

## Gli inibitori del segnale di proliferazione (inibitori di mTor) nel trapianto di rene

In depth review

**Barbara Bonino, Ernesto Paoletti, Luigina Marsano, Antonella Sofia, Fabio Massarino, Abitha Murugavel, Diego Bellino, Daniela Verzola, Rodolfo Russo, Giacomo Garibotto**

Clinica Nefrologica, Dialisi, Trapianto, Università di Genova e Ospedale Policlinico San Martino, Genova



Giacomo  
Garibotto

**Corrispondenza a:**

Prof. Giacomo Garibotto MD  
Clinica Nefrologica, Dialisi, Trapianto  
Università di Genova e Ospedale Policlinico San Martino  
Viale Benedetto XV, 616132 Genova, Italy  
Tel: 00390103538989  
Fax: 00390103538959  
e-mail: gari@unige.it

### ABSTRACT

I protocolli immunodepressivi più comunemente usati nella terapia di mantenimento del trapianto renale, che includono un inibitore della calcineurina (CNI), un derivato dell'acido micofenolico e gli steroidi, hanno ridotto notevolmente l'incidenza di rigetto acuto, un effetto che non si è però tradotto in un aumento della sopravvivenza a lungo termine del rene trapiantato. Un recente approccio al trattamento immunosoppressivo nel trapianto di rene considera un'ottica più ampia che include non solo il rischio di rigetto, ma anche gli effetti avversi dei farmaci, il profilo di rischio infettivologico, il rischio oncologico e cardiovascolare. Osservazioni recenti indicano che l'introduzione precoce di mammalian target of rapamycine inhibitor (mTORi) in associazione a CNI a basso dosaggio nel paziente a basso rischio immunologico possa fornire questi vantaggi sistemici. Questa revisione si propone l'obiettivo di riassumere i principali vantaggi e svantaggi dell'utilizzo di mTORi nei protocolli di immunosoppressione del trapianto di rene.

**PAROLE CHIAVE:** trapianto di rene, mTOR inibitori, terapia immunosoppressiva

### mTOR inhibitors in kidney transplantation

#### ABSTRACT

A changing paradigm of treatment of kidney transplant recipients is a new, wider approach to immunosuppression, which should take into account both antiviral and anticancer effects, in addition to cardiovascular protection. Recent observations suggest that the early introduction of mammalian target of rapamycin inhibitors (mTORi) in association with low dose CNI may offer many of these effects. The present manuscript summarizes benefits and contraindications of combinations with mTORi in kidney transplant immunosuppressive strategies.

**KEYWORDS** kidney transplantation, mTOR inhibitors, immunosuppressive therapy

## Introduzione

I protocolli immunodepressivi più comunemente usati nella terapia di mantenimento del trapianto renale includono un inibitore della calcineurina (CNI) (più spesso tacrolimus -Tac che ciclosporina -CsA), un derivato dell'acido micofenolico (micofenolato sodico o micofenolato mofetile– MMF o MPA) e gli steroidi (CS). Questa combinazione ha ridotto notevolmente l'incidenza di rigetto acuto, un effetto che non si è però tradotto in un aumento della sopravvivenza a lungo termine del rene trapiantato (1). Inoltre permane la problematica dell'incidenza ancora elevata di complicanze infettive (Cytomegalovirus – CMV), neoplastiche e cardiovascolari. In quest'ultimo ambito, la morte per cause cardiovascolari con trapianto funzionante resta un problema non risolto.

Gli inibitori di mammalian target of rapamycin (mTORi) hanno dimostrato non solo un effetto immunodepressivo mediante l'inibizione di cellule T, ma anche effetti antiproliferativi, anticemiotattici, antineoangiogenetici. Inoltre, diverse evidenze suggeriscono che mTORi possano attenuare i processi di aterosclerosi e possedere anche un profilo di protezione contro le neoplasie e le malattie cardiovascolari (2-6).

Quindi, in aggiunta ai loro effetti immunosoppressivi, mTORi possiedono diverse caratteristiche che li possono rendere attraenti per il trattamento immunodepressivo del trapianto renale. Queste caratteristiche sono analizzate in dettaglio in questa revisione.

## Meccanismi di azione di mTOR inibitori

mTOR è una serina treonina cinasi contenuta nei complessi mTORC1 e mTORC2, i quali all'interno della cellula promuovono la sintesi di proteine, lipidi, nucleotidi e inibiscono processi catabolici di attività lisosomiale, autofagica. mTOR regola anche la sopravvivenza cellulare, le modificazioni citoscheletriche, i processi di lipogenesi e gluconeogenesi. Gli mTORi agiscono prevalentemente sul complesso mTORC1, tuttavia il trattamento a lungo termine ha effetto inibitorio anche su mTORC2. I principali mTORi sono:

- SIROLIMUS (SRL), isolato per la prima volta da *Streptomyces Hygroscopicus* dell'isola di Rapa Nui e per questo chiamato anche Rapamicina;
- EVEROLIMUS (EVL), analogo semisintetico di SRL con migliore disponibilità orale per aggiunta di una catena idrossietilica in posizione 40. L'approvazione per l'impiego del farmaco come immunosoppressore nel trapianto di organo solido è stata concessa da European Medicines Agency (EMA) nel 2003 e da Food and Drug Administration (FDA) nel 2010 (7);
- TEMSIROLIMUS, profarmaco di SRL, approvato da FDA nel 2007 per il trattamento del carcinoma a cellule renali e da EMA nel 2009 per il trattamento del linfoma mantellare recidivante/refrattario;
- DEFOROLIMUS e RIDAFOROLIMUS, non di uso clinico comune poiché, seppur brevettati per il trattamento del carcinoma mammario estrogeno positivo, non hanno dato risultati soddisfacenti nell'utilizzo in monoterapia;
- TORKinibs, attualmente in fase di studio preclinico.

I meccanismi d'azione di mTORi a livello cellulare sono molteplici e includono:

- Inibizione della sintesi proteica. La sintesi proteica viene inibita bloccando l'attacco per la

sintesi polipeptidica per azione sulla cascata di fosforilazione che coinvolge i complessi eIF4E e IF4A. E' interessante che i livelli circolanti di SRL intorno a 5-7 ng/ml possono essere sufficienti a ridurre la sintesi proteica nel linfocita e nelle cellule ad alto turnover, come quelle delle mucose. Cellule somatiche come la muscolatura striata o liscia necessitano di livelli di mTOR inibitore molto più elevati (8).

