

IN DEPTH REVIEW

Effetti avversi degli inibitori di mTOR e trapianto di rene



Chiara Caletti, Simona Granata, Paola Tomei, Antonio Lupo, **Gianluigi Zaza**

Sezione di Nefrologia-Dipartimento di Medicina-Università di Verona, Verona, Italy

Corrispondenza a: Gianluigi Zaza; U.O.C. Nefrologia e Dialisi, Azienda Ospedaliera Universitaria Integrata, Verona. Piazzale A. Stefani 1, 37126, Verona (VR), Italia; Tel:+39 045 8122528 Fax:+39 045 8027311 Mail: gianluigi.zaza@univr.it

Abstract

Gli inibitori di mammalian target of rapamycin (mTOR-I), sirolimus ed everolimus, sono farmaci immunosoppressori largamente utilizzati nei pazienti trapiantati di rene. Il principale meccanismo di azione di tali molecole è l'inibizione della protein chinasi mammalian target of rapamycin (mTOR) coinvolta nella proliferazione linfocitaria. Inoltre, l'interazione tra mTORC1, mTORC2 e PI3K conferisce a questi farmaci una azione antineoplastica. Alla luce delle loro specifiche caratteristiche farmacologiche e della limitata nefrotossicità queste molecole sono una valida alternativa agli inibitori delle calcineurine (CNI) nella terapia di mantenimento post-trapianto, in particolare nei pazienti in cui è presente un danno cronico del graft. Tuttavia, come la maggior parte dei farmaci immunosoppressivi, anche l'utilizzo di queste molecole si può associare all'insorgenza di effetti collaterali anche di entità severa (per esempio patologie polmonari, tossicità ematologica, dismetabolismi, linfedema), che devono pertanto essere prontamente riconosciuti e trattati per evitare l'insorgenza di gravi conseguenze. La maggior parte degli eventi avversi sono dose correlati e quasi sempre reversibili. Pertanto, è indubbio che questi particolari farmaci dovrebbero essere somministrati alla dose terapeutica più bassa al fine di aumentarne i loro effetti terapeutici e minimizzare/evitare la loro tossicità. L'utilizzo di bassi dosaggi di mTOR-I dovrebbe essere incoraggiato non solo in schemi associati all'uso di CNI, ma anche quando somministrati da soli in protocolli immunosoppressivi "CNI-free".

Parole chiave: eventi avversi, immunosoppressione, inibitori di mTOR

Ruolo e biologia degli inibitori di m-TOR (mTOR-I)

Gli inibitori di m-TOR (mammalian target of rapamycin), sirolimus ed everolimus, sono dotati di numerose proprietà immunosoppressive e anti-tumorali [1] ([full text](#)).

Il meccanismo d'azione di questi farmaci consiste nell'inibizione della protein-chinasi mTOR, coinvolta nella proliferazione linocitaria, nello sviluppo neurologico e muscolare e nella crescita tumorale. Sirolimus (Rapamune, Wyeth Pharmaceuticals, New York city, USA) è stato il primo mTOR-I approvato come farmaco immunosoppressore nei paziente trapiantati di rene; esso agisce legando l'immunofillina FKBP-12 (FK binding protein-12). Everolimus (EVR), registrato come Certican, è stato approvato solo successivamente; la sua struttura chimica è simile a Sirolimus tranne che per la presenza in aggiunta di un gruppo idrossietilico in posizione 40 [2]. Mentre il complesso Tacrolimus (TAC)/FKBP-12 inibisce la trascrizione di interleuchina 2 (IL-2) indotta da calcineurina, entrambi i complessi SRL/

FKBP-12 e EVR/FKBP-12 legano direttamente mTOR, bloccando il ciclo cellulare in fase S, con conseguente inibizione della proliferazione cellulare e della sintesi proteica indotta da IL-2 [3].

Alla luce delle loro specifiche caratteristiche farmacologiche, gli inibitori di mTOR sono particolarmente efficaci nel post-trapianto renale e, grazie alla loro scarsa nefrotossicità, sono una valida alternativa agli inibitori delle calcineurine (CNI) nel mantenimento a lungo termine dei pazienti con segni di nefropatia cronica del trapianto [4] (full text) [5] (full text) [6]. Tuttavia recenti studi hanno documentato un ruolo attivo di mTOR-I nel determinare effetti avversi e complicanze cliniche di variabile entità [7] [8].

L'inibizione della fosforilazione di mTORC1, mTORC2 e PI3K (fosfatidilinositolo-3 chinasi) conferisce a questi farmaci un importante ruolo antineoplastico [9]. EVR è stato approvato dalla FDA (Food and Drug Administration) nel 2009 per il trattamento del carcinoma renale e successivamente della sclerosi tuberosa e dei tumori neuroendocrini del pancreas [10] (full text) [11]. L'efficacia antitumorale di mTOR-I sembra tuttavia limitato ad un effetto citostatico e non citotossico, che si traduce clinicamente in una stabilizzazione del processo tumorale e non in una remissione. Pertanto questi farmaci sono estremamente utili come trattamento immunosoppressivo nei pazienti che sviluppano neoplasie nel post-trapianto [9].

L'attività antitumorale di queste molecole è legata alla loro capacità di up-regolare le molecole di adesione, riducendo l'invasività delle cellule tumorali. Inoltre riducono la sintesi di VEGF (vascular endothelial growth factor) e la sensibilità delle cellule endoteliali a questo fattore di crescita, inibendo quindi la neoangiogenesi [12] (full text) [13] (full text) [14] (full text).

Gli inibitori di mTOR inoltre sono in grado di ridurre l'incidenza di alcune comorbidità associate al trapianto renale e alla malattia renale cronica come l'aterosclerosi [15] (full text) e le complicanze della malattia policistica [16] [17] (full text).

Sebbene l'utilità clinica di questi farmaci è ben nota, gli m-TORi si possono associare allo sviluppo di gravi effetti collaterali che devono essere identificati e trattati precocemente.

Tuttavia, sebbene la maggior parte dei trial clinici sugli mTOR-I abbiano valutato gli effetti di Sirolimus nei pazienti nefrotrapiantati, è ragionevole desumere che Everolimus induca effetti collaterali analoghi. Sanchez-Fructuoso e coll. hanno recentemente dimostrato che non vi sono differenze circa il tasso di sospensione di SRL ed EVR per eventi avversi [18]. Tuttavia, i risultati dei trial clinici condotti con SRL non sono comparabili con gli studi più recenti con EVR alla luce dei diversi dosaggi utilizzati, dei differenti livelli ematici del farmaco e delle associazioni farmacologiche previste. Sono pertanto necessari trial randomizzati controllati per meglio valutare analogie e differenze.

In questa review abbiamo focalizzato l'attenzione sugli affetti collaterali extrarenali che si possono verificare in corso di trattamento con inibitori di mTOR.

Tossicità polmonare

Gli eventi avversi polmonari sono frequenti nei pazienti nefrotrapiantati in trattamento con mTOR-I. Numerosi studi clinici hanno evidenziato una frequenza pari al 2-11% con comparsa della sintomatologia clinica dopo un periodo variabile da 1 a 51 mesi dall'avvio di SRL o EVR [19] [20] [21] [22] (full text).

Il danno polmonare associato a mTOR-I ha una notevole variabilità di espressione clinica; inizia generalmente con febbre, facile faticabilità, tosse e dispnea, sintomi e segni del tutto aspecifici, che rendono pertanto non semplice la diagnosi [23] (full text).

