

Sirolimus (2ª parte)

J.A. Sánchez-Plumed, I. Beneyto

Introducción (resumen de la primera parte)

El sirolimus es un macrólido, cuya estructura es similar al tacrolimus y a otros antibióticos, insoluble en el agua pero altamente soluble en soluciones oleosas y en lípidos. Actúa sobre la respuesta inmune interfiriendo la transducción de la señal intracelular que provoca la unión de la interleucina-2 (IL-2) a su receptor y provoca la detención del ciclo de las células T en la transición desde la fase G₁ a la fase S e inhibe la proliferación de las células T. El sirolimus facilita la apoptosis y actúa sinérgicamente con el bloqueo de la señal coestimuladora en la reducción del número de linfocitos T alorreactivos.

La C_{máx}, t_{máx}, AUC y niveles valle dependen de la dosis que se administre; se observa que los niveles valle de sirolimus se correlacionan significativamente ($r^2 = 0,95$) con el AUC. Cuando se administra simultáneamente con ciclosporina neoral (CsA Neoral), la C_{máx} y el AUC de sirolimus se incrementan con respecto a su administración aislada, sin embargo, cuando el sirolimus se administra cuatro horas después de CsA Neoral, la C_{máx} y el AUC de sirolimus sólo se incrementan ligeramente. Cuando se administran múltiples dosis de CsA y siro-

limus en pacientes con trasplante renal, se reduce el aclaramiento de la CsA y hay que reducir la dosis de CsA. Aunque parece que el tacrolimus no interactúa con el sirolimus cuando se administran conjuntamente, es conveniente el control tanto del sirolimus como del tacrolimus. Cuando se utiliza la combinación sirolimus junto con micofenolato mofetil (MMF), los niveles de ácido micofenólico (AMF) resultan más elevados que cuando se utiliza la combinación de CsA con MMF.

Los diversos estudios han confirmado que el sirolimus es más eficaz que la azatioprina en la prevención del rechazo agudo, y que asociado a anticuerpos antiCD25 o timoglobulina, corticoides y micofenolato mofetil puede proporcionar la suficiente inmunosupresión que permita evitar y retrasar la introducción, reducir la dosis o retirar a los inhibidores de la calcineurina (ciclosporina y tacrolimus). Igualmente se ha demostrado que el sirolimus en combinación con el tacrolimus y pautas cortas de anticuerpos antiCD25 o timoglobulina permite evitar el uso de corticoides con un claro beneficio para el paciente, ya que reduce el riesgo cardiovascular e infeccioso y facilita el crecimiento en los niños. También hay que destacar la utilidad del sirolimus en el trasplante de

*Servicio de Nefrología.
Hospital Universitario La Fe. Valencia.*

Correspondencia:
Dr. Jaime A. Sánchez Plumed. Servicio de Nefrología. Hospital Universitario La Fe. Avda. Campanar nº 21. E-46009 Valencia. E-mail: jasanchez@senefro.org

© 2004, SEDYT

páncreas, y que la introducción del sirolimus en el protocolo de Edmonton ha permitido el despegue del trasplante de islotes pancreáticos.

Acciones del sirolimus

Las acciones del sirolimus las podemos reunir en cuatro grupos: antiproliferativa, antitumoral, inmunosupresión y tolerancia en el trasplante. En la presente revisión vamos a comentar su actividad antiproliferativa, antitumoral y tolerancia en el trasplante.

Acción antiproliferativa

De las revisiones que realizaron V. Andrés y C. Castro [1] y P.N. Ruygrok et al [2] se puede extraer que los estudios en animales y clínicos desarrollados durante las últimas décadas han permitido la identificación de factores de riesgo independientes que incrementan la prevalencia y gravedad de la aterosclerosis (por ejemplo, hipercolesterolemia, hipertensión arterial, tabaco, diabetes, etc.). Estos factores de riesgo cardiovascular inician y perpetúan una respuesta inflamatoria dentro de la pared arterial dañada que contribuye al crecimiento de la lesión neointimal durante la aterogénesis [3,4]. La proliferación de las células vasculares es un componente importante de la respuesta inflamatoria crónica asociada a la aterosclerosis y enfermedades vasculares oclusivas (reestenosis tras *stent*, vasculopatía del trasplante, etc.) [5,6]. Las células que proliferan dentro del tejido aterosclerótico son las células de músculo liso vascular, leucocitos y células endoteliales [7-13]. En la

lesión de la íntima (más habitual en las arterias carótidas) proliferan más los monocitos y macrófagos, mientras que las células de músculo liso vascular proliferan más en la capa media (más habitual en las arterias coronarias); la proliferación es más importante al inicio de la lesión que cuando ésta ya está establecida [12]. La excesiva proliferación y migración celular y el depósito de material extracelular contribuye a la patobiología de la enfermedad obstructiva vascular (por ejemplo, aterosclerosis, reestenosis de arterias coronarias tras realizar angioplastia con balón e implantación de *stent*, vasculopatía del trasplante ‘rechazo crónico en órganos trasplantados’ y fracasos de injertos de vasos), resultante de la inflamación y de la liberación de citocinas y factores de crecimiento. Por lo tanto, las terapias antiproliferativas pueden ser una alternativa terapéutica en estos desórdenes. Entre los candidatos para tales estrategias se incluye el sirolimus.