- Ciclo cellulare: inibizione del ciclo cellulare con conseguente mantenimento delle cellule in fase G1.
- Metabolismo lipidico: riduzione del catabolismo delle lipoproteine apoB100 e inibizione dell'attività della lipoproteina lipasi mediante tramite upregolazione di apolipoprotein CIII.
- Metabolismo energetico: riduzione dell'espressione di geni mitocondriali.
- Angiogenesi: inibizione della crescita di cellule tumorali e della neoangiogenesi tramite ridotta produzione di VEGF.
- Intolleranza glucidica: stimolo alla gluconeogenesi e riduzione della fosforilazione del complesso AKT con conseguente aumento di insulino resistenza.
- Alterazioni citoscheletriche: inibizione della riorganizzazione e migrazione cellulare tramite blocco di Insulin Growth factor 1 e del pathway che coinvolge 4EBP1/S6K1 mediato dal complesso mTORC1. Tale effetto si riflette anche sulle proteine dello slit diaphragm podocitario (nefrina, transient receptor potential cation channel -TRPC6, cytoskeletal adaptor Nck) con danneggiamento dei pedicelli dei podociti e conseguente comparsa di proteinuria. Questo effetto sarebbe aumentato, secondo alcuni studi in vitro, dall'alterazione del segnale di VEGF. Inoltre, la riduzione della proliferazione a livello delle cellule tubulari potrebbe essere alla base del lento recupero della funzione renale nei casi di delayed graft function (DGF).
- Epithelial-mesenchymal transition (EMT): per EMT si intende la trasformazione delle cellule epiteliali in cellule mesenchimali che sarebbe alla base dei processi di fibrosi. L'inibizione del segnale di mTOR riduce in vitro questa trasformazione con duplice effetto di rallentare sia la fibrosi interstiziale renale che la guarigione di ferite. Tale effetto non è stato confermato dallo studio CERTITEM nel quale i pazienti randomizzati a mTORi non mostravano alcun vantaggio rispetto a CNi in termini di progressione della fibrosi, valutata biotticamente a tre mesi dall'inizio della terapia (9).

Gli mTORi agiscono come immunomodulatori condizionando l'attività linfocitaria sia della sottopopolazione B che T. Inducono anergia cellulare e sequestro dei linfociti T attivati all'interno del tessuto linfoide tramite la riduzione del segnale Kruppel-like F2 che contribuisce all'homing delle cellule. Inoltre, comportano inibizione della differenziazione in senso TH1, TH17 e Treg, e aumento della qualità, della funzionalità e dell'efficacia delle T cell memory (Th1, ma non Tfh) in particolare in risposta a stimolo virale.

In vitro e su modello murino l'inibizione di mTORC1 e mTORC2 comporta la soppressione dell'attività dei linfociti B, della produzione di immunoglobuline, della proliferazione e differenziazione in plasmacellule e della proliferazione nel centro germinativo in risposta a stimolo virale. Sembra, inoltre, attenuare la cascata di segnale intracellulare coinvolta nel danno da rigetto anticorpo mediato (7).

### **mTOR inibitori e infezioni virali**

Gli effetti antivirali di mTORi sono stati ricondotti ad una varietà di meccanismi. E' probabile che

questi effetti siano legati all'aumento della funzione dei linfociti T di memoria in risposta a stimoli virali o vaccinazioni (10). Altro meccanismo è il blocco della regolazione a valle di Akt con riduzione della crescita e propagazione virale. Non è ancora completamente chiaro se gli effetti clinici antivirali siano diretti o invece esprimano anche un minor grado di immunosoppressione.

### *Infezione da CMV*

Studi clinici hanno dimostrato che gli mTORi riducono l'incidenza, la gravità e la ricorrenza dell'infezione da CMV nel periodo post-trapianto (11, 12). Nei pazienti convertiti da CsA ad EVL si è osservato un aumento del numero di cellule T CD8+ CMV-specifiche ed un rallentamento della via del fosfatidil-inositol 3-cinasi, di importanza per la replicazione del virus. In uno studio randomizzato, prospettico su 288 pazienti che non eseguivano profilassi farmacologica per l'infezione da CMV, l'uso della combinazione EVL-Tac era associata a minor incidenza di infezioni da CMV rispetto al trattamento con Tac-MMF (13).

In una recente metanalisi condotta da Andrassy (per un totale di 10200) i pazienti con trapianto di organo solido in terapia con mTORi mostravano un rischio di eventi CMV correlati inferiore rispetto ai pazienti trattati con CNI (14). A simili conclusioni giunge lo studio retrospettivo di Cervera condotto su 350 pazienti (15).

### *Infezione da BKV*

La nefropatia associata a infezione da BK virus (BKV) è una causa importante di perdita del rene trapiantato. Dati storici mostrano che EVL associato a basse dosi di CsA si associa ad una minor incidenza di infezioni da BKV rispetto ad un trattamento standard con CNI e MMF (16, 17) un effetto che potrebbe essere conseguente sia ad una minore immunodepressione che ad effetti specifici di EVL (inibizione della via della proteina cinasi attivata dal virus). Inoltre, l'uso di mTORi può favorire lo sviluppo di cellule T CD8+ con attività antivirale (18).

In una casistica retrospettiva, Schwarz et al hanno descritto 46 casi di nefropatia da BKV (BKVAN) di cui 23 erano trattati con riduzione (del 30-50%) di MPA e CNI, 7 erano convertiti a mTORi e 16 erano convertiti a mTORi solo dopo la persistenza di elevata viremia BK. Circa il 90% dei pazienti passati a mTORi vedevano una riduzione della viremia in circa 20 settimane, un effetto che si verificava comunque associato ad una caduta del filtrato glomerulare a 25 ml/min (19). Wojczechowski in uno studio randomizzato controllato prospettico su un campione di 40 pazienti ha osservato che la sospensione di terapia con MPA a favore del trattamento con mTORi mostrava solo una tendenza non significativa verso la riduzione di carica virale (20).

Polanco et al. (21) in uno studio prospettico hanno riportato 15 casi di BKVAN in pazienti in triplice terapia (Tac, MPA e CS). La sospensione di MPA e la conversione di Tac ad EVL portava in 9 pazienti ad un miglioramento dei valori di creatinina e ad una stabilizzazione del filtrato glomerulare. In un'analisi retrospettiva su 296 pazienti l'incidenza di BK viremia era inferiore in EVL/CsA versus MMF/CsA (22) ed era associata ad una migliore prognosi renale.

