

# Imunosupresia în transplantul alogrefelor vascularizate compozite

## *Immunosuppression in transplant of vascularized composite allografts*

Andreea GROSU-BULARDA, Oana VERMEȘAN, Luana LĂZĂRESCU, Ioan LASCĂR

Clinica de Chirurgie Plastică, Estetică și Microchirurgie Reconstructivă,  
Spitalul Clinic de Urgență, București

### REZUMAT

Începând cu anul 1998, când a fost efectuat primul transplant de mână în Franța, la Lyon, s-a produs o dezvoltare neașteptată a chirurgiei reconstructive de transplant (transplantul alogrefelor vascularizate compozite – VCA), fiind unica soluție reconstructivă pentru pacienții cu defecte tisulare complexe, extensive, implicând mai multe structuri anatomice, imposibil de abordat prin procedeele reconstructive convenționale.

S-au descris numeroase aplicații clinice ale transplantului de alogrefe vascularizate compozite, până în prezent fiind efectuate la nivel mondial peste două sute de astfel de proceduri: membru toracic, față, laringe, trahee, perete abdominal, uter, penis, membru pelvin, genunchi.

Se impune cunoașterea mecanismelor de acceptare și rejet al alogrefelor, modului de acțiune al agenților imunosupresori și a protocoalelor folosite în prezent în transplanturile vascularizate compozite. Regimurile imunosupresoare utilizate în prezent pentru transplanturile de organe (rinichi, cord) s-au dovedit eficiente și în cazul transplanturilor tisulare compozite, fiind raportate rezultate foarte bune în ceea ce privește supraviețuirea și funcționalitatea alogrefelor. Orientarea actuală este spre minimizarea imunosupresiei, transplantul tisular compozit nefiind o procedură indispensabilă pentru supraviețuire, precum situația transplantului de organ. Idealul este inducerea toleranței imunologice donor-specifice, pentru a se permite acceptarea alogrefelor fără a necesita tratament imunosupresor, situație ce ar permite dezvoltarea pe scară largă a medicinei reconstructive de transplant, însă momentan este un deziderat greu de obținut în practica clinică, cercetările continuând intensiv în domeniul imunologic.

**Cuvinte cheie:** imunosupresie, transplant, alogrefe vascularizate compozite (VCA), reacții adverse

### ABSTRACT

Since 1998, when the first successful hand transplant was performed in France, at Lyon, an unpredicted development of reconstructive transplant surgery (transplant of VCA: vascularized composite allografts) occurred. Those procedures represents the only option for patients having extensive, complex tissue defects, involving multiple anatomical layers, impossible to approach using conventional reconstructive techniques.

More than two hundred VCA procedures were reported worldwide, including: upper and lower limbs, face, larynx, trachea, abdominal wall, penis, uterus, knee allotransplant.

Adresa de corespondență:

Andreea Grosu-Bularda, Spitalul Clinic de Urgență, Calea Floreasca nr. 8, București, România  
E-mail: andreeabularda@gmail.com

*Important aspects arise in the study of immunological mechanisms of acceptance and rejection of the allograft, the mode of action of immunosuppressive agents and protocols currently used in transplant programs for vascularized composite allografts.*

*Immunosuppressive regimens that are used for solid organ transplantation (kidney, heart) are also effective for VCA transplants with good results regarding survival and functionality of the allografts. Current goal is the minimization of immunosuppression, composite tissue allotransplantation procedures being addressed for functional recovery (are not life-saving interventions like solid organ transplants). The ideal situation, which would allow a large scale utilization of VCA procedures, is the possibility of induction the donor-specific tolerance, allowing allograft acceptance without the need of immunosuppressive therapy. Currently this circumstance is difficult to achieve in clinical practice, resulting in large transplant centers ongoing research focusing on immunological difficult aspects.*

**Keywords:** immunosuppression, transplant, vascularized composite allografts (VCA), side effects

## INTRODUCERE

Ceea ce a permis dezvoltarea impresionantă a medicinei de transplant după a doua jumătate a secolului XX a fost progresul în domeniul imunologic și descoperirea de agenți imunosupresori potenți, terapia imunosupresoare fiind într-o continuă dinamică, îmbunătățindu-se semnificativ în ultimii 20 de ani. (1)

Combinăția între corticosteroizi și Azatioprină, ce a reprezentat regimul imunosupresor în perioada de început a transplantului (1960-1980), avea drept rezultat rate de supraviețuire la un an de doar 40-50%. Descoperirea Ciclosporinei A și Tacrolimusului în perioada 1970/1980 a adus îmbunătățiri considerabile în rata de supraviețuire a pacienților. Utilizând regimurile imunosupresoare actuale, reprezentate în general de combinația a 3 agenți (tripla terapie): Corticosteroizi, Tacrolimus și Micofenolat mofetil, supraviețuirea alogrefei și a pacientului s-au ameliorat substanțial, ajungând la rate de supraviețuire a alogrefei la un an de 80-95%, permițând considerarea transplantului ca terapie de elecție în cazul pacienților cu insuficiențe de organ, dar și pentru cei cu defecte tisulare complexe pentru care transplantul vascular compozit reprezintă singura opțiune. (2)

Alogrefele vascularizate compozite (VCA – vascularized composite allografts) reprezintă unități structurale, funcționale și estetice neovascularizate, formate dintr-un spectru larg de țesuturi nonvitale, de origine ectodermală și mezodermală. Ceea ce caracterizează alogrefele de țesuturi compozite este heterogenitatea lor histologică, cuprinzând diferite tipuri tisulare (piele, mușchi, os, măduvă hematogenă, țesut limfoid, nervi, tendoane), fiecare exprimând un grad diferit de imunogenicitate, pielea repre-

zentând cea mai antigenică componentă. (3,4) Este esențială o bună cunoaștere a aspectelor imunologice ale alogrefelor vascularizate compozite, datorită complexității lor structurale și importanței menținerii pe termen lung a viabilității acestora, scopul acestor proceduri fiind refacerea funcționalității, calității vieții și posibilitatea reintegrării socio-profesionale a pacienților (nu sunt intervenții indispensabile a supraviețuirii precum transplantul de organe solide). (3,5)

Este esențială prevenirea episoadelor de rejecție (ce duc la deteriorarea în timp, putând merge până la pierderea alogrefei compozite), în prezent acest lucru fiind posibil doar prin administrarea unor regimuri imunosupresoare adecvate. Se caută strategii de inducere a toleranței imunologice pentru a putea minimiza efectele adverse ale terapiei imunosupresoare, însă protocoalele existente sunt încă în faza de cercetare. (6)

Imunosupresoarele utilizate în transplantul alogrefelor vascularizate compozite sunt aceleași ca în cazul transplanturilor de organe, schemele terapeutice prezentând anumite particularități în funcție de tipul de transplant. (5)

În cazul transplanturilor de organe solide, îmbunătățirile s-au observat în posibilitatea reducerii riscului de rejet acut, însă supraviețuirea pe termen lung nu a fost îmbunătățită semnificativ în ultimii ani, cercetările continuând pentru optimizarea schemelor terapeutice imunosupresoare. (2,7)

