

L'UTILITÀ DELLE BIOPSIE PROTOCOLLARI NEL TRAPIANTO DI RENE: PRO E CONTRO

Antonello Pani¹, Marilena Gregorini², Teresa Rampino², Maurizio Salvadori³

¹Divisione di Nefrologia, Ospedale "G. Brotzu", Cagliari

²Unità di Nefrologia, Dialisi e Trapianto, Università degli Studi di Pavia, IRCCS Fondazione, Policlinico San Matteo, Pavia

³Nefrologia dei Trapianti, Ospedale di Careggi, Firenze

Riassunto

I centri che praticano la biopsia renale protocolitare hanno l'obiettivo di evidenziare precocemente rigetto sub-clinico e disfunzione cronica del trapianto. Non esistono tuttavia prove basate sull'evidenza che indichino l'utilità del trattamento del rigetto subclinico per il miglioramento della sopravvivenza a lungo termine del graft.

In effetti le biopsie protocolitare sono un classico punto di controversia nel settore dei trapianti renali ed il relativo rischio di complicanze della procedura deve sempre essere controbilanciato dai possibili benefici.

In questo lavoro gli autori mettono in luce pro e contro l'esecuzione di biopsie protocolitare, tentando di identificare i punti di convergenza sui quali probabilmente è opportuno avere un'opinione condivisa che prevarichi le posizioni individuali.

Biopsie protocolitare dovrebbero sempre essere eseguite in alcune condizioni, quali:

*al momento del trapianto al fine di avere utili informazioni sul rene donato;
in caso di mancata e prolungata ripresa della diuresi;
in pazienti sensibilizzati con aumentato rischio immunologico;
in caso di trias clinici atti a valutare l'efficacia di nuovi agenti immunosoppressori.*

The usefulness of protocol biopsies after kidney transplant: pros and cons

Transplant centers carrying out protocol biopsies in kidney transplant recipients do so to make an early diagnosis of subclinical rejection or chronic transplant glomerulopathy. However, proof is still lacking to document that an early diagnosis of subclinical rejection is useful to improve long-term outcome. Protocol biopsies represent a classical controversy in renal transplantation and it is still not clear whether the benefits outweigh the risks. In this paper the authors will elucidate the pros and cons of protocol biopsies and identify issues where consensus is mandatory.

Protocol biopsies need to be performed in the following clinical conditions: at the time of transplantation to obtain information about the transplanted kidney; in the case of prolonged delayed graft function; in patients at increased immunological risk; and in the case of clinical trials performed to assess the safety and efficacy of new immunosuppressive drugs. (G Ital Nefrol 2010; 27: 339-52)

Conflict of interest: None

✉ **Indirizzo degli Autori:**

Prof. Maurizio Salvadori

**Struttura Dipartimentale
di Nefrologia e Trapianto**

Azienda Ospedaliera Careggi

Viale Pieraccini 18

50139 Firenze

e-mail : salvadorim1943@libero.it

Parole chiave:

Biopsie protocolitare,
Trapianto di rene,
Rigetto sub-clinico,
Nefropatia da trapianto

Key words:

Protocol biopsies,
Renal transplantation,
Sub-clinical rejection,
Transplant nephropathy

INTRODUZIONE

Le biopsie protocollari del rene trapiantato sono biopsie renali effettuate in tempi prestabiliti - solitamente nei primi mesi dopo il trapianto e comunque entro il primo anno - con lo scopo di sorvegliare attentamente e riconoscere precocemente eventuali alterazioni patologiche, in assenza di eventi clinici che indichino la necessità di effettuare una biopsia renale. Tale pratica ha contribuito a ricostruire la storia naturale del rene trapiantato, perché "inaspettatamente" ha evidenziato lesioni istologiche "subcliniche", quali rigetto acuto cellulare e/o anticorpo mediato, fibrosi interstiziale e atrofia tubulare, glomerulopatia da trapianto e infiltrati aspecifici o diffusi. Gli Autori che praticano le biopsie protocollari sostengono che una diagnosi precoce di tali lesioni e un'altrettanto tempestiva terapia porti ad un migliore decorso a lungo termine della funzione del rene trapiantato. D'altra parte, al momento non è provato il beneficio di diagnosi e terapia precoce di lesioni come il rigetto subclinico e/o la nefropatia cronica del trapianto sulla funzione del rene trapiantato nel lungo termine. Autori che non praticano la biopsia protocollare sostengono, inoltre, che attualmente non sia possibile standardizzare la diagnosi e quantificare le lesioni istologiche su citate; che non sia chiaro il tempo ideale di esecuzione delle biopsie protocollari; che un attento controllo clinico- laboratoristico- strumentale non invasivo possa ridurre al minimo la necessità di eseguire biopsie renali nei pazienti trapiantati senza evidenti segni clinici di alterata funzione renale.

In questa controversia, Marilena Gregorini e Antonello Pani hanno cercato di chiarire tali dubbi rispondendo sistematicamente alle seguenti domande, sulla base della loro esperienza clinica e dei dati presenti in letteratura:

1) La biopsia protocollare nel tra-

pianto di rene è realmente necessaria?

a. Marilena Gregorini: sì

b. Antonello Pani: no

2) La biopsia protocollare dovrebbe far parte della gestione routinaria del paziente sottoposto a trapianto di rene?

a. Marilena Gregorini: sì

b. Antonello Pani: no, solo nei trial clinici prospettici, randomizzati, con *follow-up* maggiore di 5 anni

PRO

Marilena Gregorini, Teresa Rampino

La scoperta e l'impiego dei moderni e potenti immunosoppressori ha ridotto notevolmente l'incidenza di rigetti acuti nel trapianto di rene; infatti dati recenti riportano una sopravvivenza dell'organo trapiantato al primo anno superiore al 95% (1).

Contrariamente alle aspettative, la sopravvivenza a lungo termine non si è modificata ed è importante analizzare i motivi (1).

Aumentare la vita dell'organo trapiantato è uno degli obiettivi da perseguire nel *follow-up* post-trapianto ed una possibile strategia è quella di adottare un programma che includa l'utilizzo delle biopsie protocollari.

I vantaggi della biopsia protocollare nel pre-trapianto sono:

1) fornire informazioni su un danno renale pre-esistente;

2) allocare correttamente i reni marginali.

Nel post trapianto sono:

1) fornire una diagnosi precoce di rigetto subclinico;

2) rilevare una tossicità da farmaci;

3) diagnosticare gli stadi iniziali della nefropatia cronica da trapianto;

4) diagnosticare nefropatie virali.

Uno scopo altrettanto importante delle biopsie protocollari, è quello scientifico, cioè comprendere i mec-

canismi patogenetici, che sono alla base della perdita della funzione dell'organo (2).

SI PUÒ FARE DIAGNOSI PRECOCE E TRATTARE EFFICACEMENTE IL RIGETTO SUBCLINICO?

La diagnosi di rigetto subclinico è una diagnosi istologica, infatti, si definisce rigetto subclinico un rigetto acuto caratterizzato istologicamente da un infiltrato tubulo-interstiziale in assenza di alterazioni della funzione renale (3, 4).

Esso può essere classificato come acuto (t2, t2 o gradi superiori) o *borderline* (t1, t1) in accordo alla classificazione di BANFF (4).

Quali sono le conseguenze del rigetto sub clinico sulla funzione renale?

Il rigetto subclinico è un quadro patologico da non sottovalutare, infatti, molti Autori dimostrano una stretta relazione tra rigetto subclinico e funzione renale a lungo termine.

Rush (5) per primo, dimostra che la presenza di rigetto subclinico persistente durante il primo anno post-trapianto è associata a deterioramento progressivo della funzione renale.

Gli stessi dati sono confermati da Choi (6) che riporta l'esperienza decennale dell'applicazione delle biopsie protocollari nel trapianto da donatore vivente.

L'Autore dimostra che pazienti con rigetto subclinico hanno una ridotta sopravvivenza dell'organo a lungo termine, mentre non trova differenze significative di sopravvivenza tra gli organi di pazienti con rigetto *borderline* e pazienti con istologia normale.

