

Evidencias en la inmunosupresión de mantenimiento: evitar la nefropatía crónica del injerto y disminuir el riesgo cardiovascular

J.M. Morales, J.M. Campistol, D. Hernández

Nefrología 2009;29(Sup. Ext. 2):10-17.

INTRODUCCIÓN

En la era de la moderna inmunosupresión, los resultados a corto plazo tras el trasplante renal no se corresponden con una mayor supervivencia de los injertos renales a más largo plazo. La elevada morbimortalidad cardiovascular de esta población, la nefropatía crónica del injerto y la alta frecuencia de tumores pueden ser alguna de las razones que justifiquen estos resultados. Por tanto, minimizar o individualizar la inmunosupresión constituye objetivos inexcusables en pacientes con injerto renal en aras de optimizar las tasas de supervivencia en esta población. En esta línea, revisaremos algunas de las estrategias terapéuticas dirigidas a lograr tales objetivos.

SUSPENSIÓN DE ESTEROIDES

Los esteroides son fármacos de primera línea para la prevención del rechazo agudo, pero nadie duda de que su uso se asocia a graves efectos secundarios que incrementan la morbimortalidad postrasplante renal. El advenimiento de los nuevos inmunosupresores ha suscitado el interés por la política de evitar o minimizar la administración de estos fármacos, pero esta estrategia terapéutica no se ha generalizado. Un metaanálisis de Kasiske et al.¹ demostró que la suspensión de esteroides sólo fue segura en enfermos seleccionados (raza blanca o sin rechazos) o de bajo riesgo inmunológico, dado el incremento medio del número de rechazos y la pérdida de injertos renales. Sin embargo, la mayoría de los estudios incluidos en este metaanálisis se realizó en pacientes con doble terapia (prednisona y CsA) o triple terapia con azatioprina, tratamientos que no reflejan las terapias inmunosupresoras actuales de la mayoría de los centros. Un metaanálisis más reciente demostró que la suspensión de esteroides en enfermos que reciben triple tera-

pia (prednisona, CsA y micofenolato) incrementó globalmente la tasa de rechazos agudos (8%), pero esto no tuvo un impacto negativo sobre la supervivencia del injerto.² En esta línea, un estudio controlado de retirada precoz de esteroides (cuarto día) utilizando basiliximab, CsA y MMF mostró una similar tasa de rechazos agudos y de supervivencia del injerto que el grupo control.³ Resultados similares se han observado con tacrolimus y MMF,⁴ así como en la población pediátrica.⁵ Más recientemente, un estudio europeo, multicéntrico, de distribución aleatoria en tres brazos terapéuticos, comparó la eficacia del tratamiento combinado con esteroides, tacrolimus y MMF frente a la retirada de esteroides o MMF. La tasa de rechazos agudos en los primeros seis meses fue similar entre los grupos, con una menor incidencia de efectos adversos en aquellos pacientes sin esteroides o con MMF.⁶ Asimismo, otro ensayo controlado, multicéntrico (*CARMEN Study Group*), que comparó terapia libre de esteroides más daclizumab, tacrolimus y MMF frente a una terapia convencional libre de corticoides junto con daclizumab, mostró una similar tasa de rechazos agudos y un mejor perfil lipídico en el grupo que no recibió esteroides.⁷ Finalmente, la combinación de tacrolimus con rapamicina ha sido poco explorada a tal efecto. Un estudio piloto multicéntrico, no controlado, demostró que el tratamiento con basiliximab, tacrolimus y rapamicina en ausencia de esteroides, ofrecía una aceptable tasa de rechazos (<20%) con mínimos efectos secundarios.⁸ En este sentido, la retirada precoz de esteroides (segundo día) utilizando rapamicina y tacrolimus no confiere a largo plazo (tres años) una mayor tasa de rechazos agudos que otros tratamientos inmunosupresores que incluyen esteroides durante el seguimiento.⁹ Es necesario un seguimiento más prolongado para confirmar estos hallazgos, pero la combinación de un fármaco anticalcineurínico, preferentemente tacrolimus ya que ofrece menos rechazo, con micofenolato mofetil, o en su defecto con sirolimus, podría garantizar una mayor seguridad para la retirada de esteroides en estos enfermos.

Al mismo tiempo, existe un nivel de evidencia adecuado para afirmar que la suspensión de esteroides se asocia a una

Correspondencia: José María Morales Cerdán
Servicio de Nefrología.
Hospital Universitario 12 de Octubre. Madrid.
jmorales@h12o.es

reducción de trastornos metabólicos postrasplante y a una optimización de los parámetros antropométricos relacionados con el riesgo cardiovascular.¹⁰ La retirada de esteroides también disminuye las cifras de tensión arterial¹¹ y, presumiblemente, la hipertrofia ventricular izquierda, lo que sin duda redundará en una disminución del riesgo vascular.

Por tanto, en la práctica clínica se recomienda con un alto nivel de evidencia (grado de recomendación A): a) suspensión de esteroides en pacientes seleccionados (bajo riesgo inmunológico) bajo triple terapia utilizando un anticalcineurínico, preferentemente tacrolimus, más MMF, y b) evitar o retirar esteroides para optimizar el perfil CV.