## AGENȚII IMUNOSUPRESORI ÎN TRANSPLANT

Pierderea alogrefelor cauzată de factori imunologici s-a dovedit ca fiind cea mai ridicată în primele luni după transplant, astfel că există

variații în ceea ce privește dozele terapeutice imunosupresoare. Se pot distinge 3 perioade de administrare a terapiei imunosupresoare (2,8):

1. Perioada de inducție – presupune administrarea inițială, perioperator, pe termen scurt, a unor doze mari de medicamente imunosupresoare cu scopul de a reduce riscul apariției precoce a rejetului acut. În general, terapia de inducție include administrarea intravenoasă de anticorpi monoclonali sau policlonali, ce scade riscul apariției unui prim episod de rejecție și de asemenea reduce intensitatea acestuia în cazul apariției. În timpul perioadei de inducție, concomitent cu administrarea anticorpilor, se introduc și agenții imunosupresori utilizați în menținerea alogrefei, pentru a atinge concentrațiile eficiente în imunosupresie. (9)

2. Perioada de menținere inițială (precoce) urmărește menținerea unui nivel de imunosupresie suficient pentru a evita apariția episoadelor de rejet, monitorizând și ajustând dozele fiecărui agent imunosupresor. (2)

3. Perioada de menținere cronică: se administrează combinația imunosupresoare în dozele cele mai mici ce se dovedesc eficiente în menținerea viabilității alogrefei. Tratamentul este adaptat fiecărui pacient, evitându-se supraexpunerea la tratament imunosupresor, crescând riscul efectelor adverse, cât și o subdozare a acestuia ce atrage după sine rejetul și disfuncția alogrefei. În principiu, cu trecerea timpului se produce și un grad de „acomodare” a sistemului

imun cu alogrefa, permițând reducerea dozelor imunosupresoare. O strategie utilă este reprezentată de asocierea a mai mulți agenți imunosupresori, cu mecanism diferit de acțiune, însă cu efect sinergic și aditiv, permițând administrarea unor doze terapeutice mai mici din fiecare medicament, reducând astfel toxicitatea individuală a fiecăruia dintre acestea. (2,9)

Episoadele de rejet beneficiază de tratament specific, mai agresiv, considerat „terapie de salvare”. Atât în cazul transplantului de organe, cât și al celor compozite, prima linie de tratament în episoadele de rejecție acută este reprezentată de creșterea dozelor de glucocorticoizi, concomitent cu optimizarea nivelurilor bazale de imunosupresie. Când această strategie eșuează, se pot administra anticorpi intravenos. În cazul transplanturilor de mână și de față, agenți topici ca steroizi sau tacrolimus pot constitui o soluție în controlul local al episodului de rejet limitat la nivelul pielii. (9)

Agenții imunosupresori utilizați în practica clinică din transplant pot fi încadrați în două tipuri: farmacologici și biologici. (10) Tabelul 1 redă principalii agenți imunosupresori (9,11).

În continuare vom trece în revistă caracteristicile agenților imunosupresori utilizați în transplantul de organe și în cel al alogrefelor vascularizate compozite.

**TABELUL 1.** Principalii agenți imunosupresori

Tip de terapie	Clasă	Mecanism	Agenți
Farmacologică	Inhibitori de calcineurină	Supresează producția de citokine prin inhibarea calcineurinei	Ciclosporină A (CsA) Tacrolimus (Tac)
	Glucocorticoizi	Interferă cu transcripția genelor citokinelor Efect apoptotic asupra limfocitelor T imature din timus	Hidrocortizon Metilprednisolon Dexametazonă
	Antimetaboliți	Interferă cu sinteza purinelor și a ADN-ului	Acidul micofenolic și derivatul său: Micofenolot mofetil (MMF) Azatioprina (AZA)
	Inhibitori ai mTOR	Inhibă calea mTOR	Rapamicină/Sirolimus Everolimus
Biologică	Anticorpi policlonali	Mecanism polivalent, țintind mai multe căi de acțiune	Globulinele antitimocitare
	Anticorpi monoclonali	Imunosupresie antigen-specifică; blochează activarea limfocitelor T	Anti-CD3 (OKT3) Anti-CD20 (Rituximab) Anti-CD52 (Alemtuzumab) Anti-CD25 (Basiliximab și Dacluzimab)

## AGENȚII FARMACOLOGICI

### Inhibitorii de calcineurină

Reprezentanții acestei clase, Ciclosporina A și Tacrolimus, au proprietatea de a se lega de imunofilinele specifice lor determinând inhibarea activității calcineurinei și consecutiv acesteia, inhibarea transcripției genelor pentru IL-2, IL-3 și IL-4, interferând cu semnalizarea limfocitelor T prin producția de citokine. (9)

În transplantul de organe, inhibitorii de calcineurină acționează prin: reducerea considerabilă a frecvenței și severității episoadelor de rejecție, scăderea morbidității asociată cu tratamentul episoadelor de rejecție și pierderii grefe, rezultând ameliorarea supraviețuirii pacienților. (9)

### Ciclosporina A

Descoperirea Ciclosporinei A, în anul 1968, (ca produs metabolic fungic al *Tolypocladium inflatum gams*) este considerată un punct cheie în medicina de transplant, după rolul său imunosupresor stabilit de Borel în anul 1976, deja din 1978 fiind introdusă în practica clinică pentru transplantul renal. De atunci Ciclosporina A a constituit elementul de bază pentru o multitudine de protocoale imunosupresoare utilizate în transplantul de organe solide. (2)

Efectul imunosupresor al Ciclosporinei A se bazează pe inhibarea proliferării celulelor CD4+ prin interferența cu calea IL-2. Ciclosporina se leagă de o proteină citosolică, ciclofilina, formând un complex ce ulterior implică calcineurina (dependentă de calciu/calmodulina). Calcineurina activată enzimatic determină ulterior activarea NFAT (nuclear factor of activated T cells-factorul nuclear al celulelor T activate). NFAT activat generează transcripția genei pentru IL-2, stimulând această citokină cu rol în activarea limfocitară. Prin inhibarea IL-2, Ciclosporina A interferează cu creșterea și diferențierea limfocitelor T, având rol imunosupresor. (2, 11)

### Tacrolimusul

Tacrolimus (FK506) este un macrolid anitibiotic ce a fost izolat din *Streptomyces tsukubaensis* și reprezintă componenta principală a majorității regimurilor imunosupresoare, atât în transplantul de organe, cât și în transplantul de țesuturi compozite. Similar cu Ciclosporina A, Tacrolimus blochează activarea și proliferarea limfocitelor T prin interesarea căii IL-2. FK-506 leagă proteina FK-binding protein 12 (FKBP12),

inhibând calea calcineurinei, determinând reducerea proliferării limfocitelor T mediată de IL-2. Abilitatea de legare a FK 506 este de 10 până la 100 de ori mai mare în comparație cu Ciclosporina A, ceea ce determină posibilitatea utilizării unor doze mai mici de Tacrolimus, menținând însă capacitatea imunosupresoare. (2)

Un aspect important legat de utilizarea Tacrolimusului în cazul transplanturilor vascularizate compozite este efectul benefic pe care acesta îl are asupra reparării nervoase, stimulând regenerarea axonală, aspect esențial în recuperarea funcțională a alogrefei. Aceste observații au fost făcute cu ocazia primelor transplanturi de mână efectuate. (12)

