)⁸⁴.

Se ha comprobado una alta efectividad en el uso de tacrolimus en el tratamiento del rechazo refractario en pacientes tratados con CsA. En un estudio sobre 73 pacientes, 59 de los cuales habían sido tratados previamente con anticuerpos antilinfocíticos, se evidenció mejoría en el 78% de los pacientes, estabilización en el 11% y deterioro progresivo en otro 11%. La supervivencia al año de pacientes e injertos fue del 93 y 75%, respectivamente⁸⁵. El papel del tacrolimus en la inmunosupresión en el trasplante es indudable, sobre todo en trasplante hepático, y en las pautas de rescate en el renal. En el futuro serán importantes los estudios bien diseñados para comparar su eficacia con ciclosporina y específicamente con su nueva formulación (neoral).

Sirolimus (rapamicina)

Es un macrólido derivado de *Streptomyces hygroscopicus*⁸⁶ y relacionado estructuralmente con tacrolimus, con el que comparte la capacidad de ligarse al mismo receptor citoplasmático (FKBP12)⁵⁸. Sin embargo, el complejo rapamicina-FKBP no afecta a la activación del linfocito T por inhibición de la calcineurina. Ya se ha comentado su fijación a un grupo de proteínas: RAFTs o TOR, a través de las cuales inhibe la acción de diversos enzimas esenciales para la progresión del ciclo celular de G1 a S en respuesta a I1-2.

La rapamicina se ha desarrollado para la prevención y tratamiento del rechazo agudo, y las propiedades farmacocinéticas y farmacodinámicas de su formulación oral han sido convenientemente evaluadas en estudios en fases I y II, mostrando su relativa seguridad, buena tolerancia, eficacia y posible sinergia con ciclosporina⁸⁷⁻⁹¹. En un estudio reciente realizado con 91 pacientes con injerto procedente de donante vivo, tratamiento con CsA y bajada rápida de esteroides, se añadió sirolimus en dos regímenes de dosificación diferente. Los pacientes incluidos en esas cohortes fueron comparados con un grupo histórico de características similares tratado con ciclosporina; los resultados a 3 meses mostraron una supervivencia actuarial del 100% y un descenso en la incidencia de rechazo agudo desde el 36,9 (24 de 65) del grupo control al 6,7% (2 de 30) en el grupo tratado con sirolimus⁹². Actualmente están en marcha estudios en fase III que evaluarán definitivamente la utilidad y relación riesgo-beneficio de este prometedor inmunosupresor.

DROGAS QUE INTERFIEREN CON EL METABOLISMO DE NUCLEOTIDOS

Los nucleótidos constituyentes del ADN y ARN son esenciales para la duplicación del ADN, transcripción del ARN, síntesis de proteínas, de moléculas de adhesión, de ATP y AMP cíclico, todos ellos imprescindibles en los procesos de activación y proliferación celulares implicados en la respuesta inmune y rechazo a injertos⁹³.

La síntesis de purinas comienza con el paso de la ribosa-5-fosfato a 5-fosforibosil-1-pirofosfato (PRPP) que se convierte en inosin-monofosfato (IMP) y posteriormente en guanosin-monofosfato (GMP) por la acción de la enzima inosin-monofosfato-deshidrogenasa (IMPDH). Cuando los linfocitos son activados aumenta la actividad de PRPP sintetasa y de IMPDH y, por tanto, se incrementa el «pool» de nucleótidos de guanina⁹³.

Micofenolato mofetil (Cellcept)

La forma activa de este éster prodroga es el ácido Micofenólico (MFA), que es un inhibidor no competitivo de la enzima inosin-fosfato-deshidrogenasa (IMPDH) y, por tanto, de la síntesis de guanosin monofosfato (GMP)^{94,95}. La IMPDH existe en dos isoformas: I y II. El ácido micofenólico es 4 ó 5 veces más activo sobre la isoforma II, que está sobreexpresada en los linfocitos activados, lo cual puede explicar la selectividad de la droga^{96,97}. En concentraciones adecuadas inhibe la proliferación de linfocitos T y B inducida por mitógenos, la producción de citoquinas 48 horas después de la administración de superantígeno, la síntesis de anticuerpos por linfocitos B y el acoplamiento de linfocitos T y células endoteliales a través de VLA-1⁹⁸⁻¹⁰⁰. La depleción de GTP inhibe el acoplamiento de fucosa y manosa a moléculas de integrinas y selectinas, lo cual sugiere otro potencial mecanismo inmunosupresor¹⁰¹. El éster es requerido por su alta disponibilidad equivalente a la administración IV. Una vez absorbido es hidrolizado a nivel tisular por esterasas, que lo convierten en ácido micofenólico, que es glucuronizado por una glucoronil transferasa y excretado en su mayor parte por vía urinaria y en menor medida por vía biliar¹⁰². La circulación enterohepática es importante y puede explicar su toxicidad digestiva. Numerosos trabajos han reportado su efecto inmunosupresor en diversos modelos animales de trasplante; algunos de esos estudios reportan una inhibición del rechazo mediado por anticuerpos y también sinergia con CsA¹⁰³⁻¹⁰⁶. También se ha evidenciado la capacidad de este agente para