El sirolimus (rapamicina) es un macrólido con una potente actividad inmunosupresora, antiproliferativa y antimigratoria [14] cuya eficacia, al inhibir el engrosamiento neointimal que se produce por daño mecánico e inmunológico, se ha demostrado en varios modelos animales, incluido el trasplante cardíaco y la reestenosis postangioplastia [15-21]. También se ha comprobado que el sirolimus inhibe la aterogénesis en un modelo experimental de hipercolesterolemia [22]. La acción del sirolimus podría ser secundaria a un incremento del nivel del inhibidor del CDK p27^{kip1} e inhibición de la fosforilización del pRb

dentro de la pared del vaso, al bloquear la actividad de los complejos enzimáticos CDK/ciclina e impedir la progresión del ciclo celular [16]. El papel protector del p27^{kip1} contra el engrosamiento neointimal se ha demostrado en ratones hipercolesterolémicos con deficiencia de la apolipoproteína E, en los que la inactivación genética de uno o dos alelos p27^{kip1} acelera la aterogénesis [23]. Sin embargo, aunque la estabilización del supresor del crecimiento p27^{kip1} parece ser un mediador crítico de la detención del crecimiento dependiente de sirolimus *in vitro* [24,25], la eficacia *in vivo* al inhibir la formación neointimal después de la lesión mecánica fue similar en ratones con o sin p27^{kip1} [26]. Otros posibles mecanismos por los que el sirolimus puede inhibir la proliferación del músculo liso vascular es por medio de la estimulación de la producción de óxido nítrico [27]. Por lo tanto, estos hallazgos confirman que el sirolimus posee actividad antiproliferativa y antimigratoria, lo que sugiere que podría contribuir al control de las manifestaciones vasculares del rechazo crónico en los trasplantes de órganos, así como en el control de la reestenosis arterial después de la angioplastia [28].

Estudios clínicos

Prevención de la recidiva de la estenosis tras dilatación con stent

La primera demostración de la supresión de la proliferación neointimal tras el implante de un *stent* recubierto con sirolimus la comunicaron Sousa et al [29,

30]. Los resultados se comprobaron mediante angiografía y también de forma seriada con eco intravascular, y se demostró una ausencia de aparición y de progresión de reestenosis durante el período de seguimiento. En una publicación de 2003, de estos mismos autores [31] se demuestra la seguridad y la eficacia de los *stents* recubiertos de sirolimus después de dos años de la implantación en humanos, sin encontrar reestenosis en los pacientes que se estudiaron. También se ha demostrado que la implantación de *stents* recubiertos de sirolimus no sólo es factible, segura y eficaz en el tratamiento de las lesiones coronarias de *novo*, sino que además es seguro y potencialmente útil en el tratamiento de las reestenosis del *stent* [32]. Estos estudios han sido confirmados por otros, multicéntricos, como el Sirius [33,34] y el Ravel [35].

Sirolimus y trasplante cardíaco

Además de su papel como inhibidor de la hiperplasia intimal siguiendo el daño postangioplastia o tras la colocación de un *stent*, el sirolimus ofrece la posibilidad de mejorar los resultados del trasplante cardíaco, con reducción temprana de rechazos agudos y prevención de la arteriopatía, a través de su acción inmunosupresora y antiproliferativa [36,37].

Acción antitumoral

Existe una preocupación creciente en las unidades de trasplante, por el número cada día mayor de pacientes que fallecen como consecuencia de una enfermedad maligna. En nuestra experiencia en el Servicio de Nefrología del Hospital La Fe, 42 (19%) de los pacien-

tes trasplantados de riñón han fallecido por un tumor. Pero se abre un rayo de esperanza porque uno de los inmunosupresores, el sirolimus, está demostrando una capacidad para reducir el riesgo de padecer cáncer y controlar el crecimiento del ya establecido a la vez que proporciona una inmunosupresión efectiva.

En la experiencia que expusieron J.M. Morales et al [38,39] en el Congreso Internacional de la Sociedad de Trasplantes en Miami y en la Reunión de la Sociedad Española de Nefrología en Bilbao en 2002, se observa que los pacientes que se trataron con sirolimus sin inhibidores de la calcineurina presentaban una incidencia menor de tumores que los pacientes que tomaron sirolimus junto con inhibidores de la calcineurina (Tablas I y II).

En el trabajo expuesto en Miami, se observa (Tabla I) que en los 61 pacientes que se trataron con sirolimus, sin inhibidor de la calcineurina, no se desarrolló ningún tipo de tumor durante el período de observación. En la presentación de la SEN en Bilbao (Tabla II), se observa que la administración de sirolimus confiere una reducción modesta de la incidencia de tumores de piel, incluso al administrar ciclosporina, sin embargo, no se observan diferencias en otras formas de cáncer, cuando el sirolimus se administra conjuntamente con ciclosporina. Ocurre una incidencia menor de enfermedad tumoral cuando se administra como terapia de base sin ciclosporina o cuando se administra conjuntamente, pero se retira tempranamente la ciclosporina. Además, se puede observar que ninguno de los 81 pacientes que se trata-

Tabla I. J.M. Morales et al [38].