Inhibitorii de calcineurină sunt metabolizați hepatic, printr-un mecanism dependent de citocromul P450, prezentând interacțiuni cu alte medicamente, precum macrolidele, blocanții canalelor de calciu, Amiodarona, conazolii, Metoclopramidul, Bromocriptina, Allopurinol, Colchicina. (11) Medicamente precum Rifampicina, Octreotid, Ticlopidina, unele anticonvulsivante determină inducție enzimatică, având drept consecință asupra Ciclosporinei, reducând nivelul plasmatic al acesteia. (11) Tacrolimus este metabolizat de două enzime ale familiei citocromului P450, CYP3A5 și CYP3A4, variantele genetice polimorfe ale genelor pentru aceste enzime, influențând comportarea farmacologică, dozele și concentrațiile sanguine ale Tacrolimusului. (13,14)

Este necesară monitorizarea atentă a nivelurilor serice ale inhibitorilor de calcineurină, deoarece acestea prezintă o fereastră terapeutică îngustă între eficiență și toxicitate. Măsurătorile sunt mai frecvente în prima perioadă post-transplant, cât și în situația modificărilor dozelor imunosupresive în timpul perioadei de menținere. Se administrează doze mai mari în perioada inițială după transplant, cât și în cazul unor episoade de rejet acut, dozele mici fiind indicate în menținere la pacienții stabili, cât și în situațiile apariției unor complicații medicamentoase. (9)

Principalele efecte adverse ale inhibitorilor de calcineurină includ:

- Ciclosporina A: nefrotoxicitate, hipertensiune arterială, neurotoxicitate, dislipidemii, hirsutism, hiperplazie gingivală, infecții oportuniste (inclusiv cerebrale, putând duce la leucoencefalopatie multifocală progresivă), malignități. (15)
- Tacrolimus: diabet zaharat, hipertensiune arterială, nefrotoxicitate, toxicitate hepatică, dislipidemii, tulburări neurologice, riscul de

infecții oportuniste, riscul dezvoltării unor malignități (crește riscul dezvoltării malignităților asociate cu infecții virale). (9, 15)

Deși sunt disponibile și alte clase imunosupresoare, acestea sunt administrate mai degrabă adjuvant inhibitorilor de calcineurină, rolul acestora fiind esențial în menținerea pacienților transplantați. Majoritatea protocoalelor terapeutice încearcă să reducă expunerea la doze mari de inhibitori de calcineurină, pentru a evita reacțiile adverse, prin asocierea unor doze mai mici ale acestora cu agenți mai puțin nefrotocici precum micofenolat mofetil sau rapamicina. (9)

### Glucocorticoizii

Corticoizii au avut un rol important, încă de la începuturile transplantului, în terapia imunosupresoare de menținere, pentru prevenirea rejecției alogrefelor, cât și în tratamentul episoadelor de rejecție acut. (2)

Corticosteroidii sunt foarte utili în terapia de menținere prin efectele lor antiinflamatorii și imunosupresoare. Efectele lor includ inhibarea expresiei genelor citokinelor, prin interferența cu transcripția acestora. Fiind compuși lipofilici, corticoizii sunt translocați inițial în citoplasma unde se leagă de receptorii lor, apoi complexul steroid-receptor ajunge în nucleu unde se leagă de elementele glucocorticoid-responsive de la nivelul ADN, interferă cu transcripția genică, influențând competitiv și consecutiv inhibând funcționarea NF-KB (Nuclear Factor Kappa Light-Chain Enhancer of Activated B Cells), acesta din urmă fiind un factor de activare pentru citokinele proinflamatorii. (11,17)

Corticoizii determină inhibarea producției de citokine, reduc circulația limfocitelor, metaboliților acizi și scad permeabilitatea vasculară. De asemenea, blochează activarea și proliferarea limfocitelor T și în consecință răspunsul clonal al acestora. Elementele majore blocate sunt IL-1 și IL-6, însă ca efect secundar se produce și blocarea IL-2, IFN- $\gamma$  și TNF- $\alpha$ . (18) S-a observat și un efect inductor apoptotic pe care glucocorticoizii îl au asupra limfocitelor T imature de la nivelul timusului, determinând scăderea numărului de limfocite T ce migrează în periferie. (11)

Prednisonul și metilprednisolonul sunt cel mai frecvent utilizate pentru primitorii transplanturilor. Ele au efect nespecific, suprimând global sistemul imun. (18)

În prezent, majoritatea protocoalelor utilizează perioperator doze mari de metilprednisolon, cu ajustarea corticoterapiei la aproximativ 5-7,5 mg/zi în următoarele luni post-transplant. (2)

Corticoterapia se asociază pe termen lung cu un număr mare de reacții adverse: hipertensiune arterială, diabet, hiperlipidemie, vindecarea dificilă a plăgilor, afectarea creșterii, suprimarea axului hipofizo-adrenal, afectări oculare (catractă, glaucom, retinită), osteoporoză, necroze aseptice, fracturi, aspect Cushingoid, tulburări psihice, risc de infecții bacteriene și fungice. (9,17) Noile scheme terapeutice tind să reducă dozele de corticosteroizi, încercându-se, dacă este posibil, eliminarea lor în cursul terapiei de menținere cronică. (17)

### Antimetaboliții

#### Azatioprina

Azatioprina (Imuran) este un inhibitor al sintezei purinelor utilizat ca imunosupresor în transplantul renal încă din jurul anului 1960, conform raportărilor echipei conduse de profesorul Joseph Murray. (19) Înaintea descoperirii Ciclosporinei A, azatioprina a reprezentat alături de corticosteroizi terapia de elecție în transplantul de organe. (2)

Ca și antimetabolit, azatioprina își exercită proprietățile imunosupresoare prin întreruperea replicării ADN a limfocitelor B și T și, de asemenea, interferând cu semnalele costimulatorii, determinând depleția limfocitară. (2,20)

Azatioprina prezintă o serie de interacțiuni medicamentoase cu agenți precum allopurinol, mercaptopurină, clozapină, ribavirină, etanercept și diferite vaccinuri. (21)

Reacțiile adverse cele mai severe la administrarea azatioprinei sunt reprezentate de: mielosupresie (dependentă de doza administrată) cu leucopenie, trombocitopenie și anemie macrocitară, hepatotoxicitate și creșterea incidenței afecțiunilor maligne. (2)

În prezent, azatioprina a fost înlocuită de micofenolat mofetil în majoritatea protocoalelor terapeutice. (2)

#### Micofenolat mofetil (MMF)

Micofenolatul mofetil (MMF) este un antimetabolit imunosupresor mai selectiv decât azatioprina, al cărui compus activ, acidul micofenolic inhibă inozin-5'-monofosfat-dehidrogenaza (IMPDH), enzimă cheie în calea sintezei purinelor. (2,22,23)

Acidul micofenolic a fost descoperit de Gosio în anul 1893, ca produs de fermentație al fungilor *Penicillium brevicompactum*, fiind cunoscut ulterior timp de aproape un secol ca agent antimicrobian. (23) După anul 1980, au fost făcute studii ce au atestat rolul imunosupresor al MMF,

fiind aprobat în practica clinică de către FDA (Food and Drug Administration) în anul 1995 pentru rolul său în prevenirea rejecției alogrefelor renale. (2)