Sono state riportate diverse tipologie di coinvolgimento polmonare che vanno dalla polmonite linfocitica interstiziale, all'aveolite linfocitaria, alla bronchiolite obliterante con polmonite organizzata, alla fibrosi polmonare focale oppure una variabile combinazione di esse [24] [25]. È stata inoltre riportata la comparsa di alveolite emorragica sia in corso di terapia con EVR sia con SRL [26] [27].

I meccanismi eziopatogenetici responsabili della tossicità polmonare secondaria a m-TOR-I sono attualmente non chiari, nonostante siano stati elaborati diversi studi in vivo e in vitro volti a studiare i meccanismo biologici alla base di tale associazione.

Un ruolo centrale è sicuramente occupato dalla risposta autoimmunitaria cellulo-mediata secondaria all'esposizione di antigeni polmonari occulti con conseguente comparsa di alveolite linfocitaria e polmonite interstiziale. Un altro possibile meccanismo prevede il coinvolgimento dei linfociti T [19]. Inoltre, Ussavarungsi e coll. hanno recentemente dimostrato che SRL può indurre una reazione infiammatoria granulomatosa interstiziale, il che suggerisce la presenza di una reazione da ipersensibilità mediata da linfociti T diretta contro antigeni o immunocomplessi localizzati a livello polmonare [28]. I linfociti T infatti producono IL-2 e TNF-alfa che stimolano i macrofagi alveolati a produrre TNF-alfa e IL-1. I macrofagi attivati liberano diverse chemochine come MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) e MIP-1 α (macrophage inflammatory protein alfa 1) e si trasformano in cellule epiteloidi e cellule giganti multinucleate che contribuiscono alla formazione del granuloma [29]. La presenza di un effetto dose-dipendente è suggerita dal riscontro di tali alterazioni polmonari soprattutto in pazienti che hanno ricevuto una dose elevata di mTOR-I.

Per poter effettuare una corretta diagnosi è indispensabile l'ausilio della radiografia del torace, della TC polmonare e del lavaggio broncoalveolare (BAL), sebbene diano risultati aspecifici.

La TC torace generalmente mostra un aspetto di opacità a vetro smerigliato associato non univocamente alla presenza di infiltrato interstiziale periferico, mentre al BAL è di solito presente un incremento numerico di CD4+ con mastcellule ed eosinofili [19]. Quando possibile, è sempre utile eseguire il BAL, anche per escludere la presenza di una componente infettiva, evenienza frequente nel paziente immunodepresso. Infine, i test di funzionalità polmonare dimostrano la presenza di una riduzione della diffusione alveolo-capillare del monossido di carbonio (CO), anche se spesso possono essere secondarie alla sovrapposizione con altre condizioni patologiche [30] [31] (full text).

In alcuni casi è inoltre necessaria l'esecuzione della biopsia polmonare che generalmente mostra un quadro di infiammazione granulomatosa non necrotizzante intralveolare con infiammazione interstiziale linfocitaria e focali aspetti di polmonite organizzata [32] (full text).

Il trattamento di queste forme polmonari è variabile e necessita solitamente di un approccio multidisciplinare (pneumologo, infettivologo e nefrologo) e dell'utilizzo di diversi farmaci (antibiotici, corticosteroidi e immunosoppressori). Tuttavia, come dimostrato da Weiner e coll., il trattamento di scelta di queste complicanze è la sospensione del farmaco, anche se talvolta per minimizzare i sintomi e rallentare la progressione può essere sufficiente ridurre la posologia [33] (full text) [34]. Come riportato da White et al. quest'ultima strategia è stata adottata come terapia di mantenimento dei pazienti affetti da carcinoma renale avanzato [30]. Un altro studio clinico condotto su trapiantati di fegato (104 pazienti in trattamento

con SRL e 9 con EVR) che avevano sviluppato tossicità polmonare correlata ad assunzione di mTOR-I ha confermato questa strategia terapeutica. Infatti gli autori riportavano che in 87 su 104 pazienti con tossicità da SRL è stato sospeso il farmaco con conseguente totale risoluzione del quadro polmonare in 84 di essi, risoluzione parziale in 1 caso e decesso in 4 pazienti. Nei restanti 13 pazienti è stato invece ridotto il dosaggio di SRL e di questi 8 hanno presentato una remissione completa del coinvolgimento polmonare, e 5 una persistenza della sintomatologia, scomparsa poi alla sospensione del farmaco. Invece in 8 dei 9 pazienti in trattamento con EVR è stato sospeso il farmaco e ridotta la dose nel restante paziente. In tutti e 9 i casi si è osservata una completa risoluzione del quadro [35].

Rimane ancora sconosciuto il ruolo dei corticosteroidi come possibile trattamento delle complicanze polmonari secondarie a mTOR-I. Attualmente nessuno studio clinico ha identificato altre molecole, utilizzabili singolarmente o in associazione, in grado di trattare la tossicità polmonare in corso di terapia con inibitori di mTOR.

Pare quindi indispensabile che il personale medico che si fa carico della gestione clinica dei pazienti trapiantati sia a conoscenza dei possibili effetti collaterali a livello polmonare secondari al trattamento con mTOR-I, accanto alle più note infezioni opportunistiche, per cui è indispensabile una diagnosi differenziale. In questi pazienti il migliore trattamento per la completa e duratura risoluzione dei sintomi di tossicità polmonare è la sospensione o la drastica riduzione della posologia di mTOR-I.

Effetti avversi emopoietici

Nei pazienti nefrotrapiantati in trattamento con mTOR-I possono comparire eventi avversi emopoietici e tossicità midollare. In particolare i pazienti in terapia con mTOR-I possono presentare anemia, leucopenia e trombocitopenia [36] (full text) [37].

3.1 Anemia

L'anemia è comunemente presente nei pazienti nefrotrapiantati tanto che può essere considerata una complicanza del trapianto [38] (full text) [39] (full text). Tra le diverse cause ricordiamo la compromissione della funzione renale, il rigetto acuto e cronico, la sideropenia, le infezioni virali, la sindrome emolitico-uremica, la terapia con ACE inibitori o sartanici e la terapia immunosoppressiva [40] (full text) [41] [42] [43].

Studi clinici in fase 1 e 2 hanno valutato i livelli di emoglobina (Hb) nei pazienti nefrotrapiantati in trattamento con SRL-Ciclosporina A (CsA) e steroide rispetto a pazienti in CsA e steroide [44]. Groth e coll. riportavano una incidenza di anemia post-trapianto pari al 35% nei pazienti in trattamento con SRL-CsA-steroidi, rispetto ad una incidenza del 25% nel gruppo con CsA-steroidi [45]. Kreis e coll. hanno osservato una incidenza di anemia del 43% nei pazienti in terapia con SRL rispetto al 32% nei pazienti in terapia con CsA; in entrambi i gruppi i pazienti assumevano anche micofenolato mofetile (MMF) o azatioprina [46].

Lo sviluppo di anemia in corso di trattamento con mTOR-I è dose-dipendente, come documentato da alcuni trial in fase 3 in cui sono stati paragonati pazienti in trattamento con SRL alla dose di 2 mg/die e pazienti in cui la dose era 5 mg/die, in entrambi i casi associato a CsA e steroide; l'incidenza è risultata del 24% nel primo gruppo e del 35% nel secondo [46]. Un altro trial clinico in fase 3 ha paragonato pazienti in trattamento con SRL-CsA-steroidi alla dose di 2 mg/die e 5 mg/die rispetto a pazienti in placebo-CsA-steroidi; l'incidenza di anemia è risultata del 35% nel primo gruppo, del 56% nei pazienti che assumevano SRL a 5 mg/die e del 16% nel gruppo con placebo [47].