inhibir la proliferación de células de músculo liso en modelos de trasplante de riñón y de aorta, que sugieren su posible utilidad en la prevención y manejo del rechazo crónico¹⁰⁷. Tras los estudios de fase I y II se han realizado tres grandes estudios controlados, randomizados y doble ciego¹⁰⁸⁻¹¹². Los estudios se diseñaron para evaluar la eficacia del fármaco en dosis de 2 ó 3 g diarios para la prevención del rechazo agudo probado con biopsia en receptores de trasplante renal tratados además con ciclosporina y corticoides. En los grupos control se emplearon azatioprina o placebo. La incidencia de rechazo agudo y la necesidad de tratamiento con agentes linfocitarios fue significativamente menor en los grupos de tratamiento (tabla IV). No hubo diferencias en nefrotoxicidad, hepatotoxicidad, neurotoxicidad, diabetes o hipertensión arterial. La incidencia de leucopenia y anemia fue similar en los pacientes tratados con azatioprina y MMF y tampoco se observó una mayor incidencia de neoplasias entre estos últimos.

Los efectos secundarios más importantes fueron los trastornos gastrointestinales (náusea, vómito y diarrea), sobre todo en el grupo de MMF en 3 g.

Otro estudio multicéntrico comprobó su eficacia en el tratamiento del rechazo agudo refractario al tratamiento con OKT3, ya que las pérdidas de injertos disminuyeron en un 45% en los pacientes tratados con MMF respecto a los que recibieron bolus IV de metilprednisolona¹¹³.

Tabla IV. Resultados de los estudios multicéntricos con MMF en la prevención del rechazo agudo¹¹⁰⁻¹¹².

Diseño	European MMF Study Group	US Renal MMF Study Group	Tricontinental MMF Study Group
Tipo trasplante	Cadáver (1º Y 2º)	Cadáver (1º)	Cadáver (1º y 2º)
Grupo control.....	Placebo (166)	Azatioprina (166)	Azatioprina (166)
Grupo tratamiento.....	MMF 2 g/día (165) MMF 3 g/día (160)	MMF 2 g/día (167) MMF 3 g/día (166)	MMF 2 g/día MMF 3 g/día
Inmunosupresión.....	CsA + Pred	CsA + Pred	CsA + Pred
Rechazo probado con biopsia	Placebo 46,4% MMF 2 g 17% MMF 3 g 13,8%	Azatioprina 20,5% MMF 2 g 9% MMF 3 g 12%	Azatioprina 35% MMF 2 g 19,7% MMF 3 g 6,1%

Mizoribina

A diferencia de MMF, la mizoribina es un inhibidor competitivo de IMPDH. Tiene el inconveniente de que su excreción renal obliga a ajustes de la dosis y no es recomendable su uso en pacientes con insuficiencia renal severa. La mayor experiencia con este agente

proviene de Japón, donde se ha usado como sustituto de azatioprina en la prevención de rechazo agudo. En dos estudios abiertos en fase III con un total de 77 receptores de trasplante renal se comparó su uso con azatioprina. La incidencia de rechazo agudo fue similar, pero los tratados con mizoribina tuvieron menor incidencia de leucopenia (10 vs 40%)¹¹⁴.

Brequinar sódico

Es un inhibidor no competitivo de la enzima dihidroorotato-deshidrogenasa (DHODH) y, por tanto, de la síntesis de pirimidina¹¹⁵. Tiene propiedades antiproliferativas e inmunosupresoras y ha mostrado su utilidad en diversos modelos experimentales de trasplantes, incluyendo xenotrasplantes^{116, 117}. Los estudios en humanos han sido suspendidos por inadecuada prevención del rechazo y excesiva toxicidad¹¹⁸.

Leflunomide

Es un isoxazol con propiedades inmunosupresoras. Los estudios *in vitro* sugieren que puede actuar inhibiendo la síntesis de pirimidina o la acción de las tirosininas activadas por los cambios en los receptores de interleuquinas¹¹⁹. Ha mostrado su efectividad en diversos modelos de trasplante y se esperan estudios para valorar sus perfiles farmacocinéticos y farmacológicos previos a su ensayo en humanos^{120, 121}.

Deoxyspergualina

Es un antibiótico derivado de *Bacillus laterosporus*¹²¹. Su mecanismo de acción no es bien conocido, pero podría inhibir la proliferación de linfocitos T citotóxicos bloqueando la respuesta a interferón, pero no a interleuquina-2^{122, 123}. La administración crónica no es posible al no disponerse de un preparado para uso oral. La administración IV puede tener un papel en el tratamiento del rechazo, en terapia de inducción o de rescate¹²⁴⁻¹²⁷. No obstante, ninguna de esas indicaciones ha sido testada hasta ahora en estudios de fase III.