Numerosi ed importanti studi di Nankivell (7-9) riportano che la persistenza di rigetto subclinico in biopsie protocollari eseguite entro il primo anno ed annualmente per 10 anni, è

TABELLA I - INCIDENZA DI RIGETTO SUBCLINICO E BORDERLINE NEL PAZIENTE ENTRO I PRIMI SEI MESI DAL TRAPIANTO DI RENE

Riferimento	N. pazienti	Tempo della biopsia	Rigetto acuto subclinico (%)	Rigetto borderline (%)
Rush et al. 1995	25	1 mese	20	44
		3 mesi	16	28
		6 mesi	12	8
Seron et al. 1997	98	3 mesi	4	12
Rush et al. 1998	35	1 mese	43	11
		3 mesi	27	21
		6 mesi	15	29
Jain et al. 2000	78	3 mesi	1	11
Jain et al. 2000	50	1 settimana	4	8
Nankivell et al. 2001	102	3 mesi	29	49
Shapiro et al. 2001	28	1 settimana	25	21
Gloor et al. 2002	114	3 mesi	3	11
Roberts et al. 2004	115	1 settimana	13	12
		1 mese	8	16

associata ad un peggioramento graduale e progressivo della funzione renale e che il mancato trattamento del rigetto subclinico comporta l'evoluzione verso la fibrosi interstiziale, l'atrofia tubulare e la nefropatia cronica da trapianto (10).

L'incidenza di rigetto subclinico è elevata entro i primi 3-6 mesi dal trapianto (Tab. I), la variabilità tra le diverse casistiche è spiegata dai differenti schemi immunosoppressivi adottati.

Rush (2, 10) è stato il primo Autore a dimostrare la presenza di rigetto subclinico nel rene trapiantato e riporta un'incidenza del 43% al primo mese post-trapianto, del 27% al terzo mese e del 15% al sesto mese.

Successivamente altri Autori hanno confermato la presenza di rigetto subclinico nella propria casistica. Nankivell (11) dimostra, in una popolazione di 102 pazienti, un'incidenza di rigetto subclinico al terzo mese del 29%, mentre Birk (12) riporta, in una popolazione pediatri-

ca, un'incidenza di rigetto subclinico del 20% entro i primi tre mesi dal trapianto.

Indipendentemente dalle diverse incidenze riportate in letteratura e dai diversi schemi immunosoppressivi adottati, il rigetto subclinico può interessare circa 1/3 della popolazione trapiantata di rene entro i primi 6 mesi dal trapianto (13).

È utile trattare il rigetto subclinico?

Il ruolo patogenetico del rigetto subclinico è supportato da numerosi studi sia nell'adulto e nel bambino (7-9, 11, 12).

Hoffmann (14) in un lavoro che compara, con tecniche di immunostochimica e biologia molecolare, biopsie di pazienti con rigetto acuto, rigetto subclinico e biopsie di pazienti trapiantati con istologia normale o controlli di rene sano, dimostra che l'infiltrato infiammatorio del rigetto subclinico è funzionalmente dannoso come l'infiltrato del

rigetto acuto e conclude che le due forme rappresentano due differenti stadi della stessa malattia.

Queste sono le premesse teoriche che supportano un potenziale beneficio del trattamento del rigetto subclinico.

Nella pratica clinica, Rush (10) dimostra in uno studio prospettico randomizzato e controllato che il trattamento del rigetto subclinico nel trapianto di rene da donatore cadavere si associa ad una migliore funzione renale a due anni.

Analogamente Kurtkoti (15) conferma gli stessi dati, in uno studio prospettico randomizzato eseguito nel trapianto da donatore vivente.

SI PUÒ FARE DIAGNOSI PRECOCE E TRATTARE EFFICACEMENTE LA NEFROPATIA CRONICA DA TRAPIANTO NEL PRIMO ANNO?

Una immunosoppressione inadeguata espone il paziente ad un au-

mentato rischio di rigetto, recidiva della glomerulonefrite di base, glomerulopatia cronica da trapianto; d'altra parte una immunosoppressione eccessiva aumenta il rischio di tossicità da farmaci e di infezioni, come la nefropatia da BK virus (2).

Questi eventi, se trascurati, portano all'atrofia tubulare ed alla fibrosi interstiziale che rappresentano le caratteristiche istologiche della nefropatia cronica da trapianto (2).

Nella casistica di El-Zoghby (16), che comprende una popolazione di 1317 pazienti trapiantati di rene seguita per dieci anni, l'atrofia tubulare e la fibrosi interstiziale sono la seconda causa di perdita dell'organo trapiantato nel lungo periodo.

Quali sono le conseguenze della nefropatia cronica da trapianto sulla funzione renale?

La persistenza di un infiltrato infiammatorio, l'atrofia tubulare e la fibrosi interstiziale sono associate ad una riduzione progressiva della funzione renale e ad una bassa sopravvivenza dell'organo a lungo termine (17).

Come dimostrato da Séron, la nefropatia cronica da trapianto è un predittore indipendente della sopravvivenza dell'organo a lungo termine e superiore alla creatinina plasmatica, (18).

Evidenze di nefropatia cronica da trapianto sono riscontrate precocemente da molti Autori che eseguono le biopsie protocollari.

Kuypers (19) mostra una prevalenza di nefropatia cronica da trapianto del 79% già al terzo mese post-trapianto, Rush (20) riscontra una prevalenza del 4% al terzo mese e del 20% al sesto mese; Dimény (21) trova una prevalenza del 35% al sesto mese.

Questi dati sorprendono e suggeriscono che eventi precoci, possono influire sulla comparsa sulla comparsa di lesioni croniche.

Lesioni croniche sono state riscontrate nel 30.4% di biopsie protocollari eseguite al terzo mese post trapianto

TABELLA II - COMPLICANZE MAGGIORI DELLA BIOPSIA DEL RENE TRAPIANTATO

	Antwerpen	Hannover	Barcelona	Leicester	TOTALE
N. biopsie	100	318	550	1159	2127
Morte	0	0	0	0	0
Perdita del trapianto	0	0	1	0	1 (0.04%)
Emorragia con intervento chirurgico	0	0	0	2	2 (0.09%)
Emorragia necessitante trasfusione	0	0	1	2	3 (0.14%)
Peritonite da perforazione intestinale	1	0	0	1	2 (0.09%)

nella casistica pediatrica di Fujisawa, che riscontrava una ridotta clearance della creatinina a lungo termine nei pazienti che presentavano un quadro istologico di nefropatia cronica con una funzione renale normale al momento della biopsia (22).

Pertanto adottare un programma di biopsie protocollari è indispensabile per una diagnosi precoce di nefropatia cronica da trapianto.

È utile trattare la nefropatia cronica da trapianto?

Per limitare le conseguenze dell'atrofia tubulare e fibrosi interstiziale sulla funzione e sopravvivenza dell'organo trapiantato, è necessaria una diagnosi precoce e un trattamento efficace.

Recentemente Laham (23) ha dimostrato che la conversione a sirolimus da inibitori delle calcineurine determina un miglioramento della funzione renale e della sopravvivenza dell'organo a lungo termine.

Cataneo-Dávila conferma gli stessi buoni risultati nella propria casistica, dopo la conversione ad everolimus (24).

Infine l'introduzione nella terapia immunosoppressiva del micofenolato mofetile riduce il declino della funzione renale nei pazienti con nefropatia cronica da trapianto indipendentemente dai livelli di ciclosporina (25).

È auspicabile che lo studio delle

biopsie protocollari, mediante tecniche genomiche e molecolari, consenta lo sviluppo di farmaci sempre più specifici e più efficaci (26, 27).

TEMPISTICA, RISCHI E COSTI DELLE BIOPSIE PROTOCOLLARI NEL RENE TRAPIANTATO

Tempistica

La tempistica ottimale per una biopsia protocollare dipende dallo scopo della stessa.

Se vogliamo riconoscere e trattare il rigetto subclinico, la biopsia protocollare deve essere eseguita entro i primi tre/sei mesi dal trapianto, periodo in cui è più alta l'incidenza di rigetto subclinico.

Se invece il nostro scopo è quello di individuare la presenza di fibrosi interstiziale e di atrofia tubulare, per attuare tempestivamente un cambiamento terapeutico, il periodo consigliato è tra il quarto ed il dodicesimo mese.

Tutti gli studi concordano comunque che le biopsie protocollari sono utili se eseguite nel primo anno di *follow-up*, sia nel trapianto di ricevente adulto che bambino (2, 9, 12, 13, 28).

Rischi

Il principale timore nell'intraprendere un programma che preveda le biopsie protocollari nel *follow-up*

TABELLA IIIA - FREQUENZA DEL RIGETTO SUBCLINICO NELLE BIOPSIE PROTOCOLLARI

Referenza	N. pazienti	Tempo dal trapianto	Frequenza (%)	References
Choi et al. 2005	304	2 settimane	13	(6)
Roberts et al. 2004	115	1 settimana	13	(32)
		1 mese	8	
Shapiro et al. 2001	100	1 settimana	25	(13)
Nankivell et al. 2001	112	3 mesi	29	(11)
Jain et al. 2000	50	1 settimana	4	(3)
Jain et al. 2000	78	3 mesi	1	(3)
Rush et al. 1998	35	1 mese	43	(10)
		3 mesi	27	
		6 mesi	15	
Serón et al. 1997	98	3 mesi	4	(18)
Rush et al. 1995	25	1 mese	20	(20)
		3 mesi	16	

del paziente trapiantato, è il rischio di perdere l'organo o il paziente.

