

Monitorización histológica

Francesc Moreso¹, Juan J. Amenábar², Carmen Bernis³, Natividad Calvo⁴, Laura Cañas⁵, José F. Crespo⁶, Patricia Delgado⁷, Roberto Gallego⁸, Manuel A. Rodríguez⁹, Emilio Rodrigo¹⁰, M.^a Luisa Suárez¹¹, Ramón Vilalta¹²

¹ Servicio de Nefrología, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

² Servicio de Nefrología, Hospital de Cruces, Bilbao

³ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de la Princesa, Madrid

⁴ Servicio de Nefrología, Hospital Clínico San Carlos, Madrid

⁵ Servicio de Nefrología, Hospital Universitari Germans Trias i Pujol, Badalona, Barcelona

⁶ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Doctor Peset, Valencia

⁷ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Canarias, Santa Cruz de Tenerife

⁸ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Gran Canaria Doctor Negrín, Las Palmas de Gran Canaria

⁹ Servicio de Nefrología, Hospital Torrecárdenas, Almería

¹⁰ Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Santander

¹¹ Servicio de Nefrología, Hospital Central de Asturias, Oviedo

¹² Servicio de Nefrología Pediátrica, Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona

Nefrología Sup Ext 2016;7(2):63-76

INTRODUCCIÓN

La biopsia renal es una herramienta imprescindible en la monitorización del injerto tras el trasplante renal, ya que nos permite diagnosticar y establecer un tratamiento y un pronóstico ante los episodios de disfunción del injerto. Durante los últimos 25 años se ha llevado a cabo un extenso trabajo con el objetivo de estandarizar la evaluación histológica de las alteraciones del injerto renal. Desde la primera reunión del grupo de Banff, celebrada en 1991¹, se han mantenido reuniones con periodicidad bianual y tras cada reunión se ha realizado una publicación en las revistas de la especialidad donde se ha revisado de forma constante la clasificación con el objetivo de poder incorporar rápidamente las novedades derivadas de los trabajos de distintos grupos de investigación. En el documento que recogió las conclusiones de la reunión de 1997², se describe la representación de glomérulos y de arterias que debe contener la muestra (un mínimo de 10 glomérulos y dos arterias para muestras adecuadas y un mínimo de siete

glomérulos y una arteria para muestras marginales), así como el método de procesamiento de la misma (tres laminillas con hematoxilina y eosina [H&E], tres laminillas con ácido peryódico de Schiff [PAS] o plata y una laminilla con tricrómico). Posteriormente, en la reunión de 2001, se incorporó la tinción específica para el componente C4d del complemento en tejido congelado o parafinado³ y, en la actualidad, la última revisión de la clasificación que se halla disponible es la realizada en la reunión de 2013⁴. La evaluación de las lesiones crónicas (fibrosis intersticial, atrofia tubular, hialinosis arteriolar, engrosamiento intimal arterial) es una tarea compleja, ya que estas lesiones también se asocian al envejecimiento, a la hipertensión arterial o a la diabetes. Dado que actualmente se están utilizando injertos renales procedentes de donantes añosos (hasta 80-90 años) y con comorbilidades (hipertensión arterial, diabetes mellitus), se recomienda disponer de una biopsia preimplante para poder realizar una valoración adecuada de la progresión de las mismas.

Desde finales de la década de los ochenta del siglo pasado, distintos grupos de investigación se han dedicado a estudiar la presencia de lesiones agudas y crónicas en los injertos renales con función estable mediante la realización de biopsias, con el objetivo de caracterizar la presencia de

Correspondencia: Francesc Moreso

Servicio de Nefrología.

Hospital Universitari Vall d'Hebron, Barcelona.

fjmoreso@vhebron.net

lesiones subclínicas (a estas biopsias se las ha llamado biopsias «de protocolo» o «de seguimiento»). El objetivo de la presente revisión es analizar las evidencias disponibles en la actualidad que apoyan esta monitorización histológica del injerto renal, es decir, la realización de biopsias renales en injertos con función estable.

MATERIAL Y MÉTODOS

La selección de artículos que se van a revisar ha sido realizada por uno de los autores (F. M.) con el objetivo de intentar dar respuesta a las siguientes preguntas:

1. ¿Es necesario realizar una biopsia renal preimplante? ¿Se debe utilizar la biopsia preimplante para decidir si el riñón es apto para trasplante, especialmente en los donantes con criterios expandidos? ¿Cuándo realizar trasplante renal dual?
2. ¿Es necesaria la monitorización histológica mediante biopsias de protocolo en todos los trasplantes? ¿O solo es necesaria la monitorización histológica en los trasplantes de alto riesgo inmunológico? ¿O nunca es necesaria?
3. ¿Debe tratarse el rechazo (celular o humoral) subclínico?
4. ¿Es necesaria la monitorización histológica para asegurar que los episodios de rechazo agudo (celular o humoral) han sido adecuadamente revertidos?
5. ¿Deben realizarse biopsias de protocolo antes o después de realizar cambios en la inmunosupresión?
6. ¿Es útil la monitorización histológica para el manejo de la recidiva de la enfermedad renal primaria?
7. ¿Es útil la monitorización histológica para el manejo de la nefropatía por el virus del poliovirus BK?
8. ¿Son útiles los inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) o los antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARAI) para frenar la progresión de la fibrosis?

BIOPSIA RENAL PREIMPLANTE

Durante las últimas décadas se ha producido un progresivo aumento de la edad y de la comorbilidad de los do-

nantes para trasplante renal. Según datos de la Organización Nacional de Trasplantes (ONT)⁵, en el año 2014 más del 50% de los donantes cadáver tenían una edad superior a los 60 años y más de un 25% tenían una edad superior a los 70 años. La causa de muerte más frecuente fue el accidente cerebrovascular (63%) y, además, la presencia de hipertensión arterial (50,4%), diabetes mellitus (21,7%) o disfunción renal en el momento de la donación (creatinina sérica > 1,5 mg/dl; 8%) fue muy elevada. Estas características de los donantes se asocian a una elevada tasa de no utilización de los órganos obtenidos, de tal manera que de los 2.986 órganos renales extraídos, 722 (24,8%) fueron rechazados para trasplante. Es destacable que 512 riñones fueron rechazados por las características de los injertos y que en 250 casos lo fueron por obtener un índice histológico elevado que desaconsejaba el trasplante. Incluso en los donantes vivos renales, la edad media es de 51 años y se han aceptado órganos procedentes de donantes de hasta 79 años. Estos riñones procedentes de donantes con criterios expandidos ofrecen peores resultados a medio y largo plazo, debido a la presencia de lesiones preexistentes a las que, en general, nos referimos como «senescencia renal». La senescencia renal se caracteriza por un mayor número de glomérulos esclerosados, glomerulopenia con hipertrofia compensadora de los glomérulos remanentes, expansión del intersticio renal y hialinosis arteriolar. Estos cambios morfológicos se acompañan de una menor función renal e hiperfiltración de los glomérulos patentes. En un estudio reciente⁶, se demuestra que los órganos obtenidos de donantes añosos (edad media de 59 años, un 64% de ellos con antecedentes de hipertensión arterial), presentan, en comparación con un grupo de donantes estándar (46 años de edad media, un 10% con antecedentes de hipertensión arterial), más glomérulos esclerosados (16,8% frente a 1,6%), un menor número de glomérulos patentes (3×10^5 frente a $8,5 \times 10^5$), un mayor volumen glomerular medio ($3,4 \times 10^6$ m³ frente a $2,7 \times 10^6$ m³), un mayor coeficiente de ultrafiltración por glomérulo (11,2 frente a 8,3 nl/[min × mmHg]) y una mayor expansión del intersticio renal (18 frente a 12%). Con este tipo de donantes, los receptores alcanzan un filtrado glomerular renal un 30% inferior (48 frente a 69 ml/min/1,73 m²) y, en una parte de ellos (> 50%), el filtrado glomerular fue inferior a 40 ml/min/1,73 m². Todos estos datos sugieren que los órganos

procedentes de donantes añosos presentan procesos de adaptación como los del riñón remanente, lo cual podría explicar su peor supervivencia a medio plazo.