MINIMIZAR O RETIRAR ANTICALCINEURÍNICOS: EFICACIA DE LOS ANTI-MTOR

Está contrastada la eficacia inmunosupresora de los fármacos anticalcineurínicos, pero éstos contribuyen paradójicamente a la pérdida de los injertos a largo plazo por sus efectos nefrotóxicos. Esto representa actualmente un tema de debate en el campo del trasplante renal. Receptores de trasplantes de otros órganos sólidos presentan una preocupante tasa acumulativa de disfunción renal en relación con la administración de estos fármacos.¹² En el campo del trasplante renal, Solez et al. observaron hace algunos años una elevada proporción de NCI (70%) y de nefrotoxicidad (24%) tras dos años de tratamiento con CsA o tacrolimus, que se acentuaba en aquellos enfermos con rechazo previo.¹³ Asimismo, regímenes terapéuticos sin CsA o con suspensión precoz de la misma muestran una significativa reducción en la tasa de pérdida de los injertos frente a otros tratamientos con anticalcineurínicos.¹⁴ En el estudio de mayor relevancia realizado en los últimos años, llevado a cabo por Nankivell et al., en biopsias de protocolo de receptores renopancreáticos se evidenció que aunque la función renal de estos pacientes era normal a los diez años del trasplante, la nefrotoxicidad crónica por fármacos anticalcineurínicos es un fenómeno prácticamente universal, incluso en injertos con excelentes condiciones clínicas de partida.¹⁵

Estos argumentos apoyan la estrategia de la reducción o retirada de anticalcineurínicos tras el trasplante renal en aras de mejorar las tasas de supervivencia en estos enfermos a largo plazo.¹⁶ Pero, ¿qué evidencias existen de esta conducta terapéutica? El metaanálisis de Kasiske et al. sobre retirada de la inmunosupresión demostró que la suspensión de la CsA no incrementaba el riesgo de pérdida de los injertos, si bien se observó un ascenso medio del número de rechazos del 11%.¹ Un mayor número de incompatibilidades B-DR, la obesidad y los pacientes jóvenes fueron algunos de los factores de riesgo de rechazo agudo tras la suspensión de la CsA.¹⁷ La disponibilidad de nuevos fármacos inmunosupresores como el

MMF y el sirolimus ha incrementado la posibilidad de secundar esta estrategia. De hecho, el MMF puede tener acción sinérgica con los efectos farmacodinámicos de bajas dosis de CsA (C0 <100 ng/ml).¹⁸ Ensayos con pautas de eliminación o reducción de anticalcineurínicos, utilizando estos fármacos auxiliares, han mostrado resultados esperanzadores en cuanto a función renal y parámetros de riesgo cardiovascular.¹⁹⁻²⁶ En estos estudios, que incluyeron pacientes de bajo riesgo inmunológico, el denominador común fue un ligero incremento en la tasa de rechazos agudos (10-20%) frente al grupo control. Sin embargo, la optimización del perfil cardiovascular y la mejoría de la función renal fueron la regla en el grupo experimental, lo cual pudiera ser más notorio en pacientes estables más allá del primer año postrasplante. Dado el impacto negativo de la función renal sobre las tasas de supervivencia del injerto y del paciente,^{27,28} esta medida puede favorecer, sin duda, el pronóstico de esta población. En consonancia con estos argumentos, la eliminación de la CsA en algunos de estos estudios, utilizando un antimetabolito o sirolimus, se asocia a una mayor supervivencia de los injertos y a una menor incidencia y gravedad de las lesiones de NCI tras un largo período de seguimiento en algunos de los estudios.^{25,26} Esta alternativa terapéutica, por tanto, pudiera proporcionar mayores cotas de supervivencia en los injertos renales, al menos en pacientes seleccionados. De hecho, un estudio español diseñado para la retirada de tacrolimus a partir de los tres meses en un régimen combinado con sirolimus, con resultados a uno y dos años, muestra una mejoría de la función renal y de la presión arterial sin una mayor incidencia de proteinuria.^{29,30} Otra estrategia de retirada del anticalcineurínico es la empleada en el estudio Zeus, cuyos resultados preliminares se han presentado recientemente. En un régimen inmunosupresor inicial compuesto por CsA, micofenolato sódico y corticoides con inducción mediante basiliximab, el diseño del estudio contempla la retirada de la CsA e introducción de everolimus a los 4,5 meses del trasplante vs. continuar con CsA. En los resultados preliminares con seguimiento a 12 meses, el FG según Nankivell con everolimus fue de 72,3 vs. 62,2 ml/min en los pacientes que continuaron con CsA (p <0,001), con similar eficacia y seguridad.³¹

Paralelamente a estos trabajos, han surgido otros regímenes terapéuticos más ambiciosos que contemplan la estrategia de evitar los fármacos anticalcineurínicos para mejorar los resultados a largo plazo. En esta dirección, ensayos clínicos con y sin inducción con anticuerpos antilinfocitarios (poli o monoclonales) mostraron una mejor función renal en el grupo que no recibió anticalcineurínicos con similar tasa de rechazos agudos, siempre que se asociara MMF y/o sirolimus.³²⁻³⁴ Finalmente, el bloqueo de la coestimulación con belatacept (LEA29Y) también puede permitir la inmunosupresión sin anticalcineurínicos con mejoría en el perfil cardiovascular.³⁵ En cualquier caso, con esta inmunosupresión se podría frenar la expresión de genes involucrados en la progresión de la

NCI,³⁶ pero queda por aclarar si estos interesantes hallazgos se traducen en una menor incidencia de disfunción crónica del injerto.