In uno studio policentrico Europeo, Furness (29) dimostra che la frequenza di complicanze maggiori nella biopsia protocololare è molto bassa (Tab. II). Sono invece più frequenti le complicanze minori, come piccoli ematomi e fistole arterovenose, che possono incidere sulla durata della degenza ma non su un reale pericolo per la funzione renale o per la vita del paziente. Tali eventi, infatti, nella maggior parte dei casi recedono spontaneamente.

La procedura è più sicura se eseguita con guida ecografia, perché permette di evitare il polo vascolare del rene trapiantato e le anse intestinali.

L'utilizzo di aghi da 16 gauge consente di ottenere frustoli adeguati per una validità diagnostica.

Infine, la procedura è solitamente ben tollerata, perché non dolorosa e accettata dal paziente se ben informato.

Costi

Il costo potrebbe rappresentare una limitazione per l'adozione di

un programma che preveda biopsie protocololari, ma se la procedura bioptica è effettuata in regime di day hospital, con un periodo di osservazione 4-6 ore, il costo medio è 1.200,00 euro.

CONCLUSIONI

Le biopsie protocololari, nel *follow-up* del paziente trapiantato, rappresentano uno strumento utile per approfondire i complessi meccanismi alla base del deterioramento dell'organo nel tempo.

Esse permettono di adottare scelte terapeutiche mirate, basate su un'evidenza istologica, ed hanno l'obiettivo finale di migliorare la sopravvivenza dell'organo.

I rischi della procedura ed i costi sono bassi, tuttavia una chiara posizione sui reali benefici non si è ancora delineata.

CONTRO

Antonello Pani

L'obiettivo della biopsia protocololare nel paziente trapiantato è quel-

lo di ottenere una diagnosi precoce del rigetto subclinico (*Subclinical Rejection, SCR*) e della nefropatia cronica del trapianto (*Chronic Allograft Nephropathy, CAN*). Nei pazienti trapiantati di rene con funzione renale stabile, tale procedura dovrebbe portare ad una modifica della terapia immunosoppressiva in atto per il trattamento precoce di SCR e CAN, con conseguente miglioramento della funzione renale e della sopravvivenza attuariale renale a lungo termine.

SI PUÒ FARE DIAGNOSI PRECOCE E TRATTARE EFFICACEMENTE IL RIGETTO SUBCLINICO (SCR)?

Il significato del rigetto subclinico, definito come evidenza istologica di rigetto senza aumento della creatinemia, non è del tutto chiaro (30-37). Rush (30) descrive l'incidenza di SCR intorno al 30% nei primi 3 mesi nei riceventi trattati con Ciclosporina A (CyA). Non vi è accordo tra i diversi Autori che hanno effettuato biopsie protocololari con l'intento di porre diagnosi precoce di SCR. L'incidenza di SCR entro i primi sei mesi post-trapianto è estremamente variabile e oscilla tra l'1 e il 43% (Tab. IIIa). L'alta variabilità d'incidenza dipende dalla diversa politica del centro e dal basso numero di pazienti reclutati. Roberts (32) attribuisce tale ampia differenza a tre variabili, che nei diversi lavori considerati non sempre vengono descritte con chiarezza dagli Autori: 1) differente *matching* HLA (ridurre il *mismatch* HLA riduce il rischio di rigetto del ricevente); 2) differente incidenza della ritardata ripresa funzionale del trapianto (*Delayed Graft Function, DGF*), noto fattore di rischio per SCR e per il rigetto clinico; 3) differente protocollo d'immunosoppressione usato. A supporto di ciò, Nickerson (38) già nel 1999 aveva dimostrato che l'aumento dell'immunosoppressione di base riduceva

la frequenza del rigetto clinico ma non di SCR. Tale osservazione è stata poi recentemente confutata dal gruppo di Roberts che, pur avendo adottato in passato la politica della biopsia protocollare in settima e ventottesima giornata dal trapianto, ne ha poi abbandonato l'uso. Tale decisione è scaturita dal fatto che l'uso di basiliximab, tacrolimus, MMF e prednisolone nei pazienti ad alto rischio immunologico ha determinato non solo una netta riduzione del rigetto clinico, ma anche una riduzione di SCR a solo il 2% di incidenza, documentato tramite biopsie protocollari effettuate in settima giornata. Tali Autori segnalano, inoltre, che le lesioni *borderline* non trattate non hanno avuto un impatto negativo sulla funzione del rene trapiantato ad un anno (39). Altri Autori, recentemente, hanno confermato con più lavori che l'uso del tacrolimus e del MMF o l'induzione con Ab monoclonali riducono l'incidenza di SCR. Esistono delle difficoltà oggettive per la diagnosi istologica di SCR. Poiché la classificazione di BANFF è stata prodotta per la diagnosi di rigetto clinico e non per le biopsie protocollari, vi è un'alta probabilità di misclassificazione, soprattutto delle lesioni *borderline* e/o delle lesioni lievi (40). Infine, il campione biotico delle biopsie protocollari è spesso insufficiente e, in alcune casistiche, è pari al valore d'incidenza di SCR. Nel lavoro di Roberts (32) del 2004, il 17% dei prelievi effettuati in settima giornata era inadeguato per la diagnosi posta seguendo i criteri di BANFF rispetto al 13% di SCR e 12% di lesioni *borderline*. Perciò, la diagnosi di SCR spesso non è agevole e la presenza di infiltrati linfomonocitari non è necessariamente indice di rigetto.

Dall'analisi della letteratura, risulta che gli Autori che praticano la biopsia protocollare nel trapianto di rene trattano tali pazienti e i pazienti con lesioni *borderline* con boli di Metil-prednisolone ad alte dosi (34). Tale atteggiamento tera-

peutico è confortato anche dall'osservazione che nel 46% dei casi di rigetto acuto clinicamente evidente, si ha il persistere di SCR o lesioni *borderline* nelle 2-3 settimane seguenti il trattamento con boli di steroidi e terapia con anti-timociti (41). Secondo Salomon et al. (42), i riceventi con evidenza di SCR non trattati conservano una buona funzione renale nel lungo termine. Fino ad oggi, è stato effettuato un solo studio prospettico randomizzato e controllato per valutare l'efficacia della terapia di SCR (10). L'analisi è stata condotta da Rush et al. (43) per "intent to treat" e i pazienti sono stati seguiti per almeno due anni. Si è osservato che il 30% dei pazienti sottoposti a trapianto renale andava incontro a SCR a distanza di tre mesi. Lo scopo del lavoro era quello di stabilire se la terapia con boli di corticosteroidi fosse associata ad una migliore prognosi nei pazienti trattati con triplice terapia (CyA, steroidi e MMF). I pazienti sono stati suddivisi in due gruppi: nel gruppo "Biopsy", la biopsia veniva eseguita a 1, 2, 3, 6 e 12 mesi dal trapianto; nel gruppo di "controllo" la biopsia veniva effettuata a 6 e a 12 mesi. I pazienti del gruppo "Biopsy" hanno mostrato: una riduzione significativa di incidenza del rigetto acuto sia precoce (2-3 mesi) che tardivo (7 mesi); una riduzione dello score delle lesioni croniche tubulo-interstiziali a 6 mesi e più bassi valori di creatininemia a 24 mesi (1.5 mg/dL vs 2 mg/dL, ANOVA $p < 0.05$) rispetto al gruppo di controllo. La conclusione tratta dagli Autori è che le biopsie protocollari precoci e il trattamento con steroidi del rigetto subclinico possono portare ad un migliore quadro istologico e ad un miglioramento della funzione renale nei pazienti trapiantati ($p = 0.076$), con sopravvivenza del graft a 4 anni nei due gruppi rispettivamente dell'89% e del 72%. Il lavoro di Rush et al. - unico RCT di questo tipo fin'ora disponibile - non è però esente da critiche. La funzione renale è

stata valutata solo sulla base della creatininemia, e la differenza tra i due gruppi si è resa evidente solo a 24 mesi, unico periodo nel quale le due curve divergono in maniera statisticamente significativa; è difficile stabilire gli effetti collaterali dovuti alle dosi aggiuntive degli steroidi; nel gruppo "Biopsy" aumenta significativamente l'incidenza delle infezioni (anche se non vi è un incremento di mortalità dei pazienti); il numero dei pazienti inclusi nel trial è scarso; a 4 anni, i vantaggi sulla funzione renale nel gruppo trattato sembrano tendenzialmente ridursi e non essere più significativi.