In uno studio sono stati paragonati i pazienti in terapia con SRL/MMF/steroidi e i pazienti in terapia con tacrolimus/MMF/steroidi; gli autori hanno rilevato la presenza di valori di Hb significativamente più bassi nel gruppo in trattamento con SRL [48] (full text). Nello studio di Friend et al. invece la prevalenza di anemia risultava minore del gruppo di pazienti in terapia con SRL/steroidi rispetto al gruppo con SRL/CsA/steroidi, nonostante nel primo gruppo i livelli di SRL fossero più alti [49].

Augustine e coll. hanno invece paragonato la prevalenza di anemia in pazienti portatori di trapianto di rene e di rene-pancreas in trattamento con CNI/SRL e in terapia con CNI/MMF; nel gruppo in trattamento con SRL la prevalenza di anemia risultava maggiore a 6 mesi (57% versus 41%) e a 12 mesi (57% versus 31%) [36] (full text). Questi risultati sono stati confermati anche da uno studio successivo analogo [50].

Numerosi studi hanno inoltre evidenziato un peggioramento significativo del grado di anemia dopo shift da CNI a SRL, suggerendo così un possibile rapporto di causa-effetto. Lo studio di Thauvat e coll. ha mostrato come nell'86.9% dei pazienti con nefropatia cronica del trapianto o di tossicità da CNI in cui si era proceduto allo shift da CNI a SRL, i livelli di Hb sierica erano significativamente ridotti (mediamente di 2.5 g/dL di Hb) [51]. Risultati simili sono stati ottenuti anche dal lavoro di Maiorano e coll. [52] e di Diekmann e coll. [53] (full text). Anche lo studio CONVERT ha documentato la presenza di anemia nel 37.4% dei pazienti convertiti a SRL, rispetto al 18.7% dei pazienti che hanno mantenuto CNI [54].

Come SRL anche EVR si può associare allo sviluppo di anemia [55] [56] (full text). Infatti nello studio B251 è riportato un incremento significativo di manifestazioni cliniche legate all'anemia dopo 36 mesi dall'introduzione di EVR alla dose di 1.5 mg/die e 3 mg/die, rispetto al gruppo con MMF (32.1% e 39.2% rispettivamente versus 21.4% del gruppo con MMF) [57].

Sono stati proposti diversi meccanismi responsabili dell'anemia in corso di terapia con mTOR-I, ma i meccanismi biologici e molecolari sottostanti non sono ancora completamente conosciuti. Nei pazienti in trattamento con SRL e EVR l'anemia sembra secondaria ad un effetto antiproliferativo di tali molecole sui progenitori midollari e ad una azione diretta sull'omeostasi del ferro [58] (full text). Inoltre, come documentato dallo studio di Thauvat e coll. del 2005, vi è una stretta correlazione tra stato infiammatorio cronico e anemia in corso di terapia con mTOR-I. Inoltre, gli stessi Autori hanno ipotizzato che SRL possa determinare nei pazienti trapiantati una perdita del bilancio di citochine infiammatorie con conseguente formazione di una risposta infiammatoria paradossa e successiva comparsa delle manifestazioni cliniche, in parte attribuibili alla comparsa di anemia SRL-associata, quali sideropenia e microinfiammazione [59] (full text). Analogamente Sanchez Fructuoso e coll. [55] hanno evidenziato la comparsa di anemia associata a sideropenia e microinfiammazione dopo conversione da CNI a EVR.

Alla luce delle elevate frequenze di anemia nei pazienti in trattamento con mTOR-I è necessario valutare e trattare adeguatamente l'anemia in questi pazienti. Generalmente non è necessario ricorrere alle emotrasfusioni nel corso del pre-, peri- e post-trapianto ma, in caso di necessità, è fondamentale utilizzare un pretrattamento di filtrazione leucocitaria così da ridurre i rischi di sensibilizzazione e trasmissione di infezioni virali (incluso il CMV). Utile è l'introduzione di agenti stimolanti l'eritropoiesi (ESA), che risultano tuttavia maggiormente efficaci dopo correzione delle specifiche cause di anemia [38] (full text) [39] (full text). È stato dimostrato che l'introduzione precoce di ESA nel post-trapianto accelera la tempistica della correzione dell'anemia [60] (full text) [61]. Inoltre è fondamentale la supplementazione marziale, che nei pazienti con sideropenia può correggere da sola l'anemia. Infatti la carenza di ferro è frequente nel post-trapianto e il trattamento marziale riduce l'incidenza di anemia a sei mesi [62] [63].

3.2 Leucopenia e trombocitopenia

Fin dai primi trial clinici condotti con SRL nel 1996 era emerso come leucopenia e trombocitopenia fossero dei comuni effetti collaterali degli inibitori di mTOR; questi eventi avversi erano inoltre la più comune causa di sospensione del farmaco [44] [45] [64]. Durante i primi due mesi di trattamento nel 20% dei pazienti nefrotrapiantati compaiono leucopenia e trombocitopenia dose-dipendenti [65].

Lo studio randomizzato multicentrico condotto da Groth e coll. prevedeva due gruppi di pazienti nefrotrapiantati da donatore cadavere, uno randomizzato per CsA (n = 42) e uno per SRL (n = 41) in associazione a steroide e azatioprina; la comparsa di leucopenia e trombocitopenia era appannaggio del gruppo con SRL ed entrambi tendevano al miglioramento dopo il secondo mese, quando il livello ematico di riferimento passava da 30 a 15 ng/mL [45]. In un altro studio comprendente 78 nefrotrapiantati provenienti da 14 centri europei il tasso di incidenza di trombocitopenia era più alto nei 40 pazienti in trattamento con SRL, rispetto ai 38 pazienti in trattamento con CNI (45% versus 8%) [46]; in entrambi i gruppi i pazienti ricevevano MMF alla dose di 2 g/due associato a corticosteroide e nei pazienti in trattamento con SRL il livello ematico di riferimento era 30 ng/mL nei primi due mesi e 15 ng/mL successivamente.

Analogamente a SRL anche EVR si associa alla comparsa di leucopenia e trombocitopenia, come confermato dallo studio condotto da Kovarik e coll. su pazienti nefrotrapiantati in trattamento cronico con EVR, in cui l'incidenza di leucopenia era 11-19% e di trombocitopenia 10-17% [66].

Una delle ipotesi formulate per spiegare in vitro l'effetto mielosoppressivo degli inibitori di mTOR prevede un possibile ruolo nel potenziare la distruzione degli aggregati piastrinici. L'esposizione di mTOR-I sulle piastrine infatti incrementa la sensibilità all'adenosina difosfato e/o al peptide agonista del recettore per la trombina con conseguente incremento dell'aggregazione piastrinica e della secrezione dei granulociti [67] (full text). Un'ipotesi alternativa prevederebbe invece un ruolo di SRL sull'inibizione della trasduzione del segnale della catena del gb130beta, componente fondamentale di diversi recettori per le citochine, tra cui interleuchina 11 [68] (full text), il fattore stimolante le colonie dei granulociti e l'eritropoietina che inducono rispettivamente la produzione di piastrine, leucociti ed eritrociti [69] (full text).