CONCLUSIONES

En la década de los 60 y primeros años de los 70, el riesgo de mortalidad era elevado y el éxito del trasplante medido por la supervivencia del injerto modesto. A lo largo de los años 70 se produjeron innovaciones en el manejo y cuidados médico-quirúrgico

cos que consiguieron reducir la mortalidad y mejorar la supervivencia de los injertos; no obstante, el pobre índice terapéutico de los inmunosupresores utilizados no permitió la generalización de los trasplantes de otros órganos diferentes al riñón. La introducción de ciclosporina en los años 80 modificó profundamente la medicina del trasplante; mejoró sustancialmente la supervivencia de pacientes e injertos y permitió ampliar el espectro de donantes y receptores de trasplante renal, así como la generalización de todo tipo de trasplantes de órganos y tejidos.

La introducción de nuevos agentes inmunosupresores en los años 90 abre una nueva era que permitirá abordar las pautas de inmunosupresión de forma individualizada y probablemente más efectiva. En los próximos años, la tarea para los clínicos involucrados en trasplantes consistirá en evaluar la eficacia de estos nuevos agentes y formulaciones desde la perspectiva de su contribución a la disminución de la incidencia del rechazo agudo, la función renal conseguida a largo plazo y la relación coste-efectividad de todos ellos.

Bibliografía

1. Heemann UW, Schmid A, Azuma H, Tilney NL: The role of leucocyte adhesion molecules in acute transplant rejection. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 3 (4): 459-464, 1994.
2. Briscoe DM, Pober JS, Harmon WE, Cotran RS: Expression of vascular cell adhesion molecule-1 in human renal allografts. *J Am Soc Nephrol*, 3 (5): 1180-1185, 1992.
3. Fuggle SV, Sanderson JB, Gray DW, Richardson A, Morris PJ: Variation in expression of endothelial adhesion molecules in pretransplant and transplanted kidneys-correlation with intragraft events. *Transplantation* 55 (1): 117-123, 1993.
4. Germain RN, Margulies DH: The biochemistry and cell biology of antigen processing and presentation. *Annu Rev Immunol* 11: 403-450, 1993.
5. Sherman LA, Chattopadhyay S: The molecular basis of allorecognition. *Annu Rev Immunol* 11: 385-402, 1993.
6. Shoskes DA, Wood KJ: Indirect presentation of MHC antigen in transplantation. *Immunol Today* 15: 32-38, 1994.
7. Gallon L, Watschinger B, Murphy B, Akalin E, Sayegh MH, Carpenter CB: The indirect pathway of allorecognition. The occurrence of self-restricted cell recognition of allo-MHC peptides early in acute renal allograft rejection and its inhibition by conventional immunosuppression. *Transplantation* 59: 612-616, 1995.
8. Sawyer GJ, Dalchau R, Fabre JW: Indirect T cell allorecognition: a cyclosporin A resistant pathway for T cell help for antibody production to donor MHC antigens. *Transplant Immunol* 1: 77-80, 1993.
9. Braun MY, McCormack A, Webb G, Batchelor RJ: Mediation of acute but not chronic rejection of MHC-incompatible rat kidney grafts by alloreactive CD4 T cells acted by direct pathway of sensitization. *Transplantation* 55:177-182, 1993.
10. Raulet DH: The structure, function, and molecular genetics of the $\gamma\delta$ T cell receptor. *Annu Rev Immunology* 7: 175-208, 1989.
11. Swain SI: T cell subsets and the recognition of MHC class. *Immunol Rev* 74: 129-142, 1983.
12. Miceli MC, Parnes JR: The role of CD4 and CD8 in T cell activation and differentiation. *Advances in Immunology* 53: 59-122, 1993.
13. Abbas AK, Lichtman AH, Pober JS: Células T: Base molecular de su actividad y del reconocimiento del antígeno. En: *Inmunología Celular y Molecular*. cap. 11: 150-183. Interamericana-McGraw Hill, 1995.
14. Jenkins MK, Taylor PS, Norton SD, Urdahl KB: CD28 delivers a coestimulatory signal involved in antigen-specific IL-2 production by human T cells. *J Immunol* 147: 2461-2466, 1991.
15. June CH, Bluestone JA, Nadler LM, Thompson CB: The B7 and CD28 receptor families. *Immunol Today* 15: 321-331, 1994.
16. Shanafelt MC, Soderberg C, Allsup A, Adelman D, Peltz G, Lahesmaa R: Coestimulatory signals can selectively modulate cytokine production by subsets of CD4⁺ cells. *J Immunol* 154: 1684-1690, 1995.
17. Boussiotis VA, Freeman GJ, Gray G, Gribben J, Nadler LM: B7 but not intracellular adhesion molecule-1 co stimulation prevents the induction of human alloantigen-specific tolerance. *J Exp Med* 178: 1753-1763, 1993.
18. McArthur JG, Raulet DH: CD28-induced co stimulation of T helper type 2 cells mediated by induction of responsiveness to interleukin 4. *J Exp Med* 178: 1645-1653, 1993.
19. Pearson TC, Alexander DZ, Winn KJ, Linsley PS, Lowry RP, Larsen CP: Transplantation tolerance induced by CTLA4-Ig. *Transplantation* 57: 1701-1706, 1994.
20. Lin H, Bolling SF, Linsley PS, Wei RQ, Gordon D, Thompson CB, Turka LA: The long-term acceptance of major histocompatibility complex mismatched cardiac allografts induced by CTLA4-Ig plus donor specific transfusion. *J Exp Med* 178: 1801-1806, 1993.
21. Sayegh MH, Alkalin E, Hancock WW, Russell ME, Carpenter CB, Linsley PS, Turka LA: CD28-B7 blockade after allograft challenge in vivo inhibits Th1 cytokines but spares Th2. *J Exp Med* 181: 1869-1874, 1995.
22. Sloan-Lancaster J, Shaw AS, Rothbard JB, Allen PM: Partial T cell signalling: altered phospho-zeta and lack of zap70 recruitment in APL-induced T cell anergy. *Cell* 79 (5): 913-922, 1994.
23. Rao A: NF-ATp: A transcription factor required for the coordinate induction of several cytokine genes. *Immunol Today* 15 (6): 274-281, 1994.
24. Northrop JP, Ho SN, Chen L, Thomas DJ, Timmerman LA, Nolan GP, Admon A, Crabtree GR: NF-AT components define a family of transcription factors targeted in T cell activation. *Nature* 369: 497-502, 1994.
25. Perlmutter RS, Levin SD, Appleby MW, Anderson SJ, Alberola J: Regulation of lymphocyte function by protein tyrosine phosphorylation. *Annu Rev Immunol* 11, 451-500, 1993.
26. Weiss A: T cell antigen receptor signal transduction, a tale of tails and cytoplasmic protein-tyrosine kinases. *Cell* 73: 209-212, 1993.
27. Klee CB, Draetta GF, Hubbard MJ: Calcineurin. En Maister A (Ed). *Advances in enzymology and related areas of molecular biology*. Jhon Wiley & Sons. New York 1988, 61:149-209.
28. Jain J, McCaffrey PG, Miner Z, Kerppola TK, Lambert JN, Verdini GL, Curran T, Rao A: The T cell transcription factor NFATp is a substrate for calcineurin and interacts with Fos and Jun. *Nature* 365: 352-355, 1993.
29. Jain J, Miner Z, Rao A: Analysis of the preexisting and nuclear forms of nuclear factor of activated T cells. *J Immunol* 151: 837-848, 1993.