In generale sia il livello che la qualità degli studi che supportano il ruolo di mTORi nel trattamento e nella prevenzione di BKVAN nel trapianto di organo solido sono modesti e limitati al trapianto di rene. Tuttavia, anche i dati più recenti continuano a suggerire un ruolo di mTORi in questo ambito.

### *Infezioni da EBV*

L'infezione da virus Epstein-Barr (EBV) (HHV4) è implicata nella comparsa e progressione di

neoplasia, specie di posttransplant lymphoproliferative disorder (PTLD). In cellule tumorali, il trattamento con mTORi inibisce la crescita cellulare indipendentemente dallo stato EBV. Inoltre mTORi non modificano l'espressione genica di EBV e i suoi possibili effetti benefici potrebbero essere cercati nella sua attività antitumorale (23). Da un'analisi OPTN/UNOS (database dal 2000 al 2009) si è osservato che la percentuale di PTLD era più elevata nei pazienti trattati con protocolli basati su mTORie Tac (24). Non sono state osservate differenze tra i vari trattamenti immunodepressivi nei riceventi EBV+. Nell'insieme, i dati disponibili dimostrano effetti clinici modesti o nulli di mTORi nei portatori di trapianto renale con PTLD associata ad EBV.

### *infezioni da HCV*

In virtù della loro attività antifibrotica (downregolazione di TGF- $\beta$  e procollagene) e antivirale, è stato suggerito che EVL e SRL possano essere efficaci nel minimizzare fibrosi epatica e riattivazione di HCV. La letteratura meno recente ha suggerito che gli effetti di mTORi possano tradursi in riduzione della carica virale e della fibrosi (25, 26), mentre gli ultimi studi si sono concentrati maggiormente sullo sviluppo di fibrosi. In uno studio retrospettivo su 466 trapianti di fegato in pazienti HCV+ McKenna et al. hanno osservato una minore incidenza di fibrosi grave nei pazienti in terapia con SRL rispetto alla terapia basata su CNI (27). Risultati simili sono stati ottenuti da Villamil et al. in un piccolo studio prospettico randomizzato (28). In entrambi i casi non sono stati osservati effetti sulla viremia HCV. Nell'insieme, questi dati suggeriscono che mTORi possano avere un effetto clinico antifibrotico, ma non sulla replicazione del virus. La recente introduzione della terapia eradicante di HCV rende in prospettiva questo effetto dei mTORi meno rilevante.

### *Infezione da HHV8 e sarcoma di Kaposi*

Stallone e al. hanno descritto la risoluzione del sarcoma di Kaposi in pazienti in terapia con CNI/MMF dopo passaggio a schema terapeutico con solo SRL (29). Questi dati hanno suggerito che mTORi possano essere il trattamento di scelta per i trapiantati di rene che sviluppano sarcoma di Kaposi.

## **mTOR inibitori e neoplasie**

Rispetto alla popolazione generale, i pazienti portatori di trapianto di rene presentano un rischio 2-4 volte maggiore di sviluppare neoplasie. Le neoplasie più frequenti sono i tumori cutanei-non melanoma (NMSC, non melanoma skin cancer) e in particolare il carcinoma squamocellulare, il melanoma, il sarcoma di Kaposi, il carcinoma anogenitale e i linfomi non Hodgkin (Post Transplant Lymphoproliferative Disease) perché correlati a riattivazione virale o a effetti di immunomodulazione.

mTORi trovano una indicazione come terapia immunosoppressiva in corso di neoplasia per la loro capacità di modulare il complesso PI3K/Akt/mTOR coinvolto nella regolazione di proliferazione, sopravvivenza, motilità e funzionalità delle cellule neoplastiche. La revisione sistematica di 21 studi randomizzati controllati (RCT) pubblicata da Knoll nel 2014 dimostrava la superiorità di SRL rispetto a CNI nei non melanoma skin cancer (NMSC) rispetto agli altri tipi di neoplasia e più significativo nel sottogruppo randomizzato a sospensione completa di CNI (30). Dall'analisi dei dati, però, risultava anche una maggiore incidenza di carcinomi della prostata nei pazienti trattati con SRL (IRR = 1.85, 95% CI = 1.17–2.91) (31). I risultati del CONVERT trial mostravano una minor incidenza di NMSC e di tutte le neoplasie nei pazienti convertiti a terapia con SRL con sospensione di CNI, in particolare in quelli con storia nota di neoplasia (32). Yanik et al. hanno studiato gli effetti di SRL

sull'incidenza di cancro nei portatori di trapianto di rene (33). Nel complesso, l'incidenza di cancro era diminuita, ma non in modo statisticamente significativo, dall'uso di SRL (HR, 0.88; 95% CI, 0.70 – 1.11) mentre la frequenza di cancro della prostata era maggiore con l'uso di SRL (HR, 1.86; 95% CI, 1.15 to 3.02). L'incidenza di altre neoplasie era simile o inferiore con l'uso di SRL con una diminuzione globale del 26% (HR, 0.74; 95% CI, 0.57 to 0.96; escluso il cancro della prostata). Nonostante questi effetti protettivi sulla neoplasia, in una recente metanalisi, mTORi era associato ad un aumentato rischio di morte nei pazienti con cancro (30).

In conclusione, gli studi attualmente disponibili suggeriscono la conversione a mTORi in prevenzione primaria, nei pazienti ad alto rischio di sviluppo di neoplasie, in particolare della cute, e in prevenzione secondaria, nei soggetti con anamnesi positiva per neoplasia. Infine, alcuni autori suggeriscono che mTORi potrebbero essere impiegati in associazione con *immune check point inhibitors*. Queste nuove molecole potenziano l'immunità T cell-mediata anti-neoplastica, ma trovano limitazione nei pazienti trapiantati di organo solido per l'aumentato rischio osservato di rigetto cellulare e anticorpo mediato. In associazione con immune check point inhibitors, mTORi potrebbero aumentarne l'efficacia antineoplastica e allo stesso tempo limitare l'eccessiva reattività del sistema immunitario verso l'organo trapiantato, riducendo in questo modo la probabilità di rigetto (34, 35).