Estudios multicéntricos	Número	Total de tumores
SRL, ICa ^a , Pred	99	12
SRL, Aza o MMF ^b , Pred	61	0
$p = 0,004$		
^a 93% con CsA y 7% con tacrolimus. ^b Aza el 20% y MMF el 3%.		

Tabla II. J.M. Morales et al [39].

Estudios multicéntricos	Número	PTLD/ linfoma %	T. piel %	Otros tumores %	Total %
USA y global					
CsA/Placebo/Pred	130	0,8	6,9	0,8	8,5
CsA/Aza/Pred	161	0,6	4,3	0,6	5,5
CsA/Rapa 2 mg/Pred	511	1,2	2	1,8	5
CsA/Rapa 5 mg/pred	493	2	2,8	1,6	8,4
Estudio 210 y 207					
CsA, MMF, Pred	80	0	1,2	3,7	5 [4]
SRL, MMF, Pred	81	0	0	0	0 ^a
Estudio 310					
SRL, CsA, Pred	215	1,4	4,7	3,2	9,3
SRL, CsA (3 m), Pred	215	0,5	2,3	1,9	4,7
^a $p = 0,069$ frente a pacientes tratados con CsA.					

ron con sirolimus, de los ensayos 207 y 210, desarrollaron un tumor maligno. 27 de dichos pacientes tenían un tiempo de evolución superior a los cuatro años.

Otros trabajos relevantes, en los que se describe la propiedad antitumoral del sirolimus, son los siguientes:

El SRL induce la apoptosis en el linfoma células B. El sirolimus, además de cau-

sar una profunda inhibición de las células B inmaduras de linfoma (BKS-2) y en otros tipos de células de linfomas (L1.2, NFS 1.1. y WEHI-279), así como a células del timoma, induce a la muerte celular programada (apoptosis) de las células BKS-2 del linfoma [40].

El sirolimus bloquea la progresión de los tumores. De los estudios *in vitro* que han llevado a cabo Luan et al [41-44], resaltan los siguientes resultados: que el sirolimus aumenta la expresión de E-cadherina sobre las células de cáncer renal y en consecuencia induce el cambio de fenotipo invasivo a no invasivo a la vez que promueve la adhesión de las células y aumenta el contacto intercelular (la E-cadherina es una proteína que promueve la adhesión de las células e induce la conversión morfológica de las células de tipo fibroblástico invasivo en un tipo de célula epitelial no invasivo, sobre las células de cáncer renal). El tratamiento con sirolimus de las células de cáncer reduce los niveles de cyclin D1 mRNA e incrementa los niveles de p27^{kip1} mRNA (un inhibidor de la CDK) y en consecuencia produce una inhibición del paso G1 a S y bloqueo de la progresión del ciclo celular confirmado por la inhibición de la proliferación de las células cancerosas renales. De los estudios *in vivo* destacamos la observación que el tratamiento con sirolimus determina una reducción notable del crecimiento del tumor y de la progresión de las metástasis, a la vez que prolonga la supervivencia de los ratones inoculados con células de cáncer renal o de vejiga de origen murino o humano [41-44].

El sirolimus inhibe el crecimiento del tumor y el desarrollo de las metástasis por antiangiogénesis. Breitenbuch y Guba et al describen que el sirolimus inhibe, mientras que la ciclosporina promueve el crecimiento tumoral y el desarrollo de metástasis en los ratones. El efecto antitumoral del sirolimus parece estar basado en la actividad antiangiogénica secundaria a un descenso de la producción del factor de crecimiento del endotelio (VEGF) que inhibe la respuesta de las células endoteliales vasculares a la estimulación por el VEGF [45,46].

El sirolimus y TGF- β cooperan en inhibir la proliferación de células no transformadas y células de cáncer actuando en conjunto para inhibir la actividad de la CDK2. Durante algún tiempo se ha acumulado la evidencia que el TGF- β actúa como un supresor endógeno de la tumorigénesis y que la función supresora del tumor por el TGF- β está inactivada en algunos carcinomas. En esta publicación, los autores sugieren la hipótesis que el sirolimus puede aumentar o restaurar la sensibilidad al TGF- β en las células cancerosas, y demuestran que potencia la detención del crecimiento inducido por el TGF- β en células no transformadas además de restaurar la detención del crecimiento en células tumorales de ratón y células carcinomatosas de humanos. El TGF- β y el sirolimus cooperan en incrementar la unión de los inhibidores p21 y p27 a la CDK2 con inhibición de su actividad cinasa CDK2 [47].

Tolerancia

Los receptores de un trasplante han de

tomar inmunosupresores de por vida para prevenir el rechazo de sus órganos [48]. Normalmente, tales tratamientos incluyen una combinación de esteroides, un inhibidor de la calcineurina y un agente antiproliferativo; en algunos centros se añade basiliximab, daclizumab, suero antilinfocitario o antitímico.