MMF inhibă proliferarea limfocitelor T și B umane, suprimând răspunsul imun celular, cât și producția de anticorpi, având influență atât asupra rejecției acute cât și cronice. De asemenea, MMF poate induce apoptoza limfocitelor T. Efectul său citostatic este de aproximativ 5 ori mai potent asupra limfocitelor decât asupra fibroblastelor sau alte tipuri celulare. Depleția deoxiguanozin-trifosfatului (dGTP) este principalul mecanism prin care acidul micofenolic suprесеază sinteza de ADN și proliferarea limfocitelor T. Acidul micofenolic nu acționează asupra căii IL-2. El determină inhibarea maturării celulelor dendritice și poate induce diferențierea liniei celulare monocito-macrofagice, scăzând expresia IL-1 și stimulând expresia receptorului antagonistului IL-1. MMF, prin scăderea producției de oxid nitric, prezintă și proprietăți antiinflamatorii, utile în atenuarea episoadelor de rejet acut și cronic. Spre deosebire de inhibitorii de calcineurină, nu are efecte nefrotoxice și nu induce producția de TGF- $\beta$  (Transforming growth factor beta), implicat în fibrogeneză. (23)

MMF este absorbit rapid după administrarea orală și hidrolizat la acid micofenolic. Biodisponibilitatea acidului micofenolic este de aproximativ 90%, la nivel hepatic suferă un proces de glucuronare, forma inactivă rezultată fiind excretată în principal renal. Dozele uzuale de MMF la adult sunt de 1-1,5 g de două ori pe zi, necesitând reducerea acestora în caz de reacții adverse severe. (9)

Principalele reacții adverse consecutive tratamentului cu MMF sunt: supresia măduvei osoase hematogene (cu leucopenie, anemie) și tulburările gastro-intestinale (dureri abdominale, diaree, gastrită). De asemenea, există riscul de apariție a malignităților. (9)

Pentru a contracara efectele adverse asupra tubului digestiv s-a propus o formă enterosolubilă a micofenolatului (enteric-coated mycophenolate sodium-EC-MPS), ce a scăzut rata reacțiilor adverse și implicit necesitatea reducerii dozelor terapeutice sau a discontinuității în tratament, cu efect benefic în reducerea incidenței rejetului (investigat prin biopsie) la pacienții transplantați renal. (24)

Asocierea cu inhibitorii de calcineurină a dus la îmbunătățirea supraviețuirii alogrefelor, cu reducerea episoadelor de rejet acut și cronic. MMF este imunosupresorul de elecție în cazul

pacienților ce au dezvoltat nefrotoxicitate medicamentoasă în urma altui agent terapeutic. (25, 26) Azatioprina este încă utilizată ca anti-metabolit în unele protocoale terapeutice de transplant renal, în asociere cu Tacrolimus și corticoizi (tripla terapie), menținând eficiența terapiei, unul dintre considerente fiind costurile mult mai mici ale tratamentului comparativ cu micofenolat mofetil (costul azatioprinei fiind de 6-10 ori mai scăzut decât cel al MMF). (22)

### Inhibitorii mTOR

O altă clasă importantă de imunosupresoare este reprezentată de inhibitorii ai unor fosfatidil inozitol kinaze denumite „mammalian targets of rapamycin” (mTOR). Efectele sunt de inhibare a funcțiilor celulare, sintezei și transcripției proteinelor. Reprezentanții acestei clase sunt Sirolimus (Rapamicina) și Everolimus. (2)

Rapamicina a fost descoperită în solul din Insula Paștelui, fiind identificată inițial ca un puternic metabolit antifungic, ulterior dovedindu-se activitatea antitumorală și imunosupresoare a acesteia. FDA a aprobat utilizarea sa în anul 1999 pentru prevenirea rejecției alogrefelor renale. (2) Sirolimus este un macrolid produs de *Streptomyces hygroscopicus*, înrudit structural cu Tacrolimus. Se leagă tot de FKBP12, dar nu inhibă transcripția genelor citokinelor în celulele T. Complexul format de Sirolimus și FKBP12 se leagă de mTOR și inhibă activarea acesteia. Astfel, factorii de creștere sunt inhibați și se produce blocarea diviziunii celulare și expansiunea clonală (efect benefic în prevenirea rejetului acut). (9,11)

Metabolizarea Sirolimus se face dependent de citocromul P450, existând variații ale nivelului plasmatic și multiple interacțiuni medicamentoase. Sirolimus are o fereastră terapeutică îngustă, fiind necesară urmărirea atentă a nivelurilor plasmaticice ale acestuia. (11) Asocierea Sirolimus cu inhibitorii de calcineurină crește nefrotoxicitatea și riscul de hipertensiune arterială la pacienții transplantați renal. (2)

Everolimus este derivatul sintetic al Sirolimusului, având o biodisponibilitate crescută și timp mai scurt de înjumătățire. Nu s-au constatat afectările observate în cazul Sirolimus în situația asocierii Everolimus cu Ciclosporina A. (2)

Atât Sirolimus, cât și Everolimus inhibă migrarea fibroblastică, proliferarea și sinteza de collagen determinând întârziere în vindecarea plăgilor. Everolimus are proprietăți farmacocinetice mai bune, inhibând mai puțin activitatea fibroblastică. (9)

Reacțiile adverse, comune ambilor agenți, sunt: hiperlipidemie, anemie, trombocitopenie, agravarea proteinuriei, leziuni tegumentare, ulcerării la nivelul mucoasei bucale, pneumonite, vindecarea dificilă a plăgilor. (2,9)

### Agenții biologici

Agenții biologici sunt reprezentați de anticorpii monoclonali și policlonali, utilizați în general ca terapie de inducție în cadrul transplanturilor de organe, cât și pentru transplanturile vascularizate compozite. Faza de inducție a terapiei imunosupresoare utilizează un regim intens, peri-operator și imediat post-transplant cu scopul de a inactiva sistemul imun al primitorului, evitând interacțiunea acestuia cu antigenele donorului. Ideal ar fi să se inducă la primitor un status tolerogenic pentru alogrefă. (2)

Aloreactivitatea manifestată precoce în cursul transplantului induce episoade de rejecție acută și, de asemenea, crește riscul de apariție a rejecției cronice, rezultând în afectarea funcționalității și supraviețuirii pe termen lung a alogrefei. (2)

### Anticorpii policlonali

Această clasă este reprezentată de globulinele antitimocitare: ATG (globulina policlonală anti-timocitică). ATG este obținută de la animale ce au fost imunizate cu limfocite umane. Ca rezultat, ATG este direcționată non-specific împotriva limfocitelor umane, determinând depleția acestora prin multiple mecanisme, incluzând liza mediată de complement și opsonizarea. (2) ATG este aprobată de FDA pentru uz clinic în două forme: Atgam și Timoglobulina.