### **mTOR inibitori e rischio cardiovascolare**

Tema rilevante è la relazione tra mTORi e riduzione del rischio cardiovascolare. Da un lato il meccanismo d'azione del farmaco ne giustifica un potenziale lipogenico e diabetogenico che trova riscontro in clinica. Teutonico su un campione di popolazione di 26 trapiantati mostrava come la conversione da CNI a mTORi non portasse vantaggio sul profilo glicometabolico (36). In seguito, lo studio di Johnston del 2008, che comprendeva 20124 riceventi di primo trapianto di rene con anamnesi negativa per diabete appartenenti a United States Renal Data System, confermava l'associazione tra SRL e diabete di nuova insorgenza nel confronto con ciclosporina e micofenolato mofetile (MMF) (37). Analogamente in uno studio retrospettivo, Chueh osservava livelli superiori di colesterolo e trigliceridi nei pazienti trattati con SRL rispetto a quelli trattati con CNI (38). Tuttavia, questo non si traduceva in un aumentato rischio cardiovascolare nei primi 4 anni post trapianto. In uno studio di confronto tra 115 trapiantati di rene trattati con mTORi e 58 trattati con CNI, mTORi non mostravano relazione significativa con aumentato rischio cardiovascolare (definito come infarto miocardico, intervento coronarico percutaneo, ictus, aneurisma aortico, tromboembolia polmonare, morte cardiaca improvvisa) nonostante l'aumentato sviluppo di dislipidemia (39).

Queste apparenti incongruenze potrebbero essere spiegate dal contrapporsi di diabete e dislipidemia, noti fattori di rischio cardiovascolare, con le proprietà antifibrotiche e antiproliferative di mTORi: nel modello animale mTORi hanno un effetto di rallentamento della progressione del danno aterosclerotico e arteriosclerotico. In clinica, questo dato trova corrispondenza nella maggiore stabilità che sembra avere la velocità d'onda di polso (pulse wave velocity), parametro ecografico correlato con la rigidità arteriosa, in alcuni piccoli studi di confronto che prevedevano il mantenimento di un regime basato su CNI o il passaggio a EVL (40). Inoltre, in alcuni studi randomizzati e controllati la terapia con mTORi comportava una parziale regressione dell'ipertrofia ventricolare sinistra, importante fattore di rischio cardiovascolare nella popolazione trapiantata, che potrebbe essere spiegato nuovamente con l'effetto antifibrotico e antiproliferativo di questa classe di farmaci (41).

### **mTOR inibitori e proteinuria**

Una delle complicanze potenziali della terapia con mTORi è la proteinuria da inibizione di proteine del citoscheletro podocitario che si associa alla glomerulo sclerosi focale segmentaria (42). Mandelbrot et al. hanno riportato recentemente uno studio randomizzato, controllato, doppio cieco sugli effetti di ramipril sull'escrezione urinaria di proteine nei trapiantati di rene convertiti da CNI a SRL(43). I pazienti ricevevano ramipril o placebo per 6 settimane prima della conversione e 52 settimane dopo. Le dosi erano aumentate se i pazienti sviluppavano proteinuria, e losartan era somministrato come terapia aggiuntiva. A 52 settimane, l'uso di losartan era solo del 6% nel gruppo in ramipril vs il gruppo in placebo (23%  $p < 0.001$ ). Il ramipril si è dimostrato in questo studio efficace nel ridurre l'incidenza di proteinuria fino ad un anno dalla conversione a SRL.

### **mTORi e sviluppo di Donor-Specific antibodies (DSA)**

Nell'ambito di alcuni studi randomizzati su mTORi sono stati analizzati i rapporti tra farmaci immunodepressivi e comparsa di anticorpi contro antigeni del donatore (DSA). I DSA *de novo* presentano un'incidenza di circa il 6% annuo ed è stato attribuito ad essi un ruolo patogenetico nel processo di rigetto cronico dell'organo trapiantato (44).

Nonostante l'efficacia in vitro di mTORi nel modulare la cascata di segnale che coinvolge i linfociti B nella produzione di anticorpi ad alta affinità per antigeni del donatore, le evidenze a favore di un loro effetto protettivo sullo sviluppo di DSA nella pratica clinica sono contrastanti. Lo studio ELEVATE è stato condotto su un campione di 715 trapiantati di rene randomizzati a CNI o EVL da 2 a 6 mesi dopo trapianto mantenendo la terapia con MMF e CS. Al termine di un periodo di osservazione di 24 mesi i pazienti in terapia con mTORi presentavano un significativo aumento nella percentuale di DSA *de novo* limitato alla classe HLA di tipo I; risultava, invece, sovrapponibile nei due gruppi il tasso di sviluppo di DSA di classe HLA II (45). Ulteriori osservazioni provengono dallo studio di Croze nel quale i pazienti randomizzati a mTORi presentavano un'insorgenza maggiore di DSA (HR 2.4; P 0.036) rispetto al gruppo di controllo, in particolare diretti contro HLA DQB1, che era più significativa in presenza di uno o due mismatches DQ (46). Lo sviluppo di DSA sembrava inoltre maggiormente correlato all'analisi post hoc alla conversione precoce (prima di 1 anno dal trapianto). Nello studio condotto da de Sandes-Freitas et al., in cui la randomizzazione avveniva a 3 mesi, è disponibile sia il dato di sviluppo di DSA, risultato maggiore ma non in maniera significativa nel gruppo in terapia con mTORi rispetto a CNI, che il dato istologico: le biopsie renali dei pazienti con mTORi mostravano maggiore grado di infiammazione subclinica e atrofia tubulare a 24 mesi dalla sospensione di CNI (47). Lo studio Spiesser (48) e lo studio di Mjornstedt (49) su un campione rispettivamente di 150 e 202 pazienti trapiantati di rene, a basso rischio immunologico, pur con passaggio precoce da CNI a mTORi, mostravano un rapporto non significativo tra terapia con mTORi e sviluppo di DSA. Il follow up in entrambi i casi copriva un arco di tempo significativamente lungo di 8 e 3 anni. Analogamente nel MECANO trial condotto da Bemelman su 185 pazienti il passaggio precoce da CNI a mTORi portava nessuna differenza in termini di sviluppo di DSA e un'incidenza inferiore di rigetti anticorpo mediati ad un anno (50). Sempre non significativo la percentuale di comparsa di DSA nello studio di Perbos su trapiantati di organo solido convertiti a mTORi e, per il 60% dei pazienti, a CNI a basso dosaggio a 6 anni post trapianto (51). Di recente pubblicazione è lo studio TRANSFORM condotto su 2037 pazienti randomizzati a ricevere dal momento del trapianto EVL con CNI a basso dosaggio oppure MMF con CNI a dosaggio standard. La sottoanalisi per lo studio dello sviluppo di DSA non mostrava differenze significative né in termini di tasso di incidenza a 12 mesi né in termini di sottotipo di DSA *de novo* (52).