Solitamente la leucopenia e la trombocitopenia indotte dal farmaco si auto-limitano; infatti solo il 7% dei pazienti richiedono una riduzione del dosaggio e solo il 4% una temporanea sospensione. In nessun paziente è stata necessaria la sospensione permanente del farmaco. Quando invece è necessaria la riduzione della dose farmacologica, gli effetti avversi tendono ad attenuarsi già dopo 24 ore e dopo 50 giorni vi è una completa scomparsa degli stessi in quasi la totalità dei pazienti [65].

Disordini metabolici

Gli effetti metabolici più comuni in corso di trattamento con mTOR-I coinvolgono il metabolismo glucidico e lipidico. La prevenzione, la diagnosi precoce e il trattamento di queste complicanze hanno un impatto significativo sulla sopravvivenza a lungo termine di questi pazienti.

4.1 Iperdislipidemia

La dislipidemia è uno dei fattori di rischio cardiovascolari di maggiore importanza nel post-trapianto in termini di morbilità e mortalità [69] (full text).

Diversi lavori riportano come gli mTOR-I siano tra i maggiori responsabili della iperdislipidemia nel post-trapianto; essi infatti incrementano HDL (high-density lipoproteins), LDL (low-density lipoproteins), colesterolemia e trigliceridi approssimativamente dal 40 al 75% nei pazienti in terapia con mTOR-I [4] [4] (full text) [70] (full text) [71] [72] (full text). Allo stesso tempo causano una up-regolazione della aP2 (adipocyte fatty acid-binding protein) espressa a livello di macrofagi e monociti che svolge un ruolo chiave nell'accumulo di trigliceridi [73].

L'effetto iperlipidemizzante degli mTOR-I costituisce un problema clinico di fondamentale importanza; infatti il rischio di eventi cardiovascolari aumenta di 50 volte nei pazienti nefrotrapiantati rispetto alla popolazione generale ed è causa di un terzo di tutte le cause di morte [74].

Uno studio condotto da Morrisett e coll. ha osservato come i livelli di colesterolo e trigliceridi aumentino già dopo 2-4 settimane dall'avvio della terapia e come ritornino ai livelli basali dopo 8 settimane dalla sospensione del trattamento. Ciò dimostra che le alterazioni del metabolismo lipidico sono reversibili e dose-dipendenti [75] (full text). L'utilizzo delle statine (inibitori di HMG-CoA) da sole o in associazione a farmaci di seconda linea restano la strategia terapeutica principale della dislipidemia indotta da mTOR-I [76] (full text).

4.2 Diabete post-trapianto

Il diabete post-trapianto è una complicanza frequente dei pazienti sottoposti a trapianto renale [77]. Solo alcuni studi clinici hanno documentato una associazione tra SRL e i suoi analoghi e la comparsa di iperglicemia [78] [79] (full text) [80] [81]. I meccanismi responsabili dell'associazione tra SRL e insorgenza di diabete NOD (new-onset diabetes) non sono chiaramente definiti. SRL agisce su mTOR, una serin/treonina chinasi coinvolta nella trasmissione del segnale di diversi fattori di crescita che mediano la traduzione proteica con variabili sistemi effettori. Alcune condizioni fisiologiche tra cui l'iperinsulinemia promuovono la fosforilazione di complessi serina/treonina a livello del recettore per l'insulina con conseguente inibizione di funzione e degradazione dello stesso. Una iperattivazione della cascata mTOR-S6K esercita una inibizione delle attività a valle del complesso insulina/PI3-K, tra cui AKT, con conseguente insulino-resistenza [82] (full text) [83] (full text). Alla luce di questo meccanismo gli mTOR-I dovrebbero prevenire l'insorgenza di insulino-resistenza.

Di Paolo e coll. [82] (full text) hanno studiato un gruppo di 30 pazienti in trattamento con SRL in cui era presente una inattesa riduzione del segnale dei recettori insulinici e della attività di AKT, spiegando così le alterazioni del metabolismo glucidico nei pazienti in trattamento con SRL.

Altri meccanismi proposti nella genesi dell'iperglicemia indotta da SRL prevedono la deposizione ectopica di trigliceridi legata all'insulino-resistenza [84] [85] (full text), l'inibizione della sintesi epatica di glucosio mediata dall'insulina oppure una tossicità diretta sulle cellule pancreatiche [86] [87] (full text).

Un'altra interessante ipotesi prevede un coinvolgimento di mTOR nel signaling dell'insulina; in particolare una inibizione della trascrizione e dell'espressione genica dell'insulina, inclusi i trasportatori del glucosio. In particolare, SRL blocca l'incremento della sintesi di GLUT1 mediata dall'insulina attraverso una parziale inibizione della traduzione dell'mRNA di GLUT1 e una parziale inibizione dell'incremento di mRNA di GLUT1, portando così un deficit di uptake di glucosio. Analogamente, mTOR è un induttore della chinasi ribosomiale S6 (S6K), mentre SRL blocca l'attivazione di S6K e induce l'inibizione della stessa

attraverso un blocco della fosforilazione di T389 che altera la trascrizione dell'insulina. Questa attività comporta una alterazione dei livelli ematici di glucosio [88] (full text).

Comunemente si considera necessario nei pazienti con livelli di emoglobina glicosilata $\geq 6.5\%$ l'avvio di agenti ipoglicemizzanti. Nel diabete di tipo 2 è necessario utilizzare un approccio graduale, in cui il primo step è rappresentato da raccomandazioni dietetiche e di stile di vita (controllo del peso, dieta ed esercizio fisico). Il secondo step prevede invece l'utilizzo di agenti ipoglicemizzanti. La scelta del farmaco deve essere ponderata in base a diversi fattori legati al paziente, alla funzione renale (diversi farmaci sono infatti eliminati per via renale), ad eventuali effetti collaterali e alla potenzialità di interazione con i farmaci immunosoppressivi (il metabolismo sia di CNI che di mTOR-I coinvolge la famiglia di citocromo P450, in particolare CYP3A4/5). Il terzo step prevede la combinazione di due o più ipoglicemizzanti orali in associazione, tenendo presente che l'uso di terapie combinate non è mai stata valutata nei pazienti nefrotrapiantati. Il quarto step prevede l'avvio dell'insulina da sola o in associazione ad ipoglicemizzanti orali. Se i target glicemici non fossero raggiunti nell'arco di 2-4 mesi è necessario agire sullo stile di vita del paziente e il passaggio allo step di intervento successivo [77].

Per quanto riguarda la gestione della terapia immunosoppressiva nei pazienti in trattamento con mTOR-I che sviluppino diabete non vi è consenso univoco; il passaggio a ciclosporina deve essere preso in considerazione in una popolazione selezionata di pazienti anche alla luce della assenza, allo stato attuale, di trial clinici randomizzati sull'argomento.

Uno studio condotto da Teutonico e coll ha analizzato i risultati ottenuti dopo la sospensione di CNI e l'avvio di SRL al fine di migliorare il profilo glicometabolico nei pazienti trapiantati di rene; i risultati hanno tuttavia suggerito un peggioramento dell'insulino-resistenza e una ridotta risposta all'insulina [79] (full text).

Sfortunatamente dati clinici sull'utilizzo di EVR sono carenti.

Linfedema

Uno studio condotto da Langer e Kahanshows ha documentato la presenza di linfocele nel 38% dei pazienti in trattamento con ciclosporina, steroide e SRL [89]. La comparsa di linfedema è una relativamente rara complicanza della terapia con mTOR-I [90] [91] [92] [93] (full text), ma i meccanismi biologici e fisiologici alla base di questa associazione non sono noti.