La dependencia de la inmunosupresión modera el beneficio que se obtiene del trasplante por un incremento del riesgo de las infecciones oportunistas, tumores y otros efectos secundarios, como la nefrotoxicidad que producen los inhibidores de la calcineurina, la osteoporosis secundaria a los esteroides; y ambos empeoran la diabetes y la hipertensión arterial, por lo que se hace necesario encontrar métodos que reduzcan la dependencia de la inmunosupresión crónica, con una mejora de la vida después del trasplante a la vez que proporciona una satisfactoria prevención del rechazo del injerto.

Con esta idea, algunos autores como Swanson, Hale, Knechtle, Pileggi et al [49-57] han realizado estudios con sirolimus y han llegado a la conclusión de que este inmunosupresor desempeña un papel potencial en la inducción de tolerancia.

Con el propósito de reducir los efectos secundarios de la inmunosupresión de mantenimiento, y con el conocimiento de que los regímenes que producen depleción de los linfocitos y sin inmunosupresión de mantenimiento facilitan en los primates una supervivencia a largo plazo libre de rechazo, Swanson et al [49,50] diseñaron un es-

tudio en el que utilizan timoglobulina en la inducción, con el fin de crear una depleción de células T perioperatoria-mente, e inmunosupresión con sirolimus en monoterapia, un inmunosupresor que no impide las señales de transducción en el receptor de la célula T, pero en cambio inhibe las señales del receptor de la interleucina-2, cuyos resultados mostraron que es una pauta que se tolera bien, que los pacientes alcanzan una excelente función renal, que se logra la prevención del rechazo agudo con éxito, evita en la mayor parte de los enfermos el uso de esteroides e inhibidores de la calcineurina y ofrece una alternativa terapéutica que debe compararse con nuevos tratamientos que promuevan la tolerancia.

Hale et al [51,54] han mostrado que una dosis única de sirolimus (24 mg/kg el sexto día postrasplante) después de administrar suero antilinfocitario y transfusión de médula ósea donante específica produce tolerancia en injertos de piel en ratones. La tolerancia específica se asoció con quimerismo persistente, cuyo nivel y duración estuvo directamente relacionado con la dosis de médula ósea que se utilizó.

Igualmente Knechtle et al [55,56] han realizado ensayos combinando Campath-1H y sirolimus con resultados preliminares prometedores.

Pileggi et al [57] en esta publicación demuestran que una combinación de un antiCD154 y de sirolimus prolonga la supervivencia de islotes en ratones NOD, un modelo de diabetes donde la recurrencia de la diabetes y el rechazo contribuyen a la pérdida del injerto.

Tabla III. Linfocele, cicatrización y sirolimus

Complejidad de la herida	Tacrolimus	Sirolimus	<i>p</i>
Incisión abierta	1/52 (1,9%)	10/51 (19,6%)	0,004
Linfocele	1/52 (1,9%)	8/51 (15,7%)	0,016
Serosa	0/52 (0,0%)	1/51 (2,0%)	0,490
Infección de la herida	2/52 (3,8%)	10/51 (19,6%)	0,015
Celulitis	1/52 (1,9%)	5/51 (9,8%)	0,110

W.J. Lund et al [68].

Efectos secundarios del sirolimus

Aparte de los efectos secundarios que ya se conocen del sirolimus (anemia, leucopenia, trombocitopenia, trastornos del metabolismo lipídico, artralgias, diarrea, etc.), en esta revisión sólo queremos destacar aquellos que están teniendo mayor interés en la actualidad.

Retraso de la función del injerto

Además de la publicación de Lieberthal et al [58], en la que se muestra en un modelo de isquemia de repercusión renal que el sirolimus inhibe la proliferación de las células tubulares renales e induce apoptosis de estas células, existen varias publicaciones en las que se da a conocer que el sirolimus incrementa la incidencia de retraso de la función del injerto [59] y prolonga su recuperación [60], lo que sugiere que la rapamicina ejerce un efecto tóxico sobre las células epiteliales y retrasa su curación, que produce un incremento en la incidencia de retraso de la función del injerto. Adicionalmente, el tratamiento combinado con inhibidores

de la calcineurina puede conducir a una extensión del daño y muerte celular [61]. Por otro lado, McTaggart et al [62] manifiestan que aunque el sirolimus se asocia a una mayor incidencia de retraso de la función del injerto, no tiene un impacto negativo en la función renal al año ni en la supervivencia del paciente o del injerto.

Linfocele

Los pacientes tratados con sirolimus presentan una incidencia superior de linfocele que la que se observa con otros inmunosupresores [63-67], pero debemos tener presente que existen otros factores de riesgo, como la obesidad ($BMI > 30 \text{ kg/m}^2$) y la presencia de episodios de rechazo agudo tratados, que contribuyen a su formación y que la retirada temprana de corticoides (cinco días) se asocia con una incidencia más baja de linfocitos (1,3%) que la que se observa con un régimen inmunosupresor con corticoides y sirolimus (8-20%).

Cicatrización de las heridas

En un trabajo que Lund et al [68] presentaron en el ATC 2003, observan que el sirolimus y la obesidad son dos factores de riesgo independientes para el desarrollo de complicaciones postoperatorias en la herida, y manifiestan que dado que existe un riesgo aumentado de estas complicaciones en los pacientes obesos, sería bueno evitar el sirolimus en el postoperatorio inmediato en estos pacientes.