30. Mossmann TR, Coffman RL: Heterogeneity of cytokine secretion patterns and functions of helper T cells. *Advances in Immunology* 46: 111-147, 1989.
31. Parker DC: T cell-dependent B cell activation. *Annu Rev Immunol* 11: 331-360, 1993.
32. Maslinski W, Remillard B, Tsudo M, Strom TB: Interleukin-2 (Il-2) induces tyrosine kinase-dependent translocation of active Raf-1 from Il-2 receptor into the cytosol. *J Biol Chem* 267: 15281, 1992.
33. Nickerson P, Steurer W, Steiger J, Zheng X, Steele AW, Strom TB: Cytokines and Th1/Th2 paradigm in transplantation. *Curr Opin Immunol* 6: 757-764, 1994.
34. Cresswell P: Assembly, transport, and function of MHC class II molecules. *Annu Rev Immunol* 12: 259-293, 1994.
35. Lanzavecchia A: Receptor-mediated antigen uptake and its effect on antigen presentation to class II MHC restricted T lymphocytes. *Annu Rev Immunol* 8: 733-793, 1990.
36. Patel KJ, Neuberger MS: Antigen presentation by the B cell antigen receptor is driven by the α/β sheath and occurs independently of its cytoplasmic tyrosines. *Cell* 74: 939-946, 1993.
37. Donovan JA, Koretzky GA: CD45 and the immune response. *J Am Soc Nephrol* 4: 976-985, 1993.
38. Shanafelt MC, Sodeberg C, Allsup A, Adelman D, Peltz G, Lahesmaa R: Coestimulatory signals can selectively modulate cytokine production by subsets of CD4⁺ T cells. *J Immunol* 154: 1684-1690, 1995.
39. Shapiro ME, Liu M: Prolongation of islet allograft survival by anti-CD45 antibody pretreatment. *Transplant Proc* 27: 613-614, 1995.
40. Goldberg LC, Bradley JA, Connolly J, Friend PJ, Oliveira DB, Parrott NR, Rodger RS, Taube D, Thick MG: Anti CD45 monoclonal antibody perfusion of human renal allografts prior to transplantation. A safety and immunohistological study. CD45 Study Group. *Transplantation* 59: 1285-1293, 1995.
41. Haug CE, Colvin RB, Delmonico FL, Auchincloss H jr, Tolkoff-Rubin N, Preffer FI, Rothlein R, Norris S, Schar Schmidt L, Cosimi AB: A phase I trial of immunosuppression with anti-ICAM-1 (CD54) m Ab in renal allograft recipients. *Transplantation* 55 (4): 766-772, 1993.
42. Clayberger C, Lyu SC, DeKruyff R, Parham P, Krensky AM: Peptides corresponding to the CD8 and CD4 binding domains of HLA molecules block T Lymphocyte immune responses in vitro. *J Immunol* 153 (3): 946-951, 1994.
43. Nisco S, Vriens P, Hoyt G, Lyu S-C, Farfan F, Pouletty P, Krensky AM, Clayberger C: Induction of allograft tolerance in rats by an HLA class I derived peptide and cyclosporine A. *J Immunol* 152: 3786-3792, 1994.
44. Cuturi MC, Josien R, Douillard P, Pannetier C, Cantarovich D, Smit H, Ménoiret S, Pouletty P, Clayberger C, Souillou J: Prolongation of allogeneic heart graft survival in rats by administration of a peptide from the α -1 helix of the first domain of HLA-B7. *Transplantation* 59: 661-669, 1995.
45. Murphy B, Sayegh MH: Immunomodulatory function of major histocompatibility complex-derived peptides. *Curr Opinion in Nephrology & Hypertension* 5: 262-268, 1996.
46. Chatenoud L, Bach JF: Selective immunosuppression with anti-T cell monoclonal antibodies. *Clin Nephrol* 38 (Supl 1): S53-S60, 1992.
47. Ferran C, Bach JF, Chatenoud L: In vivo T cell activation properties of anti-T cell monoclonal antibodies. *Exp Nephrol* 1 (2): 83-89, 1993.
48. Chatenoud L: Humoral immune response against OKT3 therapy. *Transplant Proc* 25: 68-73, 1993.
49. Chatenoud L: Immunologic monitoring during OKT3 therapy. *Clin Transplant* 7: 422-430, 1993.