Un lavoro non randomizzato di Roberts et al. (32), condotto su 115 pazienti trapiantati di rene e sottoposti a triplice terapia immunosoppressiva con steroidi CyA e azatioprina, ha evidenziato una bassa incidenza di SCR e di lesioni *borderline* riscontrabili con biopsie protocollari a 7 e 28 giorni dal trapianto. Tra i pazienti che in ventottesima giornata presentavano SCR o lesioni *borderline*, quelli non trattati mostravano a 1 e a 6 anni di *follow-up* una funzione renale (valutata come sopravvivenza del graft e creatininemia media) analoga rispetto ai pazienti senza SCR o lesioni *borderline* (Fig. 1). Questi Autori, come già detto sopra, hanno poi abbandonato la pratica della biopsia protocollare.

Infine, un'analisi retrospettiva di Scholten (35) condotta su 126 nuovi trapianti renali, ha mostrato che il SCR, diagnosticato tramite la biopsia protocollare eseguita a 6 mesi e non trattato, non è associato a fibrosi interstiziale o a perdita del graft nel medio termine. I pazienti, trattati con steroidi, MMF e induzione con basiliximab, venivano successivamente randomizzati a ricevere CyA o tacrolimus con l'obiettivo di valutare "l'area sotto la curva". Le biopsie protocollari sono state eseguite prima del trapianto e, successivamente, a 6 e a 12 mesi. La prevalenza di SCR è stata valutata retrospettivamente ed è stata eseguita un'analisi

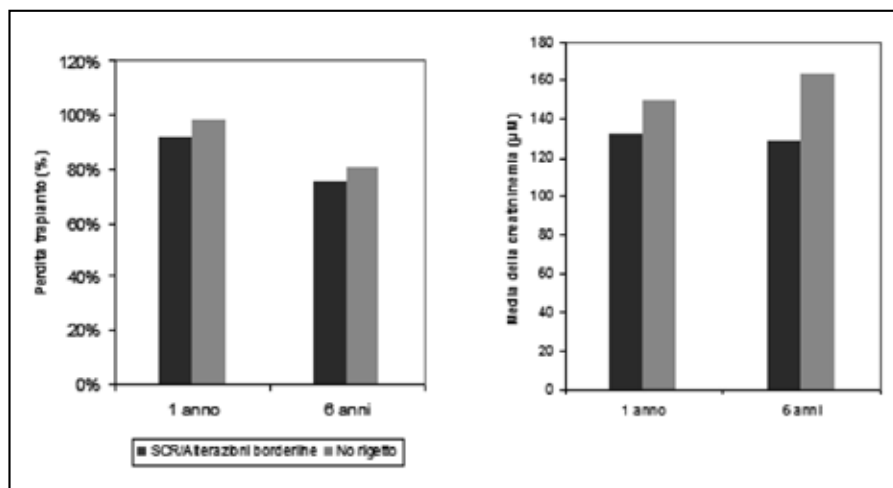


Fig. 1 - Confronto dell'andamento della funzione renale a 1 e a 6 anni tra pazienti trapiantati di rene con SCR o lesioni istologiche borderline non trattate (in grigio scuro) diagnosticate in ventottesima giornata tramite biopsia protocolare e pazienti trapiantati di rene senza lesioni (in grigio chiaro). La differenza graft survival e la differente creatinemia ad 1 e 6 anni rispettivamente non sono statisticamente significative.

digitale quantitativa della fibrosi sulla biopsia renale. L'età del donatore correlava con la percentuale di fibrosi interstiziale nella biopsia eseguita prima del trapianto e con una funzione renale peggiore del ricevente a 6 mesi ($r=0.26$; $p=0.033$). L'incidenza di rigetto acuto era dell'11.5% e non è stato osservato rigetto clinico tardivo. L'incidenza di SCR a 6 mesi era del 30.8%; non vi erano differenze quantitative di fibrosi tubulo-interstiziale a 6 e a 12 mesi, né di proteinuria o perdita progressiva del GFR a due anni rispetto ai pazienti senza SCR. In tale gruppo, una somministrazione controllata e individualizzata dell'inibitore della calcineurina ha portato ad una bassa frequenza di rigetto acuto precoce e ha prevenuto il rigetto acuto tardivo. Secondo gli Autori, l'infiltrato asintomatico non trattato non sarebbe dannoso; gli stessi suggeriscono la ricerca di *biomarker* che siano in grado di documentare la non equivalenza di tutti gli infiltrati cellulari e la possibilità che questi possano cambiare nel tempo.

Un più recente lavoro Spagnolo ha suggerito la necessità di un'analisi istologica dettagliata e sofisticata delle biopsie protocolari. Essa dovrebbe valutare il grado di fibrosi in-

terstiziale e di atrofia tubulare che, considerate insieme, rappresentano un predittore indipendente della sopravvivenza del *graft*; se a queste lesioni si associano SCR, glomerulopatia e vasculopatia da trapianto, il valore prognostico negativo aumenta. Tuttavia, tali valutazioni ottenute con morfometria e analisi d'immagine non sono state ancora appropriatamente validate. Per tale motivo, gli stessi Autori suggeriscono una strategia alternativa per incrementare il valore predittivo della biopsia protocolare sul decorso della funzione del rene trapiantato, validando *end point* compositi contenenti parametri istologici, clinici, biologici e/o parametri analitici (36).

GLI INFILTRATI MINIMI O PERSISTENTI

La classificazione di BANFF definisce gli infiltrati cellulari "minimi" o "non specifici" d'incerta interpretazione, mentre dà agli infiltrati persistenti un valore predittivo nelle biopsie protocolari o sequenziali.

Tutti gli schemi di immunosoppressione sono imperfetti e, in genere, in tutti i trapianti si ha una risposta immune. Tuttavia, l'induzione e il mantenimento della tolleranza richiedo-

no una risposta immune. Quindi, teoricamente, ogni biopsia renale eseguita precocemente e senza indicazione clinica nel post-trapianto potrebbe mostrare una risposta immunitaria parafisiologica. Di conseguenza, la semplice presenza di T-linfociti, B-linfociti e macrofagi non è sufficiente per affermare l'esistenza di un rigetto in atto e quindi la necessità di un trattamento. Inoltre una terapia aggiuntiva, come i boli di steroidi, potrebbe alterare la tolleranza e quindi la sopravvivenza a lungo termine del trapianto o limitare in seguito l'opportunità di ridurre l'immunosoppressione (42-44). Su tali riscontri istologici, quali la documentazione di SCR, CAN o infiltrati cellulari, difficilmente interpretabili con i criteri istologici *standard* e in assenza di indicazioni cliniche che permettano di predire il decorso a lungo termine del rene trapiantato, non c'è l'evidenza per adottare modifiche della strategia immunosoppressiva.

SI PUÒ FARE DIAGNOSI PRECOCE E TRATTARE EFFICACEMENTE LA CAN NEL PRIMO ANNO?

L'istologia della CAN, caratterizzata da fibrosi interstiziale e atrofia tubulare senza istologia specifica (39), è quanto mai aspecifica, anche se questa rappresenta la seconda causa di perdita del *graft* dopo la morte del paziente (45) (Tab. IV). Nonostante l'aggiornamento della classificazione del 2007 non impieghi più l'acronimo CAN, preferiamo usare tale termine per non generare confusione rispetto ai lavori citati che lo hanno utilizzato (Tab. V).

L'incidenza del rigetto acuto nel primo anno di trapianto è stata notevolmente ridotta all'attuale 10% circa grazie alla migliorata immunosoppressione basale (in particolare, all'introduzione della ciclosporina, al successivo impiego del Neoral, del MMF, degli inibitori dell'mTOR e all'induzione dell'immunosoppres-

TABELLA IIIB - FREQUENZA DELLA *CHRONIC ALLOGRAFT NEPHROPATHY* NELLE BIOPSIE PROTOCOLLARI

Referenza	N. pazienti	Tempo dal trapianto	Frequenza (%)	References
Kuypers et al. 1999	112	3 mesi	79	(19)
Serón et al. 1997	98	3 mesi	42	(18)
Dimény et al. 1995	99	6 mesi	35	(21)
Rush et al. 1995	25	1 mese	0	(20)
		3 mesi	4	
		6 mesi	20	

TABELLA IV - CAUSE DI PERDITA DEL RENE TRAPIANTATO

Causa	%
Morte	43
CAN	34
Altri	6
Vascolare	3.5
M. Ricorrente	4
Non Compliance	4
Problemi Tecnici	2
Rigetto Acuto	1
Rigetto Iperacuto	0.5

sione con Ab monoclonali). Questo ha portato ad una netta riduzione della perdita del graft entro il primo anno. Data la difficoltà di trattamento della CAN - che rimane la più frequente causa di perdita del graft - non è altrettanto evidente un miglioramento della sopravvivenza attuariale del trapianto nel medio e nel lungo termine (46).