Vi è invece accordo comune tra sviluppo di DSA e non compliance del paziente alla terapia immunosoppressiva, condizione frequente in corso di terapia con mTORi per l'elevato tasso di effetti avversi (mielosoppressione, mucositi, acne, edemi declivi, rallentata guarigione delle ferite) di cui è gravata.

### **Controindicazioni**

Alcuni degli effetti avversi di mTORi impongono di usare particolare cautela in pazienti con determinate caratteristiche cliniche e/o anamnestiche. L'impostazione di tale terapia dovrebbe essere evitata nei pazienti con pregressa sindrome nefrosica o glomerulosclerosi focale segmentaria per i meccanismi molecolari potenzialmente lesivi sui podociti. Per il rallentamento del processo di guarigione delle ferite è controindicato il passaggio a mTORi in pazienti che debbano essere sottoposti a interventi di chirurgia maggiore, che siano andati incontro a intervento di chirurgia vascolare complessa al momento del trapianto e in generale che abbiano dei fattori di rischio che li espongono a formazione di ulcere e lesioni cutanee.

E' stata osservata un'incidenza maggiore di polmoniti interstiziali nei pazienti trattati con mTORi rispetto a quella osservata nella popolazione trapiantata di rene (53). Tale associazione è più marcata in presenza di fattori di rischio quali broncopneumopatie e fumo di sigaretta, mentre è attenuata negli studi che prevedono l'uso di mTORi de novo associato a CNI a dosaggio ridotto.

In caso di dislipidemia di grado severo (trigliceridi > 300 mg/dl e/o LDL > 150), intolleranza insulinica o diabete è necessario tenere presente il noto potenziale lipogenico e diabetogenico, il quale per effetto di compensazione con le proprietà antiproliferative e antifibrotiche del farmaco non sembra peggiorare il profilo di rischio cardiovascolare del paziente.

Pazienti iperimmuni o al secondo trapianto di rene che necessitano di una potenza immunodepressiva superiore potrebbero non giovare di questo tipo di terapia per il possibile aumento della comparsa di DSA e di BPAR, dati tuttavia non sempre confermati soprattutto nel lungo termine.

### **Protocolli che utilizzano mTORi**

L'uso di mTORi nella terapia del trapianto è stato studiato in diverse formulazioni in associazione con MMF e CS nel tentativo di eliminare o ridurre l'esposizione a CNI (Tabella 1).

Gli studi per l'applicazione di mTORi *de novo* in protocolli *CNI free* non hanno dato risultati incoraggianti a partire dallo studio Symphony. Simili riscontri sono emersi dagli studi Orion e 318.



Tabella 1

Reference	Tempo dal trapianto	Numerosità	Gruppo mTORi	Gruppo controllo	Follow up totale	eGFR mTORi (ml/min)	eGFR controllo (ml/min)	P value	DSA mTORi	DSA controlli	P value
TRANSFORM JASN 2018;29	de novo	2037	EVL + LTac	Stac+MPA	12 mesi	53	54.4	--	15 of 374 (4%)	7 of 339 (2%)	--
SYMPHONY N Engl J Med 2007;357	De novo	1645	SRL+MMF+CS	CsA+MMF+CS	12 mesi	57.1	56.7	0,001	-- BPAR 37.2%	-- BPAR 12.3%	--
ZEUS Lancet 2011; 377	4 – 5 mesi	300	EVL+MMF+CS	CsA+MMF+CS	12 mesi	71.8	61.9	<0.00	-- BPAR 10%	-- BPAR 3%	0.036
ELEVATE AJT 2017;17	10-14 settimane	715	EVL+MMF+CS	CNI+MMF+CS	12 mesi	64.1	60.4	0.042	--	--	--
CONVERT Transplantation 2009;87	6-120 mesi	830	SRL+MMF+CS	CNI+MMF+CS	24 mesi	59.0	57.7	0,278	--	--	--
Coze et al Transpl. Int 2014;27	1.3 ± 0.8 anni	270	EVL /SRL+MMF	CNI+MMF	3.8 anni	--	--	0.98	HR 2.5; 95% CI 1.17-5.33	--	0.018
Freitas Transplant 2015;99	3 mesi	169	SRL+MMF+CS	CNI+MMF+CS	2 anni	63.7±19.3	68.1±14.9	0.408	17.8%	7.3%	0.201
Spiesser Transpl int 2016;29	De novo	150	SRL+MMF	CsA+MMF	8 anni	62.5±27.3	47.8±17.1	0.004	9 di 38	8 di 73	0.520
Mjornstedt Transplant Int 2015;28	7 settimane	202	EVL+MMF	SRL+MMF	3 anni	48.4	45.8	0.418	8%	18%	0.428
Qazi A, J Transpl 2017;17	De novo	613	EVL+LTac	STac+MMF	12 mesi	63.1	63.1	0.77	-- BPAR 19.1%	-- BPAR 11.2%	<0.05

### Legenda

mTORi nella terapia di mantenimento del trapianto di rene: effetti su filtrato glomerulare (eGFR) e Donor Specific Antibodies (DSA). I valori sono espressi come media ± SD. Abbreviazioni: BPAR= biopsy proven acute rejection, EVL= everolimus, SRL= sirolimus, MMF=micofenolato mofetile, CS=corticosteroidi, LTac=low dose tacrolimus, STac=standard dose tacrolimus, CsA=ciclosporina, CNI=inibitori delle calcineurine