Dadas las limitaciones de los resultados alcanzados con los injertos obtenidos de donantes expandidos, se han desarrollado diversos índices para evaluar la viabilidad del injerto. Algunos de ellos solo contienen datos clínicos (edad, hipertensión arterial, causa de la muerte, creatinina sérica preextracción); otros, solo datos histológicos y algunos han combinado datos de ambas fuentes. Se ha demostrado que una valoración conjunta en el donante de los datos clínicos (hipertensión arterial, creatinina sérica > 150 $\mu\text{mol/l}$, muerte por ictus) e histológicos (glomerulosclerosis global > 10%, fibrosis intersticial > 5%) supone una buena predicción (área bajo la curva = 0,81-0,84) de presentar función renal subóptima al año del trasplante (filtrado glomerular [FG] estimado < 25 ml/min/1,73 m²) o de fracaso del injerto a 5 años^{7,8}. Sin embargo, ninguno de ellos ha sido validado para decidir qué órganos no son adecuados para trasplante.

Por otra parte, los índices complejos (*Maryland aggregate pathology index*), que valoran lesiones en los diversos compartimentos renales (glomérulos, túbulo-intersticio, arteriolas y arterias) se relacionan con la supervivencia del injerto renal, pero son difíciles de realizar por patólogos no entrenados⁹. En nuestro ámbito, se ha publicado un documento de consenso para la evaluación de la biopsia del donante¹⁰. En dicho documento se enfatiza la importancia de disponer de una muestra representativa (> 50 glomérulos entre ambos riñones) y de realizar una valoración conjunta de ambos órganos. Además, se propone un índice que valora la esclerosis glomerular (0 = 0%; 1 = 1-10%; 2 = 11-20%; 3 > 20%) y las lesiones de fibrosis intersticial, atrofia tubular, hialinosis arteriolar y engrosamiento intimal arterial según los criterios de Banff. Esta evaluación permite generar un índice entre 0 y 15, y, según el documento de consenso, se recomienda descartar los riñones con un índice > 7. Recientemente, se ha documentado que este índice adolece de una baja reproducibilidad entre observadores (índice kappa = 0,41) cuando la evaluación de las biopsias se realiza por patólogos no experimentados en patología del trasplante renal¹¹.

Finalmente, con el objetivo de mejorar los resultados a largo plazo de los riñones obtenidos de donantes con criterios expandidos, algunos grupos han propuesto la realización de un trasplante renal dual (ambos riñones implantados en el mismo receptor) en función de los hallazgos histológicos en la biopsia del donante. El estudio realizado por un grupo italiano demostró que la valoración histológica de los órganos obtenidos de donantes con criterios expandidos permite clasificar los riñones como aptos para trasplante renal simple, dual o no implantarlos, asegurando unos resultados a medio plazo no distintos a los de los órganos procedentes de donantes estándar¹². Sin embargo, los umbrales para realizar el trasplante renal simple o dual y para descartar los órganos no han sido suficientemente validados¹³. De todas maneras, en la actualidad, la práctica de este tipo de trasplante en nuestro país es excepcional (cinco casos en 2014), ya que estos órganos se utilizan para trasplante renal simple o son descartados.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y RIESGO INMUNOLÓGICO

Para monitorizar desde el punto de vista histológico el injerto renal, algunos grupos incluyen en el seguimiento de los pacientes la realización de biopsias renales de protocolo con el objetivo de diagnosticar la presencia de rechazo agudo subclínico (celular o humoral) y valorar la progresión de las lesiones crónicas (glomerulosclerosis, fibrosis intersticial/atrofia tubular, hialinosis arteriolar, vasculopatía del injerto). Además, estas biopsias se han utilizado en diversos ensayos clínicos como variables de eficacia primaria o secundaria con el objetivo de evaluar los cambios morfológicos en trasplantes renales bajo distintas pautas de inmunosupresión¹⁴⁻¹⁶. Cabe destacar que la realización de biopsias de protocolo se ha revelado como un procedimiento seguro cuando se realiza en centros experimentados y que, además, se puede realizar de forma ambulatoria^{15,17,18}.

Desde principios de la década de los noventa, se describió la presencia de lesiones de rechazo agudo celular en las biopsias de protocolo realizadas en injertos con función estable. A esta alteración se la denominó «rechazo agudo

subclínico». Las características inmunológicas del receptor, tales como el grado de sensibilización, el trasplante, el número de incompatibilidades en los antígenos leucocitarios humanos (HLA por sus siglas en inglés, *human leukocyte antigen*) o la presencia de episodios previos de rechazo agudo, así como el tratamiento inmunosupresor, se asocian con la presencia de rechazo agudo subclínico. Estas alteraciones son más frecuentes durante los primeros meses postrasplante y su prevalencia disminuye de forma progresiva a partir del sexto mes. En cambio, la presencia de lesiones crónicas aumenta rápidamente durante el primer año para hacerlo más lentamente a partir de entonces¹⁹. Durante los últimos años, la llegada de nuevas técnicas para determinar la presencia de anticuerpos anti-HLA (Luminex) ha permitido describir patrones morfológicos distintos en pacientes sin anticuerpos anti-HLA donante específicos (bajo riesgo inmunológico) y en pacientes con anticuerpos anti-HLA donante específicos (alto riesgo inmunológico). Los pacientes con anticuerpos anti-HLA no donante específicos parecen comportarse, desde el punto de vista de los hallazgos histológicos, de forma parecida a los pacientes sin anticuerpos anti-HLA, aunque, en estos, el riesgo de desarrollar anticuerpos anti-HLA donante específicos parece ser mayor.

Biopsias de protocolo en pacientes de bajo riesgo inmunológico

En los pacientes de bajo riesgo inmunológico, se ha descrito la presencia de rechazo agudo subclínico celular en proporciones variables, así como la progresión de las lesiones crónicas. El impacto que tienen estas lesiones sobre la evolución del injerto también ha sido motivo de distintos trabajos de investigación. A continuación revisaremos las evidencias en cada uno de estos aspectos de forma aislada.

Rechazo subclínico. En los pacientes sin anticuerpos anti-HLA donante específicos en el momento de la biopsia, la lesión aguda predominante es la del rechazo celular mediado por células T. Desde el punto de vista morfológico, se caracteriza por la presencia de inflamación intersticial (i) asociada a distintos grados de tubulitis (t). En 2/3 de los casos, se alcanza el diagnóstico de cambios *borderline* (\geq

i1t1, pero $< i2t2$), mientras que en 1/3 de los casos se alcanza el diagnóstico de rechazo agudo celular ($\geq i2t2$). En cambio, la presencia de rechazo agudo subclínico con endotelialitis ($v \geq 1$) es excepcional¹⁶.

La frecuencia y la gravedad de estas lesiones se correlacionan de forma estrecha con el tratamiento inmunosupresor de mantenimiento. Durante las últimas décadas, con la llegada de pautas de inmunosupresión más potentes, la prevalencia de esta lesión ha disminuido de forma progresiva. Cuando se realizaba tratamiento de mantenimiento con ciclosporina y azatioprina, estas alteraciones estaban presentes en más del 50% de los injertos durante los primeros meses postrasplante. Posteriormente, con las pautas basadas en ciclosporina A en microemulsión asociada con micofenolato de mofetilo (MMF), se redujo al 30% y, finalmente, las pautas de tratamiento actuales basadas en la combinación de tacrolimus con MMF o inhibidores de la diana de la rapamicina en mamíferos (m-TOR por sus siglas en inglés, *mammalian target of rapamycin*), los im-TOR, presentan tasas de rechazo agudo subclínico, durante el primer año, inferiores al 15% (revisión en las referencias 14 y 16).