La CAN è caratterizzata da un lento deterioramento della funzione renale; il riscontro istologico di sclerosi avanzata spesso indica un punto di non ritorno. Perciò sarebbe auspicabile giungere ad una diagnosi precoce di CAN. Numerosi studi condotti su biopsie protocollari effettuate entro il primo anno dal trapianto, mostrano che l'incidenza della CAN lieve o moderata varia dallo 0 al 79% (Tab. IIIB) (47). Queste differenze dipendono da molti fattori: a) basso numero di pazienti considerati nei vari studi; b) diversa

politica sul tempo scelto per l'esecuzione della biopsia protocollare (1, 3, 6, 12 mesi); c) le lesioni istologiche legate all'età del donatore somigliano a quelle della CAN, soprattutto a quelle del primo grado BANFF; d) raramente si ha la biopsia del donatore al tempo zero al di fuori del trapianto di reni marginali e/o di protocolli specifici. Quando è possibile avere un confronto con la biopsia renale del donatore, l'incidenza della mild CAN nel primo anno di trapianto è stimabile intorno al 24-26% (8). Tale percentuale sale a circa il 90% a 10 anni (8). Kuypers (19) ha documentato come le lesioni croniche del donatore rappresentino il 54% di quelle che poi saranno riscontrate nel rene trapiantato e questo spiegherebbe l'ampia variabilità d'incidenza della CAN. Le lesioni del donatore dipendono dalle cause del decesso, dall'età, dal sesso femminile e dall'ipertensione. In uno studio di Moreso et al. (48), la biopsia protocollare è stata effettuata al fine di valutare se l'associazione di SCR e CAN fosse un fattore di rischio per perdita tardiva del graft. La biopsia protocollare è stata eseguita a 6 mesi in pazienti con funzione renale stabile e proteinuria <1 g/24 ore; le lesioni *borderline* e il rigetto acuto sono stati raggruppati insieme e la CAN è stata definita dalla presenza di fibrosi interstiziale e atrofia tubulare. Le 435 biopsie eseguite sono state quindi classificate nei seguenti gruppi: 186 normali, 74 SCR, 110 CAN e 65

SCR e CAN associati. Il gruppo di SCR + CAN è stato messo in relazione all'età avanzata del donatore, a una maggiore percentuale di positività del panel di anticorpi reattivi, alla presenza di rigetto acuto ed è stato quindi considerato un fattore predittivo negativo indipendente di sopravvivenza del graft. Il rigetto subclinico da solo non è stato dimostrato essere un fattore prognostico sfavorevole a lungo termine.

Ci sono numerosi fattori immunologici e non immunologici che determinano la CAN. I principali fattori di rischio immunologici sono: il rigetto acuto, il SCR e il rigetto cronico Ab- mediato, che danneggiano il rene trapiantato e ne riducono gradualmente la funzione. I fattori di rischio non immunologici sono rappresentati dalle caratteristiche del donatore e del ricevente, quali obesità, ipertensione, iperlipidemia e diabete. Inoltre, gli schemi di immunosoppressione di base contenenti gli inibitori della calcineurina costituiscono un rischio di danno aggiuntivo. Sebbene le lesioni istologiche per la diagnosi di CAN siano relativamente semplici da individuare, la loro analisi quantitativa e gli score di cronicità hanno dei limiti se l'approccio di lettura della biopsia renale è quello tradizionale. L'analisi visiva semiquantitativa della fibrosi interstiziale/atrofia tubulare, della fibrosi intinale e della glomerulo sclerosi, realizzata applicando lo score di BANFF, ha una bassa riproducibilità se effettuata da differenti operatori, e questo contribuisce a creare una variabilità troppo ampia del valore predittivo e diagnostico (45).

La CAN è una sindrome clinico-istologica complessa e, per essere diagnosticata precocemente, necessita di metodiche di valutazione della funzione del rene trapiantato molto sensibili. Tali tecniche non dovrebbero basarsi solo sul valore di creatininemia, ma dovrebbero prevedere anche il calcolo del GFR, la clearance dello Iotalamato radio-

TABELLA V - CLASSIFICAZIONE DI BANFF 97

Categoria	Istopatologia	Sottotipi	Descrizione
1	Normale		Biopsia istologicamente normale
2	Alterazioni anticorpo- mediate:	<p>Questa categoria può essere concomitante con le categorie dalla 3 alla 6. Questo è dovuto al riscontro di anticorpi circolanti antidonatore e C4d o patologie del trapianto</p> <p>Deposizione C4d (con o senza evidenza di rigetto acuto) È caratterizzata dal deposito di C4b, presenza di anticorpi antidonatore circolanti e assenza di segni di rigetto acuto o cronico mediato da cellule T o di rigetto acuto anticorpo mediato. I casi con concomitanti alterazioni <i>borderline</i> o con ATN sono considerati indeterminati</p> <p>Rigetto acuto Ab-mediato Il tipo istologico (grado) include i seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Tipo I</i> - istologia tipo necrosi tubulare acuta (C4d positiva), con infiammazione minima • <i>Tipo II</i> - glomerulite capillare, con marginazione e/o trombosi (C4d positiva) • <i>Tipo III</i> - Infiammazione arteriosa-transmurale/alterazioni di tipo fibrinoide (C4d positiva) <p>Rigetto cronico attivo Ab- mediato Le alterazioni istologiche interessano il glomerulo: sono presenti doppi contorni e/o pluristratificazione delle membrane basali capillari peritubulari e/o fibrosi interstiziale/atrofia tubulare e/o ispessimento fibroso dell'intima nelle arterie (C4d positivo)</p>	
3	Alterazioni <i>borderline</i>		Queste alterazioni sono suggestive per una reazione acuta mediata da cellule T. Questa categoria include foci di tubulite (t1, t2 o t3, con i0 o i1) senza la presenza di arterite intimale. Tuttavia, il valore limite i2 t2 per il rigetto non è soddisfatto. Questa categoria può essere concomitante con le categorie 2, 5 e 6
4	Rigetto mediato da cellule T	<p>Questa categoria può essere concomitante con le categorie 2, 5 e 6</p> <p>Rigetto acuto mediato da cellule T</p> <ul style="list-style-type: none"> • <i>Tipo IA</i> - infiammazione interstiziale significativa (>25% del parenchima è interessato, i2 o i3) e foci di tubulite moderata (t2) • <i>Tipo IB</i> - infiammazione interstiziale significativa (>25% del parenchima è interessato, i2 o i3) e tubulite severa (t3) • <i>Tipo IIA</i> - arterite lieve o moderata (v1) • <i>Tipo IIB</i> - arterite severa, associata a una perdita maggiore del 25% dell'area luminale (v2) • <i>Tipo III</i> - arterite trasmurale e/o alterazioni fibrinose dell'arteria e necrosi delle cellule muscolari lisce della media che si presentano associate ad infiammazione linfocitica dei vasi (v3) <p>Rigetto cronico attivo mediato da cellule T Questo è caratterizzato da arteriopatia cronica del trapianto, che coinvolge una fibrosi dell'intima arteriosa con infiltrazione di cellule mononucleate nel tessuto fibrotico e formazione neo-intimale</p>	
5	Fibrosi interstiziale e atrofia tubulare, senza evidenza di eziologia specifica(*)	<p>Questa categoria è utilizzata per definire la nefropatia da trapianto</p> <p>Grado 1 Lieve fibrosi interstiziale e atrofia dei tubuli (<25% dell'area corticale)</p> <p>Grado 2 Moderata fibrosi interstiziale e atrofia dei tubuli (dal 25 al 50% dell'area corticale)</p> <p>Grado 3 Severa fibrosi interstiziale e atrofia dei tubuli (>50% dell'area corticale)</p>	
6	Altro		Questa categoria include alterazioni che non sono ritenute conseguenti al rigetto acuto e/o cronico

(*)Nota: nonostante l'aggiornamento della classificazione di Banff non impieghi più l'acronimo CAN per indicare le lesioni descritte nella categoria 5, l'Autore ha preferito usare nel testo tale termine per non generare confusione rispetto ai lavori citati che lo hanno utilizzato.