Atgam®-ATG cabalin (eATG, Pfizer) constă în gamma globuline sterile, purificate și concentrate (IgG monomeric din ser cabalin hiperimun, imunizat cu timocite umane) și are indicații în transplantul renal pentru controlul rejecției allogrefei și, de asemenea, în transplantul medular. (27)

Timoglobulina®, ATG de iepure (rATG, Genzyme), aprobată de FDA în 1998, este indicată în tratamentul rejecției acute la pacienții cu transplant renal în asociere cu terapie imunosupresivă concomitentă. (28)

Se recomandă utilizarea anticorpilor policlonali când se dorește eliminarea steroizilor din schema terapeutică imunosupresoare, datorită efectelor bune observate în tratamentul episoadelor de rejecție rezistente la corticoterapie. (2)

La administrarea inițială a ATG se poate induce o reacție caracterizată prin febră, frison, tre-

mor, reacții anafilactice. Unii pacienți dezvoltă leucopenie și trombocitopenie. (2)

### Anticorpii monoclonali

Muromonab-CD3 (Orthoclone OKT3, Janssen-Cilag, Beerse, Belgia) a fost primul anticorp monoclonal aprobat pentru transplantul renal în scopul tratării episoadelor de rejecție acută. Ținta sa este proteina CD3, parte din complexul TCR de pe suprafața limfocitului, determinând reducerea activării limfocitelor T. OKT3 blochează generarea și funcționarea limfocitelor T citotoxice, eliminându-le din circulație. OKT3 nu se mai folosește de rutină, din cauza numeroaselor efecte adverse: sindromul de eliberare a citokinelor (caracterizat prin febră, cefalee, mialgii), infecții și afecțiuni limfoproliferative post-transplant, având în prezent agenți mai potenți cu mai puține efecte adverse. (2,29,30)

Alemtuzumab (Campath®, Genzyme Corporation, MA, SUA) este un antilimfocit potent, anticorp anti-CD52 monoclonal umanizat, folosit ca agent de inducție în transplantul de organe, cu rezultate bune, încurajând folosirea sa în asociere cu minimizarea protoalelor imunosupresoare și pentru alotransplantul vascular compozit. (31) Alemtuzumab a fost utilizat inițial ca agent antitumoral în tratamentul leucemiei limfocitare cronice cu celule B. (30) Alemtuzumab acționează asupra peptidului CD 52, aflat pe suprafața limfocitelor mature, determinând liza limfocitară anticorp-dependentă. (30) CD 52 este prezent și pe suprafața limfocitelor B, macrofagelor și celulelor natural killer, alemtuzumab determinând și depleția acestora. Timpul de înjumătățire al acestuia este de aproximativ 2 săptămâni, diferite celule având rate diferite de refacere după terapie. Reacțiile adverse observate sunt neutropenie, anemie, pancitopenie în unele cazuri, reacții autoimune. (2)

Administrarea de Alemtuzumab permite reducerea dozelor de inhibitori de calcineurină, scăzând riscul de nefrotoxicitate, fiind unul dintre principalele avantaje ale utilizării sale. (32)

Basiliximab și daclizumab sunt anticorpi monoclonali ce se leagă cu afinitate mare de subunitatea alfa (CD 25) a receptorului Interleukinei 2 (IL-2R), prevenind formarea situsului de legare al IL-2, prin aceasta întrerupând cascada de evenimente celulare ce duc la activarea celulară, proliferarea și eliberarea citokinelor. (30, 33)

Basiliximab (Simulect®, Novartis Pharmaceutical Corp), anticorp monoclonal CD25 chimeric șobolan-om (aproximativ 70% porție umană) a fost aprobat de FDA ca agent de

## TERAPII IMUNOSUPRESOARE NOI AFLATE ÎN STUDIU

inducție în transplantul renal în anul 1998, datorită capacității sale de a preveni rejecția acută când se folosește în cadrul strategiei imunosupresive care include Ciclosporină A și steroizi (11,34)

Un alt anticorp anti-IL-2R (anti CD25) este Daclizumab (Zenapax®, Roche), anticorp umanizat (90% proporție umană) cu o activitate similară cu cea a Basiliximab ca agent de inducție în transplantul renal. (11,35)

Efectul Basiliximab persistă peste 30-45 de zile după administrare, acoperind perioada post-transplant când riscul de rejecție acută este foarte ridicat. (30) Administrarea anticorpilor monoclonali anti IL-2R nu permite renunțarea la inhibitorii de calcineurină în terapia imunosupresoare de menținere, ci doar a regimurilor ce exclud steroizii („steroid-free“). (11) Fiind anticorpi umanizați, au fost reduse efectele adverse toxice, însă în cazul Basiliximab s-au raportat apariția edemului pulmonar și simptomatologie similară ARDS. (2, 36)

Ecuzimab (Soliris®, Alexion Pharmaceuticals) este un anticorp monoclonal umanizat îndreptat împotriva componentei proteice C5 a complementului uman. Se leagă cu mare afinitate de componenta C5, inhibând conversia acesteia în C5b și prin aceasta prevenind formarea complexului de atac al membranei (MAC C5-9). A fost utilizat inițial pentru tratamentul hemoglobinuriei paroxistice nocturne și sindromului hemolitic uremic atipic, fiind introdus în transplantul renal pentru tratamentul episoadelor de rejet umoral. De asemenea, o altă indicație de utilizare s-a dovedit pentru primitorii de transplant ce prezintă sensibilizare anterioară, urmărind reducerea rejetului acut mediat de anticorpi. (30,37) Reacțiile adverse asociate cu administrarea Ecuzimab sunt: hipertensiune, tulburări digestive, leucopenie, creșterea incidenței infecțiilor (inclusiv forme severe ca meningita cu *Neisseria meningitidis*). (30,38)

Rituximab este un anticorp monoclonal chimeric ce se leagă de antigenul CD 20 localizat pe suprafața limfocitelor B, determinând depleția acestora. S-a dovedit util în tratamentul afecțiunilor limfoproliferative apărute în cadrul transplantului și, de asemenea, pentru transplanturile renale cu incompatibilitate de grup sanguin, cât și cu incompatibilitate HLA donator-primitor. Date recente sugerează utilitatea Rituximab în transplant prin prevenirea rejecției cronice, mediată de anticorpi. (39) Reacțiile adverse observate sunt reprezentate de creșterea riscului de infecții, trombocitopenie, neutropenie. (39)

Cercetările în curs vizează testarea de agenți imunosupresori capabili să păstreze eficiența observată pe termen scurt a protocoalelor actuale, dar să îmbunătățească rezultatele pe termen lung în supraviețuirea alogrefelor, cu menținerea funcționalității acestora și să reducă efectele adverse observate în protocoalele ce utilizează inhibitorii de calcineurină. (40)

### Inhibitorii de JAK 3

Janus Kinazele (JAK) sunt tirozin-kinaze citoplasmice, existând patru membri ai acestei familii: JAK 1, JAK 2, JAK 3 și Tirozin-kinaza 2 (Tyk2). La mamifere, JAK 1, JAK 2 și Tyk2 sunt exprimate ubiquitar, contrastând cu expresia JAK 3 care este mai restrictivă, fiind predominant exprimată în celulele hematopoietice, fiind corelată cu dezvoltarea și activarea celulară. Janus kinazele aparțin sistemului JAK-STAT: Janus Kinase-Signal Transducer and Activator of Transcription. (41, 42) JAK 3, prin distribuția sa selectivă la nivelul sistemului limfoid, constituie o țintă promițătoare, specifică pentru a fi țintită în protocoalele terapeutice de transplant. JAK 3 mediază semnalizarea celulară prin lanțul comun gamma al receptorilor de suprafață limfocinici, acționând prin lanțul IL-2R și în limfocite și celule NK. Consecința este recrutarea unei varietăți de proteine semnalizatoare incluzând pe cele ale familiei STAT ai factorilor de transcripție. Proteinele STAT se leagă apoi la receptori, sunt fosforilate și translocate la nivelul nucleului unde facilitează transcripția a numeroase gene aferente activării limfocitelor T. (43)