La información disponible con pautas de tratamiento libres de anticalcineurínicos es menor. En un grupo de pacientes que recibieron tratamiento de mantenimiento con MMF y corticoides, la prevalencia fue superior al 50%²⁰. Los estudios realizados con im-TOR sin anticalcineurínicos han arrojado resultados contradictorios, probablemente en relación con la reducción progresiva de los niveles diana. En un estudio prospectivo y aleatorizado, que comparaba una pauta basada en tacrolimus, MMF y corticoides ($n = 84$) con una pauta basada en sirolimus, MMF y corticoides ($n = 81$), la prevalencia de episodios de rechazo agudo clínico y subclínico durante el primer año no fue distinta (14 frente a 18%) entre ambas ramas de tratamiento²¹. En cambio, en un subestudio del ensayo clínico CONCEPT (los pacientes fueron aleatorizados a los 3 meses a una pauta basada en sirolimus, MMF y corticoides o a seguir con ciclosporina, MMF y corticoides), las biopsias de protocolo al año mostraron una mayor prevalencia de cambios *borderline* (16,2 frente a 5,1%) y de rechazo subclínico (29 frente a 10,2%) en los pacientes convertidos a sirolimus²². Sin embargo, el inmunofenotipo de este infiltrado intersticial es diferente bajo distintas pautas de trata-

miento y se ha postulado que, en los pacientes tratados con sirolimus, los infiltrados intersticiales ricos en células T reguladoras pueden tener un efecto protector sobre la disfunción crónica del injerto²³.

Progresión de la fibrosis intersticial/atrofia tubular.

Durante el primer año postrasplante se produce un aumento progresivo de las lesiones crónicas, especialmente de la fibrosis intersticial/atrofia tubular (FI/AT), mientras que la progresión de la glomerulosclerosis y las lesiones vasculares es más lenta y tardía¹⁹. Ha sido motivo de distintos trabajos evaluar la contribución de la respuesta inmune y la nefrotoxicidad por anticalcineurínicos en la progresión de estas lesiones crónicas. En un estudio que incluyó a 256 pacientes tratados con tacrolimus, MMF y retirada rápida de corticoides, se demuestra, en las biopsias realizadas durante los primeros 4 meses, que la presencia de cambios *borderline* y de rechazo agudo subclínico (50 y 19 casos, respectivamente) se asocia con una mayor proporción de cambios de FI/TA moderada en la biopsia de protocolo al año (15% en los casos sin rechazo subclínico, 34% en los casos con cambios *borderline* y 53% en los casos con rechazo subclínico)²⁴. Sin embargo, a la progresión de las lesiones de la FI/AT también contribuye de forma significativa el tratamiento con anticalcineurínicos. Se ha demostrado en diversos ensayos clínicos que las pautas de tratamiento libres de anticalcineurínicos, bien sea basadas en im-TOR o en belatacept, se asocian a una menor progresión de la FI/AT que las pautas basadas en ciclosporina²⁵⁻²⁷. En cambio, este beneficio no se pudo demostrar en un ensayo clínico que comparó pacientes tratados con tacrolimus, MMF y corticoides con pacientes tratados con sirolimus, MMF y corticoides, en el que tan solo se observó una menor progresión del engrosamiento vascular intimal en los pacientes tratados con sirolimus²¹. A pesar de estos resultados, que sugieren una menor nefrotoxicidad del tacrolimus que de la ciclosporina, la progresión de las lesiones de la FI/AT al año del trasplante no fue distinta en un ensayo clínico que comparó pacientes tratados con tacrolimus (n = 97) y con ciclosporina (n = 94), aunque la prevalencia de rechazo subclínico a los 6 meses se redujo a la mitad con el tacrolimus (38,8 frente a 15,2%)²⁸. Por otra parte, en un estudio con biopsias seriadas realizadas durante el primer año, se demuestra que los pa-

cientes que se han mantenido con niveles más elevados de tacrolimus (> 12 ng/ml) presentan una menor progresión de las lesiones crónicas²⁹, lo que sugiere que un buen control de la respuesta inmune reduce la progresión de las lesiones de la FI/AT. Finalmente, en otro ensayo clínico, se mostró que la combinación de tacrolimus con sirolimus (n = 50) es más potente que la de tacrolimus con MMF (n = 50) o ciclosporina con sirolimus (n = 50) o MMF (n = 50), ya que se asocia a la menor prevalencia de rechazo subclínico durante el primer año (< 10%) y a una menor prevalencia de lesiones crónicas a los 5 años³⁰. Además, se ha descrito que existe una interacción entre las lesiones preexistentes en el donante y el régimen de tratamiento. Así, en los injertos sin lesiones preexistentes, la combinación de tacrolimus, sirolimus y corticoides se acompaña de una menor progresión de la FI/AT; pero, en cambio, en injertos con lesiones preexistentes, la combinación de tacrolimus, MMF y corticoides se asocia a una menor progresión³¹. Así pues, el impacto que tiene el tratamiento con anticalcineurínicos en la progresión de las lesiones crónicas es difícil de interpretar. En un estudio con biopsias de protocolo a los 3, 24 y 120 meses, se observó que los pacientes tratados con ciclosporina (n = 48) presentaban una mayor progresión de las lesiones crónicas (glomerulosclerosis, fibrosis intersticial, atrofia tubular, engrosamiento intimal y hialinosis arteriolar) que los pacientes sin anticalcineurínicos (n = 93); aunque ninguna de estas lesiones es específica³², ni tan solo los depósitos hialinos en la capa muscular de las arteriolas (68% en los tratados con ciclosporina frente a 28% en los no tratados).

Por lo tanto, podemos concluir que, durante el primer año, distintos insultos contribuyen a la progresión de la FI/AT, tanto el rechazo subclínico como el tratamiento con anticalcineurínicos, y hoy en día todavía no sabemos qué pauta de tratamiento es mejor debido a la interacción entre las distintas variables. Sin embargo, debe destacarse que, en pacientes de bajo riesgo inmunológico, la progresión de la FI/AT entre el primer y quinto año postrasplante es leve con las pautas de inmunosupresión actuales basadas en tacrolimus o im-TOR³³.

Monitorización histológica y evolución del injerto. Se han llevado a cabo distintos trabajos con largas series de

casos con seguimiento superior a los 10 años para evaluar si existe alguna relación entre los hallazgos en las biopsias de protocolo realizadas durante el primer año y el pronóstico del injerto. Estos estudios tienen diversas limitaciones, entre las que cabe destacar los cambios en las pautas de tratamiento a lo largo del tiempo, así como los cambios introducidos en el seguimiento postrasplante, especialmente la introducción de las nuevas técnicas para detectar anticuerpos anti-HLA.

En general, se puede afirmar que la presencia de episodios de rechazo agudo celular subclínico se ha asociado con la aparición de anticuerpos anti-HLA donante específicos *de novo*, con el desarrollo de rechazo crónico mediado por anticuerpos y con el fracaso tardío del injerto^{32,33}. En un estudio que incluyó a 315 pacientes sin anticuerpos anti-HLA pretrasplante, 47 desarrollaron anticuerpos anti-HLA donante específicos (ADE) a los 4,6 años y la aparición de ADE se asoció con el número de incompatibilidades HLA, especialmente de clase II, con los episodios de rechazo clínico y subclínico, y con la no adherencia al tratamiento inmunosupresor³⁴. Los pacientes con ADE presentaron una supervivencia a los 10 años muy inferior a los que no desarrollaron ADE (95 frente a 50%). En otro estudio³⁵, se revisaron más de 500 pacientes con una biopsia de protocolo durante los primeros 6 meses postrasplante y en 109 de ellos se disponía de una biopsia tardía por disfunción realizada a los 7 años del trasplante. En los pacientes que presentaban rechazo crónico mediado por anticuerpos en la biopsia tardía (n = 44), la presencia de rechazo subclínico en la biopsia de protocolo fue el doble de frecuente que en los pacientes que presentaban FI/AT (n = 42) en la biopsia tardía (52,3 frente a 28,6%). En este estudio, los pacientes con rechazo crónico presentaron una supervivencia del injerto inferior que los pacientes con FI/AT (58 frente a 21% a los 20 años del trasplante).