Acorde al nivel de evidencia, en pacientes seleccionados puede ser recomendable sustituir el fármaco anticalcineurínico por sirolimus, añadiendo o no un antimetabolito (MMF o azatioprina), con el objetivo de mejorar la función renal, el riesgo cardiovascular y, posiblemente, la supervivencia del injerto (nivel de evidencia B).

INDIVIDUALIZACIÓN DEL FÁRMACO ANTICALCINEURÍNICO: CSA VS. TACROLIMUS

La CsA y el tacrolimus constituyen los pilares de la actual inmunosupresión en el trasplante renal, pero existe controversia sobre la eficacia y los resultados a largo plazo entre ambos fármacos. Estudios controlados muestran que el tacrolimus confiere menor riesgo de rechazo agudo, mejor función renal y menor tasa de NCI que la nueva formulación de la CsA (nivel de evidencia B).³⁷ Algo similar se ha observado en el análisis de grandes bases de datos y en estudios retrospectivos monocéntricos.^{38,39} Otros autores, sin embargo, no han confirmado estas diferencias y las tasas de supervivencia de injerto y función renal son similares entre ambos fármacos.⁴⁰ Es posible que la expresión intrarrenal de citoquinas inducidas por CsA y tacrolimus, así como sus propiedades vasoactivas, conduzcan a una similar tasa de nefrotoxicidad,⁴¹ lo cual pudiera justificar estos hallazgos. En un metaanálisis con 30 ensayos y 4.102 pacientes, Webster et al. concluyen que tacrolimus es superior a CsA en cuanto a mejor supervivencia del injerto y para prevenir el rechazo agudo, pero aumenta la diabetes postrasplante y los efectos secundarios neurológicos y gastrointestinales.⁴²

De hecho, el empleo de tacrolimus se ha extendido en la mayoría de los programas de trasplante,⁴³ pero parece prudente individualizar el fármaco anticalcineurínico dependiendo del perfil de riesgo de cada paciente. Como se ha mencionado, el tacrolimus es más diabético que la CsA, mientras que la CsA se asocia con mayor hiperlipemia e hipertensión arterial. Por tanto, la elaboración de una inmunosupresión de mantenimiento acorde al perfil biológico del paciente redundará, posiblemente, en la reducción del riesgo cardiovascular de estos pacientes. Varios estudios apoyan estos argumentos. La conversión de CsA a tacrolimus condicionó un descenso significativo de la tensión arterial y de las cifras de lípidos plasmáticos tras un corto período de seguimiento.⁴⁴ Adicionalmente a estos efectos, el uso de tacrolimus en pautas de inicio o de conversión se asocia a un descenso en la puntuación de riesgo cardiovascular acorde al estudio Framingham.⁴⁵ En cualquier caso, no se ha demostrado que esta estrategia disminuya la morbimortalidad cardiovascular a largo plazo en

esta población. El reciente estudio SYMPHONY, con más de 1.600 pacientes incluidos y seguidos a 12 meses, concluye que un régimen inmunosupresor basado en daclizumab, MMF, corticoesteroides y tacrolimus a dosis bajas puede ser ventajoso para la función renal, supervivencia del injerto y tasas de rechazo agudo, comparados con los otros regímenes del estudio basados en daclizumab más, o CsA a dosis bajas o sirolimus a dosis bajas, o dosis estándar de CsA sin inducción.⁴⁶

Se necesitan estudios a más largo plazo para evaluar el papel de los inhibidores de mTOR.

Ante estas evidencias, en la práctica clínica se recomienda con un alto nivel de evidencia: a) individualizar el fármaco anticalcineurínico acorde al perfil de riesgo vascular, o ante la aparición de graves efectos secundarios (nivel de evidencia B); b) el tacrolimus puede ofrecer una mayor eficacia a más largo plazo, al menos en pacientes con disfunción inmunológica previa (nivel de evidencia B).

PREVENCIÓN O MODIFICACIÓN DEL CURSO DE LA NCI

La NCI es la causa más frecuente de pérdida de los injertos a largo plazo, y esta complicación viene condicionada por factores inmunológicos y no inmunológicos. Histológicamente, se caracteriza por la presencia de glomeruloesclerosis, hiperplasia de la íntima, atrofia tubular y fibrosis intersticial. La secreción autocrina de citoquinas y factores de crecimiento como el TGF- β pudieran participar en su patogenia.⁴⁷ Por sus acciones antiproliferativas, el MMF y el sirolimus pueden jugar, por tanto, un papel decisivo en la IS de mantenimiento minimizando la progresión de la NCI y el deterioro crónico de la función de los injertos.