Tofacitinib (Tositinib, CP-690, 550) reprezintă o moleculă mică, acționând ca inhibitor potent și selectiv al Janus kinazelor. Tofacitinib are afinitate foarte mare pentru JAK 3, mai redusă pentru JAK 2, afinitate foarte scăzută pentru JAK 1 și aproape inexistentă pentru Tyk 2. Este metabolizat hepatic de către sistemul CYP-450 3A4. Studiile clinice în transplantul renal au demonstrat ca Tofacitinib este echivalentul ciclosporinei A în posibilitatea prevenirii rejetului acut, având funcție renală mai bună decât în cazul utilizării inhibitorilor de calcineurină, incidența mai mică a leziunilor de rejet cronic observate histopatologic, însă prezintă o serie de reacții adverse mai serioase decât în cazul administrării ciclosporinei: infecții, anemie, neutropenie, afecțiuni limfoproliferative post-transplant. Continuarea cercetărilor este necesară pentru a re-

duce rata complicațiilor terapeutice, inhibitorii de JAK 3 fiind văzuți ca o potențială alternativă la inhibitorii de calcineurină în schemele imunosupresoare, mai ales la pacienții ce au dezvoltat toxicitate la aceștia din urmă. (44)

### **Inhibiția selectivă a PKC**

Familia protein-kinazei C (PKC) de serin/treonin-kinaze joacă un rol central în răspunsul imun adaptativ. PKC sunt ținte atractive recent studiate pentru intervenția farmacologică asupra răspunsului imun mediat prin limfocitele T în cazul bolilor autoimune și transplantului.

AEB-071 (Sotrastaurin) este un inhibitor selectiv al PKC, acționând asupra activării precoce a limfocitelor T, fără activitate antiproliferativă generală, fiind un agent imunosupresiv promițător în transplant și în afecțiunile imunologice limfocit T-dependente. (45)

### **FTY 720**

FTY 720 (Fingolimod) este un agent terapeutic nou, modulator al receptorului sfingozin-1-fosfat, fiind un derivat de ISP-1 (myriocina), metabolit fungic analog structural al sfingozinei. A fost aprobat de FDA în anul 2010 pentru tratamentul sclerozei multiple, însă reprezintă, de asemenea, o soluție promițătoare și în medicina de transplant, fiind evaluat în multiple studii clinice. FTY 720 crește supraviețuirea alogrefelor prin inhibarea migrării limfocitelor T de la nivelul organelor limfoide, eficiența sa în comparație cu imunosupresoarele standard fiind în curs de testare. (46)

### **FK 778**

FK 778 face parte dintr-o nouă clasă de medicamente imunosupresoare cu greutate moleculară mică, malononitramidale, fiind în curs de evaluare pentru rolul său în transplantul de organe.

Spre deosebire de alte imunosupresoare, FK778 își exercită activitatea imunosupresoare la nivel molecular prin suprimarea biosintezei de-novo a pirimidinelor, inhibând activitatea enzimei dihidroorotat-dehidrogenază și consecutiv inhibând proliferarea celulară. Pe lângă proprietățile imunosupresoare, s-a observat în studiile experimentale un efect antiviral al FK 778 asupra citomegalovirus și polioma virus, aspect important pentru pacienții transplantați, imunocompromiși, susceptibili la complicații infecțioase virale. (47)

## **PARTICULARITĂȚILE TRATAMENTULUI IMUNOSUPRESOR ÎN TRANSPLANTUL ALOGREFELOR VASCULARIZATE COMPOZITE**

În transplantul de organe, problemele legate de regimurile imunosupresoare se referă la complicațiile toxice ale acestora: afectări organice și metabolice, infecții recurente, riscul dezvoltării de tumori benigne și maligne, influențând supraviețuirea pe termen lung a pacientului. Cu atât mai mult, în cazul transplanturilor vascularizate compozite, proceduri ce nu sunt salvatoare de viață, ci au indicație funcțională, tratamentul imunosupresor trebuie atent selecționat și condus pentru a reduce pe cât posibil apariția unor reacții adverse severe. (2,48) Având în componență structuri cu antigenicitate diferită, este important să se cunoască bine dinamica răspunsului imun și să se realizeze urmărirea atentă a alogrefei și sancționarea promptă a episoadelor de rejecție acută. Componenta tegumentară a majorității transplanturilor vascularizate compozite permite monitorizarea vizuală a alogrefei, permițând intervenția terapeutică în stadii incipiente în situația declanșării răspunsului imun cu ajustarea corectă a tratamentului imunosupresor. (48,49) Prezența la nivelul alogrefei a componente osoase aduce și măduva osoasă hematogenă, ale cărei componente celulare au influență imunomodulatorie prin inducerea chimerismului hematopoietic. (50)

În ceea ce privește agenții imunosupresori utilizați, protocoalele în transplanturile tisulare compozite sunt similare celor din transplantul de organe, în special schemelor utilizate pentru transplanturile de rinichi, cord sau pancreas (ficatul este mai bine tolerat ca organ, necesită regimuri imunosupresoare mai blânde). Schemele utilizate previn pierderea alogrefei, însă nu reușesc să prevină apariția episoadelor de rejecție acută în VCA (85-90% dintre primitorii de transplant de mână prezintă episoade de rejecție acută în primul an post-transplant).

Tabelul numărul 2 redă agenții imunosupresori utilizați în transplanturile de mână și față, sumarizând experiența globală. (49,51)

Tripla terapie, cu administrarea tacrolimus, MMF și steroizi, este protocolul standard de imunosupresie de menținere. Unele centre încearcă reducerea dozelor de steroizi sau chiar eliminarea lor din schema terapeutică. Pentru evitarea efectelor adverse ale inhibitorilor de calcineurină, tendința este includerea inhibitori-

TABELUL 2

Faza terapiei imunosupresoare	Agenți utilizați și proporția de cazuri în care se utilizează agentul terapeutic	
	Transplantul de mână	Transplantul de față
Terapia de inducție	Alemtuzumab (56%) ATG (28%) Basiliximab (16%)	Alemtuzumab (17%) ATG (70%) Basiliximab (13%)
Terapia de menținere	Tacrolimus + MMF + Steroizi (79%) Tacrolimus + Steroizi (6%) Inhibitor mTOR + MMF (5%) Inhibitor mTOR (5%) Tacrolimus + Steroizi topici (5%)	
Tratamentul episoadelor de rejet acut	Corticoizi administrați intravenos (60%) Corticoizi administrați oral (30%) Basiliximab, ATG, Alemtuzumab (7,5%) Doar topice locale (2,5%)	

lor mTOR în terapia de menținere, ca înlocuitor al Tacrolimus. (48,49,51)

În transplanturile ce au și componentă tegumentară, s-au utilizat și preparate topice pentru controlul episoadelor de rejecție, în cazurile ușoare chiar fără a fi necesară creșterea în intensitate a terapiei imunosupresoare sistemice. Topicele folosite sunt compuși steroidici și Tacrolimus. (9)

Episoadele de rejecție acută în VCA sunt reversibile când sunt raportate la timp și corect tratate. O problemă importantă este aderența la tratament a pacientului: asigurarea terapiei imunosupresoare de către programul de transplant, selecția riguroasă a pacienților (stabili emoțional, fără comorbidități, având suport social) și un program bine stabilit de urmărire post-tranzplant sunt elemente esențiale în menținerea complianței la tratament a pacientului pentru a se asigura un rezultat funcțional favorabil, stabil pe termen lung. (49,51)

## CONCLUZII

Îmbunătățirea imunosupresiei a fost factorul ce a asigurat progresul în medicina de

transplant, având rezultate foarte bune în cazul transplanturilor de organe solide.