marcato, dell'acido cromoetilendiaminotetra-acetico e dell'acido tecnizio^{99m} dietilentriaminopentacetico. Queste tecniche si pongono in alternativa al calcolo della clearance della creatinina, ma richiedono un

servizio di medicina nucleare e non sono facilmente e diffusamente utilizzabili nella comune pratica clinica. Un altro metodo più accessibile e più sensibile di valutazione della funzione renale è il dosaggio della

cistatina C, inibitore endogeno delle proteasi (49). Altre indagini non invasive per misurare il flusso urinario e vascolare, quali l'ultrasonografia *real-time* potenziata con contrasto e l'ecoDoppler, possono aiutare

TABELLA VI - DIAGNOSI E INTERVENTI TERAPEUTICI PRECOCI

Fattore di rischio	Intervento precoce
Fattori del donatore, del ricevente e del trapianto	Ottimizzare il matching dell'HLA Aumentare la sorveglianza sui donatori più anziani Ridurre il danno ischemico Massimizzare la funzione del trapianto
Co-morbidità: • Ipertensione • Iperlipidemia • diabete	Terapie specifiche
Terapia con CNI	Diminuire le dosi per evitare la nefrotossicità
Episodi di rigetto acuto e subclinico	Ridurre l'incidenza di episodi di rigetto acuto e di SCR

TABELLA VII - INDICAZIONI ALL'AGOBIOPSIA RENALE DEL RENE TRAPIANTATO

- Pazienti con DGF se viene notato un peggioramento del renogramma o se il DGF dura più di 2-3 settimane
- Pazienti con funzione renale peggiore rispetto a quella aspettata in base alle caratteristiche del donatore dopo il primo mese dal trapianto
- Pazienti con un improvviso peggioramento della funzione del rene trapiantato attribuibile a malattia renale
- Pazienti con progressivo aumento della creatininemia (20% dal nadir della creatininemia), nell'arco di tempo di 3-6 mesi
- Pazienti con proteinuria > 1 g/24 h
- Pazienti con anomalie del sedimento urinario senza apparenti cause urologiche
- Consigliabile prima di modifiche nel trattamento immunosoppressivo

a diagnosticare precocemente la CAN (50, 51). Radermacher et al. (52) hanno dimostrato che lo studio ecoDoppler del rene trapiantato effettuato tre mesi o più dopo il trapianto è predittivo dell'*outcome* a lungo termine del *graft*. Nei pazienti trapiantati con indice di resistenza parenchimale ≥ 80 si ha un peggiore andamento della funzione renale e una maggiore mortalità rispetto ai pazienti con IR <80 ($p=0.001$). Da un'analisi multivariata emerge che il rischio di perdita del rene trapiantato nei pazienti con IR ≥ 80 è 9.1 volte maggiore rispetto ai pazienti con IR <80. Sulla base di tali risultati, gli Autori sostengono che lo studio ecodoppler possa essere d'aiuto per monitorizzare e verificare l'efficacia dei differenti schemi terapeutici immunosoppressivi o antiipertensivi sul

miglioramento del decorso del *graft*. Inoltre, ritengono che il costante e periodico controllo del rene trapiantato con l'ecodoppler riduca la necessità di biopsia renale sequenziale, annullando perciò i rischi che tale pratica invasiva comporta. Un incremento dell'indice di resistenza parenchimale può indicare la presenza di rigetto acuto vascolare con endarterite oppure CAN. Perciò, anche se il tempo e la rapidità d'insorgenza possono aiutare a discriminare tra i due eventi, in tal caso la biopsia renale rimane la tecnica elettiva per giungere alla diagnosi. Per individuare precocemente la CAN è quindi necessario utilizzare diversi strumenti diagnostici. Più frequentemente, sono sufficienti indagini non invasive quali una valutazione attenta del GFR, della funzione renale anche

con metodi isotopici e della comparsa di proteinuria, oltre all'ecoDoppler renale e all'ecografia con contrasto; talvolta, si rende necessario l'uso clinicamente mirato dell'agobiopsia. Tra i vari interventi terapeutici, riassunti nella Tabella VI, svolge un ruolo fondamentale per curare e prevenire la CAN l'uso precoce degli inibitori del segnale di proliferazione (PSIs). Questi, infatti, possono permettere di non ricorrere agli inibitori della calcineurina, tenendo così bassi gli episodi di rigetto e riducendo la proliferazione delle cellule muscolari lisce. La somministrazione di CIN può essere evitata anche grazie al ricorso al MMF da solo o in combinazione con PSIs: questo migliorerebbe la funzione renale del *graft* senza aumentare il rischio di rigetto nei pazienti con CAN. Dati a lungo termine dimostrano che il regime di immunosoppressione con acido micofenolico (MPA) + PSIs, rispetto alla combinazione CNI + MPA, preserva meglio la funzione renale e garantisce una minore perdita del *graft*: tale opzione terapeutica sarebbe quindi il trattamento immunosoppressivo di scelta della CAN (45). Al momento, però, non esiste una terapia specifica della CAN: è necessario il ricorso a diversi farmaci che intervengano sui molteplici fattori di rischio elencati in Tabella III. Inoltre, la CAN diagnosticata a 5 anni è difficilmente responsiva alle terapie e alcuni Autori ipotizzano che essa possa avere meccanismi immunopatogenetici diversi dalla CAN diagnosticata entro il primo anno.

INDICAZIONI E RISCHI DELL'AGOBIOPSIA RENALE DEL RENE TRAPIANTATO

Le attuali indicazioni alla biopsia renale sono le seguenti:

a) pazienti con ritardata ripresa della funzione renale (DGF), se accompagnata da un peggioramento del renogramma o della mappa colore all'ecocolordoppler o se la DGF tende a persistere per più di 2-3 settimane;

b) pazienti con funzione renale peggiore di quella che ci si aspettava sulla base delle caratteristiche del donatore, dopo un mese dal trapianto;

c) pazienti con improvviso peggioramento della funzione renale attribuibile a malattia parenchimale del *graft*;

d) pazienti con un progressivo incremento dei livelli di creatinemia (20% dal nadir della creatinemia);

e) pazienti con proteinuria >1 g/24 h;

f) pazienti con alterazioni del sedimento urinario senza apparenti cause urologiche;

g) prima di una modifica sostanziale della terapia immunosoppressiva.

La Tabella VII riassume tali indicazioni (53).

L'agobiopsia del rene trapiantato effettuata per motivi clinici è relativamente sicura. Secondo le varie casistiche e l'esperienza del nostro centro, l'incidenza di complicanze minori (macroematuria, ematomi o dolore che non necessitano di trasfusioni o d'intervento terapeutico) sarebbe compresa tra l'1 e il 7% e quelle maggiori (intese come le precedenti ma con necessità di emotrasfusioni o interventi invasivi di chirurgia e/o embolizzazione o l'insorgenza di sepsi) sarebbero inferiori all'1%. La Tabella VIII riassume la nostra esperienza.

L'ecografia è indispensabile per l'esecuzione della biopsia renale nel trapianto, con tecnica *real-time* con ago automatizzato 16 gauge. Se l'ago utilizzato è di calibro 14 gauge, le complicanze minori possono salire fino al 10%. Le fistole artero-venose post-biopsiche si riscontrano nel 16-18% dei casi, ma nel 75% si risolvono spontaneamente entro le 4 settimane successive alla biopsia.

Gli Autori di un ampio studio policentrico Europeo, che ha raccolto circa 2000 biopsie protocollari, non hanno descritto alcun decesso e la comparsa di sole 4 complicanze maggiori: 3 sanguinamenti gravi e una perdita del *graft*. Quest'ultimo

TABELLA VIII - VALUTAZIONE DELLE COMPLICANZE SU 298 BIOPSIE ECO-ASSISTITE SU RENE TRAPIANTATO, EFFETTUATE PRESSO IL CENTRO DI CAGLIARI

	Reni trapiantati
Numero di pazienti	298
Diametro ago	14/18G
Adeguatezza del frustolo	98,8
N. di glomeruli (mediana)	10
Complicanze totali	3,68
Complicanze maggiori*	0,68
Complicanze minori**	3

(*complicanze maggiori: definite come quelle richiedenti trasfusioni, procedure invasive o risultanti in setticemia; (**complicanze minori: definite come macroematuria o ematoma perirenale risoltesi senza necessità di trasfusioni o interventi).

evento si sarebbe potuto evitare se nella struttura fosse stata disponibile una radiologia interventistica (54).