Aboujaoude e coll. hanno ipotizzato che la comparsa di linfedema possa essere associata ad un incremento del flusso linfatico e alla presenza di un danno linfatico secondario all'intervento chirurgico, associati inoltre ad un incremento della permeabilità vascolare e ad una vasodilatazione indotte da SRL [94]. Inoltre, Huber et al. hanno ipotizzato una potenzialità anti-linfoangiogenetica degli inibitori di mTOR come causa dello stato edematoso. In particolare, hanno dimostrato come la rapamicina possa compromettere il segnale a valle del VEGF-A attraverso una inibizione del complesso mTOR/p70S6K nelle cellule linfatiche endoteliali (LEC) e come essa interferisca con il complesso di attivazione intracellulare di LEC mediato da VEGF-C, il principale promotore della linfoangiogenesi. L'attività anti-linfoangiogenetica non è limitata ad un solo inibitore di mTOR ma generalmente al fenomeno della inibizione di mTOR [95].

Dopo aver posto diagnosi di patologia linfatica secondaria all'uso di mTOR-I è necessario escludere altre potenziali cause come la presenza di neoplasie, infezioni, ostruzioni venose o una predisposizione genetica. Per la diagnosi differenziale è utile eseguire un RX torace, uno studio Tc o ultrasonografico.

Allo stato attuale la riduzione o la sospensione del farmaco sono l'unica strategia terapeutica nei pazienti con linfedema.

Malattie cardiovascolari

I pazienti trapiantati di rene hanno un rischio aumentato di sviluppare precocemente patologie cardiovascolari (CV), che sono la causa principale di decesso con graft funzionante [96]. Il rischio di eventi cardiovascolari nei pazienti in trattamento con mTOR-I può essere correlato all'ipercolesterolemia, all'ipertrigliceridemia e alla comparsa di diabete. Allo stato attuale tuttavia nessun lavoro (nemmeno i grossi trial clinici) ha dimostrato che la presenza di fattori di rischio cardiovascolari comporti un effettivo incremento dell'incidenza di eventi CV o malattie CV.

Eventi avversi cutanei

Gli effetti collaterali clinicamente evidenti a livello cutaneo degli mTOR-I comprendono edema, acne, epistassi, afte e vasculiti. Mahè e coll. hanno valutato la comparsa di lesioni dermatologiche in tutti in pazienti trapiantati di rene in trattamento con SRL. Gli eventi avversi cutanei maggiormente osservati sono infezioni, edema, alterazioni ugueali e delle mucose [97].

Alterazione della ferita chirurgica

Il trattamento con SRL si associa con una elevata incidenza di problemi a carico della guarigione della ferita chirurgica rispetto ad altri farmaci immunosoppressori [98] (full text) [99] [100] [101]. Tale effetto sembrerebbe correlato alla inibizione da parte di SRL della trasduzione del segnale dei fattori di crescita di fibroblasti ed endotelio [102]. Uno studio condotto da Knight et al. ha valutato i fattori di rischio per complicanze della ferita chirurgica (quali infezioni, linfoceli, ernie incisionali) nei pazienti trapiantati di rene in trattamento con SRL. I risultati dello studio evidenziavano come un terzo dei pazienti sviluppi almeno una delle complicanze della ferita chirurgica ad un anno dal trapianto. Fattori di rischio indipendenti per lo sviluppo di tali complicanze erano età, obesità, razza Caucasica ed elevate dosi di SRL nei primi giorni post-trapianto. Gli autori concludevano raccomandando di evitare l'utilizzo di elevate dosi di SRL e di introdurre il farmaco più tardivamente, in particolare nei pazienti Caucasic, di età avanzata e con BMI > 30 [103].

Infezioni

L'insorgenza di infezioni severe è una causa frequente di sospensione della terapia con mTOR-I [18] [104] [105] e una delle principali cause di decesso nel paziente trapiantato di rene [106] [107]. In particolare, diversi studi biomolecolari hanno mostrato come SRL sia in grado di inibire la proliferazione dei linfociti T attivati mediata da IL-12 [108] e la conseguente produzione di IFN- γ . Entrambe queste citochine svolgono un ruolo chiave nella protezione immunitaria verso i batteri intracellulari (ad es. micobatterio) [109] (full text).

Diverse evidenze della letteratura inoltre suggeriscono che schemi terapeutici basati su SRL o EVR siano associati ad un minor tasso di infezioni da CMV, rispetto ad altri immunosoppressori [106] [110]. I meccanismi alla base di tale associazione sembrerebbero secondari ad una inibizione da parte di mTOR-I sulla replicazione del CMV. Come ogni organismo intracellulare obbligato, il CMV utilizza il sistema metabolico intrinseco della cellula ospite per la sintesi proteica dei componenti necessari per la replicazione virale. Dato che il complesso

mTOR svolge un ruolo chiave nella sintesi proteica cellulare, l'inibizione mediata da SRL è in grado di bloccare la replicazione virale. Modelli sperimentali di infezione da CMV dimostrano come SRL sia in grado di compromettere, ma non completamente prevenire, la replicazione di CMV, per cui sicuramente devono essere coinvolti altri meccanismi [111] (full text).

Tuttavia sono necessari ulteriori studi volti a valutare i complessi meccanismi biologici e biomolecolari sottostanti e trial clinici randomizzati con una profilassi antivirale omogenea, una definizione standardizzata e una adeguata analisi statistica per confermare tali osservazioni cliniche.