Pentru cazurile clinice de transplant al alo-grefelor vascularizate compozite au fost, de asemenea, raportate până în prezent rezultate funcționale bune, prevenind rejetul cronic și controlând eficient episoadele de rejecție acută prin agenții imunosupresori actuali. Momentan însă, în medicina reconstructivă de transplant, neavând o experiență clinică extensivă, precum în cazul transplanturilor de organe, este dificil de făcut o analiză comparativă pentru a obiectiva indicațiile exacte ale fiecărei scheme terapeutice imunosupresoare, fiind necesare studii prospective multicentrice pentru a putea standardiza pe viitor terapia imunosupresoare.

Eforturile comunității medicale formate din chirurgii reconstructivi de transplant și imunologi sunt îndreptate mai mult ca oricând spre elaborarea unor strategii de inducere a toleranței imunologice donor-specifică în cazul beneficiarilor transplanturilor de țesuturi compozite, ce ar permite renunțarea la terapia imunosupresoare (implicit fără riscul efectelor adverse ale acesteia), în același timp pacientul păstrând mecanismele naturale de apărare infecțioasă (virală și bacteriană) și antitumorală.

## BIBLIOGRAFIE

- Vincenti F., Kirk AD.**, What's next in the pipeline. *Am J Transplant.* 2008;8 (10):1972-81.
- Kern B., Sucher R.**, Clinical Immunosuppression in Solid Organ and Composite Tissue Allotransplantation, în Kapur S., Barbosa-Portela M. (eds.) „Immunosuppression – Role in Health and Diseases”, InTech, 2012
- Iyer S.**, Vascularised composite allotransplants: Transplant of upper extremities and face. *Indian Journal of Plastic Surgery: Official Publication of the Association of Plastic Surgeons of India.* 2015; 48 (2):111-118.
- Lee W.P., Yaremchuk M.J., Pan Y.C, et al.** Relative antigenicity of components of a vascularized limb allograft. *Plast Reconstr Surg.* 1991; 87:401-411
- Ravindra K.V., Ildstad S.T.**, Immunosuppressive protocols and immunological challenges related to hand transplantation, *Hand Clin.* 2011 Nov;27 (4):467-79
- Schneeberger S., Landin L., Jableki J., Butler P., Hoehnke C., Brandacher G.**,