CONCLUSIONI

I centri che praticano la biopsia renale protocollare hanno l'obiettivo di evidenziare precocemente SCR e CAN per trattarle e per migliorarne la prognosi a lungo termine. Esistono numerose opinioni che sostengono il ruolo delle biopsie protocollari nel rivelare una percentuale significativa di lesioni istologiche compatibili con rigetto acuto e/o CAN in pazienti con funzione del rene trapiantato "normale" o "stabile". L'ampia variabilità d'incidenza di SCR e CAN e l'utilizzo dei criteri di BANFF, creati per la diagnosi di rigetto clinico e di lesioni croniche clinicamente evidenti, rendono la biopsia protocollare spesso insufficiente per porre diagnosi certa di tali lesioni. I migliorati schemi immunosoppressivi di base con l'uso degli anticorpi monoclonali per l'induzione degli mTOR inibitori e del MMF, hanno inoltre ridotto in maniera talmente evidente l'incidenza di SCR, da indurre alcuni centri ad abbandonare la pratica della biopsia protocollare. I dati presenti in letteratura non chiariscono quale sia la frequenza ottimale di esecuzione della biopsia

e se questa debba essere singola ed eseguita in un tempo stabilito (1, 3, 6, 12 mesi?) o effettuata in serie. Nel primo caso, la letteratura e l'esperienza clinica già suggeriscono l'alto grado di inaccuratezza del singolo prelievo, per la difficoltà a standardizzare la lettura istologica.

Non esistono prove basate sull'evidenza che indichino l'utilità del trattamento dell'SCR per il miglioramento della sopravvivenza a lungo termine del *graft*. I lavori esistenti sono deboli e contraddittori. La diagnosi e il trattamento precoce della CAN (entro un anno dal trapianto) potrebbe migliorare la funzione del rene trapiantato nel lungo termine. Tuttavia, attualmente, non esiste una terapia specifica per la CAN che possa avere un'influenza positiva sulla sopravvivenza del rene trapiantato nel lungo termine, se si escludono gli interventi clinici già citati e l'utilizzo dell'immunosoppressione di base con MPA + PSIs + l'induzione con Ab monoclonali.

L'utilità delle biopsie protocollari deve ancora essere corroborata da trial clinici controllati su larga scala, con *follow-up* di almeno 5 anni e con *endpoint* precisi e sensibili. Sulla base di tali considerazioni, chi scrive ritiene che la biopsia protocollare nel trapianto di rene non sia di per sé strettamente necessaria e non debba far parte della gestione

di routine dei pazienti. Le biopsie protocollari, però, vanno incluse soprattutto in quei *trial* prospettici, controllati e randomizzati con *follow-up* uguale o maggiore di 5 anni, disegnati per comparare i diversi e più recenti schemi di immunosoppressione, al fine di:

a) dimostrare se è ancora utile far diagnosi precoce di SCR e se questo influenza l'insorgenza della CAN;

b) dimostrare se trattare o non trattare SCR influenza l'andamento a lungo termine della funzione del rene trapiantato;

c) diagnosticare in maniera precoce e subclinica la CAN del 1° anno e distinguerla dalla CAN che si riscontra a 5-10 anni;

d) standardizzare e ottimizzare la diagnosi istologica con metodi morfometrici e quantitativi;

e) definire i tempi di esecuzione e se l'esame biotico debba essere seriato o unico.

CONCLUSIONI DELLA CONTROVERSIA

Le biopsie protocollari sono un classico punto di controversia nel settore dei trapianti renali. Il relativo rischio di complicanze della procedura deve sempre essere controbilanciato dai possibili benefici, ed il paziente deve sempre essere completamente informato di rischi e benefici. In generale il rischio di eseguire biopsie renali in genere si è profondamente ridotto nel tempo con l'uso di aghi di diametro più piccolo con l'impiego di strumenti atti a prelevare il core del tessuto e con l'impiego degli ultrasuoni. Come rivisto anche in tempi relativamente recenti, la sicurezza delle biopsie di protocollo è abbastanza documentata. Su più di 3500 biopsie di protocollo l'incidenza di complicanze serie varia dallo 0.4 al 1% (47).

È comunque sempre importante che la corticale sia sempre adeguatamente rappresentata nel frustolo in modo da rendere la manovra meritevole di essere eseguita.

L'aumento della creatinina sierica è

il marker più diffuso significativo per rigetto o per altri processi patologici a carico del rene trapiantato. Tuttavia la creatinina sierica non corrisponde il più delle volte al filtrato glomerulare e rigetti subclinici, inclusi rigetti vascolari o con componente umorale possono verificarsi in assenza di variazioni della creatinina sierica (55, 56). L'incidenza dei rigetti subclinici varia da centro a centro, ma certamente si verifica in tutti i centri. Infine il sopravvenire di rigetti cronici in assenza della fase acuta può certamente essere ascritto a reazioni immuni che non comportano aumento della creatinina sierica.

Un altro contesto clinico in cui le biopsie di protocollo possono risultare particolarmente utili è quando si verifica mancata ripresa della funzione renale dopo trapianto. Di fronte ad una creatinina sierica elevata, spesso con necessità di dialisi, può sopravvenire una reazione di rigetto non rilevabile né clinicamente, né con esami di laboratorio. In tale contesto molti centri trapianto fanno biopsie protocollari spesso con cadenza settimanale se persiste l'anuria.

Altre evenienze che sono rilevabili con biopsie protocollari sono la tossicità da inibitori della calcineurina, l'infezione da poliovirus ed una precoce evoluzione verso la fibrosi.

Una precoce identificazione di questi processi può portare ad un precoce intervento terapeutico che previene la progressione della patologia in atto.

In sostanza esistono condizioni cliniche precise in cui le biopsie protocollari sembrano di grande utilità. Esistono anche tuttavia elementi contrari alle biopsie di protocollo quali la frequente scarsa disponibilità del paziente, una modesta, ma non del tutto eliminata quota di rischio, il fatto di avere disponibilità di tempo e di spazio all'interno del reparto.

Cosa fare in conclusione?

Poiché le biopsie protocollari sono abbastanza sicure e ben tollerate nella maggior parte dei casi, sembra utile fornire le seguenti indicazioni e raccomandazioni (57).

Biopsie protocollari al momento del

trapianto dovrebbero sempre essere eseguite al fine di avere una valutazione di pregressa fibrosi e/o patologia vascolare, per diagnosticare condizioni patologiche rare e non sospettabili a carico del donatore. Una biopsia eseguita subito dopo la re-anastomosi fornisce un monitoraggio immediato di alterazioni acute e sarebbe particolarmente indicata per pazienti a rischio di rigetto anticorpo mediato. Infatti, la emarginazione dei leucociti nei capillari e/o la deposizione di C4d può essere vista molto precocemente.

Come già detto, le biopsie dovrebbero essere eseguite con cadenza settimanale in caso di mancata ripresa della diuresi.

Oltre a queste raccomandazioni, le biopsie protocollari sembrano essere particolarmente utili in pazienti sensibilizzati, con aumentato rischio per rigetto acuto. In tali condizioni la biopsia di protocollo dovrebbe essere eseguita entro i primi tre mesi per escludere la presenza di rigetti subclinici. Altra condizione in cui la biopsia è di particolare utilità è il sospetto di nefropatia da poliovirus. In tali casi la biopsia dovrebbe sempre essere eseguita prima di ridurre l'immunosoppressione.

Biopsie protocollari a sei mesi o ad un anno dovrebbero essere eseguite in pazienti con anamnesi per esposizione elevata ad inibitori della calcineurina o con storia pregressa di tossicità acuta da inibitori della calcineurina.

Molti Autori concordano poi sulla opportunità di realizzare studi multicentrici, randomizzati per valutare la reale opportunità di eseguire biopsie di protocollo nei primi tre mesi post-trapianto.

Resta infine la raccomandazione di eseguire biopsie protocollari in tutti i trials in cui vengano valutati nuovi farmaci immunosoppressori o farmaci già in uso ma a dosi inconsuete.

DICHIARAZIONE DI CONFLITTO DI INTERESSI

Gli Autori dichiarano di non avere conflitto di interessi.