Bibliografia

- [1] Geissler EK, Schlitt HJ, Thomas G et al. mTOR, cancer and transplantation. *American journal of transplantation* : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons 2008 Nov;8(11):2212-8 (full text)
- [2] Chapman JR, Valantine H, Albanell J et al. Proliferation signal inhibitors in transplantation: questions at the cutting edge of everolimus therapy. *Transplantation proceedings* 2007 Dec;39(10):2937-50
- [3] Sehgal SN Rapamune (RAPA, rapamycin, sirolimus): mechanism of action immunosuppressive effect results from blockade of signal transduction and inhibition of cell cycle progression. *Clinical biochemistry* 1998 Jul;31(5):335-40
- [4] Morath C, Arns W, Schwenger V et al. Sirolimus in renal transplantation. *Nephrology, dialysis, transplantation* : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association 2007 Sep;22 Suppl 8:viii61-viii65 (full text)
- [5] Paoletti E, Ratto E, Bellino D et al. Effect of early conversion from CNI to sirolimus on outcomes in kidney transplant recipients with allograft dysfunction. *Journal of nephrology* 2012 Sep-Oct;25(5):709-18 (full text)
- [6] Schena FP, Pascoe MD, Alberu J et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation* 2009 Jan 27;87(2):233-42
- [7] Pallet N, Legendre C Adverse events associated with mTOR inhibitors. *Expert opinion on drug safety* 2013 Mar;12(2):177-86
- [8] Stallone G, Infante B, Grandaliano G et al. Management of side effects of sirolimus therapy. *Transplantation* 2009 Apr 27;87(8 Suppl):S23-6
- [9] Wander SA, Hennessy BT, Slingerland JM et al. Next-generation mTOR inhibitors in clinical oncology: how pathway complexity informs therapeutic strategy. *The Journal of clinical investigation* 2011 Apr;121(4):1231-41
- [10] Cen P, Amato RJ Treatment of advanced pancreatic neuroendocrine tumors: potential role of everolimus. *Oncotargets and therapy* 2012;5:217-24 (full text)
- [11] Kwiatkowski DJ Tuberous sclerosis: from tubers to mTOR. *Annals of human genetics* 2003 Jan;67(Pt 1):87-96
- [12] Stallone G, Schena A, Infante B et al. Sirolimus for Kaposi's sarcoma in renal-transplant recipients. *The New England journal of medicine* 2005 Mar 31;352(13):1317-23 (full text)
- [13] Trinh XB, Tjalma WA, Vermeulen PB et al. The VEGF pathway and the AKT/mTOR/p70S6K1 signalling pathway in human epithelial ovarian cancer. *British journal of cancer* 2009 Mar 24;100(6):971-8 (full text)
- [14] Advani SH Targeting mTOR pathway: A new concept in cancer therapy. *Indian journal of medical and paediatric oncology* : official journal of Indian Society of Medical & Paediatric Oncology 2010 Oct;31(4):132-6 (full text)
- [15] Andrés V, Castro C, Campistol JM et al. Potential role of proliferation signal inhibitors on atherosclerosis in renal transplant patients. *Nephrology, dialysis, transplantation* : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association 2006 Jul;21 Suppl 3:iii14-7 (full text)
- [16] Grantham JJ, Bennett WM, Perrone RD et al. mTOR inhibitors and autosomal dominant polycystic kidney disease. *The New England journal of medicine* 2011 Jan 20;364(3):286-7; author reply 287-9
- [17] Shillingford JM, Leamon CP, Vlahov IR et al. Folate-conjugated rapamycin slows progression of polycystic kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 2012 Oct;23(10):1674-81 (full text)
- [18] Sánchez-Fructuoso AI, Ruiz JC, Pérez-Flores I et al. Comparative analysis of adverse events requiring suspension of mTOR inhibitors: everolimus versus sirolimus. *Transplantation proceedings* 2010 Oct;42(8):3050-2
- [19] Morelon E, Stern M, Israël-Biet D et al. Characteristics of sirolimus-associated interstitial pneumonitis in renal transplant patients. *Transplantation* 2001 Sep 15;72(5):787-90
- [20] Errasti P, Izquierdo D, Martín P et al. Pneumonitis associated with mammalian target of rapamycin inhibitors in renal transplant recipients: a single-center experience. *Transplantation proceedings* 2010 Oct;42(8):3053-4
- [21] Rodríguez-Moreno A, Ridao N, García-Ledesma P et al. Sirolimus and everolimus induced pneumonitis in adult renal allograft recipients: experience in a center. *Transplantation proceedings* 2009 Jul-Aug;41(6):2163-5
- [22] Alexandru S, Ortiz A, Baldovi S et al. Severe everolimus-associated pneumonitis in a renal transplant recipient. *Nephrology*,

dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association 2008 Oct;23(10):3353-5 (full text)

[23] Molas-Ferrer G, Soy-Muner D, Anglada-Martínez H et al. Interstitial pneumonitis as an adverse reaction to mTOR inhibitors. *Nefrologia : publicación oficial de la Sociedad Española Nefrología* 2013;33(3):297-300 (full text)

[24] Champion L, Stern M, Israël-Biet D et al. Brief communication: sirolimus-associated pneumonitis: 24 cases in renal transplant recipients. *Annals of internal medicine* 2006 Apr 4;144(7):505-9

[25] Pham PT, Pham PC, Danovitch GM et al. Sirolimus-associated pulmonary toxicity. *Transplantation* 2004 Apr 27;77(8):1215-20

[26] Vandewiele B, Vandecasteele SJ, Vanwalleghem L et al. Diffuse alveolar hemorrhage induced by everolimus. *Chest* 2010 Feb;137(2):456-9

[27] Vlahakis NE, Rickman OB, Morgenthaler T et al. Sirolimus-associated diffuse alveolar hemorrhage. *Mayo Clinic proceedings* 2004 Apr;79(4):541-5

[28] Howard L, Gopalan D, Griffiths M et al. Sirolimus-induced pulmonary hypersensitivity associated with a CD4 T-cell infiltrate. *Chest* 2006 Jun;129(6):1718-21

[29] Mohr LC Hypersensitivity pneumonitis. *Current opinion in pulmonary medicine* 2004 Sep;10(5):401-11

[30] White DA, Camus P, Endo M et al. Noninfectious pneumonitis after everolimus therapy for advanced renal cell carcinoma. *American journal of respiratory and critical care medicine* 2010 Aug 1;182(3):396-403

[31] Albiges L, Chamming's F, Duclos B et al. Incidence and management of mTOR inhibitor-associated pneumonitis in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Annals of oncology : official journal of the European Society for Medical Oncology / ESMO* 2012 Aug;23(8):1943-53 (full text)

[32] Kirby S, Satoskar A, Brodsky S et al. Histological spectrum of pulmonary manifestations in kidney transplant recipients on sirolimus inclusive immunosuppressive regimens. *Diagnostic pathology* 2012 Mar 14;7:25 (full text)

[33] Weiner SM, Sellin L, Vonend O et al. Pneumonitis associated with sirolimus: clinical characteristics, risk factors and outcome--a single-centre experience and review of the literature. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2007 Dec;22(12):3631-7 (full text)

[34] Chen SF, Chiang YJ, Huang CC et al. Sirolimus-induced interstitial pneumonitis in a renal transplant recipient. *Journal of the Formosan Medical Association = Taiwan yi zhi* 2003 Aug;102(8):570-3

[35] Schrader J, Sterneck M, Klose H et al. Everolimus-induced pneumonitis: report of the first case in a liver transplant recipient and review of treatment options. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 2010 Jan;23(1):110-3

[36] Augustine JJ, Knauss TC, Schulak JA et al. Comparative effects of sirolimus and mycophenolate mofetil on erythropoiesis in kidney transplant patients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2004 Dec;4(12):2001-6 (full text)

[37] Sofroniadou S, Goldsmith D Mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors: potential uses and a review of haematological adverse effects. *Drug safety : an international journal of medical toxicology and drug experience* 2011 Feb 1;34(2):97-115

[38] Vanrenterghem Y, Ponticelli C, Morales JM et al. Prevalence and management of anemia in renal transplant recipients: a European survey. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2003 Jul;3(7):835-45 (full text)

[39] Winkelmayer WC, Chandraker A Pottransplantation anemia: management and rationale. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2008 Mar;3 Suppl 2:S49-55 (full text)

[40] Mix TC, Kazmi W, Khan S et al. Anemia: a continuing problem following kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2003 Nov;3(11):1426-33 (full text)

[41] Yorgin PD, Belson A, Sanchez J, et al. Unexpectedly high prevalence of posttransplant anemia in pediatric and young adult renal transplant recipients. *American Journal of Kidney Diseases*. 2002;40(6):1306-1318

[42] Kim HC, Park SB, Han SY et al. Anemia following renal transplantation. *Transplantation proceedings* 2003 Feb;35(1):302-3

[43] Mahmud SN, Aziz R, Ahmed E et al. Anemia characteristics after renal transplantation. *Transplantation proceedings* 2002 Sep;34(6):2428

[44] Kahan BD, Podbielski J, Napoli KL et al. Immunosuppressive effects and safety of a sirolimus/cyclosporine combination regimen for renal transplantation. *Transplantation* 1998 Oct 27;66(8):1040-6

[45] Groth CG, Bäckman L, Morales JM et al. Sirolimus (rapamycin)-based therapy in human renal transplantation: similar efficacy and different toxicity compared with cyclosporine. *Sirolimus European Renal Transplant Study Group. Transplantation* 1999 Apr 15;67(7):1036-42

[46] Kreis H, Cisterne JM, Land W et al. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000 Apr 15;69(7):1252-60