La importancia del antimetabolito: MMF vs. azatioprina

En primeros estudios multicéntricos controlados, el MMF disminuyó significativamente el riesgo de rechazo agudo frente al grupo control, pero estos trabajos no demostraron que el MMF prolongase la supervivencia de los injertos tras tres años de seguimiento, aunque no se diseñaran con tal fin, sino para la valoración del rechazo agudo.^{48,49} Dos análisis retrospectivos posteriores observaron que la utilización del MMF reducía en un 27% el riesgo de pérdida de injerto y de disfunción renal a medio plazo, efectos que fueron independientes de los episodios de rechazo agudo.^{50,51} En consonancia con estos análisis retrospectivos, un estudio aleatorizado demostró que la tasa de NCI fue significativamente inferior en pacientes que recibieron MMF (46%) frente a la azatioprina (71%), lo cual confiere al MMF un potencial efecto pre-

ventivo de la NCI.⁵² Asimismo, en pacientes con diabetes mellitus pretrasplante, el MMF confiere una menor mortalidad y tasa de rechazo tardío que la azatioprina.⁵³

Con respecto a la disfunción crónica del injerto, un elegante estudio en ratas con nefrotoxicidad crónica por anticalcineurínicos demostró que la sustitución de CsA por MMF se asociaba a una menor expresión tisular de factores profibrogénicos y regresión de las lesiones histológicas.⁵⁴ De manera similar, en el modelo animal de rechazo crónico la administración conjunta de MMF y sirolimus atenuó las lesiones parenquimatosas típicas de la NCI, principalmente, la fibrosis intersticial.⁵⁵ En el ámbito clínico de pacientes con NCI, pautas de reducción o eliminación de anticalcineurínicos más la adición de MMF, no sólo mejoró la función renal sino que optimizó el perfil metabólico tras varios años de seguimiento.⁵⁶ En un estudio prospectivo español, González-Molina muestra cómo la administración de MMF a enfermos con NCI bajo doble o triple terapia fue capaz de entretener la progresión de la insuficiencia renal, efecto que fue independiente de los niveles de CsA.⁵⁷ Por último, en un estudio controlado de pacientes con NCI la sustitución de CsA por MMF fue capaz de entretener el deterioro del filtrado glomerular y mejorar los parámetros lipídicos sin un mayor riesgo de rechazo agudo.⁵⁸ Con todo, no se sabe con certeza si estos cambios funcionales se acompañan de una mejoría de las lesiones histológicas como se ha observado en el animal de experimentación. Mientras tanto, parece razonable recomendar la administración de MMF, con un nivel medio de evidencia (grado de recomendación B), a pacientes con NCI para retrasar el deterioro progresivo de la función renal y reducir el riesgo de pérdida crónica de los injertos renal es a largo plazo.

Eficacia de los anti-mTOR en la NCI

El sirolimus es un macrólido con una capacidad inmunosupresora similar a la CsA en la prevención del rechazo agudo.⁵⁹ Este fármaco forma un complejo intracelular con la proteína FKBP12 para inhibir las funciones del péptido mTOR. Con ello, se frenan señales intracelulares que activan el ciclo celular generadas por la acción de las interleuquinas sobre sus receptores de membrana. El resultado final es la inhibición de la síntesis de ADN y la detención del ciclo celular entre las fases G1 y S. Sus propiedades colaterales antiproliferativas le confieren, paralelamente, un papel interesante en la prevención de la NCI y la vasculopatía del trasplante, como se ha observado en el animal de experimentación.⁶⁰

Sirolimus y everolimus se desarrollaron inicialmente para su uso combinado con CsA, pero esta combinación incrementa la nefrotoxicidad de los anticalcineurínicos, especialmente a través de una mayor expresión TGF- β .⁶¹ En efecto, la combi-

nación de rapamicina y CsA no mejoró la función renal ni las lesiones histológicas en pacientes con NCI a pesar de una reducción en los niveles de CsA.⁶² Asimismo, en pacientes con deterioro crónico de la función del injerto y en triple terapia con prednisona, sirolimus y CsA, la retirada de sirolimus se asoció a una mejoría significativa de la función renal.⁶³ De ahí que la combinación de ambos fármacos no sea el tratamiento más idóneo para frenar la progresión de la NCI.

Actualmente, no se sabe con claridad si la rapamicina puede modificar el curso de la NCI, pero es posible que el empleo aislado de los anti-mTOR, sin el concurso de anticalcineurínicos, pueda ser una buena opción para minimizar las lesiones propias de NCI. En esta línea, estudios controlados han observado que la retirada de la CsA en pacientes que reciben triple terapia con rapamicina condicionó una reducción de las lesiones histológicas de NCI y una optimización de la función renal.⁶⁴ El mayor beneficio clínico de esta conversión parece lograrse cuando la proteinuria es <1 g/día.⁶⁵

El everolimus, con propiedades farmacológicas similares al sirolimus, puede constituir una alternativa interesante para este objetivo. En el modelo animal de rechazo crónico, la administración de everolimus mejora las lesiones histológicas y se asocia a un descenso de la proteinuria por mecanismos antiproliferativos o por estimulación de la apoptosis de células que participan en el remodelado tisular.⁶⁶ Obviamente, estos hallazgos necesitan confirmarse en pacientes con NCI. Queda por aclarar si esto también se asocia a una menor morbilidad a más largo plazo. Estudios futuros aportarán evidencias definitivas al respecto.

Desde esta perspectiva, la utilización de los anti-mTOR puede estar justificada para evitar la progresión de las lesiones crónicas del injerto y mejorar la función renal (grado de recomendación A), siempre que no se asocien con anticalcineurínicos. En estos casos, es recomendable su empleo precoz dada la irreversibilidad de las lesiones de NCI.