50. Morris RE, Metcalfe S: Immunosuppressants used to prevent and treat rejection. En *Immunosuppression and induced tolerance: Prospective approaches for the control of transplant rejection*, pp 14-24. Stanford University School of Medicine. Ed.. 1996.
51. Knight RJ, Kurre R, Mc Clain J, Racenberg J, Bagdhahsarian V, Kerman R, Lewis R, Van Buren CT, Kahan BD: Clinical evaluation of induction immunosuppression with a murine IgG2b monoclonal antibody (BMA 031) directed toward the human α/β T cell receptor. *Transplantation* 57: 1581-1588, 1994.
52. Powelson J, Cosimi B: The experimental and clinical use in transplantation of Monoclonal Antibodies to CD4 an other adhesion molecules. Monoclonal antibodies in transplantation. Chatenoud L (Ed). Springer-Verlag. Heildeberg, pp. 21-22, 1995.
53. Lenschow DJ, Zeng Y, Thistlewaite JR, Montag A, Brady W, Gibson MG, Linsley PS, Bluestone JA: Long-term Survival of xenogeneic pancreatic islets grafts induced by CTLA4Ig. *Science* 257: 789-792, 1992.
54. Akalin E, Sayegh MH, Hancock WW, Russell ME, Carpenter CB, Turka LA: Delayed blocking of the CD28-B7 co-stimulatory T cell activation pathway after alloantigenic challenge is essential for induction of tolerance to renal allografts. *J Am Soc Nephrol* 5: 977, 1994.
55. Diamantstein T: Interleukin-2 receptor complex. En *The Biology and Clinical Applications of Interleukin 2*. Oxford, NY: IRL Press, 15-21, 1990.
56. Vincenti F, Lantz M, Birnbaum J y cols.: A phase I trial of humanized anti Tac with standard immunosuppression for the prevention of rejection in renal transplant recipients. 14 th Annual Meeting of the american Society of Transplant Physicians 1995.
57. Amlot PM, Rawlings E, Fernando ON, Griffin PJ, Heinrich G, Schreier MH, Castaigne JP, Moore R, Sweny P: Prolonged action of a chimeric interleukin-2 receptor (CD25) monoclonal antibody used in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 60: 748-756, 1995.
58. Cárdenas ME, Zhu D, Heitman J: Molecular mechanisms of immunosuppression by cyclosporine FK506, and Rapamycin. *Current Opinion in Nephrology & Hypertension* 4 (6): 472-477, 1995.
59. Liu J, Albers MW, Wandless TJ, Luan S, Alberg DG, Bels-haw PJ, Cohen P, MacKintosh C, Klee CB, Schreiber SL: Inhibition of T cell signaling by immunophilin-ligand complexes correlates with loss of calcineurin phosphatase activity. *Biochemistry* 31 (16): 3896-3901, 1992.
60. Handschumacher RE, Harding MW, Rice J, Drugge RJ: Cyclophilin: a specific cytosolic binding protein for cyclosporin A. *Science* 226: 544-547, 1984.
61. Takahashi N, Hayano T, Suzuki M: Peptidyl-propyl cis-trans isomerase is the cyclosporin A-binding protein cyclophilin. *Nature* 337: 473-475, 1989.
62. Siekierka JJ, Hung SHY, Poe M, Lin CS, Sigal NH: A cytosolic binding protein for the immunosuppressant FK506 has peptidyl-prolyl isomerase activity but is distinct from cyclophilin. *Nature* 341: 755-757, 1989.
63. Heitman J, Movva NR, Hall MN: Targets for cell cycle arrest by the immunosuppressant Rapamycin in yeast. *Science*, 253: 905-909, 1991.
64. Sabers CJ, Martin MM, Brunn CJ, Williams JM, Dummont FJ, Wiederrechecht G, Abraham RT: Isolation of a protein target of the FKPB12-rapamycin-complex in mammalian cells. *J Biol Chem* 270: 815-822, 1995.
65. Brown EJ, Albers MW, Shin TB, Ichikawa K, Keith CT, Lane WS, Schreiber SL: A mammalian protein targeted by G1 arresting rapamycin-receptor complex. *Nature* 369 (6483): 756-758, 1994.