Microangiopatía trombótica

En una publicación reciente [69], Barone et al publican un caso de microangiopatía trombótica localizada en el injerto renal

en una mujer trasplantada, que llevaba como medicación inmunosupresora sirolimus, micofenolato mofetil y prednisona, sin asociarse a inhibidores de la calcineurina; especulan que sea el sirolimus el que haya podido desencadenar este proceso.

Conclusión

El sirolimus es un macrólido, cuya estructura es similar al tacrolimus y a otros antibióticos macrólidos, insoluble en agua, pero altamente soluble en soluciones oleosas y en lípidos. Actúa sobre la respuesta inmune al interferir la transducción de la señal intracelular que provoca la unión de la interleucina-2 (IL-2) a su receptor, que provoca la detención del ciclo de las células T en la transición desde la fase G₁ a la fase S e inhibe la proliferación de las células T. El sirolimus facilita la apoptosis y actúa sinérgicamente con el bloqueo de la señal coestimuladora en la reducción del número de linfocitos T alorreactivos.

La C_{máx}, t_{máx}, AUC y niveles valle dependen de la dosis que se administre; se observa que los niveles valle de sirolimus se correlacionan significativamente ($r^2 = 0,95$) con el AUC. Cuando se administra simultáneamente con ciclosporina neoral (CsA Neoral), la C_{máx} y el AUC de sirolimus se incrementan cuando se administra el sirolimus solo, sin embargo, cuando el sirolimus se administra cuatro horas después de la CsA neoral, la C_{máx} y el AUC de sirolimus sólo se incrementan ligeramente. Cuando se administran múltiples dosis de CsA y sirolimus en pacientes con trasplante renal,

se reduce el aclaramiento de la CsA y hay que reducir la dosis de CsA. Aunque parece que el tacrolimus no interactúa con el sirolimus, cuando se administran conjuntamente es conveniente el control tanto del sirolimus como del tacrolimus. Cuando se utiliza la combinación sirolimus junto con micofenolato mofetil (MMF), los niveles de ácido micofenólico (AMF) resultan más elevados que cuando se utiliza la combinación de CsA con MMF.

Los diversos estudios han confirmado que el sirolimus es más eficaz que la azatioprina en la prevención del rechazo agudo y que, asociado a anticuerpos antiCD25 o timoglobulina, corticoides y micofenolato mofetil, puede proporcionar la suficiente inmunosupresión que permita evitar y retrasar la introducción, reducir la dosis o retirar a los inhibidores de la calcineurina (ciclosporina y tacrolimus). Igualmente se ha demostrado que el sirolimus en combinación con tacrolimus y pautas cortas de anticuerpos antiCD25 o timoglobulina permite evitar el uso de corticoides con un claro beneficio para el paciente, ya que reduce el riesgo cardiovascular e infeccioso y facilita el crecimiento en los niños. También hay que destacar la utilidad del sirolimus en el trasplante de páncreas y que la introducción del sirolimus en el protocolo de Edmonton ha permitido el despegue del trasplante de islotes pancreáticos.

El sirolimus, además de su potente actividad inmunosupresora, presenta una actividad antiproliferativa y antimigratoria, cuya eficacia inhibiendo el engrosamiento neointimal que produce el daño mecánico e inmunológico se ha

demostrado en varios modelos animales, y en estudios clínicos que es útil en la prevención de la recidiva de la estenosis tras la dilatación con *stent* y en la prevención de la arteriopatía del trasplante cardíaco. También se ha comprobado que el sirolimus inhibe la aterogénesis en un modelo experimental de hipercolesterolemia. La acción del sirolimus podría ser secundaria a un incremento del nivel del inhibidor del CDK p27^{kip1} e inhibición de la fosforilización del pRb dentro de la pared del vaso, con

un bloqueo de la actividad de los complejos enzimáticos CDK/ciclina al impedir la progresión del ciclo celular.

Asimismo, el sirolimus está demostrando una capacidad para reducir el riesgo de padecer cáncer y controlar el crecimiento del ya establecido, a la vez que proporciona una inmunosupresión efectiva.

Otra acción a tener en cuenta del sirolimus es su propiedad de facilitar la tolerancia inmunológica gracias a su propiedad de no inhibir la apoptosis.