L'introduzione precoce di EVL ha invece fornito risultati che fanno prospettare un nuovo approccio all'impiego di mTORi nella pratica clinica. Nello studio ZEUS 300 pazienti erano randomizzati a EVL (Trough Level target: 6-10 ng/l) con sospensione o prosecuzione della terapia con CsA a 4-5 mesi dopo il trapianto; in entrambi i casi erano associati a CS e MMF. I risultati a un anno mostravano un filtrato glomerulare più elevato nei pazienti in mTORi (71,8 mL/min per 1.73 m<sup>2</sup> vs 61,9 mL/min) associato a proteinuria aumentata (455± 510 mg/dl in EVL vs 284 ±472 mg/dl in CsA). La percentuale di rigetti acuti era maggiore nel gruppo mTORi immediatamente dopo la randomizzazione (10% vs 3%; p=0.036) ma si riduceva progressivamente dal primo anno e non era significativamente differente nei due gruppi a 5 anni dalla randomizzazione (13.6 vs. 7.5%, P = 0.09)(54). Lo studio ELEVATE coinvolgeva 715 pazienti per un periodo di 24 mesi convertiti a mTORi da CNI dalle 10 alle 15 settimane dopo il trapianto. Lo studio prevedeva il confronto tra EVL e CNI. Al termine del periodo di osservazione, il filtrato glomerulare era sovrapponibile tra i gruppi, il tasso di BPAR risultava basso, anche se maggiore nel gruppo con EVL vs. CNI (7% vs. 4.8%, p = 0.014) e Tac (2.6%, p < 0.001), ma simile nel confronto con CsA (8.8%, p = 0.755). Si confermava un aumento degli effetti avversi e di sospensione della terapia nel gruppo in EVL (23.6% vs CNI 8.4%) (45). Lo studio MECANO prevedeva come obiettivo primario le variazioni di fibrosi renale e infiammazione interstiziale alla biopsia renale e come obiettivo secondario il filtrato glomerulare e

la comparsa di DSA al termine di 24 mesi di follow up dopo in terapia con CS/EVL vs. CS/CsA. I risultati erano a favore di una minore fibrosi e infiammazione interstiziale in CS/EVL. Anche filtrato glomerulare risultava superiore nel gruppo CS/EVL, mentre sviluppo di DSA era sovrapponibile nei due bracci (50). Il CONVERT trial pubblicato nel 2009 su un campione di 830 trapiantati di rene randomizzati valutava la conversione tardiva in EVL (tra i 6 e i 120 mesi post trapianto) o la prosecuzione in CNI. I risultati, analizzati 12 e 24 mesi dopo la randomizzazione, mostravano filtrato glomerulare, sopravvivenza del trapianto e prognosi quoad vitam del paziente sovrapponibili nei due gruppi, ma un aumento di proteinuria nel gruppo in EVL. L'analisi post hoc metteva in evidenza un gruppo di pazienti con filtrato glomerulare al basale  $>40$  ml/min e rapporto albumina/creatinina  $< 0 = 0.11$  con un profilo di rischio-beneficio migliore dopo la conversione rispetto alla totalità dei pazienti convertiti a mTORi in termini di incidenza di BPAR, sopravvivenza del trapianto, sopravvivenza del paziente e filtrato glomerulare (55).

Per quanto riguarda i protocolli di minimizzazione di CNI in associazione a EVL, Qazi ha pubblicato recentemente uno studio randomizzato multicentrico per valutare la non inferiorità di EVL/low dose Tac (TL target: EVL 3-8 ng/ml / Tac 2-5 ng/l dal sesto mese in poi) rispetto a Tac a dosaggio standard (TL target: 5-8 ng/ml dal sesto mese) e MMF. A 12 mesi l'obiettivo di non inferiorità, che era stato stabilito al 10% per outcome composito di BPAR, perdita del graft, morte, perdita al follow up, non veniva raggiunto. I risultati mostravano un maggiore percentuale di BPAR, registrati tuttavia nell'immediato post trapianto quando i livelli raccomandati di EVL non erano ancora stati raggiunti. Il filtrato glomerulare era sovrapponibile nei due gruppi. La sopravvivenza complessiva dell'organo trapiantato risultava maggiore nel gruppo con EVL (1.3% vs. 3.9%;  $p < 0.05$ ) a circa 20 mesi (56). Di recentissima pubblicazione è lo studio TRANSFORM che analizzava 2037 pazienti trapiantati di rene trattati de novo con EVL e CNI a basse dosi oppure MMF e CNI a dosaggio standard. Al termine dei 12 mesi di osservazione, l'obiettivo primario di non inferiorità al 10% composto da BPAR o filtrato glomerulare  $< 50$  ml/min era stato raggiunto dal 48.2% dei pazienti in EVL e dal 45.1% dei pazienti in MMF (differenza 3.2%, CI -1.3 to 7.6%). La non inferiorità di EVL era da un lato associata a un minor percentuale di infezioni da CMV e BKV, ma dall'altro a percentuale superiore di sospensione del farmaco per effetti avversi (23% vs 11.9% rispettivamente nel gruppo in EVL e MPA/MMF) (52).

## Conclusioni

Attualmente la colonna portante della terapia immunosoppressiva nel trapianto di organo solido è costituita da CNI, che hanno permesso di ridurre molto l'incidenza di rigetto acuto, ma possono esporre il paziente a complicanze che possono riflettersi sulla clinica e sulla prognosi. Negli ultimi tempi il concetto di immunosoppressione è stato esteso ad una ottica più ampia che include non solo il rischio di rigetto, ma anche gli effetti avversi dei farmaci, il profilo di rischio infettivologico, il rischio oncologico e cardiovascolare. Questa prospettiva ha incoraggiato la ricerca di strategie immunosoppressive per adattare la terapia alle caratteristiche e necessità del singolo paziente. Le attuali indicazioni che vedono l'uso dei mTORi a dosi che permettono di mantenerne i livelli tra 3 e 8 ng/mL associati a basse dosi di CNI in pazienti a basso-moderato rischio immunologico, suggeriscono che questi farmaci possano rappresentare una buona alternativa agli schemi immunosoppressivi tradizionali; tale strategia non espone il paziente ad aumentato rischio di rigetto se avviene precocemente e sembra associarsi a un miglioramento del filtrato glomerulare a breve-medio termine. La minimizzazione dei CNI permette inoltre di ridurre gli effetti neurotossici di CNI. Tuttavia poche informazioni sono disponibili sul loro uso nei pazienti ad elevato rischio immunologico, inoltre l'associazione tra il loro uso e comparsa di DSA de novo è tuttora controversa. A causa di meccanismi molecolari potenzialmente lesivi per i podociti, pregressa

sindrome nefrosica o glomerulosclerosi focale segmentaria controindicano l'impostazione o il passaggio a terapia con mTORi. L'uso di mTORi può anche fornire un vantaggio in corso di infezioni da CMV anche resistenti a terapia mentre evidenze meno forti sul loro uso sono presenti per un loro effetto protettivo per l'infezione da BKV. L'aumentato rischio di sviluppo di polmoniti batteriche, invece, invita a utilizzare con cautela terapia con EVL in pazienti con fattori predisponenti quali broncopatia cronica ostruttiva. Inoltre, il loro effetto antiproliferativo e antineoplastico può offrire un vantaggio per la sopravvivenza a lungo termine.