66. Sabatini DM, Erdjument-Bromage H, Lui M, Tempst P, Snyder SH: RAFT1: A mammalian protein that binds to FKBP12 in a rapamycin-dependent fashion and is homologous to yeast TORs. *Cell* 78 (1): 35-43, 1994.
67. Schu PV, Takegawa K, Fry MJ, Stack JH, Waterfield MD, Emr SD: Phosphatidylinositol 3-kinase encoded by yeast vps 34 gene essential for protein sorting. *Science* 260: 88-91, 1993.
68. Wong K, Cantley LC: Cloning and characterization of a human phosphatidylinositol 4-kinase. *J Biol Chem* 269: 28878-28884, 1994.
69. Schmandt R, Hill M, Amendola A, Mills GB, Hogg D: IL-2-induced expression of TTK, a serine, threonine, tyrosine kinase, correlates with cell cycle progression. *J Immunol* 152 (1): 96-105, 1994.
70. Kunz J, Henriquez R, Schneider U, Deuter-Reinhard M, Movva NR, Hall MN: Target of Rapamycin in yeast, TOR2, is essential phosphatidylinositol kinase homolog required for G1 progression. *Cell* 73 (3): 585-596, 1993.
71. Sehgal SN, Camardo JS, Scarola JA, Maida BT: Rapamycin (Sirolimus, rapamune). *Current Opinion in Nephrology & Hypertension* 4 (6): 482-487, 1995.
72. Schroeder TJ, Hariharan S, First MR: Variation in bioavailability of cyclosporine and relationship to clinical outcome in renal transplant subpopulations. *Transplant Proc* 27: 837-839, 1995.
73. Kahan BD, Dunn J, Fitts C, Van Buren D, Wombolt, Pollack R, Carson R, Alexander JW, Choe M, Wong R y cols.: Reduced inter and intrasubject variability in cyclosporine pharmacokinetics in renal transplant recipients treated with a microemulsion formulation in conjunction with fasting, low-fat meals, or high-fat meals. *Transplantation* 59: 505-511, 1995.
74. Taesch S, Niese D, Mueller EA: Sandimun neoral, a new oral formulation of cyclosporin A with improved pharmacokinetics characteristics: safety and tolerability in renal transplant patients. *Transplant Proc* 26: 3147-3149, 1994.
75. Kovarik JM, Mueller EA, Van Bree JB, Flückiger SS, Lange H, Schmidt B, Boesken WH, Lison AE, Kutz K: Cyclosporine pharmacokinetics and variability from a microemulsion formulation-a multicenter investigation in kidney transplant patients. *Transplantation* 58: 658-663, 1994.
76. Noble S, Markham A: Cyclosporin. A review of the pharmacokinetics properties, clinical efficacy and tolerability of a microemulsion-based formulation (Neoral). *Drugs* 50: 941, 1995.
77. Pollard SG: Use of Neoral in new renal transplant recipients: Results after 3 months. En: Johnson RWG (Ed). International Congress and Symposium series. *Transplantation '96. Maximizing patient benefit in Transplantation*. 217. RSM Press Limited: 31-36, 1996.
78. Henry ML, Elkhammas, Davies EA, Ferguson RM: A clinical trial of cyclosporine G in cadaveric renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 9 (supl): S49-S51, 1995.
79. US Multicenter FK506 Liver Study Group: A comparison of Tacrolimus (FK506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. *N Engl J Med* 331: 1110-1115, 1994.
80. European FK506 Multicenter Liver Study Group: Randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporin in prevention of liver allograft rejection. *Lancet* 334: 423-428, 1994.
81. Shapiro R, Jordan M, Scantlebury V y cols.: FK506 in clinical kidney transplantation. *Transplant Proc* 23: 3065-3067, 1991.
82. FK 506 US: Kidney Transplant Multicenter Study Group: FK506 in kidney transplantation: results of the US randomized, comparative, phase III study. *XVI International Congress of the Transplantation Society 1996*. Abstract 32. pp. 45.