Bibliografía

- Andrés V, Castro C. Antiproliferative strategies for the treatment of vascular proliferative disease. *Curr Vasc Pharmacol* 2003; 1: 85-98.
- Ruygrok PN, Muller DW, Serruys PW. Rapamycin in cardiovascular medicine. *Intern Med J* 2003; 33: 103-9.
- Ross R. Atherosclerosis. An inflammatory disease. *Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
- Steinberg D. Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. *Nat Med* 2002; 8: 1211-7.
- Dzau VJ, Braun-Dullaeus RC, Sedding DG. Vascular proliferation and atherosclerosis: new perspectives and therapeutics strategies. *Nat Med* 2002; 8: 1249-56.
- Sartore S, Chiavegato A, Faggini E, Franch R, Pauto M, Ausoni S, et al. Contribution of adventitial fibroblasts to neointima formation and vascular remodeling: from innocent bystander to active participant. *Circ Res* 2001; 89: 1111-21.
- Burris KF. The endothelium of advanced in humans. *Arterioscler Thromb* 1991; 11: 1678-89.
- Gordon D, Reidy MA, Benditt EP, Schwartz SM. Cell proliferation in human coronary arteries. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990; 87: 4600-4.
- Katsuda S, Coltrera MD, Ross R, Gown AM. Human atherosclerosis. IV. Immunocytochemical analysis of activation and proliferation in lesions of young adults. *Am J Pathol* 1993; 142: 1787-93.
- O'Brien ER, Alpers CE, Stewart DK, Ferguson M, Tran N, Gordon D, et al. Proliferation in primary and restenotic coronary atherectomy tissue. Implications for antiproliferative therapy. *Circ Res* 1993; 73: 223-31.
- Orekhov AN, Andreeva ER, Mikhailova IA, Gordon D. Cell proliferation in normal and atherosclerotic human aorta proliferative splash in lipid-rich lesions. *Atherosclerosis* 1998; 139: 41-8.
- Rekhter MD, Gordon D. Active proliferation of different cell types including lymphocytes, in human atherosclerotic plaques. *Am J Pathol* 1995; 147: 668-77.
- Veinot JP, Ma X, Jelley J, O'Brien ER. Preliminary clinical experience with the pullback atherectomy catheter and the study proliferation in coronary plaques. *Can J Cardiol* 1998; 14: 1457-63.
- Marx SO, Marks AR. The development of rapamycin and its application to stent restenosis. *Circulation* 2001; 104: 852-5.
- Burke SE, Lubbers NL, Chen YW, Hsieh GC, Mollison KW, Luly JR, et al. Neointimal formation after balloon-induced vascular injury in Yucatan minipigs is reduced by oral Rapamycin. *J Cardiovasc Pharmacol* 1999; 33: 829-35.
- Gallo R, Padurean A, Jayaraman T, Marx S, Roque M, Adelman S, et al. Inhibition of intimal thickening after balloon angioplasty in porcine coronary arteries by targeting regulators of the cell cycle. *Circulation* 1999; 99: 2164-70.

17. Gregory CR, Huang X, Pratt RE, Dzau VJ, Shortouse R, Billingham ME, et al. Treatment with rapamycin and mycophenolic acid reduces arterial intimal thickening produced by mechanical injury and allows endothelial replacement. *Transplantation* 1995; 59: 655-61.
18. Gregory CR, Huie P, Billingham ME, Morris RE. Rapamycin inhibits arterial intimal thickening caused by both alloimmune and mechanical injury. Its effect on cellular, growth factor, and cytokine response in injured vessels. *Transplantation* 1993; 55: 1409-18.
19. Morris RE, Cao W, Huang X, Gregory CR, Billingham ME, Rowan R, et al. Rapamycin (sirolimus) inhibits vascular smooth-muscle cell DNA synthesis in vitro and suppresses narrowing in arterial allografts and in balloon-injured carotid arteries: evidence that rapamycin antagonizes growth factor action on immune and nonimmune cells. *Transplant Proc* 1995; 27: 430-1.
20. Poston RS, Billingham M, Hoyt EG, Pollard J, Shortouse R, Morris RE, et al. Rapamycin reverses chronic graft vascular disease in a novel cardiac allograft model. *Circulation* 1999; 100: 67-74.
21. Suzuki T, Kopia G, Hayashi S, Bailey LR, Llanos G, Wilwinsky R, et al. Stent-based delivery of sirolimus reduces neointimal formation in a porcine coronary model. *Circulation* 2001; 104: 1188-93.
22. Castro C, Carbonell P, Andrés V, Campistol JM. Sirolimus inhibe la aterogénesis en un modelo experimental de hipercolesterolemia. 7º Congreso de la Societat Catalana de Trasplantament Barcelona 2-5 de febrero de 2003. Abstract 031.
23. Díez-Juan A, Andrés V. The growth suppressor p27(Kip1) protects against diet-induced atherosclerosis. *FASEB J* 2001; 15: 1989-95.
24. Luo Y, Marx So, Kiyokawa H, Koff A, Masague J, Marks AR. Rapamycin resistance tied to defective regulation of p27Kip1. *Mol Cell Biol* 1996; 16: 6744-51.
25. Nourse J, Firpo E, Flanagan WM, Coats S, Polyak K, Lee MH, et al. Interleukin-2-mediated elimination of the p27Kip1 cyclin-dependent kinase inhibitor prevented by rapamycin. *Nature* 1994; 372: 570-3.
26. Roque M, Reis ED, Cordon-Cardo C, Taubman MB, Fallon JT, Fuster V, et al. Effect of p27 deficiency and rapamycin on intimal hyperplasia: in vivo and in vitro studies using a p27 knockout mouse model. *Lab Invest* 2001; 81: 895-903.
27. Pham SM, Shears LI, Kawaharada N, Seghal SN. High local production of nitric oxide as a possible mechanism by which rapamycin prevents transplant arteriosclerosis. *Transplant Proc* 1998; 30: 953-4.
28. Morris RE, Cao W, Huang X, Gregory CR, Billingham ME, Rowan R, et al. Rapamycin (sirolimus) inhibits vascular smooth-muscle cell DNA synthesis in vitro and suppresses narrowing in arterial allografts and in balloon-injured carotid arteries: evidence that rapamycin antagonizes growth factor action on immune and nonimmune cells. *Transplant Proc* 1995; 27: 430-1.
29. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Rensing BJ, Abizaid AS, Tanajura LF, et al. Lack of neointimal proliferation after implantation of sirolimus-coated stents in human coronary arteries: a quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation* 2001; 103: 192-5.
30. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Rensing BJ, Abizaid AS, Tanajura LF, et al. Sustained suppression of neointimal proliferation by sirolimus-eluting stents: one year angiographic and intravascular ultrasound follow-up. *Circulation* 2001; 104: 2007-11.
31. Sousa JE, Costa MA, Sousa AGMR, Abizaid A, Seixas AC, Abizaid AS, et al. Two-year angiographic and intravascular ultrasound follow-up after implantation of sirolimus-eluting stents in human coronary arteries. *Circulation* 2003; 107: 381-3.
32. Sousa JE, Costa MA, Abizaid A, Sousa AGMR, Feres F, Mattos LA, et al. Sirolimus-eluting stent for the treatment of in-stent restenosis. A quantitative coronary angiography and three-dimensional intravascular ultrasound study. *Circulation* 2003; 107: 24-7.
33. Smits P, Degertekin M, Vos J, Rensing B, Foley D, Van der Huyesen W, et al. Sirolimus eluting stents for treatment of patients with in-stent restenosis. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 210.
34. Moses JW, Leon MB, Poprna JJ, Fitzgerald PJ, Holmes DR, O'Shaughnessy Ch, et al for the SIRIUS investigators. *N Engl J Med* 2003; 349: 1315-23.
35. Morice MC, Serruys PW, Sousa JE, Fajadet J, Ban Hayashi E, Perin M, et al for the RAVEL study group. *N Engl J Med* 2002; 346: 1773-80.
36. Keogh A. Sirolimus immunotherapy reduces the rates of cardiac allograft rejection: 6-month results from a phase 2, open-label study. *Am J Transplantation* 2002; 2: 246. Abstract 430.