- Morelon E.** ESOT CTA Working Group., Achievements and challenges in composite tissue allotransplantation, *Transpl Int*. 2011 Aug; 24 (8):760-9
7. **Nankivell B.J., Borrows R.J., Fung C.L., O'Connell P.J., Allen R.D., Chapman J.R.** The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Engl J Med*. 2003;349 (24):2326-33.
8. **Sinescu I., Manu M.A., Harza M., Serbanescu B.,** Transplantul Renal, *Revista Română de Urologie*, nr. 3/2008
9. **Eghtesad B., Fung J.J.,** Immunosuppression in Composite Tissue Allotransplantation, în Siemionow M. (Editor), *The Know-How of Face Transplantation*, Springer-Verlag, Londra 2011
10. **Fung J., Kelly D., Kadry Z., Patel-Tom K., Eghtesad B.,** Immunosuppression in liver transplantation: beyond calcineurin inhibitors. *Liver Transplant*. 2005;11:267-280.
11. **Hrehoret D., Alexandrescu S.A., Radu D.A., Popescu I.,** Imunosupresia. în Popescu I. (Editor), *Transplantul Hepatic*, Editura Academiei Române, 2011
12. **Owen E.R., Dubernard J.M., Lanzetta M., et al.** Peripheral nerve regeneration in human hand transplantation. *Transplant Proc* 2001; 33: 1720-1721
13. **Zaza G., Granata S., Tomei P., Dalla Gassa A., Lupu A.** Personalization of the Immunosuppressive Treatment in Renal Transplant Recipients: The Great Challenge in „Omics“ Medicine. *International Journal of Molecular Sciences*. 2015; 16 (2):4281-4305.
14. **Kamdem L.K., Streit F., Zanger U.M., et al** Contribution of CYP3A5 to the in vitro hepatic clearance of tacrolimus. *Clin. Chem*. 2005, 51, 1374-1381.
15. Agenția Națională a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale (ANMMDM), prospect: informații pentru utilizator Equoral, disponibil pe [http://www.anm.ro/\\_/PRO/pro\\_4302\\_09.04.04.pdf?anmDir=fenotodvve&anmPage=511&ID=10215](http://www.anm.ro/_/PRO/pro_4302_09.04.04.pdf?anmDir=fenotodvve&anmPage=511&ID=10215), accesat 21.01.16
16. Agenția Națională a Medicamentului și a Dispozitivelor Medicale (ANMMDM), prospect: informații pentru utilizator Tacrolimus Pergamus, disponibil pe [http://www.anm.ro/\\_/PRO/pro\\_5399\\_25.02.13.pdf?anmPage=1640&ID=32802](http://www.anm.ro/_/PRO/pro_5399_25.02.13.pdf?anmPage=1640&ID=32802), accesat 21.01.16
17. **Ghanta M., Dreier J., Jacob R., Lee E.,** Overview of Immunosuppression in Renal Transplantation, *Current Issues and Future Direction in Kidney Transplantation*, Rath T. (Ed.), InTech, (2013). DOI: 10.5772/54865. Disponibil pe <http://www.intechopen.com/books/current-issues-and-future-direction-in-kidney-transplantation/overview-of-immunosuppression-in-renal-transplantation>
18. **Petruzzo P.,** Induction and Maintenance Therapy, în Lanzetta M. Dubernard J.M., Petruzzo P. *Hand Transplantation*, Springer-Verlag Italia 2007.
19. **Murray J.E., Merrill J.P., Dammin G.J., Dealy J.B., Alexandre G.W., Harrison J.H.** Kidney transplantation in modified recipients. *Ann Surg*. 1962;156:337-55
20. **Maltzman J.S., Koretzky G.A.** Azathioprine: old drug, new actions. *J Clin Invest*. 2003 Apr;111 (8):1122-4.
21. Imuran (azathioprine) Drug Interactions, disponibil pe [https://www.drugs.com/drug-interactions/azathioprine.imuran-index.html?filter=3&generic\\_only=](https://www.drugs.com/drug-interactions/azathioprine.imuran-index.html?filter=3&generic_only=), accesat 22.03.2016
22. **Bansal S.B., Saxena V., Pokhariyal S., et al.** Comparison of azathioprine with mycophenolate mofetil in a living donor kidney transplant programme. *Indian Journal of Nephrology*. 2011;21 (4):258-263.
23. **Allison A.C., Eugui E.M.** Mechanisms of action of mycophenolate mofetil in preventing acute and chronic allograft rejection. *Transplantation*. 2005 Oct 15;80 (2 Suppl):S181-90.
24. **Sollinger H.W., Sundberg A.K., Levenson G., Voss B.J., Pirsch J.D.,** Mycophenolate mofetil versus enteric-coated mycophenolate sodium: a large, single-center comparison of dose adjustments and outcomes in kidney transplant recipients. *Transplantation*. 2010 Feb 27;89 (4):446-51
25. **Sollinger H.W.** Mycophenolates in transplantation. *Clin Transplant*. 2004 Oct;18 (5):485-92.
26. **Hirose R., Vincenti F.** Immunosuppression: today, tomorrow, and withdrawal. *Semin Liver Dis*. 2006 Aug;26 (3):201-10.
27. <http://www.fda.gov/downloads/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/FractionatedPlasmaProducts/UCM199603.pdf>
28. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/BloodBloodProducts/ApprovedProducts/LicensedProductsBLAs/FractionatedPlasmaProducts/ucm089341.htm>
29. **van den Hoogen MW, Hilbrands LB.** Use of monoclonal antibodies in renal transplantation. *Immunotherapy*. 2011;3 (7):871-80.
30. **Zaza G., Tomei P., Granata S., Boschiero L., Lupu A.** Monoclonal Antibody Therapy and Renal Transplantation: Focus on Adverse Effects. *Toxins*. 2014;6 (3):869-891.
31. **Weissenbacher A., Boesmueller C., Brandacher G., Oellinger R., Pratschke J., Schneeberger S.** Alemtuzumab in solid organ transplantation and in composite tissue allotransplantation. *Immunotherapy*. 2010;2 (6):783-90.
32. **Friend P.J.** Alemtuzumab induction therapy in solid organ transplantation. *Transplantation Research*. 2013;2 (Suppl 1):S5. doi:10.1186/2047-1440-2-S1-S5.
33. **Hardinger K.L., Brennan D.C., Klein C.L.** Selection of induction therapy in kidney transplantation. *Transplant international:* official journal of the European Society for Organ Transplantation. 2013;26 (7):662-72.
34. <http://www.fda.gov/Drugs/DevelopmentApprovalProcess/HowDrugsareDevelopedandApproved/ApprovalApplications/TherapeuticBiologicApplications/ucm093359.htm>
35. **Aktas S., Colak T., Baskin E., Sevmis S., Ozdemir H., Moray G., et al.** Comparison of basiliximab and daclizumab with triple immunosuppression in renal transplantation. *Transplant Proc*. 2011;43 (2):453-7.
36. **Tang I.Y., Meier-Kriesche H.U., Kaplan B.** Immunosuppressive strategies to improve outcomes of kidney transplantation. *Semin Nephrol*. 2007 Jul;27 (4):377-92.
37. **Rother R.P., Rollins S.A., Mojcik C.F., Brodsky R.A., Bell L.** Discovery and development of the complement inhibitor eculizumab for the treatment of paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *Nat. Biotechnol*. 2007, 25, 1256-1264
38. **Struijk G.H., Bouts A.H., Rijkers G.T., Kuin E.A., ten Berge I.J., Bemelman F.J.,** Meningococcal sepsis complicating eculizumab treatment despite prior vaccination. *Am. J. Transpl*. 2013, 13, 819-820.
39. **Barnett A.N., Hadjianastassiou V.G., Mamode N.,** Rituximab in renal transplantation. *Transpl Int*. 2013 Jun;26 (6):563-75
40. **Wojciechowski D., Vincenti F.,** New targets for immunosuppression in kidney transplantation: Focus on recent clinical trials, *Dialysis & Transplantation*, 2011; 40 (1):8-22.
41. **Podder H., Kahan B.D.** Janus kinase 3: a novel target for selective transplant immunosuppression. *Expert Opin Ther Targets*. 2004 Dec;8 (6):613-29.
42. **Yamaoka K., Saharinen P., Pesu M., Holt V.E., Silvennoinen O., O'Shea J.J.** The Janus kinases (Jaks). *Genome Biology*. 2004; 5 (12):253. doi:10.1186/gb-2004-5-12-253.
43. **Zand M.S.** Tofacitinab in Renal Transplantation. *Transplantation reviews* (Orlando, Fla). 2013;27 (3):85-89.
44. **Vincenti F., Tedesco Silva H., Busque S., et al** Randomized phase 2b trial of tofacitinib (CP-690,550) in de novo kidney transplant patients: efficacy, renal function and safety at 1 year. *Am J Transplant*. 2012 Sep;12 (9):2446-56
45. **Evenou J.P., Wagner J., Zenke G., et al,** The potent protein kinase C-selective inhibitor AEB071 (sostrastaurin) represents a new class of immunosuppressive agents affecting early T-cell activation. *J Pharmacol Exp Ther*. 2009 Sep;330 (3):792-801.
46. **Gholamnezhadafari R., Falak R., Tajik N., et al** Effect of FTY720 (fingolimod) on graft survival in renal transplant recipients: a systematic review protocol. *BMJ Open*.

2016;6 (4):e010114. doi:10.1136/bmjopen-2015-010114.

- 47. Vanrenterghem Y., van Hooff J., Wlodarczyk Z., Klinger M., Squifflet J.** and the European FK778-Kidney-Transplant-Study-Group. A multicentre, randomised, double-blind study to evaluate the safety, tolerability, efficacy and pharmacokinetics of malononitrilamide FK778 in combination with tacrolimus and steroid therapy in renal transplantation. Presented at the 11th Congress of the European Society for Organ Transplantation, 20-24 September 2003, Venice, Italy. Abstract 102., disponibil pe <http://www.prnewswire.co.uk/news-releases/fk778-a-novel-compound-with-multiple-modes-of-action-a-breakthrough-in-transplant-immunosuppression-154198925.html>
- 48. Diaz-Siso J.R., Bueno E.M., Sisk G.C., Marty F.M., Pomahac B., Tullius S.G.,** Vascularized composite tissue allotransplantation-state of the art. *Clin Transplant.* 2013 May-Jun;27 (3):330-7
- 49. Brandacher G.,** Immunosuppression in VCA: Are They Different From Other Organ Transplants?, prezentare la World Transplant Congress, San Francisco, 2014, disponibil pe <http://www.tts.org/>, accesat 22.03.2016
- 50. Muramatsu K., Doi K., Tanaka H., Taguchi.T,** Induction of High-Level Chimerism in Composite Tissue Transplants, in Lanzetta M., Dubernard JM, Petruzzo P (Editors)., Hand Transplantation, Springer 2007
- 51.** International Society of Vascularized Composite Allotransplantation, The International Registry on Hand and Composite Tissue Transplantation (IRHCTT), 2015 Registry Update, Available at: <https://www.tts.org/isvca-home/registry/2015-registry-update>, Accesat 18.03.2016.