83. JM Morales for The European Tacrolimus Multicenter Renal Study Group: Randomised Trial comparing Tacrolimus and Cyclosporin in the prevalence of renal allograft rejection. European Study. *29 th Annual Meeting of the American Society of Nephrology*. Abstract 3351, 1996.
84. Vincenti F, Laskow D, Neylan JF, Méndez R, Matas A: One year follow-up of an open-label trial of FK506 for primary kidney transplantation. *Transplantation* 61: 1576-1581, 1996.
85. Tacrolimus Kidney Transplantation Rescue Study Group: A multicenter trial of FK506 (Tacrolimus) therapy in refractory acute renal allograft rejection. *Transplantation* 62: 594-599, 1996.
86. Morris E: Rapamycins: Antifungal, antitumor, antiproliferative and immunosuppressive macrolides. *Transplant Rev* 6: 39-87, 1992.
87. Almond PS, Moss A, Nakhleh RE, Melin M, Chen S, Salazar A, Shirabe K, Matas AJ: Rapamycin immunosuppression, hyporesponsiveness, and side effects in a porcine renal allograft model. *Transplantation* 56: 275-281, 1993.
88. Granger DK, Cromwell JW, Chen SC, Goswitz JJ, Morrow DT, Beierle FA, Sehgal SN, Canafax DM, Matas AJ: Prolongation of renal allograft survival in a large animal model by oral rapamycin monotherapy. *Transplantation* 59: 183-186, 1995.
89. Stepkowski SM, Kahan BD: Rapamycin and cyclosporine synergistically prolong heart and kidney allograft survival. *Transplant Proc* 23: 3262-3264, 1991.
90. Kahan BD, Jordan S, Holmes S, Katz S, Van Buren CT, Napoli KL: Dose/concentration relation to outcome in sirolimus treated renal allograft recipients (abstract 1-6). *American Society of Transplant Surgeons* 21: 203, 1995.
91. Vanrenterghem Y, Pescovitz MD, Kahan BD, Julian BA, Chang G, Livingstone: Infectious complications in the multicenter phase II trial of Sirolimus and Cyclosporine in renal transplantation. *XVI International Congress of the Transplantation Society*. Abstract 90: 77, 1996.
92. Kahan BD, Katz SM, Jordan SM, Van Buren CT: Sirolimus permits rapid corticosteroid withdrawal from cyclosporine-based regimen in renal transplantation. *XVI International Congress of the Transplantation Society*. Abstract 89: 76, 1996.
93. Lu CY, Sicher SC, Vázquez MA: Prevention and treatment of renal allograft rejection. New therapeutic approaches and new insights into established therapies. *Am Soc Nephrol* 4 (6): 1239-1256, 1993.
94. Allison AC, Eugui EM, Sollinger HW: Mycophenolato mofetil (RS-61443): mechanisms of action and effects in transplantation. *Transplant Rev* 7: 129-139, 1993.
95. Eugui EM, Almquist SJ, Muller CD, Allison AC: Lymphocyte-selective cytostatic and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in vitro: role of deoxyguanosine nucleotide depletion. *Scand J Immunol* 33: 175-183, 1991.
96. Carr SF, Papp E, Wu JC, Natsumeda Y: Characterization of human type I and type II IMP dehydrogenases. *J Biol Chem* 268: 27286-27290, 1993.
97. Sintchak MD, Fleming MA, Futer O, Raybuck SA, Chambers SP, Caron PE, Murcko MA, Wilson KP: Structure and mechanism of inosine monophosphate dehydrogenase in complex with the immunosuppressant mycophenolic acid. *Cell* 85: 921-930, 1996.
98. Allison AC, Almquist SJ, Muller CD, Eugui EM: In vitro immunosuppressive effects of mycophenolic acid and ester pro-drug RS-61443. *Transplant Proc* 23 (supl 2): 10-14, 1991.
99. Eugui EM, Mircovich A, Allison AC: Lymphocyte-selective antiproliferative and immunosuppressive effects of mycophenolic acid in mice. *Scand J Immunol* 33: 175-183, 1991.