POTENCIALES EFECTOS BENEFICIOSOS CARDIOVASCULARES DE LOS ANTI-MTOR

Los fármacos anti-mTOR (SRL y everolimus) son potentes inmunosupresores con capacidad antiproliferativa y antimigratoria por inhibición de las señales intracelulares de crecimiento y proliferación. Esto les confiere un potencial papel beneficioso sobre las estructuras cardiovasculares. A nivel cardíaco, la rapamicina inhibe la proteína mTOR, la cual regula la síntesis proteica intracelular que interviene en el crecimiento ventricular izquierdo ante estímulos de presión. De hecho, la administración de rapamicina en el ratón con sobrecarga de presión cardíaca atenúa significativamente (50%) el crecimiento de las células miocárdicas con respecto al grupo

control.⁶⁷ Asimismo, este fármaco es capaz de disminuir la hipertrofia ventricular izquierda en ratas sometidas a sobrecarga de presión con o sin disfunción ventricular.⁶⁸ Esto se acompaña, a su vez, de una menor expresión de proteínas intracelulares que interviene en la maquinaria del crecimiento cardíaco. En el modelo animal de ateromatosis, la administración de dosis crecientes de sirolimus se acompaña de una menor aparición de lesiones ateromatosas en la aorta de los animales sacrificados. Paralelamente, este hallazgo se asocia a una menor expresión de interleuquinas que participan en el desarrollo de la enfermedad ateromatosa como la IL-10.⁶⁹ Finalmente, sirolimus condiciona una menor síntesis de endotelina en el endotelio del ani-

mal de experimentación frente a CsA, lo cual pudiera justificar este potencial papel protector vascular.⁷⁰ Un reciente estudio muestra un perfil lipídico similar, pero mejor supervivencia a largo plazo en pacientes tratados con sirolimus y retirada de CsA comparado con los pacientes que continuaban con CsA.⁷¹

Con todo, queda por aclarar si estos efectos beneficiosos cardiovasculares pueden extrapolarse a los enfermos con trasplante renal. De ser así, los anti-mTOR se convertirían en fármacos de primera línea no sólo para evitar la disfunción inmunológica sino para retrasar la progresión de la enfermedad cardiovascular en esta población.

RECOMENDACIONES

Recomendación	Nivel de recomendación
La suspensión de esteroides en pacientes seleccionados bajo triple terapia con un fármaco anticalcineurínico, especialmente tacrolimus, no incrementa significativamente la tasa de rechazo agudo y no empeora la supervivencia del injerto. Adicionalmente, esta medida mejora el perfil de riesgo cardiovascular	A
En pacientes seleccionados, la retirada precoz de CsA seguida del tratamiento con sirolimus más la administración de un fármaco antiproliferativo (AZA o MMF) se asocia a menor incidencia de NCT, mejor función renal y mayor supervivencia del injerto	A
Tacrolimus ofrece mejor eficacia que CsA en términos de función renal y disfunción inmunológica precoz, pero la incidencia de NCT a largo plazo es similar entre ambas terapias	B
El tratamiento prolongado con MMF se asocia a una disminución en la incidencia de NCT y menor riesgo de pérdida de injertos con respecto al tratamiento con AZA	B
La individualización del fármaco anticalcineurínico acorde al perfil de riesgo cardiovascular disminuye la comorbilidad y mejora la supervivencia del paciente tras el trasplante renal	B

BIBLIOGRAFÍA

1. Kasiske BL, Chakkera HA, Louis TA, Ma JZ. A metaanalysis of immunosuppression withdrawal trials in renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2000;11:1910-7.
2. Pascual J, Quereda C, Zamora J, Hernández D; Spanish Group for Evidence-Based Medicine in Renal Transplantation. Steroid withdrawal in renal transplant patients on triple therapy with a calcineurin inhibitor and mycophenolate mofetil: a metaanalysis of randomized, controlled trials. *Transplantation* 2004;78:1548-56.
3. Vincenti F, Monaco A, Grinyo J, Kinkhabwala M, Roza A. Multicenter randomized prospective trial of steroid withdrawal in renal transplant recipients receiving basiliximab, cyclosporine microemulsion and mycophenolate mofetil. *Am J Transplant* 2003;3:306-11.
4. Borrows R, Loucaidou M, Van Tromp J, Cairns T, Griffith M, Hakim N, et al. Steroid sparing with tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:1845-51.
5. Hocker B, John U, Plank C, Wuhl E, Weber LT, Misselwitz J, et al. Successful withdrawal of steroids in pediatric renal transplant recipients receiving cyclosporine A and mycophenolate mofetil treatment: results after four years. *Transplantation* 2004;78:228-34.
6. Vanrenterghem Y, van Hooff JP, Squifflet JP, Salmela K, Rigotti P, Jindal RM, et al; European Tacrolimus/MMF Renal Transplantation Study Group. Minimization of immunosuppressive therapy after renal transplantation: results of a randomized controlled trial. *Am J*