[47] MacDonald AS, RAPAMUNE Global Study Group A worldwide, phase III, randomized, controlled, safety and efficacy study of a sirolimus/cyclosporine regimen for prevention of acute rejection in recipients of primary mismatched renal allografts. *Transplantation* 2001 Jan 27;71(2):271-80

[48] Larson TS, Dean PG, Stegall MD et al. Complete avoidance of calcineurin inhibitors in renal transplantation: a randomized trial comparing sirolimus and tacrolimus. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2006 Mar;6(3):514-22 (full text)

[49] Friend P, Russ G, Oberbauer R et al. Incidence of anemia in sirolimus-treated renal transplant recipients: the importance of preserving renal function. *Transplant international : official journal of the European Society for Organ Transplantation* 2007 Sep;20(9):754-60

[50] Turkowski-Duhem A, Kamar N, Cointault O et al. Predictive factors of anemia within the first year post renal transplant. *Transplantation* 2005 Oct 15;80(7):903-9

- [51] Thauinat O, Beaumont C, Chatenoud L et al. Anemia after late introduction of sirolimus may correlate with biochemical evidence of a chronic inflammatory state. *Transplantation* 2005 Nov 15;80(9):1212-9
- [52] Maiorano A, Stallone G, Schena A et al. Sirolimus interferes with iron homeostasis in renal transplant recipients. *Transplantation* 2006 Oct 15;82(7):908-12
- [53] Diekmann F, Budde K, Oppenheimer F et al. Predictors of success in conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus in chronic allograft dysfunction. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2004 Nov;4(11):1869-75 (full text)
- [54] Russ G, Schena FP, Oberbauer R, et al. Incidence and treatment of anemia after conversion to sirolimus vs continuation of calcineurin inhibitors in renal allograft recipients: 2-year results from the CONVERT trial. Presented at: American Society of Nephrology Renal Week 2006; November 2006; San Diego, California. *Journal of the American Society of Nephrology* 2006; 17: 18A
- [55] Sánchez Fructuoso A, Calvo N, Moreno MA et al. Study of anemia after late introduction of everolimus in the immunosuppressive treatment of renal transplant patients. *Transplantation proceedings* 2007 Sep;39(7):2242-4
- [56] Vitko S, Margreiter R, Weimar W et al. Three-year efficacy and safety results from a study of everolimus versus mycophenolate mofetil in de novo renal transplant patients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2005 Oct;5(10):2521-30 (full text)
- [57] Lorber MI, Mulgaonkar S, Butt KM et al. Everolimus versus mycophenolate mofetil in the prevention of rejection in de novo renal transplant recipients: a 3-year randomized, multicenter, phase III study. *Transplantation* 2005 Jul 27;80(2):244-52
- [58] Diekmann F, Rovira J, Diaz-Ricart M et al. mTOR inhibition and erythropoiesis: microcytosis or anaemia? *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2012 Feb;27(2):537-41 (full text)
- [59] Buron F, Malvezzi P, Villar E et al. Profiling sirolimus-induced inflammatory syndrome: a prospective tricentric observational study. *PLoS one* 2013;8(1):e53078 (full text)
- [60] McDevitt LM, Smith LD, Somerville KT et al. A retrospective assessment of pre-treatment variables on the response to darbepoetin alfa after renal transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2005 Aug;5(8):1948-56 (full text)
- [61] Van Biesen W, Vanholder R, Veys N et al. Efficacy of erythropoietin administration in the treatment of anemia immediately after renal transplantation. *Transplantation* 2005 Feb 15;79(3):367-8
- [62] Moore LW, Smith SO, Winsett RP et al. Factors affecting erythropoietin production and correction of anemia in kidney transplant recipients. *Clinical transplantation* 1994 Aug;8(4):358-64
- [63] Teruel JL, Lamas S, Vila T et al. Serum ferritin levels after renal transplantation: a prospective study. *Nephron* 1989;51(4):462-5
- [64] Murgia MG, Jordan S, Kahan BD et al. The side effect profile of sirolimus: a phase I study in quiescent cyclosporine-prednisone-treated renal transplant patients. *Kidney international* 1996 Jan;49(1):209-16
- [65] Hong JC, Kahan BD Sirolimus-induced thrombocytopenia and leukopenia in renal transplant recipients: risk factors, incidence, progression, and management. *Transplantation* 2000 May 27;69(10):2085-90
- [66] Kovarik JM, Kaplan B, Tedesco Silva H et al. Exposure-response relationships for everolimus in de novo kidney transplantation: defining a therapeutic range. *Transplantation* 2002 Mar 27;73(6):920-5
- [67] Babinska A, Markell MS, Salifu MO et al. Enhancement of human platelet aggregation and secretion induced by rapamycin. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 1998 Dec;13(12):3153-9 (full text)
- [68] Paul SR, Bennett F, Calvetti JA et al. Molecular cloning of a cDNA encoding interleukin 11, a stromal cell-derived lymphopoietic and hematopoietic cytokine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 1990 Oct;87(19):7512-6 (full text)
- [69] Quesniaux VF, Wehrli S, Steiner C et al. The immunosuppressant rapamycin blocks in vitro responses to hematopoietic cytokines and inhibits recovering but not steady-state hematopoiesis in vivo. *Blood* 1994 Sep 1;84(5):1543-52 (full text)
- [70] Flechner SM, Glyda M, Cockfield S et al. The ORION study: comparison of two sirolimus-based regimens versus tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2011 Aug;11(8):1633-44 (full text)
- [71] Brattström C, Wilczek HE, Tydén G et al. Hypertriglyceridemia in renal transplant recipients treated with sirolimus. *Transplantation proceedings* 1998 Dec;30(8):3950-1
- [72] Ekberg H, Bernasconi C, Nöldeke J et al. Cyclosporine, tacrolimus and sirolimus retain their distinct toxicity profiles despite low doses in the Symphony study. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association* 2010 Jun;25(6):2004-10 (full text)
- [73] Liu QY, Nambi P Sirolimus upregulates aP2 expression in human monocytes and macrophages. *Transplantation proceedings* 2004 Dec;36(10):3229-31
- [74] Kiberd BA Cardiovascular risk reduction in renal transplantation. Strategies for success. *Minerva urologica e nefrologica = The Italian journal of urology and nephrology* 2002 Jun;54(2):51-63
- [75] Morrisett JD, Abdel-Fattah G, Hoogeveen R et al. Effects of sirolimus on plasma lipids, lipoprotein levels, and fatty acid metabolism in renal transplant patients. *Journal of lipid research* 2002 Aug;43(8):1170-80 (full text)
- [76] Kasiske BL, de Mattos A, Flechner SM et al. Mammalian target of rapamycin inhibitor dyslipidemia in kidney transplant recipients. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2008 Jul;8(7):1384-92 (full text)
- [77] Ghisda L, Van Laecke S, Abramowicz MJ et al. New-onset diabetes after renal transplantation: risk assessment and management. *Diabetes care* 2012 Jan;35(1):181-8
- [78] Romagnoli J, Citterio F, Nanni G et al. Incidence of posttransplant diabetes mellitus in kidney transplant recipients immunosuppressed with sirolimus in combination with cyclosporine. *Transplantation proceedings* 2006 May;38(4):1034-6