La presencia de lesiones crónicas (FI/AT) se ha relacionado con el fracaso tardío del injerto, especialmente cuando se asocia con lesiones de rechazo subclínico (revisión en 14-16). Una de las series más amplias en cuanto al número de casos (n = 435) y con un seguimiento de 9 años de media²⁰, mostró que los pacientes que en la biopsia de protocolo presentaban rechazo subclínico asociado a FI/AT (n = 65) tenían casi el doble de riesgo de presentar fracaso del

injerto que los pacientes que presentaban una biopsia normal (n = 186), una biopsia con rechazo subclínico aislado (n = 74) o con FI/AT aislada (n = 110).

Biopsias de protocolo en pacientes de alto riesgo inmunológico

En los pacientes con ADE en el momento de la biopsia, la lesión predominante en las biopsias de protocolo precoces es la presencia de inflamación de la microcirculación (glomerulitis y capilaritis peritubular) asociada en alrededor del 50% de los casos a depósitos de C4d en los capilares peritubulares. Las biopsias realizadas al año del trasplante muestran la persistencia de inflamación de la microcirculación, la aparición de glomerulopatía del trasplante y una aceleración en la progresión de la vasculopatía del injerto^{15,36-38}. La presencia de depósitos de C4d es variable entre los distintos estudios: 57% en las 157 biopsias realizadas a los 3 y 12 meses en 80 pacientes por parte del grupo de París³⁶ y entre el 20-30% en las 200 biopsias realizadas a 50 pacientes con prueba cruzada positiva sometidos a tratamiento desensibilizador por el grupo de Baltimore^{39,40}. En los pacientes sometidos a tratamiento desensibilizador se ha mostrado que, en las biopsias tomadas tras la reperfusión del injerto, la presencia de depósitos de C4d en los capilares peritubulares es el mejor predictor del posterior desarrollo de rechazo mediado por anticuerpos⁴¹. A pesar de que la inflamación de la microcirculación muestra una mejor asociación con la presencia de ADE y el posterior desarrollo de glomerulopatía del trasplante que los depósitos de C4d³⁶, no debe obviarse que la presencia de C4d como marcador de activación del complemento se ha mostrado como una variable altamente específica del fracaso tardío del injerto en biopsias por indicación⁴².

Los trabajos del grupo de París⁴³ llevados a cabo durante los últimos años han mostrado que la presencia de ADE en el momento de realizar la biopsia de protocolo al año del trasplante se asocia con una peor supervivencia del injerto a 9 años, 90% en los pacientes sin rechazo en la biopsia (n = 727) y 56% en los pacientes con rechazo subclínico mediado por anticuerpos (n = 142). La mayor parte de pacientes con rechazo subclínico mediado por anticuerpos

presentaban ADE preformados y una pequeña proporción, ADE *de novo* (111 frente a 31). En esta serie, los pacientes con rechazo subclínico mediado por células T ($n = 132$) presentan una supervivencia similar a los pacientes sin rechazo (88%). Cabe destacar que los pacientes con rechazo subclínico mediado por anticuerpos y rechazo subclínico mediado por células T presentan una mayor tendencia a desarrollar glomerulopatía del trasplante a largo plazo que los pacientes con una biopsia sin rechazo (54, 22 y 12%, respectivamente). Los pacientes con rechazo subclínico mediado por células T que desarrollarán glomerulopatía del trasplante son aquellos que presentan ADE *de novo* en el momento de la biopsia (17 de 132).

Biopsias de protocolo en trasplante ABO incompatible.

La práctica del trasplante de donante vivo ABO incompatible tras completar tratamiento desensibilizador se introdujo hace unas cuantas décadas en Japón. Durante los últimos años, este tipo de trasplante se ha extendido a los países occidentales y hoy en día diversas unidades de nuestro país realizan este tipo de trasplante, aunque la implantación del programa nacional de trasplante renal cruzado ha frenado su expansión. Según datos de la ONT, en 2011, el 4,3% de los trasplantes de donante vivo (13 de 312) fueron ABO incompatibles y el 2,2% (7 de 312) fueron cruzados; en cambio, en 2014, el 10,4% fueron cruzados (44 de 423), mientras que el 4,4% fueron ABO incompatibles (19 de 423).

Las experiencias llevadas a cabo en diversos centros muestran que los pacientes que reciben injertos ABO incompatibles presentan con elevada frecuencia ($> 80\%$) depósitos de C4d en los capilares peritubulares sin cambios asociados de rechazo mediado por anticuerpos. Cabe destacar que en las series publicadas, a pesar de que el tratamiento es más intensivo que en los pacientes que reciben injertos ABO compatibles, la presencia de rechazo subclínico mediado por células T es más elevada⁴⁴⁻⁴⁷.

TRATAMIENTO DEL RECHAZO SUBCLÍNICO

Durante la década de los noventa, la introducción del diagnóstico de rechazo subclínico y sus potenciales efectos deletéreos a largo plazo condujo a que se realizara el primer

ensayo clínico, prospectivo y aleatorizado para evaluar si el diagnóstico y tratamiento del rechazo subclínico durante los primeros meses postrasplante contribuía a disminuir la progresión de las lesiones crónicas y la disfunción del injerto. Un grupo de 36 pacientes aleatorizados a ser biopsiados a los 0, 1, 2, 3 y 6 meses postrasplante y a recibir tratamiento con pulsos de corticoides si presentaban rechazo subclínico se comparó con un grupo de 36 pacientes al que solo se biopsió a los 0 y a los 6 meses. Los pacientes del grupo experimental presentaron una menor progresión de las lesiones crónicas en la biopsia a los 6 meses y una mejor función renal a los 2 años⁴⁸. En este estudio, los pacientes recibieron tratamiento de mantenimiento con ciclosporina, azatioprina y corticoides, y la prevalencia de rechazo subclínico fue superior al 30% durante los primeros meses. Posteriormente, el mismo grupo lideró un ensayo clínico similar en pacientes tratados con tacrolimus, MMF y corticoides. En este caso, un grupo de 121 pacientes fue aleatorizado a biopsia a los 0, 1, 2, 3 y 6 meses y recibió tratamiento con pulsos de corticoides si presentaban rechazo subclínico, y se comparó con un grupo de 119 pacientes biopsiados a los 0 y 6 meses. En este estudio, la prevalencia de rechazo subclínico en el grupo experimental fue muy baja (4,6%) y no se pudo demostrar ningún beneficio a los 6 meses en la biopsia renal ni en la función renal en el grupo experimental⁴⁹. Posteriormente, se publicaron los resultados de otro ensayo clínico en el que 52 pacientes fueron aleatorizados a ser biopsiados al mes y a los 3 meses, y 50 pacientes actuaron como grupo control⁵⁰. En este estudio, los pacientes recibieron tratamiento de mantenimiento con ciclosporina asociada a MMF o azatioprina y, por lo tanto, la prevalencia de rechazo subclínico fue más elevada (cambios *borderline* = 11,5 y 14% y rechazo subclínico = 17,3 y 12%, al mes y a los 3 meses, respectivamente). En este ensayo clínico, el tratamiento con pulsos de corticoides a los pacientes con rechazo subclínico y el ajuste de los niveles de ciclosporina a los pacientes con cambios *borderline* se asociaron a una mejor función renal a los 12 meses (creatinina sérica = $1,20 \pm 0,33$ frente a $1,52 \pm 0,41$ mg/dl).