- Transplant 2005;5:87-95.
7. Rostaing L, Cantarovich D, Mourad G, Budde K, Rigotti P, Mariat C, et al. CARMEN Study Group. Corticosteroid-free immunosuppression with tacrolimus, mycophenolate mofetil and daclizumab induction in renal transplantation. *Transplantation* 2005;79:807-14.
 8. Woodle ES, Vincenti F, Lorber MI, Gritsch HA, Hricik D, Washburn K, et al. A multicenter pilot study of early (4-day) steroid cessation in renal transplant recipients under simulect, tacrolimus and sirolimus. *Am J Transplant* 2005;5:157-66.
 9. Kumar MS, Heifets M, Moritz MJ, Saeed MI, Khan SM, Fyfe B, et al. Safety and efficacy of steroid withdrawal two days after kidney transplantation: analysis of results at three years. *Transplantation* 2006;81:832-9.
 10. Lemieux I, Houde I, Pascot A, Lachance JG, Noel R, Radeau T, et al. Effects of prednisone withdrawal on the new metabolic triad in cyclosporine-treated kidney transplant patients. *Kidney Int* 2002;62:1839-47.
 11. Vanrenterghem Y, Lebranchu Y, Hene R, Oppenheimer F, Ekberg H. Double-blind comparison of two corticosteroid regimens plus mycophenolate mofetil and cyclosporine for prevention of acute renal allograft rejection. *Transplantation* 2000;70:1352-9.
 12. Ojo AO, Held PJ, Port FK, Wolfe RA, Leichtman AB, Young EW, et al. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ. *N Engl J Med* 2003;349:931-40.
 13. Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a U.S. multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus vs. cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1988;66:1736-40.
 14. Gallagher MP, Hall B, Craig J, Berry G, Tiller DJ, Eris J; Australian Multicenter Trial of Cyclosporine Withdrawal Study Group and the ANZ Dialysis and Transplantation Registry. A randomized controlled trial of cyclosporine withdrawal in renal-transplant recipients: 15-year results. *Transplantation* 2004;78:1653-60.
 15. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med* 2003;349:2326-33.
 16. Vincenti F. Immunosuppression minimization: current and future trends in transplant immunosuppression. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1940-8.
 17. Anjum S, Andany MA, McClean JC, Danielson B, Kasiske BL. Defining the risk of elective cyclosporine withdrawal in stable kidney transplant recipients. *Am J Transplant* 2002;2:179-85.
 18. Grinyó JM, Cruzado JM, Millán O, Caldes A, Sabaté I, Gil-Vernet S, et al. Low-dose cyclosporine with mycophenolate mofetil induces similar calcineurin activity and cytokine inhibition as does standard-dose cyclosporine in stable renal allografts. *Transplantation* 2004;78:1400-3.
 19. MacPhee IA, Bradley JA, Briggs JD, Junor BJ, MacPherson SG, McMillan MA, et al. Long-term outcome of a prospective randomized trial of conversion from cyclosporine to azathioprine treatment one year after renal transplantation. *Transplantation* 1998;66:1186-92.
 20. Schnuelle P, van der Heide JH, Tegzess A, Verburgh CA, Paul LC, van der Woude FJ, et al. Open randomized trial comparing early withdrawal of either cyclosporine or mycophenolate mofetil in stable renal transplant recipients initially treated with a triple drug regimen. *J Am Soc Nephrol* 2002;13:536-43.
 21. Bakker RC, Hollander AA, Mallat MJ, Bruijn JA, Paul LC, de Fijter JW. Conversion from cyclosporine to azathioprine at three months reduces the incidence of chronic allograft nephropathy. *Kidney Int* 2003;64:1027-34.
 22. Pascual M, Curtis J, Delmonico FL, Farrell ML, Williams WW Jr, Kalil R, et al. A prospective, randomized clinical trial of cyclosporine reduction in stable patients greater than 12 months after renal transplantation. *Transplantation* 2003;75:1501-5.
 23. Kuypers DR, Evenepoel P, Maes B, Coosemans W, Pirenne J, Vanrenterghem Y. The use of an anti-CD25 monoclonal antibody and mycophenolate mofetil enables the use of a low-dose tacrolimus and early withdrawal of steroids in renal transplant recipients. *Clin Transplant* 2003;17:234-41.
 24. Baboolal K. A phase III prospective, randomized study to evaluate concentration-controlled sirolimus (rapamune) with cyclosporine dose minimization or elimination at six months in de novo renal allograft recipients. *Transplantation* 2003;75:1404-8.
 25. Kreis H, Oberbauer R, Campistol JM, Mathew T, Daloz P, Schena FP, et al. Rapamune Maintenance Regimen Trial. Long-term benefits with sirolimus-based therapy after early cyclosporine withdrawal. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:809-17.
 26. Oberbauer R, Segoloni G, Campistol JM, Kreis H, Mota A, Lawen J, et al. Rapamune Maintenance Regimen Study Group: Early cyclosporine withdrawal from a sirolimus-based regimen results in better renal allograft survival and renal function at 48 months after transplantation. *Transpl Int* 2005;18:22-8.
 27. Siddiqi N, McBride MA, Hariharan S. Similar risk profiles for post-transplant renal dysfunction and long-term graft failure: UNOS/OPTN database analysis. *Kidney Int* 2004;65:1906-13.
 28. Soveri I, Holdaas H, Jardine A, Gimpelewicz C, Staffler B, Fellstrom B. Renal transplant dysfunction--importance quantified in comparison with traditional risk factors for cardiovascular disease and mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2282-9.
 29. Grinyó JM, Campistol JM, Paul J, García-Martínez J, Morales JM, Prats D, Arias M, et al. Pilot randomized study of early tacrolimus withdrawal from regimen with sirolimus plus tacrolimus in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2004;4:1308-14.
 30. Morales JM, Grinyó JM, Campistol JM, García-Martínez J, Arias M, Paul J, Sánchez-Fructuoso A, et al. Improved renal function, with similar proteinuria, after two years of early tacrolimus withdrawal from a regimen of sirolimus plus tacrolimus. *Transplantation* 2008;86:620-2.
 31. Budde K, Klempnauer J, Arns W, Sommerer C, Reinke P, Eisenberger U, Fischer W, et al. Renal function, efficacy and safety of Everolimus/Enteric-coated Mycophenolate Sodium therapy after Calcineurin inhibitor (CNI) withdrawal in de novo renal transplant patients: ZEUS study. Abstract 447. International Congress of the Transplantation Society 2008, Sydney.
 32. Kreis H, Cisterne JM, Land W, Wramner L, Squifflet JP, Abramowicz D, et al. Sirolimus in association with mycophenolate mofetil induction for the prevention of acute graft rejection in renal allograft recipients. *Transplantation* 2000;69:1252-60.