- [79] Teutonico A, Schena PF, Di Paolo S et al. Glucose metabolism in renal transplant recipients: effect of calcineurin inhibitor withdrawal and conversion to sirolimus. *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 2005 Oct;16(10):3128-35 (full text)
- [80] Ciancio G, Burke GW, Gaynor JJ et al. A randomized long-term trial of tacrolimus/sirolimus versus tacrolimus/mycophenolate mofetil versus cyclosporine (NEORAL)/sirolimus in renal transplantation. II. Survival, function, and protocol compliance at 1 year. *Transplantation* 2004 Jan 27;77(2):252-8
- [81] Sulanc E, Lane JT, Puumala SE et al. New-onset diabetes after kidney transplantation: an application of 2003 International Guidelines. *Transplantation* 2005 Oct 15;80(7):945-52
- [82] Di Paolo S, Teutonico A, Leogrande D et al. Chronic inhibition of mammalian target of rapamycin signaling downregulates insulin receptor substrates 1 and 2 and AKT activation: A crossroad between cancer and diabetes? *Journal of the American Society of Nephrology* : JASN 2006 Aug;17(8):2236-44 (full text)
- [83] Hay N, Sonenberg N Upstream and downstream of mTOR. *Genes & development* 2004 Aug 15;18(16):1926-45 (full text)
- [84] Lewis GF, Carpentier A, Adeli K et al. Disordered fat storage and mobilization in the pathogenesis of insulin resistance and type 2 diabetes. *Endocrine reviews* 2002 Apr;23(2):201-29
- [85] Mittelman SD, Bergman RN Inhibition of lipolysis causes suppression of endogenous glucose production independent of changes in insulin. *American journal of physiology. Endocrinology and metabolism* 2000 Sep;279(3):E630-7 (full text)
- [86] Bussiere CT, Lakey JR, Shapiro AM et al. The impact of the mTOR inhibitor sirolimus on the proliferation and function of pancreatic islets and ductal cells. *Diabetologia* 2006 Oct;49(10):2341-9
- [87] Kwon G, Marshall CA, Liu H et al. Glucose-stimulated DNA synthesis through mammalian target of rapamycin (mTOR) is regulated by KATP channels: effects on cell cycle progression in rodent islets. *The Journal of biological chemistry* 2006 Feb 10;281(6):3261-7 (full text)
- [88] Taha C, Liu Z, Jin J et al. Opposite translational control of GLUT1 and GLUT4 glucose transporter mRNAs in response to insulin. Role of mammalian target of rapamycin, protein kinase b, and phosphatidylinositol 3-kinase in GLUT1 mRNA translation. *The Journal of biological chemistry* 1999 Nov 12;274(46):33085-91 (full text)
- [89] Langer RM, Kahan BD Incidence, therapy, and consequences of lymphocele after sirolimus-cyclosporine-prednisone immunosuppression in renal transplant recipients. *Transplantation* 2002 Sep 27;74(6):804-8
- [90] Romagnoli J, Citterio F, Nanni G et al. Severe limb lymphedema in sirolimus-treated patients. *Transplantation proceedings* 2005 Mar;37(2):834-6
- [91] Al-Otaibi T, Ahamed N, Nampoory MR et al. Lymphedema: an unusual complication of sirolimus therapy. *Transplantation proceedings* 2007 May;39(4):1207-10
- [92] De Bartolomeis C, Collini A, Rumberger B et al. Generalized lymphedema in a sirolimus-treated renal transplant patient. *Clinical transplantation* 2008 Mar-Apr;22(2):254-7
- [93] Ersoy A, Koca N Everolimus-induced lymphedema in a renal transplant recipient: a case report. *Experimental and clinical transplantation : official journal of the Middle East Society for Organ Transplantation* 2012 Jun;10(3):296-8 (full text)
- [94] Aboujaoude W, Milgrom ML, Govani MV et al. Lymphedema associated with sirolimus in renal transplant recipients. *Transplantation* 2004 Apr 15;77(7):1094-6
- [95] Huber S, Bruns CJ, Schmid G et al. Inhibition of the mammalian target of rapamycin impedes lymphangiogenesis. *Kidney international* 2007 Apr;71(8):771-7
- [96] Jardine AG, Gaston RS, Fellstrom BC et al. Prevention of cardiovascular disease in adult recipients of kidney transplants. *Lancet* 2011 Oct 15;378(9800):1419-27
- [97] Mahé E, Morelon E, Lechaton S et al. Cutaneous adverse events in renal transplant recipients receiving sirolimus-based therapy. *Transplantation* 2005 Feb 27;79(4):476-82
- [98] Valente JF, Hricik D, Weigel K et al. Comparison of sirolimus vs. mycophenolate mofetil on surgical complications and wound healing in adult kidney transplantation. *American journal of transplantation : official journal of the American Society of Transplantation and the American Society of Transplant Surgeons* 2003 Sep;3(9):1128-34 (full text)
- [99] Dean PG, Lund WJ, Larson TS et al. Wound-healing complications after kidney transplantation: a prospective, randomized comparison of sirolimus and tacrolimus. *Transplantation* 2004 May 27;77(10):1555-61
- [100] Gaber AO, Kahan BD, Van Buren C et al. Comparison of sirolimus plus tacrolimus versus sirolimus plus cyclosporine in high-risk renal allograft recipients: results from an open-label, randomized trial. *Transplantation* 2008 Nov 15;86(9):1187-95
- [101] Srivastava A, Muruganandham K, Vinodh PB et al. Post-renal transplant surgical complications with newer immunosuppressive drugs: mycophenolate mofetil vs. m-TOR inhibitors. *International urology and nephrology* 2010 Jun;42(2):279-84
- [102] Nair RV, Huang X, Shorthouse R et al. Antiproliferative effect of rapamycin on growth factor-stimulated human adult lung fibroblasts in vitro may explain its superior efficacy for prevention and treatment of allograft obliterative airway disease in vivo. *Transplantation proceedings* 1997 Feb-Mar;29(1-2):614-5
- [103] Knight RJ, Villa M, Laskey R et al. Risk factors for impaired wound healing in sirolimus-treated renal transplant recipients. *Clinical transplantation* 2007 Jul-Aug;21(4):460-5
- [104] Snyder JJ, Israni AK, Peng Y et al. Rates of first infection following kidney transplant in the United States. *Kidney international* 2009 Feb;75(3):317-26
- [105] Sagedal S, Hartmann A, Nordal KP et al. Impact of early cytomegalovirus infection and disease on long-term recipient and kidney graft survival. *Kidney international* 2004 Jul;66(1):329-37
- [106] Fortun J, Martin-Davila P, Pascual J et al. Immunosuppressive therapy and infection after kidney transplantation. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2010 Oct;12(5):397-405
- [107] Thauat O, Morelon E, Stern M et al. Mycobacterium xenopi pulmonary infection in two renal transplant recipients under sirolimus therapy. *Transplant infectious disease : an official journal of the Transplantation Society* 2004 Dec;6(4):179-82
- [108] Bertagnolli MM, Yang L, Herrmann SH et al. Evidence that rapamycin inhibits interleukin-12-induced proliferation of activated T lymphocytes. *Transplantation* 1994 Nov 27;58(10):1091-6
- [109] Lammas DA, Casanova JL, Kumararatne DS et al. Clinical consequences of defects in the IL-12-dependent interferon-gamma

(IFN-gamma) pathway. *Clinical and experimental immunology* 2000 Sep;121(3):417-25 (full text)

[110] 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 Jun 15;93(11):1075-85

[111] Johnson RA, Wang X, Ma XL et al. Human cytomegalovirus up-regulates the phosphatidylinositol 3-kinase (PI3-K) pathway: inhibition of PI3-K activity inhibits viral replication and virus-induced signaling. *Journal of virology* 2001 Jul;75(13):6022-32 (full text)