37. Keogh A. Progression of graft vessel disease in cardiac allograft recipients is significantly reduced by sirolimus immunotherapy: 6-month results from a phase 2, open label study. *Am J Transplantation* 2002; 2: 246. Abstract 431.
38. Morales JM, Campistol JM, Mourad G, Eris J, Schena FP, Grinyó JM, et al. The long-term safety of sirolimus (Rapamune®) used with or without a calcineurin inhibitor in renal transplant patients: results from an ongoing follow-up study. *Congreso Internacional de Trasplantes. Miami 2002. Abstract 2405.*
39. Morales JM, Andrés A, Arias M, Campistol JM, García J, Grinyó JM, et al. Enfermedad tumoral en receptores de trasplante renal que reciben sirolimus (SRL) (Rapamune) como terapia de mantenimiento: seguimiento a 2 años de 5 estudios multicéntricos. XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Bilbao 2002. Abstract 264.
40. Muthukkumar S, Armes TM, Bondada S. Rapamycin, a potent immunosuppressive drug, causes programmed cell death in B lymphom cells. *Transplantation* 1995; 60: 364-70.
41. Luan F, Maluccio M, Sharma VK, Hojo M Yamaji K, Suthanthiran M, et al. Sirolimus prevents tumor progression: mTOR targeting for the inhibition of neoplastic progression. *AMJ Transplant* 2001; 1: 243. Abstract 428.
42. Luan FL, Hojo M, Maluccio M, Yamaji K, Suthanthiran M. Rapamycin blocks tumor progression: unlinking immunosuppression from antitumour efficacy. *Transplantation* 2002; 73: 1565-72.
43. Luan FL, Hojo M, Maluccio M, Yamaji K, Suthanthiran M. Rapamycin blocks tumour progression: Unlinking immunosuppression from antitumour efficacy. *Transplantation* 2002; 73: 1565-72.
44. Luan FL, Ding R, Sharma VK, Chon WJ, Lagman M, Suthanthiran M. Rapamycin is an effective inhibitor of human renal cancer metastasis. *Kidney Int* 2003; 917-26.
45. Breitenbuch PV, Guba M, Geissler EK, Koehl G, Flegel S, Farkas S, et al. Rapamycin inhibits tumour growth and metastasis in mice by antiangiogenesis. *AMJ Transplant* 2001; 1: 250. Abstract 459.
46. M Guba, Breitenbuch PV, Steinbauer M, Koehl G, Flegel S, Hornung M, et al. Rapamycin inhibits primary and metastatic tumour growth by antiangiogenesis: involvement of vascular endothelial growth factor. *Nature Medicine* 2002; 8: 128-35.
47. Law BK, Chytil A, Dumont N, Hamilton EG, Waltner-Law ME, Aakre ME, et al. Rapamycin potentiates transforming growth factor beta-induced growth arrest in nontransformed, oncogene-transformed, and human cancer cells. *Mol Cell Biol* 2002; 22: 8184-98.
48. Gaston RS. Maintenance immunosuppression in the renal transplant recipient: an overview. *Am J Kidney Dis* 2001; 38 (Suppl): S25-35.
49. Swanson SJ, Hale DA, Mannon RB, Kleiner DE, Cendales LC, Chamberlain CE, et al. Kidney transplantation with rabbit antithymocyte globulin induction and sirolimus monotherapy. *Lancet* 2002; 360: 1662-4.
50. Swanson SJ, Hale DA, Mannon RB, Harlan DM, Kleiner DE, Kirk AG. Sirolimus monotherapy in kidney transplantation following high dose thymoglobulin induction. *American Transplant Congress 2002. Abstract 1.319.*
51. Hale DA, Gottschalk R, Maki T, Monaco AP. Determination o fan improved sirolimus (rapamycin)-based regimen for induction of allograft tolerant in mice treated with anti-lymphocyte serum and donor-specific bone marrow. *Transplantation* 1998; 65: 473-9.
52. Hale DA, Gottschalk R, Umemura A, Maki T, Monaco AP. Immunologic mechanisms in tolerance induced by non-radiation based immunosuppression and donor bone marrow. *AMJ Transplant* 2001; 1: 381. Abstract 976.
53. Hale DA, Gottschalk R, Umemura A, Maki T, Monaco AP. Immunologic mechanisms in tolerance produced in mice with nonradiation-based lymphoablation and donor-specific bone marrow. *Transplantation* 2002; 74: 477-84.
54. Anam K, Akpınar E, Smoot DS, Harlan DM, Hale DA. Abrogation of alloantibody response in a complete mismatch murine skin allograft model. *ATC 2002. Abstract 762.*
55. Knechtle SJ, Pirsch JD, Becker BN, Odorico JS, D'Alessandro AM, Chin LT, et al. *ATC 2002. Abstract 1.276.*
56. Hamawy MM, Manthei ER, Fechner J, Hu H, Knechtle SJ. Surgery, University of Wisconsin-Madison, Madison, WI. Modulation of TCR function by the anti-CD52 antibody (Campah-1H). *ATC. Abstract 477.*
57. Pileggi A, Molano RD, Berney T, Braun M, Brown M, Ricordi C, et al. Combination of sirolimus and anti-CD154 costimulatory blockade results in long-term islet allograft survival in NOD mice. *American Transplant Congress 2002. Abstract 522.*
58. Lieberthal W, Fuhro R, Andry C, Rennke H, Abernathy VE, Koh JS, et al. Rapamycin impairs recovery from acute renal failure:

- role of cell-cycle arrest and apoptosis of tubular cells. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001; 281: F693-706.
59. Smith KD, Wrenshall LE, Nicosia RF, Pichler R, Marsh CL, Alpers CE, et al. Delayed graft function and cast nephropathy associated with tacrolimus plus rapamycin use. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1037-45.
60. McTaggart RA, Gottlieb D, Brooks JH, Bacchetti P, Roberts JP, Tomlanovich SJ, et al. Sirolimus prolongs recovery from delayed graft function after cadaveric renal transplantation. *Am J Transplant* 2003; 4: 416-23.
61. Lawsin L, Light JA. Severe acute renal failure after exposure to sirolimus-tacrolimus in two living donor kidney recipients. *Transplantation* 2003; 75: 157-60.
62. McTaggart RA, Bostrom A, Bacchetti P, Roberts J, Tomlanovich S, Feng S. Prolongation of delayed graft function by sirolimus does not adversely affect transplant outcomes. *ATC 2003*. Abstract 1602.
63. Kahan BD. Efficacy of sirolimus compared with azathioprine for reduction of acute renal allograft rejection: a randomized multicentre study. *Lancet* 2000; 356: 194-202.
64. Giessing M and Budde K. Sirolimus and lymphocele formation alter kidney transplantation: an immunosuppressive medication as co-factor for a surgical problem?. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 448-9.
65. Flechner SM, Zhou L, Mastroianni B, Savas K, Derweesh I, Fisher R, et al. The impact of sirolimus (SRL), mycophenolate mofetil (MMF), cyclosporine (CsA), and azathioprine (Aza) on lymphocele formation and treatment after kidney transplantation. *ATC 2003*. Abstract 1573.
66. Lund WJ, Larson TS, Stegall MD, Prieto M, Kremers WK. Obesity increases wound complications in sirolimus-treated renal allograft recipients. *ATC 2003*. Abstract 246.
67. Woodle ES, Vincenti F, Lorber M, Gritsch A, Washburn K, Matas A, et al. Influence of early (5 day) corticosteroid cessation on wound complications associated with sirolimus: results from a multicenter trial. *ATC 2003*. Abstract 247.
68. Lund WJ, Larson TS, Stegall MD, Prieto M, Kremers WK. Obesity increases wound complications in sirolimus-treated renal allograft recipients. *ATC 2003*. Abstract 246.
69. Barone GW, Gurley BJ, Abul-Ezz SR, Gökden N. Sirolimus-induced thrombotic microangiopathy in a renal transplant recipient. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 202-6.