100. Laurent AF, Dumont S, Poindron P, Muller CD: Mycophenolic acid suppresses protein N-linked glycosylation in human monocytes and their adhesion to endothelial cells and to some substrats. *Exp Hematol* 24: 59-67, 1996.
101. Heemann UW, Azuma H, Hamar P, Schmid C, Tilney N, Philipp T: Mycophenolate mofetil inhibits lymphocyte binding and the upregulation of adhesion molecules in acute rejection of rat kidney allografts. *Transplant Immunol* 4: 64-67, 1996.
102. Shaw LM, Novack I: Mycophenolic acid: measurement and relationship to pharmacologic effects. *Ther Drug Monit* 17: 685-689, 1995.
103. Platz KP, Sollinger HW, Hullet DA, Eckhoff DE, Eugui EM, Allison AC: RS-61443 a new, potent immunosuppressive agent. *Transplantation* 51: 27-31, 1991.
104. Platz KP, Bechstein WO, Eckhoff DE, Suzuki Y, Sollinger HW: RS-61443 reverses acute allograft rejection in dogs. *Surgery* 110: 736-740, 1991.
105. Knechtle SJ, Wang J, Burlingham WJ, Beeskau M, Subramanian R, Sollinger HW: The influence of RS-61443 on antibody-mediated reaction. *Transplantation* 53: 699-701, 1992.
106. Benhaim P, Anthony JP, Lin LYT, McCalmont TH, Mathes SJ: A long term study of allogeneic rat hindlimb transplants immunosuppressed with RS-61443. *Transplantation* 56: 911-914, 1993.
107. Raisanen-Skolowski A, Vuoristo P, Myllarmiemi M, Yilmaz S, Kallio E, Hayri P: Mycophenolate Mofetil (MMF, RS-61443) inhibits inflammation and smooth muscle cell proliferation in rat aortic allografts. *Transplant Immunol* 3: 342-351, 1995.
108. Sollinger HW, Deierhoi MH, Belzer BO, Diethelm AG, Kauffman RS: RS-61443-a phase I clinical trial and pilot rescue study. *Transplantation* 53: 428-432, 1992.
109. Sollinger HW, Belzer FO, Deierhoi MH, Diethelm AG, Gonwa TA, Kauffman RS, Kintlman GB, MacDiarmid SV, Roberts J, Rosenthal JT, Tomlanovich SJ: RS-61443 (mycophenolate mofetil): a multicenter study. *Ann Surg* 216: 513-519, 1992.
110. European Mycophenolate Mofetil Study Group: Placebo-controlled study of mycophenolate mofetil combines with cyclosporin and corticosteroids for prevention of acute rejection. *Lancet* 345: 1321-1325, 1995.
111. US Renal Transplant Mycophenolate mofetil Study Group: Mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in primary cadaveric renal allograft recipients. *Transplantation* 60: 225-232, 1995.
112. Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group: A blinded, randomized clinical trial of mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 61: 1029-1037, 1996.
113. The Micophenolate Mofetil Renal Refractory Rejection Study Group: Mycophenolate Mofetil for the treatment of refractory, acute cellular renal transplant rejection. *Transplantation* 61: 722-729, 1996.
114. Lee HA, Slapak M, Raman GV, Mason JC, Digard N, Wise M: Mizoribine as an alternative to azathioprine in triple therapy immunosuppressant regimens in cadaveric renal transplantation: two successive studies. *Transplant Proc* 27: 1050-1051, 1995.
115. Cramer DV: Brequinar Sodium. *Pediatric Nephrol* 9 (supl): S52-S55, 1995.
116. Cramer DV, Chapman FA, Jaffee BD, Jones EA, Knoop M, Hreha-Eiras G, Makowka L: The effect of a new immunosuppressive drug, brequinar sodium, on heart, liver, and kidney allograft rejection in the rat. *Transplantation* 53: 303-308, 1992.
117. Ferrareso M, Knight R, Tu Y, Setpkowski SM, Kahan BD: Triple combination of cyclosporine, brequinar, and rapamycin prolongs kidney allograft survival in the mongrel dog. *Transplant Proc* 26: 3028, 1994.
118. Batiuk TD, Halloran PF: Immunologic management of renal transplants. *Current Nephrology* 1996, vol. 19. Gonick HC (Ed). Mosby Year Book. Chicago. Chapter 11: 367-370.
119. Morris RE: Mechanisms of action of new immunosuppressive drugs. *Kidney Int* 49 (supl 56): S26-S38, 1996.
120. McChesney LP, Xiao F, Sankary HN, Foster PF, Sharma S, Haklin M, Williams JW: An evaluation of leflunomide in the canine renal transplantation model. *Transplantation* 57: 1717-1722, 1994.
121. D'Silva M, Candinas D, Achilleos O, Lee S, Antoniou E, DeRoover A, Germeis A, Stavropoulos C, Buckels J, Mayer D y cols.: The immunomodulatory effect of Leflunomide in rat cardiac allotransplantation. *Transplantation* 60 (5): 430-437, 1995.
122. Umezawa H, Kondo S, Linuma H: Structure of an anti-tumor antibiotic, spergualin. *J Antibiot (Tokyo)* 34:1622-1624, 1981.
123. Umezawa H, Ishizuka M, Takeuchi T: Suppression of tissue graft rejection by spergualin. *JAntibiot (Tokyo)* 38: 283-284, 1985.
124. Okazaki H, Sato T, Amada N: Further study of deoxyspergualin prophylaxis in living related renal transplantation. *Transplant Proc* 25: 772-773, 1993.
125. Amemiya H, Ota K, Sonoda T, Fukao K, Taguchi Y, Isono K, Omoto R, Takagi H, Ota T, Orita K y cols.: Pulse therapy for rejection with deoxyspergualin in renal recipients : A multicentre controlled study. *Transplant Proc* 24:1375-1376, 1992.
126. Lini Y, Ohzono E, Kawabe M, Matsunobu S, Takeuchi M, Hayama N, Hara K, Terashi A, Suzuki S, Amemiya H: Improvement of renal function in transplanted kidneys with a new immunosuppressive drug, 15-deoxyspergualin: treatment of chronic rejection. *Transplant Proc* 24: 1381-1382, 1992.
127. Amemiya H: Deoxyspergualin: clinical trials in renal graft rejection. Japan Collaborative Transplant Study of Deoxyspergualin. *Ann NY Acad Sci* 685: 196-201, 1993.