33. Grinyó JM, Gil-Vernet S, Cruzado JM, Caldes A, Riera L, Seron D, et al. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression based on antithymocyte globulin and mycophenolate mofetil in cadaveric kidney transplantation: results after 5 years. *Transpl Int* 2003;16:820-7.
34. Lo A, Egidi MF, Gaber LW, Amiri HS, Vera S, Nezakatgoo N, et al. Comparison of sirolimus-based calcineurin inhibitor-sparing and calcineurin inhibitor-free regimens in cadaveric renal transplantation. *Transplantation* 2004;77:1228-35.
35. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A, Wekerle T, Nashan B, Blanche G, et al. Belatacept Study Group. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 2005;353:770-81.
36. Flechner SM, Kurian SM, Solez K, Cook DJ, Burke JT, Rollin H, et al. De novo kidney transplantation without use of calcineurin inhibitors preserves renal structure and function at two years. *Am J Transplant* 2004;4:1776-85.
37. Gonwa T, Johnson C, Ahsan N, Alfrey EJ, Halloran P, Stegall M, et al. Randomized trial of tacrolimus + mycophenolate mofetil or azathioprine vs. cyclosporine + mycophenolate mofetil after cadaveric kidney transplantation: results at three years. *Transplantation* 2003;75:2048-53.
38. Kaplan B, Schold JD, Meier-Kriesche HU. Long-term graft survival with neoral and tacrolimus: a paired kidney analysis. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:2980-4.
39. Pascual J, Marcen R, Burgos FJ, Tenorio MT, Merino JL, Arambarri M, et al. One-center comparison between primary immunosuppression based on neoral cyclosporine and tacrolimus for renal transplantation. *Transplant Proc* 2002;34:94-5.
40. Irish W, Sherrill B, Brennan DC, Lowell J, Schnitzler M. Three-year posttransplant graft survival in renal-transplant patients with graft function at 6 months receiving tacrolimus or cyclosporine microemulsion within a triple-drug regimen. *Transplantation* 2003;76:1686-90.
41. Khanna A, Plummer M, Bromberek C, Bresnahan B, Hariharan S. Expression of TGF-beta and fibrogenic genes in transplant recipients with tacrolimus and cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2002;62:2257-63.
42. Webster A, Woodroffe RC, Taylor RS, Chapman JR, Craig JC. Tacrolimus vs. cyclosporin as primary immunosuppression for kidney transplant recipients. *Cochrane Database Syst Rev* 2005; 19: CD003961.
43. Meier-Kriesche HU, Li S, Gruessner RW, Fung JJ, Bustami RT, Barr ML, et al. Immunosuppression: evolution in practice and trends, 1994-2004. *Am J Transplant* 2006;6(2):1111-31.
44. Baid-Agrawal S, Delmonico FL, Tolkoff-Rubin NE, Farrell M, Williams WW, Shih V, et al. Cardiovascular risk profile after conversion from cyclosporine A to tacrolimus in stable renal transplant recipients. *Transplantation* 2004;77:1199-202.
45. Artz MA, Boots JM, Ligtenberg G, Roodnat JI, Christiaans MH, Vos PF, et al. Improved cardiovascular risk profile and renal function in renal transplant patients after randomized conversion from cyclosporine to tacrolimus. *J Am Soc Nephrol* 2003;14:1880-8.
46. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A, Vitko S, Nashan B, Gurkan A, Margreiter R, et al. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med* 2007;357:2562-75.
47. Mas V, Alvarellos T, Giraudo C, Massari P, De Boccardo G. Intragraft messenger RNA expression of angiotensinogen: relationship with transforming growth factor beta-1 and chronic allograft nephropathy in kidney transplant patients. *Transplantation* 2002;74:718-21.
48. European Mycophenolate Mofetil Cooperative Study Group. Mycophenolate mofetil in renal transplantation: 3-year results from the placebo-controlled trial. *Transplantation* 1999;68:391-6.
49. Mathew TH. A blinded, long-term, randomized multicenter study of mycophenolate mofetil in cadaveric renal transplantation: results at three years. *Tricontinental Mycophenolate Mofetil Renal Transplantation Study Group. Transplantation* 1998;65:1450-4.
50. Ojo AO, Meier-Kriesche HU, Hanson JA, Leichtman AB, Cibrik D, Magee JC, et al. Mycophenolate mofetil reduces late renal allograft loss independent of acute rejection. *Transplantation* 2000;69:2405-9.
51. Meier-Kriesche HU, Steffen BJ, Hochberg AM, Gordon RD, Liebman MN, Morris JA, et al. Mycophenolate mofetil vs. azathioprine therapy is associated with a significant protection against long-term renal allograft function deterioration. *Transplantation* 2003;75:1341-6.
52. Merville P, Berge F, Deminiere C, Morel D, Chong G, Durand D, et al. Lower incidence of chronic allograft nephropathy at 1 year post-transplantation in patients treated with mycophenolate mofetil. *Am J Transplant* 2004;4:1769-75.
53. David KM, Morris JA, Steffen BJ, Chi-Burris KS, Gotz VP, Gordon RD. Mycophenolate mofetil vs. azathioprine is associated with decreased acute rejection, late acute rejection, and risk for cardiovascular death in renal transplant recipients with pre-transplant diabetes. *Clin Transplant* 2005;19:279-85.
54. Yang CW, Ahn HJ, Kim WY, Li C, Kim HW, Choi BS, et al. Cyclosporine withdrawal and mycophenolate mofetil treatment effects on the progression of chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2002;62:20-30.
55. Jolicoeur EM, Qi S, Xu D, Dumont L, Daloz P, Chen H. Combination therapy of mycophenolate mofetil and rapamycin in prevention of chronic renal allograft rejection in the rat. *Transplantation* 2003;75:54-9.
56. Ducloux D, Motte G, Billerey C, Bresson-Vautrin C, Vautrin P, Rebibou JM, et al. Cyclosporin withdrawal with concomitant conversion from azathioprine to mycophenolate mofetil in renal transplant recipients with chronic allograft nephropathy: a 2-year follow-up. *Transpl Int* 2002;15:387-92.
57. Gonzalez Molina M, Serón D, García del Moral R, Carrera M, Solá E, Jesús Alférez M, et al. Mycophenolate mofetil reduces deterioration of renal function in patients with chronic allograft nephropathy. A follow-up study by the Spanish Cooperative Study Group of Chronic Allograft Nephropathy. *Transplantation* 2004;77:215-20.
58. Dudley C, Pohanka E, Riad H, Dedochova J, Wijngaard P, Sutter C, et al. Mycophenolate mofetil substitution for cyclosporine a in renal transplant recipients with chronic progressive allograft dysfunction:

- the "creeping creatinine" study. Mycophenolate Mofetil Creeping Creatinine Study Group. *Transplantation* 2005;79:466-75.
59. Kahan BD. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomised multicentre study. The Rapamune US Study Group. *Lancet* 2000;356:194-202.
 60. Ikonen TS, Gummert JF, Hayase M, Honda Y, Hausen B, Christians U, et al. Sirolimus (rapamycin) halts and reverses progression of allograft vascular disease in non-human primates. *Transplantation* 2000;70:969-75.
 61. Shihab FS, Bennett WM, Yi H, Choi SO, Andoh TF. Sirolimus increases transforming growth factor-beta1 expression and potentiates chronic cyclosporine nephrotoxicity. *Kidney Int* 2004;65:1262-71.
 62. Saunders RN, Bicknell GR, Nicholson ML. The impact of cyclosporine dose reduction with or without the addition of rapamycin on functional, molecular, and histological markers of chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2003;75:772-80.
 63. Kaplan B, Schold J, Srinivas T, Womer K, Foley DP, Patton P, et al. Effect of sirolimus withdrawal in patients with deteriorating renal function. *Am J Transplant* 2004;4:1709-12.
 64. Stallone G, Di Paolo S, Schena A, Infante B, Grandaliano G, Battaglia M, et al. Early withdrawal of cyclosporine A improves 1-year kidney graft structure and function in sirolimus-treated patients. *Transplantation* 2003;75:998-1003.
 65. Diekmann F, Budde K, Oppenheimer F, Fritsche L, Neumayer HH, Campistol JM. Predictors of success in conversion from calcineurin inhibitor to sirolimus in chronic allograft dysfunction. *Am J Transplant* 2004;4:1869-75.
 66. Lutz J, Zou H, Liu S, Antus B, Heemann U. Apoptosis and treatment of chronic allograft nephropathy with everolimus. *Transplantation* 2003;76:508-15.
 67. Shioi T, McMullen JR, Tarnavski O, Converso K, Sherwood MC, Manning WJ, et al. Rapamycin attenuates load-induced cardiac hypertrophy in mice. *Circulation* 2003;107:1664-70.
 68. Gao XM, Wong G, Wang B, Kiriazis H, Moore XL, Su YD, et al. Inhibition of mTOR reduces chronic pressure-overload cardiac hypertrophy and fibrosis. *J Hypertens* 2006;24:1663-70.
 69. Elloso MM, Azrolan N, Sehgal SN, Hsu PL, Phiel KL, Kopec CA, et al. Protective effect of the immunosuppressant sirolimus against aortic atherosclerosis in apo E-deficient mice. *Am J Transplant* 2003;3:562-9.
 70. Ramzy D, Rao V, Tumiati LC, Xu N, Miriuka S, Delgado D, et al. Role of endothelin-1 and nitric oxide bioavailability in transplant-related vascular injury: comparative effects of rapamycin and cyclosporine. *Circulation* 2006;114(1):1214-9.
 71. Morales JM, et al. Similar lipid profile but improved long-term outcomes with sirolimus after cyclosporine withdrawal compared to sirolimus with continuous cyclosporine. *World Transplant Congress, Boston 2006.*