Algunos autores han sugerido que la monitorización del injerto durante los primeros meses postrasplante para detectar o descartar la presencia de rechazo subclínico puede contribuir a individualizar el manejo de los pacientes. Así, a los pacientes a los que se diagnostica y trata de episodios

de rechazo subclínico, habría que monitorizarlos con biopsias más seguidas y, en cambio, los pacientes con biopsias sin rechazo se podrían beneficiar de reducciones de la inmunosupresión realizando biopsias más espaciadamente⁵¹. Parece evidente que para incluir estos conceptos en la práctica clínica harían falta ensayos clínicos de difícil diseño.

Existe consenso en la literatura en que el rechazo subclínico mediado por anticuerpos se asocia a un efecto deletéreo sobre la supervivencia del injerto. Sin embargo, hasta la actualidad no se han publicado resultados de ensayos clínicos prospectivos y aleatorizados para evaluar los potenciales beneficios de su tratamiento. Los tratamientos disponibles hasta la actualidad para el rechazo agudo mediado por anticuerpos o para desensibilizar a los pacientes con anticuerpos preformados (eliminación de anticuerpos mediante plasmaféresis o inmunoadsorción, inmunoglobulinas intravenosas, anticuerpos antilinfocitos B, inhibidores del proteasoma como el bortezomib o inhibidores del complemento como el eculizumab) no han sido testados en ensayos clínicos. En la página web clinical.trials.gov consta registrado el ensayo clínico titulado «Eculizumab therapy for subclinical antibody-mediated rejection in kidney transplantation (TAMARCIN)» (NCT02113891), que fue finalizado antes de iniciar el reclutamiento. Por lo tanto, dado que muchos pacientes con ADE, especialmente con anticuerpos anti-HLA de clase II, van a desarrollar rechazo crónico activo mediado por anticuerpos, parece lógico intentar pautas de tratamiento para eliminar dichos anticuerpos y mejorar la supervivencia del injerto⁴⁰. Sin embargo, las combinaciones de tratamiento y el momento de su instauración están todavía por definir.

MONITORIZACIÓN HISTOLÓGICA DEL RECHAZO AGUDO

La presencia de episodios de rechazo celular o humoral agudo se asocia a una peor supervivencia del injerto. Tras completar el tratamiento se evalúa la respuesta clínica mediante la evolución de la función renal. Pocos trabajos han evaluado si, tras el tratamiento, se produce una normalización de la histología del injerto. En un estudio que incluyó casi 800 trasplantes de bajo riesgo inmunológico y en el que

el 15% de los pacientes presentaron episodios de rechazo celular agudo clínico o subclínico durante el primer año, se objetivó que la presencia de inflamación con fibrosis en la biopsia de protocolo al año (22 frente a 6%), la presencia de glomerulopatía del trasplante (8 frente a 1%) y el desarrollo de ADE de clase II *de novo* (21 frente a 11%) eran más frecuentes en los pacientes con episodios de rechazo celular agudo que en los que no los habían presentado⁵². Este patrón de inflamación con fibrosis se ha asociado, en diversos estudios, con una peor supervivencia del injerto^{20,24}, aunque no disponemos de estudios para evaluar si los cambios en la inmunosupresión pueden modificarlo.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y CAMBIOS EN LA INMUNOSUPRESIÓN

A lo largo del seguimiento tras el trasplante renal se plantea la necesidad de realizar cambios en el tratamiento inmunosupresor, bien por la aparición de nuevas patologías (neoplasias, infecciones virales) o para disminuir la toxicidad de los fármacos administrados en la prevención del rechazo agudo (corticoides, anticalcineurínicos).

Suspensión de los corticoides

Existen en la literatura múltiples ensayos clínicos y metaanálisis que demuestran que la suspensión de los corticoides con las terapias actuales es segura y, aunque se acompaña de un pequeño aumento de los episodios de rechazo agudo, no parece modificar la supervivencia del injerto a medio plazo⁵³. Hasta la actualidad, en un estudio de reducido tamaño muestral (n = 5), se mostró que en los pacientes sin inflamación en la biopsia de protocolo al año, se pueden retirar los esteroides con seguridad⁵⁴. En la actualidad, en nuestro país, se está llevando a cabo un ensayo clínico para evaluar si en los pacientes sin rechazo subclínico en la biopsia de protocolo, a los 3 meses, se pueden retirar los corticoides de forma segura, con la monitorización de la aparición de ADE *de novo* y la evaluación del injerto con una nueva biopsia de protocolo a los 24 meses («Steroid withdrawal and donor-specific anti-HLA antibodies in renal transplant patients»; NCT02284464).

Suspensión de los anticalcineurínicos

Los anticalcineurínicos, la ciclosporina y el tacrolimus, forman parte del tratamiento de mantenimiento de la mayor parte de injertos renales. Aunque su toxicidad, especialmente su nefrotoxicidad, ha sido ampliamente revisada en la literatura, existen pocos ensayos clínicos que hayan conseguido eliminarlos con éxito dada la elevada prevalencia de episodios de rechazo agudo. Recientemente, se han publicado los resultados de un ensayo clínico en el que receptores de bajo riesgo (donante vivo, ADE negativos pretrasplante) fueron aleatorizados a suspender tacrolimus a los 6 meses del trasplante tras objetivar que en la biopsia de protocolo no había inflamación y los ADE persistían negativos⁵⁵. El ensayo finalizó prematuramente, ya que en la rama experimental se observó una elevada incidencia de rechazo agudo (4 de 14) y de aparición de ADE *de novo* (5 de 14). Previamente se habían publicado resultados similares en un grupo de pacientes que presentaban signos histológicos de nefrotoxicidad y en los que se suspendió la ciclosporina al año del trasplante⁵⁴. Sin embargo, en otro estudio prospectivo, 108 pacientes que recibieron tratamiento con ciclosporina, MMF y corticoides fueron aleatorizados a los 3 meses del trasplante, tras realizar una biopsia de protocolo, a eliminar la ciclosporina o el MMF⁵⁶. Tras la eliminación de la ciclosporina, la aparición de episodios de rechazo agudo fue mayor que tras la suspensión del MMF (22 frente a 5%) y el porcentaje de biopsias al año con depósitos de C4d también fue mayor.

Tomados en su conjunto, estos datos sugieren que la suspensión de los anticalcineurínicos durante el primer año en injertos renales inmunológicamente quiescentes no es segura.

Cambio de anticalcineurínicos por inhibidores de la m-TOR

Existen en la literatura múltiples ensayos clínicos que han evaluado la utilidad de los im-TOR como inmunosupresores en la pauta de mantenimiento de los pacientes trasplantados renales libres de anticalcineurínicos. Se han desarrollado diversas estrategias a lo largo de los años: im-TOR *de novo* sin anticalcineurínicos, con anti-

calcineurínicos *de novo* y suspensión de estos precozmente (entre 3 y 6 meses) o conversiones precoces de anticalcineurínicos a im-TOR. En dos ensayos clínicos recientes que han utilizado la biopsia de protocolo antes y después del cambio de tratamiento, uno con sirolimus y otro con everolimus, se muestra que la conversión precoz (entre 1 y 3 meses) se acompaña de más episodios de rechazo agudo y no disminuye la progresión de la FI/AT en los injertos que no han presentado episodios de rechazo agudo^{57,58}. No se ha evaluado si los hallazgos histológicos en la biopsia preconversión permiten discriminar a los pacientes con mayor riesgo de desarrollar episodios de rechazo agudo posteriormente.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y RECIDIVA DE LA ENFERMEDAD DE BASE

La recidiva de la enfermedad de base es una de las causas que también contribuyen al fracaso del injerto. Se han realizado diversos estudios que muestran que la recidiva de la patología de base se puede diagnosticar mediante biopsias de protocolo. En una serie de 65 pacientes con nefropatía por inmunoglobulina A (IgA) de base, en la que se disponía de una biopsia de protocolo durante los primeros 2 años, se demostró que la nefropatía IgA recurre de forma subclínica en el 32% de los casos⁵⁹. La recurrencia es menor en los pacientes que reciben un injerto con dos compatibilidades en el *locus* DR y en los pacientes tratados con ciclosporina. Dado que la tasa de pérdida del injerto por esta causa es muy baja (3%), no se ha podido evaluar si distintas pautas de tratamiento en los pacientes con recurrencia mejoran la supervivencia.