## BIBLIOGRAFIA

- Lodhi SA, Meier-Kriesche H-U. Kidney allograft survival: the long and the short of it. *Nephrol Dial Transplant*. 2011;26:15–7. Doi:10.1093/ndt/gfq730
- Pascual J, Boletis IN, Campistol JM. Everolimus (Certican) in renal transplantation: a review of clinical trial data, current usage, and future directions. *Transplant Rev*. 2006;20:1–18
- Eckl S, Heim C, Abele-Ohl S, et al. Combination of clopidogrel and everolimus dramatically reduced the development of transplant arteriosclerosis in murine aortic allografts. *Transplant Int*. 2010;23:959–966
- Pascual J. The use of everolimus in renal-transplant patients. *Int J Nephrol Renovasc Dis*. 2009;2:9–21
- Peddi VR, Wiseman A, Chavin K, et al. Review of combination therapy with mTOR inhibitors and tacrolimus minimization after transplantation. *Transplant Rev*. 2013;27:97–110
- Witzke O, Sommerer C, Arns W. Everolimus immunosuppression in kidney transplantation: what is the optimal strategy? *Transplant Rev*. 2016;30:3–12
- Zaza G, Granata S, Caletti C, et al. mTOR Inhibition Role in Cellular Mechanisms. *Transplantation*. 2018;102:S3-S16
- Drummond MJ, Fry CS, Glynn EL, et al. Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. *J Physiol*. 2009;587:1535-1546.
- Rostaing L, Hertig A, Albano L, et al. Fibrosis progression according to epithelial-mesenchymal transition profile: a randomized trial of everolimus vs CsA. *Am J Transplant*. 2015;15:1303-1312 doi: 10.1111/ajt.3132
- Araki K, Turner AP, Shaffer VO, et al. mTOR regulates memory CD8 T-cell differentiation. *Nature*. 2009;460:108–112
- Nashan B, Gaston R, Emery V, et al. Review of cytomegalovirus infection findings with mammalian target of rapamycin inhibitor-based immunosuppressive therapy in de novo renal transplant recipients. *Transplantation*. 2012;93:1075–1085
- Pascual J, Royuela A, Fernández AM, et al. for the Spanish Society of Transplantation Virological and Immune Response Investigation Study Group. Role of mTOR inhibitors for the control of viral infection in solid organ transplant recipients. *Transplant Infect Dis*. 2016;18:819–831
- Tedesco-Silva H, Felipe C, Ferreira A, et al. Reduced incidence of cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients receiving everolimus and reduced tacrolimus doses. *Am J Transplant*. 2015;15:2655–2664
- Andrassy J, Hoffmann VS, Rentsch M, et al. Is cytomegalovirus prophylaxis dispensable in patients receiving an mTOR inhibitor-based immunosuppression? A systematic review and meta-analysis. *Transplantation*. 2012; 94:1208–1217.
- Cervera C, Cofan F, Hernandez C, et al. Effect of mammalian target of rapamycin inhibitors on cytomegalovirus infection in kidney transplant recipients receiving polyclonal antilymphocyte globulins: a propensity score-matching analysis. *Transpl Int*. 2016;29:1216–1225.
- Silva H, Cibrik D, Johnston T, et al. Everolimus plus reduced-exposure CsA versus mycophenolic acid plus standard-exposure CsA in renal-transplant recipients. *Am J Transplant*. 2010;10:1401–13
- Cibrik D, Silva H, Vathsala A, et al. Randomized trial of everolimus-facilitated calcineurin inhibitor minimization over 24 months in renal transplantation. *Transplantation*. 2013;95:933–942
- Budde K, Lehner F, Sommerer C, et al., ZEUS Study Investigators. Five-year outcomes in kidney transplant patients converted from cyclosporine to everolimus: the randomized ZEUS study. *Am J Transplant*. 2015;15:119–128
- Schwarz A, Linnenweber-Held S, Heim A, et al. Factors influencing viral clearing and renal function during polyomavirus BK-associated nephropathy after renal transplantation. *Transplantation*. 2012;94:396–402.
- Wojczechowski D, Chandran S, Webber A, et al. Mycophenolate Mofetil withdrawal with conversion to everolimus to treat BK virus infection in kidney transplant recipients *Transplant Proc*. 2017;49:1773-