BIBLIOGRAFIA

1. Cecka JM. Kidney transplantation in the United States. *Clin Transpl* 2008; 1-18.
2. Rush D. Protocol transplant biopsies: an underutilized tool in kidney transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1 (1): 138-43.
3. Jain S, Curwood V, White SA, Furness PN, Nicholson ML. Sub-clinical acute rejection detected using protocol biopsies in patients with delayed graft function. *Transpl Int* 2000; 13 (Suppl. 1): S52-5.
4. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; 8: 753-60.
5. Rush D. Winnipeg Transplant Group. Insights into subclinical rejection. *Transplant Proc* 2004; 36 (2 Suppl.): S71-3.
6. Choi BS, Shin MJ, Shin SJ, et al. Clinical significance of an early protocol biopsy in living-donor renal transplantation: ten-year experience at a single center. *Am J Transplant* 2005; 5: 1354-60.
7. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Chapman JR, Allen RD. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: longitudinal assessment by protocol histology. *Transplantation* 2004; 78: 557-65.
8. 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.
9. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Allen RD, Chapman JR. Natural history, risk factors, and impact of subclinical rejection in kidney transplantation. *Transplantation* 2004; 78: 242-9.
10. Rush D, Nickerson P, Gough J, et al. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 2129-34.
11. Nankivell BJ, Kuypers DR, Fenton-Lee CA, Allen RD, O'Connell PJ, Chapman JR. Histological injury and renal transplant outcome: the cumulative damage hypothesis. *Transplant Proc* 2001; 33: 1149-50.
12. Birk PE, Stannard KM, Konrad HB, et al. Surveillance biopsies are superior to functional studies for the diagnosis of acute and chronic renal allograft pathology in children. *Pediatr Transplant* 2004; 8: 29-38.
13. Shapiro R, Randhawa P, Jordan ML, et al. An analysis of early renal transplant protocol biopsies—the high incidence of subclinical tubulitis. *Am J Transplant* 2001; 1: 47-50.
14. Hoffmann SC, Hale DA, Kleiner DE, et al. Functionally significant renal allograft rejection is defined by transcriptional criteria. *Am J Transplant* 2005; 5: 573-81.
15. Kurtkoti J, Sakhua V, Sud K, et al. The utility of 1- and 3-month protocol biopsies on renal allograft function: a randomized controlled study. *Am J Transplant* 2008; 8: 317-23.
16. El-Zoghby ZM, Stegall MD, Lager DJ, et al. Identifying specific causes of kidney allograft loss. *Am J Transplant* 2009; 9: 527-35.
17. Shishido S, Asanuma H, Nakai H, et al. The impact of repeated subclinical acute rejection on the progression of chronic allograft nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1046-52.
18. Serón D, Moreso F, Bover J, et al. Early protocol renal allograft biopsies and graft outcome. *Kidney Int* 1997; 51: 310-6.
19. Kuypers DR, Chapman JR, O'Connell PJ, Allen RD, Nankivell BJ. Predictors of renal transplant histology at three months. *Transplantation* 1999; 67: 1222-30.
20. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. *Transplantation* 1995; 59: 511-4.
21. Dimény E, Wahlberg J, Larsson E, Fellström B. Can histopathological findings in early renal allograft biopsies identify patients at risk for chronic vascular rejection? *Clin Transplant* 1995; 9: 79-84.
22. Fujisawa M, Ono H, Isotani S, et al. Significance of chronic transplant nephropathy on early protocol biopsies for graft outcome in pediatric renal transplantation. *Transplant Proc* 1999; 31: 1687-90.
23. Laham G, Sleiman S, Soler Pujol G, Diaz C, Dávalos M, Vilches A. Conversion to sirolimus allows preservation of renal function in kidney and kidney-pancreas allograft recipients. *Transplant Proc* 2010; 42: 309-13.
24. Cataneo-Dávila A, Zúñiga-Varga J, Correa-Rotter R, Alberú J. Renal function outcomes in kidney transplant recipients after conversion to everolimus-based immunosuppression regimen with CNI reduction or elimination. *Transplant Proc* 2009; 41: 4138-46.
25. Gonzalez Molina M, Seron D, Garcia del Moral R, 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.
26. Sarwal M, Chua MS, Kambham N, et al. Molecular heterogeneity in acute renal allograft rejection identified by DNA microarray profiling. *N Engl J Med* 2003; 349: 125-38.
27. Reeve J, Einecke G, Mengel M, et al. Diagnosing rejection in renal transplants: a comparison of molecular- and histopathology-based approaches. *Am J Transplant* 2009; 9: 1802-10.
28. Helanterä I, Ortiz F, Helin H, Räsänen-Sokolowski A, Honkanen E, Koskinen P. Timing and value of protocol biopsies in well-matched kidney transplant recipients—a clinical and histopathologic analysis. *Transpl Int* 2007; 20: 982-90.
29. Furness PN, Philpott CM, Chorbadjian MT, et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003; 76: 969-73.
30. Rush DN, Henry SF, Jeffery JR, Schroeder TJ, Gough J. Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation* 1994; 57 (2): 208-11.
31. Shapiro R, Jordan ML, Scantlebury VP, et al. Renal allograft rejection with normal renal function in simultaneous kidney/pancreas recipients: does dissynchronous rejection really exist? *Transplantation* 2000; 69 (3): 440-1.
32. Roberts IS, Reddy S, Russell C, et al. Subclinical rejection and borderline changes in early protocol biopsy specimens after renal transplantation. *Transplantation* 2004; 77 (8): 1194-8.
33. Kee TY, Chapman JR, O'Connell PJ, et al. Treatment of subclinical rejection diagnosed by protocol biopsy of kidney transplants. *Transplantation* 2006; 82 (1): 36-42.
34. Nankivell BJ, Chapman JR. The significance of subclinical rejection and the value of protocol biopsies. *Am J Transplant* 2006; 6 (9): 2006-12.
35. Scholten EM, Rowshani AT, Cremers S, et al. Untreated rejection in 6-month protocol biopsies is not associated with fibrosis in serial biopsies or with loss of graft function. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (9): 2622-32.
36. Serón D, Moreso F. Protocol biopsies in renal transplantation: prognostic value of structural monitoring. *Kidney Int* 2007; 72 (6): 690-7.
37. Thaunat O, Legendre C, Morelon E, Kreis H, Mamzer-Bruneel MF. To biopsy or not to biopsy? Should we screen the histology of stable renal grafts? *Transplantation* 2007; 84 (6): 671-6.

38. Nickerson P, Jeffery J, Gough J, et al. Effect of increasing baseline immunosuppression on the prevalence of clinical and subclinical rejection: a pilot study. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1801-5.
39. Roberts IS, Stratopoulos C, Zilvetti M, Reddy S, Friend PJ. Impact of immunosuppression on the incidence of early subclinical renal allograft rejection: implications for protocol biopsy policy. *Transpl Int* 2009; 22 (8): 831-6.
40. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, et al. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ('CAN'). *Am J Transplant* 2007; 7 (3): 518-26.
41. Kee TY, Chapman JR, O'Connell PJ, et al. Treatment of subclinical rejection diagnosed by protocol biopsy of kidney transplants. *Transplantation* 2006; 82 (1): 36-42.
42. Pro: Rush D; Con: Salomon DR. Controversies in Nephrology- Protocol biopsies should be part of the routine management of kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2002; 40 (4): 671-7.
43. Rush DN, Karpinski ME, Nickerson P, Dancea S, Birk P, Jeffery JR. Does subclinical rejection contribute to chronic rejection in renal transplant patients? *Clin Transplant* 1999; 13: 441-6.
44. Mengel M, Gwinner W, Schwarz A, et al. Infiltrates in protocol biopsies from renal allografts. *Am J Transplant* 2007; 7 (2): 356-65.
45. Serón D, Arns W, Chapman JR. Chronic allograft nephropathy--clinical guidance for early detection and early intervention strategies. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 2467-73.
46. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000; 342: 605-12.
47. Wilkinson A. Protocol transplant biopsies: are they really needed? *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 130-7.
48. Moreso F, Ibernón M, Gomà M, et al. Subclinical rejection associated with chronic allograft nephropathy in protocol biopsies as a risk factor for late graft loss. *Am J Transplant* 2006; 6 (4): 747-52.
49. Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006; 354: 2473-83.
50. Schwenger V, Korosoglou G, Hinkel UP, et al. Real-time contrast-enhanced sonography of renal transplant recipients predicts chronic allograft nephropathy. *Am J Transplant* 2006; 6: 609-15.
51. Nankivell BJ, Chapman JR, Grunewald SM. Detection of chronic allograft nephropathy by quantitative doppler imaging. *Transplantation* 2002; 74: 90-6.
52. Radermacher J, Mengel M, Ellis S, et al. The renal arterial resistance index and renal allograft survival. *N Engl J Med* 2003; 349: 115-24.
53. Serón D, Anaya F, Marcén R, et al. Guidelines for indicating, obtaining, processing, and evaluating kidney biopsies. *Nefrologia* 2008; 28 (4): 385-96.
54. Furness PN, Philpott CM, Chorbajian MT, et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003; 76 (6): 969-73.
55. Isoniemi H, Taskinen E, Häyry P. Histological chronic allograft damage index accurately predicts chronic renal allograft rejection. *Transplantation* 1994; 58: 1195-8.
56. Nickerson P, Jeffery J, Gough J, et al. Identification of clinical and histopathologic risk factors for diminished renal function 2 years posttransplant. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 482-7.
57. Racusen LC. Protocol transplant biopsies in kidney allografts: why and when are they indicated? *Clin J Am Soc Nephrol* 2006; 1: 144-7.