La glomerulonefritis membranosa recurre en el 42% de los injertos⁶⁰. La biopsia de protocolo permite un diagnóstico precoz y la instauración de un tratamiento específico (rituximab), con los que se alcanza la remisión completa o parcial en el 75% de los casos. Los autores sugieren que es necesario realizar un ensayo clínico para evaluar si esta terapia es superior al tratamiento estándar. De todas formas, durante los últimos años, disponemos de nuevas herramientas para evaluar la actividad de la nefropatía membranosa, como la cuantificación de los anticuerpos frente al receptor de la fosfolipasa A2. Son necesarios nuevos

estudios para evaluar qué pueden aportar ambas herramientas en la monitorización de la recidiva de esta enfermedad postrasplante y tomar decisiones sobre su tratamiento precoz.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y NEFROPATÍA POR EL VIRUS DEL POLIOMA BK

Desde su descripción hace más de una década, la nefropatía por el virus del poliovirus BK afecta entre el 2 y el 10% de los injertos en función de las características de los donantes y de los receptores, y de la pauta de tratamiento inmunosupresor. Esta nefropatía se ha asociado con el tratamiento con anticuerpos antilinfocitarios, tacrolimus, MMF y corticoides, que son ampliamente utilizados en la actualidad. Desde hace unos años, disponemos de herramientas no invasivas, como la monitorización de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) del virus en sangre, que muestra una estrecha correlación con la presencia de nefropatía. En una serie de más de 600 pacientes⁶¹ con monitorización de la viremia por BK y biopsias de protocolo o diagnósticas (93% de los casos), no se observó ningún caso de nefropatía BK en los pacientes sin viremia a lo largo del seguimiento (n = 446) o con viremias inferiores a 10.000 copias/ml (n = 88). En cambio, de los 75 pacientes con viremias BK > 10.000 copias/ml, solo en 8 casos (1,3% del total de la serie) se demostró nefropatía BK en la biopsia de protocolo y la presencia de una viremia > 185.000 copias/ml presentó una elevada sensibilidad (75%) y especificidad (95%) para el diagnóstico de nefropatía BK. Es decir, la monitorización de la viremia permite conocer de forma bastante precisa qué pacientes pueden presentar nefropatía BK y realizar los tratamientos más adecuados para controlar la infección. En aquellos pacientes con viremias intermedias, la realización de una biopsia de protocolo puede contribuir a mejorar su tratamiento.

BIOPSIAS DE PROTOCOLO Y CONTROL DE LA PROGRESIÓN DE LA FIBROSIS

En la disfunción crónica del injerto, se observa una fibrosis intersticial progresiva con expansión del intersticio re-

nal, que se puede cuantificar como la fracción de volumen intersticial cortical renal mediante técnicas de morfometría o análisis de imágenes. En la nefropatía diabética se ha demostrado que el tratamiento con inhibidores de la enzima de conversión contribuye a frenar la progresión de la fibrosis. En cambio, aproximaciones similares han sido poco frecuentes en el campo del trasplante renal. En un ensayo clínico prospectivo 153 pacientes fueron aleatorizados para determinar si el tratamiento con losartán de 100 mg/día contribuye a reducir la progresión de la FI/AT⁶², para lo que se evaluó la fracción de volumen intersticial cortical renal en la biopsia basal y a los 5 años. Aunque el objetivo primario (doblar la fracción de volumen intersticial o fracaso del injerto por FI/AT) no alcanzó significación estadística, uno de los objetivos secundarios (doblar la fracción de volumen intersticial o fracaso del injerto por cualquier causa) mostró que el tratamiento con losartán puede contribuir a frenar la progresión de la fibrosis en el trasplante renal. Dado que la progresión de la fibrosis fue menor de la esperada, tal como han mostrado otros estudios³³, el ensayo clínico no disponía de suficiente potencia estadística para evaluar los potenciales beneficios de la intervención.

CONCLUSIONES

Durante las últimas décadas, muchos grupos han introducido la monitorización histológica con biopsias de protocolo realizadas en injertos renales estables en el seguimiento de los pacientes trasplantados renales. Dado que el procedimiento es seguro y de bajo coste, puede contribuir a un mejor manejo de los pacientes. Sin embargo, las evidencias existentes hoy en día no permiten en muchas ocasiones una toma de decisiones en función de los hallazgos histológicos. Dada la baja prevalencia de rechazo subclínico en los pacientes de bajo riesgo inmunológico tratados con tacrolimus y MMF, la realización de las biopsias solo puede contribuir de forma marginal a mejorar el pronóstico del injerto. No obstante, en aquellos casos en que se requiera modificar o minimizar el tratamiento inmunosupresor, la biopsia de protocolo puede contribuir a un mejor manejo de los pacientes. En los pacientes de alto riesgo inmunológico, la realización de las biopsias de protocolo permite caracterizar la presencia y evolución del rechazo

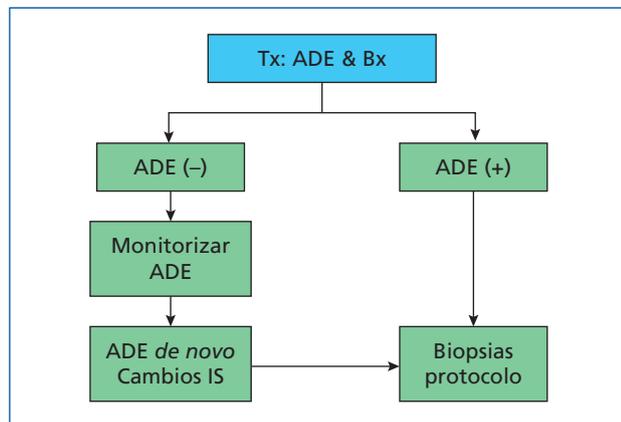


Figura 1. Monitorización inmunológica e histológica de los pacientes trasplantados renales. En el momento del trasplante, se recomienda realizar una determinación de anticuerpos anti-HLA y una biopsia preimplante. En los pacientes sin anticuerpos donante específicos, la monitorización de los mismos puede ser suficiente y solo recomendamos la realización de una biopsia en los pacientes que presenten ADE *de novo* o antes de realizar cambios sustanciales en la inmunosupresión. En los pacientes con anticuerpos donante específicos, la monitorización histológica contribuirá a instaurar los tratamientos específicos necesarios. ADE: anticuerpos donante específicos; Bx: biopsia; IS: inmunosupresión; Tx: trasplante.

subclínico mediado por anticuerpos y puede contribuir a la toma de decisiones para instaurar tratamientos específicos. Así pues, dada la utilidad de la monitorización inmunológica (anticuerpos anti-HLA) en el seguimiento de los pacientes, proponemos en la figura 1 un esquema de monitorización que combina la determinación de anticuerpos y la realización de biopsias.

En resumen, a la espera de nuevos biomarcadores en sangre u orina, la monitorización histológica contribuye a instaurar una inmunosupresión personalizada en los receptores de trasplante renal y es, sin lugar a dudas, una herramienta imprescindible en la investigación clínica^{14,15}.

RECOMENDACIONES DEL GRUPO

Recomendamos disponer de una biopsia preimplante para evaluar lesiones preexistentes, especialmente en donantes

con criterios expandidos (nivel de evidencia moderado). El índice propuesto por el grupo español basado en los criterios de Banff es una herramienta útil para evaluar las lesiones preexistentes, pero no se ha validado el umbral propuesto (descartar órganos con índice > 7).