- 1778
21. Polanco N, González Monte E, Folgueira MD, et al. Everolimus-based immunosuppression therapy for BK virus nephropathy. *Transplant Proc.* 2015;47:57–61
  22. Moscarelli L, Caroti L, Antognoli G, et al. Everolimus leads to a lower risk of BKV viremia than mycophenolic acid in de novo renal transplantation patients: a single-center experience. *Clin Transplant.* 2013;27:546–554
  23. Kawada J, Ito Y, Iwata S, et al. mTOR inhibitors induce cell-cycle arrest and inhibit tumor growth in Epstein-Barr virus-associated T and natural killer cell lymphoma cells. *Clin Cancer Res.* 2014;20:5412–5422
  24. Sampaio MS, Cho YW, Shah T, et al. Association of immunosuppressive maintenance regimens with posttransplant lymphoproliferative disorder in kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2012;93:73–81
  25. Wagner D, Kniepeiss D, Schaffellner S, et al. Sirolimus has a potential to influence viral recurrence in HCV positive liver transplant candidates. *Int Immunopharmacol.* 2010;10:990–993
  26. Samonakis DN, Germani G, Burroughs AK. Immunosuppression and HCV recurrence after liver transplantation. *J Hepatol.* 2012;56:973–983
  27. McKenna GJ, Trotter JF, Klintmalm E, et al. Limiting hepatitis C virus progression in liver transplant recipients using sirolimus-based immunosuppression. *Am J Transplant.* 2011;11:2379–2387
  28. Villamil FG, Gadano AC, Zingale F, et al. Fibrosis progression in maintenance liver transplant patients with hepatitis C recurrence: a randomised study of everolimus vs. calcineurin inhibitors. *Liver Int.* 2014;34:1513–1521
  29. Stallone G, Schena A, Infante B, et al. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *N Engl J Med.* 2005;352:1317–1323
  30. Knoll GA, Kokolo MB, Mallick R, et al. Effect of sirolimus on malignancy and survival after kidney transplantation: systematic review and meta-analysis of individual patient data *BMJ.* 2014;349:6679
  31. Yanik EL, Siddiqui K, Engels EA. Sirolimus effects on cancer incidence after kidney transplantation: a meta-analysis. *Cancer Med.* 2015;4:1448–1459.
  32. Alberù J, Pascoe MD, Campistol JM et al. Lower malignancy rates in renal allograft recipients converted to sirolimus based, calcineurin inhibitor free immunotherapy: 24-months results from the CONVERT trial *Transplantation.* 2011;92:303–310
  33. Yanik EL, Gustafson SK, Kasiske BL et al Sirolimus use and cancer incidence among US kidney transplant recipients. *Am J Transplant.* 2015;15: 129–136
  34. Kittai A.S, Oldham H, Ctnar J, et al. Immune checkpoint inhibitors in organ transplant patients. *Journal of immunotherapy.* 2017;40:277–281 doi:10.1097/CJI000000000000180
  35. Barnett R, Barta V, Jhaveri K.D. Preserved renal-allograft function and the PD-1 pathway inhibitor Nivolumab *New Engl J Med.* 2017;376:191–192 doi: 10.1056/NEJMc1614298
  36. Teutonico A, Schena PF, Di Paolo S: Glucose metabolism in renal transplant recipients: effect of calcineurin inhibitor withdrawal and conversion to sirolimus after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16:3128
  37. Johnston O, Rose CL, Webster AC, et al: Sirolimus is associated with new-onset diabetes in kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:1411
  38. Chueh SC, Kahan BD: Dyslipidemia in renal transplant recipients treated with a sirolimus and cyclosporine-based immunosuppressive regimen: incidence, risk factors, progression, and prognosis. *Transplantation.* 2003;76:375
  39. Watorek E, Szymczak M, Boratynska M, et al Cardiovascular Risk in Kidney Transplant Recipients Receiving Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors *Transplantation Proceedings.* 2011;43:2967–2969
  40. Seckinger J, Sommerer C, Hinkel UP, et al. Switch of immunosuppression from cyclosporine A to everolimus: impact on pulse wave velocity in stable de novo allograft recipients *J Hypertens* 2008;26:2213–2219
  41. Paoletti E. mTOR Inhibition and Cardiovascular Diseases: Cardiac Hypertrophy *Transplantation.* 2018; 102: S41–S43
  42. Biancone L, Bussolati B, Mazzucco G, et al. Loss of nephrin expression in glomeruli of kidney-transplanted patients under m-TOR inhibitor therapy *Am J Transplant.* 2010;10:2270–2278
  43. Mandelbrot DA, Alberù J, Barama A et al. Effect of ramipril on urinary protein excretion in maintenance renal transplant patients converted to sirolimus. *Am J Transplant* 2015;15: 3174– 3184
  44. Ginevri F, Nocera A, Comoli P et al. Posttransplant de novo donor-specific hla antibodies identify pediatric kidney recipients at risk for late antibody-mediated rejection. *Am J Transplant.* 2012;12:3355–3362
  45. de Fijter JW., Holdaas H., Øyen O. Early Conversion From Calcineurin Inhibitor- to Everolimus-Based Therapy Following Kidney Transplantation: Results of the Randomized ELEVATE Trial *American Journal of Transplantation.* 2017; 17: 1853–1867
  46. Croze LE, Tetaz R, Roustit M, et al. Conversion to mammalian target of rapamycin inhibitors increases de novo donor-specific antibodies. *Transpl Int.* 2014; 27(8)
  47. De Sandes-Freitas TV, Felipe CR, Campos EF, et al. Subclinical lesions and donor-specific antibodies in kidney transplant recipients receiving tacrolimus-based immunosuppressive regimen followed by early conversion to sirolimus. *Transplantation.* 2015; 99:2372.
  48. Gatault P, Bertrand D, Buchler M, et al. Eight-year results of the Spiesser study, a randomized trial comparing de novo sirolimus and cyclosporine in renal transplantation. *Transpl Int* 2016; 29:41–50

49. Mjornstedt L, Schwartz Sorensen S, von Zur Muhlen B, et al. Renal function three years after early conversion from a calcineurin inhibitor to everolimus: results from a randomized trial in kidney transplantation. *Transplant Int.* 2015; 28: 42-51 doi: 10.1111/tri.12437
50. Bemelman FJ, de Fijter JW, Kers J, et al Early conversion to prednisolone/everolimus as an alternative weaning regimen associates with beneficial renal transplant histology and function: the randomized controlled MECANO trial. *Am J Transplant.* 2017;17:1020-1030
51. Perbos E, Juinier E, Guidicelli G, et al. Evolution of donor-specific antibodies (DSA) and incidence of de novo DSA in solid organ transplant recipients after switch to everolimus alone or associated with low dose of calcineurin inhibitors. *Clin Transplant* 2014; 28: 1054-1060 doi: 10.1111/ctr.12418
52. Pascual J, Berger S.P, Witzke O and TRANSFORM investigators Everolimus with reduced calcineurin inhibitor exposure in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol.* 2018;29 doi: <https://doi.org/10.1681/ASN.2018010009>
53. Baas MC, Strujik GH, Moes DJAR et al. Interstitial pneumonitis caused by everolimus: a case-cohort study in renal transplant recipients. *Transplant Int.* 2014;27:428–36.)
54. Budde K., Becker T., Arns W., Everolimus-based, calcineurin-inhibitor-free regimen in recipients of de-novo kidney transplants: an open-label, randomised, controlled trial. *Lancet.* 2011; 377: 837–847
55. Schena FP, Pascoe MD, Alberu J Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation.* 2009;87:233-242
56. Qazi Y, Shaffer D, Kaplan B, et al. Efficacy and Safety of Everolimus Plus Low-Dose Tacrolimus Versus Mycophenolate Mofetil Plus Standard-Dose Tacrolimus in De Novo Renal Transplant Recipients: 12-Month Data. *American Journal of Transplantation.* 2017; 17: 1358–1369