No recomendamos la monitorización histológica en pacientes de bajo riesgo inmunológico tratados con pautas basadas en tacrolimus combinado con derivados del ácido micofenólico, ya que, hasta la actualidad, no se ha demostrado que aporte beneficios (nivel de evidencia alto).

Recomendamos la monitorización histológica en pacientes con anticuerpos donante específicos preformados (nivel de evidencia moderado), aunque se desconoce si puede contribuir a mejorar el pronóstico del injerto a largo plazo.

Los potenciales beneficios del tratamiento de los episodios de rechazo celular o humoral subclínico no han sido bien establecidos.

Los cambios significativos en el tratamiento inmunosupresor, como la suspensión de los corticoides o el cambio de un anticalcineurínico por un inhibidor de la m-TOR, se asocian a un mayor riesgo de presentar episodios de rechazo agudo. La monitorización histológica antes de la modificación puede contribuir a individualizar el riesgo (nivel de evidencia bajo).

En algunas glomerulopatías primarias, como la nefropatía por IgA o la glomerulonefritis membranosa, la monitorización histológica permite diagnosticar la presencia de recidiva subclínica (nivel de evidencia alto). Sin embargo, su utilidad para instaurar tratamientos específicos no ha sido establecida.

No recomendamos la monitorización histológica para el diagnóstico precoz de la nefropatía por el virus del poliovirus BK, ya que la monitorización de la viremia es mucho más útil (nivel de evidencia alto).

La monitorización histológica sigue siendo una herramienta imprescindible en la investigación clínica en trasplante renal.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen conflictos de intereses potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int.* 1993;44:411-22.
- Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999;55:713-23.
- Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM, et al. Antibody-mediated rejection criteria - an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant.* 2003;36:708-14.
- Haas M, Sis B, Racusen LC, Solez K, Glotz D, Colvin RB, et al. Banff 2013 meeting report: inclusion of c4d-negative antibody-mediated rejection and antibody-associated arterial lesions. *Am J Transplant.* 2014;14: 272-83.
- Organización Nacional de Trasplantes [portal en Internet]. Madrid: Organización Nacional de Trasplantes. Disponible en: <http://www.ont.es/infesp/Paginas/Memorias.aspx>
- Tan JC, Workeneh B, Busque S, Blouch K, Derby G, Myers BD. Glomerular function, structure, and number in renal allografts from older deceased donors. *J Am Soc Nephrol.* 2009;20: 181-8.
- Anglicheau D, Loupy A, Lefaucheur C, Pessione F, Létourneau I, Côté I, et al. A simple clinic-histopathological composite scoring system is highly predictive of graft outcomes in marginal donors. *Am J Transplant.* 2008;8:2325-34.
- De Vusser K, Lerut E, Kuypers D, Vanrenterghem Y, Jochmans I, Monbaliu D, et al. The predictive value of kidney allograft baseline biopsies for long-term graft survival. *J Am Soc Nephrol.* 2013;24:1913-23.
- Munivenkatappa RB, Schweitzer EJ, Papadimitriou JC, Drachenberg CB, Thom KA, Perencevich EN, et al. The Maryland aggregate pathology index: a deceased donor kidney biopsy scoring system for predicting graft failure. *Am J Transplant.* 2008;8: 2316-24.
- Seron D, Anaya F, Marcén R, del Moral RG, Martul EV, Alarcón A, et al. Guidelines for indicating, obtaining, processing and evaluating kidney biopsies. *Nefrología.* 2008;28:385-96.
- Azancot MA, Moreso F, Salcedo M, Cantarell C, Perelló M, Torres IB, et al. The reproducibility and predictive value on outcome of renal biopsies from expanded criteria donors. *Kidney Int.* 2014;85:1161-8.
- Remuzzi G, Cravedi P, Perna A, Dimitrov BD, Turturro M, Locatelli G, et al. Long-term outcome of renal transplantation from older donors. *N Engl J Med.* 2006;354:343-52.
- Fernández-Lorente L, Riera L, Bestard O, Carrera M, Gomà M, Porta N, et al. Long-term results of biopsy-guided selection and allocation of kidneys from older donors in older recipients. *Am J Transplant.* 2012;12:2781-8.
- Seron D, Moreso F. Protocol biopsies in renal transplantation: Prognostic value of structural monitoring. *Kidney Int.* 2007;72: 690-7.
- Chapman JR. Do protocol transplant biopsies improve kidney transplant outcomes? *Curr Opin Nephrol Hyperten.* 2012;21:580-6.
- Arias M, Seron D, Moreso F, Bestard O, Praga M. Chronic Renal Allograft Damage: Existing Challenges. *Transplantation.* 2011;91 (9 Supl):S10-S15.
- Furness PN, Philpott CM, Chorbadian MT, Nicholson ML, Bosmans JL, Corthouts BL, et al. Protocol biopsy of the stable renal transplant: A multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation.* 2003;76:969-73.
- Torres-Rodríguez IB, Castella-Fierro E, Serres-Creixans X, Salcedo-Allende M, Azancot-Rivero MA, Perelló-Carrascosa M, et al. Seguridad y eficacia de la biopsia ambulatoria en trasplante renal. *Nefrología.* 2014;34:749-55.
- 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.
- Moreso F, Ibernon M, Gomà M, Carrera M, Fulladosa X, Hueso 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;6:747-52.
- Larson TS, Dean PG, Stegall MD, Griffin MD, Textor SC, Schwab TR, et al. Complete Avoidance of Calcineurin Inhibitors in Renal Transplantation: A Randomized Trial Comparing Sirolimus and Tacrolimus. *Am J Transplant.* 2006;6:514-22.
- Thierry A, Thervet E, Vuiblet V, Goujon JM, Machet MC, Noel LH, et al. Long-term impact of subclinical inflammation diagnosed by protocol biopsy one year after renal transplantation. *Am J Transplant.* 2011;11:2153-61.

23. Bestard O, Cruzado JM, Rama I, Torras J, Gomà M, Serón D, et al. Presence of FoxP3+ regulatory T cells predicts outcome of subclinical rejection of renal allografts. *J Am Soc Nephrol*. 2008;19:2020-6.
24. Heilman RL, Devarapalli Y, Chakkerla HA, Mekeel KL, Moss AA, Mulligan DC, et al. Impact of subclinical inflammation on the development of interstitial fibrosis and tubular atrophy in kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2010;10:563-70.
25. Mota A, Arias M, Taskinen EI, Paavonen T, Brault Y, Legendre C, et al. Sirolimus-based therapy following early cyclosporine withdrawal provides significantly improved renal histology and function at 3 years. *Am J Transplant*. 2004;4:953-61.
26. Flechner SM, Kurian SM, Solez K, Cook DJ, Burke JT, Rollin H, et al. De novo kidney transplantation without use of calcineurin inhibitors preserves renal structure and function at two years. *Am J Transplant*. 2004;4:1776-85.
27. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A, Wekerle T, Nashan B, Blancho G, et al. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Eng J Med*. 2005;335:770-81.
28. Rowsahni AT, Scholten EM, Bemelman F, Eikmans M, Idu M, Roos-van Groningen MC, et al. No Difference in Degree of Interstitial Sirius Red-Stained Area in Serial Biopsies from Area under Concentration-over-Time Curves-Guided Cyclosporine versus Tacrolimus-Treated Renal Transplant Recipients at One Year. *J Am Soc Nephrol*. 2006;17:305-12.
29. Naesens M, Lerut E, Damme BV, Vanrenterghem Y, Kuypers DR. Tacrolimus exposure and evolution of renal allograft histology in the first year after transplantation. *Am J Transplant*. 2007;7:2114-23.
30. Anil Kumar MS, Irfan Saeed M, Ranganna K, Malat G, Sustento-Reodica N, Kumar AM, et al. Comparison of four different immunosuppression protocols without long-term steroid therapy in kidney recipients monitored by surveillance biopsy: five-year outcomes. *Transpl Immunol*. 2008;20:32-42.
31. Gelens MA, Steegh FM, van Hooff JP, van Suylen RJ, Nieman FH, van Heurn LW, et al. Immunosuppressive regimen and interstitial fibrosis and tubules atrophy at 12 months postrenal transplant. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7:1010-7.
32. Snanoudj R, Royal V, Elie C, Rabant M, Girardin C, Morelon E, et al. Specificity of histological markers of long-term CNI nephrotoxicity in kidney-transplant recipients under low-dose cyclosporine therapy. *Am J Transplant*. 2011;11:2635-46.
33. Stegall MD, Park WD, Larson TS, Gloor JM, Cornell LD, Sethi S, et al. The histology of solitary renal allografts at 1 and 5 years after transplantation. *Am J Transplant*. 2011;11:698-707.
34. Wiebe C, Gibson IW, Blydt-Hansen TD, Karpinski M, Ho J, Storsley LJ, et al. Evolution and clinical pathologic correlations of de novo donor-specific HLA antibody post kidney transplant. *Am J Transplant*. 2012;12:1157-67.
35. Moreso F, Carrera M, Gomà M, Hueso M, Sellares J, Martorell J, et al. Early subclinical rejection as a risk factor for late chronic humoral rejection. *Transplantation*. 2012;93:41-6.
36. Loupy A, Hill GS, Suberbielle C, Charron D, Anglicheau D, Zuber J, et al. Significance of C4d Banff scores in early protocol biopsies of kidney transplant recipients with preformed donor-specific antibodies (DSA). *Am J Transplant*. 2011;11:56-65.
37. Hill GS, Nochy D, Bruneval P, Duong van Huyen JP, Glotz D, Suberbielle C, et al. Donor-specific antibodies accelerate arteriosclerosis after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22:975-83.
38. Gloor JM, Sethi S, Stegall MD, Park WD, Moore SB, DeGoey S, et al. Transplant glomerulopathy: subclinical incidence and association with alloantibody. *Am J Transplant*. 2007;7:2124-32.
39. Haas M, Montgomery RA, Segev DL, Rahman MH, Racusen LC, Bagnasco SM, et al. Subclinical Acute Antibody-Mediated Rejection in Positive Crossmatch Renal Allografts. *Am J Transplant*. 2006;6:1-10.
40. Kraus ES, Parekh RS, Oberai P, Lepley D, Segev DL, Bagnasco S, et al. Subclinical Rejection in Stable Positive Crossmatch Kidney Transplant Patients: Incidence and Correlations. *Am J Transplant*. 2009;9:1826-34.
41. Djmalali A, Muth BL, Ellis TM, Mohamed M, Fernandez LA, Miller KM, et al. Increased C4d in post-reperfusion biopsies and increased donor specific antibodies at one-week post transplant are risk factors for acute rejection in mild to moderately sensitized kidney transplant recipients. *Kidney Int*. 2013;83:1185-92.
42. Kikić Ž, Kainz A, Kozakowski N, Oberbauer R, Regele H, Bond G, et al. Capillary C4d and Kidney Allograft Outcome in Relation to Morphologic Lesions Suggestive of Antibody-Mediated Rejection. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2015;10: 1435-43.
43. Loupy A, Vernerey D, Tinel C, Aubert O, Duong van Huyen JP, Rabant M, et al. Subclinical rejection phenotypes at 1 year post-transplant and outcome of kidney allografts. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:1721-31.
44. Gloor JM, Cosio FG, Rea DJ, Wadei HM, Winters JL, Moore SB, et al. Histologic findings one year after positive crossmatch or ABO blood group incompatible living donor kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2006;6:1841-7.
45. Haas M, Rahman MH, Racusen LC, Kraus ES, Bagnasco SM, Segev DL, et al. C4d and C3d staining in biopsies of ABO- and HLA-

- incompatible renal allografts: correlation with histologic findings. *Am J Transplant*. 2006;6:1829-40.
46. Setoguchi K, Ishida H, Shimmura H, Shimizu T, Shirakawa H, Omoto K, et al. Analysis of renal transplant protocol biopsies in ABO-incompatible kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2008;8:86-94.
 47. Oettl T, Halter J, Bachmann A, Guerke L, Infanti L, Oertli D, et al. ABO blood group-incompatible living donor kidney transplantation: a prospective, single-centre analysis including serial protocol biopsies. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24:298-303.
 48. Rush D, Nickerson P, Gough J, McKenna R, Grimm P, Cheang M, et al. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9:2129-34.
 49. Rush D, Arlen D, Boucher A, Busque S, Cockfield SM, Girardin C, et al. Lack of benefit of early protocol biopsies in renal transplant patients receiving TAC and MMF: a randomized study. *Am J Transplant*. 2007;7:2538-45.
 50. Kurtkoti J, Sakhuja V, Sud K, Minz M, Nada R, Kohli HS, 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.
 51. Buchmann TN, Wolff T, Bachmann A, Guerke L, Steiger J, Mihatsch MJ, et al. Repeat true surveillance biopsies in kidney transplantation. *Transplantation*. 2012;93:908-13.
 52. El Ters M, Grande JP, Keddiss MT, Rodrigo E, Chopra B, Dean PG, et al. Kidney allograft survival after acute rejection: the value of follow-up biopsies. *Am J Transplant*. 2013;13:2334-41.
 53. Pascual J. Steroid avoidance or withdrawal in kidney transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2011;16:600-5.
 54. Gotti E, Perico N, Perna A, Gaspari F, Cattaneo D, Caruso R, et al. Renal transplantation: can we reduce calcineurin inhibitor/stop steroids? Evidence based on protocol biopsy findings. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14:755-66.
 55. Hricik DE, Formica RN, Nickerson P, Rush D, Fairchild RL, Poggio ED, et al. Adverse Outcomes of Tacrolimus Withdrawal in Immune-Quiescent Kidney Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol*. 2015;26:3114-22.
 56. Hazzan M, Buob D, Labalette M, Provot F, Glowacki F, Hoffmann M, et al. Assessment of the risk of chronic allograft dysfunction after renal transplantation in a randomized cyclosporine withdrawal trial. *Transplantation*. 2006;82:657-62.
 57. Heilman RL, Cortese C, Geiger XJ, Younan K, Wadei HM, Mai ML, et al. Impact of early conversion from tacrolimus to sirolimus on chronic allograft changes in kidney recipients on rapid steroid withdrawal. *Transplantation*. 2012;93:47-53.
 58. Rostaing L, Hertig A, Albano L, Anglicheau D, Durrbach A, Vuiblet V, et al. Fibrosis progression according to epithelial-mesenchymal transition profile: a randomized trial of everolimus versus CsA. *Am J Transplant*. 2015;15:1303-12.
 59. Ortiz F, Gelpi R, Koskinen P, Manonelles A, Räisänen-Sokolowski A, Carrera M, et al. IgA nephropathy recurs early in the graft when assessed by protocol biopsy. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27:2553-8.
 60. El Zoghby ZM, Grande JP, Fraile MG, Norby SM, Fervenza FC, Cosio FG. Recurrent idiopathic membranous nephropathy: early diagnosis by protocol biopsies and treatment with anti-CD20 monoclonal antibodies. *Am J Transplant*. 2009;9:2800-7.
 61. Elfadawy N, Flechner SM, Liu X, Schold J, Tian D, Srinivas TR, et al. The impact of surveillance and rapid reduction in immunosuppression to control BK virus-related graft injury in kidney transplantation. *Transpl Int*. 2013;26:822-32.
 62. Ibrahim HN, Jackson S, Connaire J, Matas A, Ney A, Najafian B, et al. Angiotensin II blockade in kidney transplant recipients. *J Am Soc Nephrol*. 2013;24:320-7.