

LA BIOPSIA RENAL EN DISFUNCIÓN AGUDA DEL INJERTO

DR. GONZALO MÉNDEZ OLIVERI

Profesor Asistente, Escuela de Medicina
Pontificia Universidad Católica de Chile.
Anatomopatólogo - Patólogo Renal
Clínica Inmunocel

RENAL BIOPSY IN ACUTE GRAFT DYSFUNCTION

Abstract

The diagnosis of acute renal graft dysfunction is discussed, highlighting renal biopsy and molecular testing as essential. Although classical biopsies are the gold standard, the importance of a thorough histological analysis, including electron microscopy, which can provide valuable diagnostic and prognostic data, is emphasized. The need to send adequate samples to the pathologist to improve the detection of rejection and the importance of a clinical-pathological correlation are highlighted. In addition, techniques such as immunohistochemistry to identify rejection components and viruses, as well as markers to evaluate the presence of immune cells, are described. In summary, the work advocates a multidisciplinary approach and the use of advanced techniques to adequately diagnose renal graft dysfunction.

Keywords: Pathologists; Biopsy; Immunohistochemistry; Microscopy. Electron; Molecular Diagnostic Techniques; Viruses.

Resumen

Se analiza el diagnóstico de la disfunción aguda del injerto renal, destacando la biopsia renal y las pruebas moleculares como fundamentales. Aunque las biopsias clásicas son el *gold standard*, se enfatiza la importancia de un análisis histológico exhaustivo, incluyendo la microscopía electrónica, que puede aportar datos diagnósticos y pronósticos valiosos. Se resalta la necesidad de enviar muestras adecuadas al patólogo para mejorar la detección de rechazo y la importancia de un correlato clínico-patológico. Además, se describen técnicas como la inmunohistoquímica para identificar componentes de rechazo y virus, así como marcadores para evaluar la presencia de células inmunitarias. En resumen, el trabajo aboga por un en-

foque multidisciplinario y el uso de técnicas avanzadas para diagnosticar adecuadamente la disfunción del injerto renal.

Palabras clave: Patólogos; Biopsia; inmunohistoquímica, Microscopia electronica; Técnicas diagnósticas moleculares; virus.

La utilidad de la biopsia renal (Bx) en trasplantados renales va más allá del diagnóstico de la causa de la falla renal aguda (AKI), ya que además entrega pronóstico y orientaciones terapias. Permite predecir respuestas al tratamiento, y las clasificaciones de los rechazos

El diagnóstico de la disfunción aguda del injerto involucra, necesariamente, los aspectos clínicos y exámenes complementarios y, además, de la biopsia renal y ahora los exámenes moleculares están tomando, digamos, importancia desde hace 10 años al menos. En las clasificaciones Banff está incorporada⁽¹⁾.

Lamentablemente, esta última técnica todavía está lejos de nuestra realidad, pero la Bx con las tres técnicas clásicas, es el *gold standard* para el diagnóstico de la causa de una falla renal en un trasplante (Tx), si se asocia al estudio serológico señalados por la Dra. Rocca.

Un análisis histológico exhaustivo de todos los compartimientos del riñón, principalmente, donde ocurre el rechazo: túbulo - intersticio y, además, los compartimientos glomerular y vascular con microscopia óptica usando todas sus técnicas de tinciones y las complementarias de inmunofluorescencia (IF) y de microscopia electrónica (ME). Siempre se debate si es recomendable hacer ME en las Bx, en mi opinión si en la mayoría de los casos, pese a que solo corrobora hallazgos del examen microscópico. Sin embargo, la ME en un porcentaje importante aporta nuevos datos al diagnóstico, y sobre todo puede aportar datos pronósticos a nivel de ultraestructura que todavía no son evidentes en el examen histológico.

Ojalá siempre se envíen al patólogo dos cordones de tejido que tengan corteza renal y glomérulos, con lo cual aumenta el rendimiento sobre el 95% para la pesquisa de rechazo, ya que estos suelen no dar lesiones difusas si no parcelares. Los "parches" linfocitarios y mononucleares pueden estar en una zona y no en otra. Debe haber al menos 7 glomérulos, pero idealmente 10, además, de dos ramas arteriales identificables para la pesquisa de componentes de rechazo vascular. Además, es importante tener médula porque la infección por virus BK es ascendente e, inicialmente, estará a nivel medular y no cortical.

Siempre la Bx en Tx es una biopsia especial y requiere estar concentrada o en centros donde se disponga de las técnicas del personal especializado, profesional, técnico, incluso administrativo, para el manejo de este tipo de biopsia. Requiere un centro que proporcione todos los elementos técnicos y de personal para que se haga cargo. Ver

una Bx en forma parcelar solo en base a microscopia óptica, a veces carente de estudio inmunohistoquímico da una idea muy limitada del diagnóstico. En Chile disponemos de ME, ciertamente limitada, solo un centro en Santiago, y otro en Valdivia, con turnos para su uso lo que genera tiempos de espera mayores que los deseados.

El correlato clínico patológico es muy importante. La morfología da diagnóstico, pero necesita un intenso correlato del examen de laboratorio y de los antecedentes que proporcione el clínico. Los hallazgos que podemos esperar o presumir dependiendo del período postrasplante son distintos, algunos se superponen, pero el patólogo ya tiene una idea dependiendo de ese dato.

Las técnicas de la Bx, al igual que la Bx de riñón nativo, son tinciones corrientes con hematoxilina-eosina, PAS, Plata-Metenamina, Tricrómico más tinciones histoquímicas que permiten ver la arquitectura túbulo intersticial más otras técnicas en casos especiales: Rojo de Congo, von Kossa, Alizarin Red. Así, en casos con sospecha de tubulopatías podemos encontrar calcificaciones por depósitos de fosfatos u oxalatos, las que pueden aparecer relativamente temprano en un Tx. Las tinciones inmunohistoquímicas para pesquisar de un posible componente de rechazo humoral o demostrar infección por Virus BK y permiten ver la arquitectura intersticial, glomerular y vascular de mejor manera.

Es, así como la inmunohistoquímica en parafina es un estándar en Bx de Tx, en particular C4d que permiten demostrar componente humoral de un rechazo, SV40-T para el diagnóstico de infección por virus BK. También podemos diagnosticar citomegalovirus (CMV), Adenovirus con el ME, que permite la identificación de virus; pero la inmunohistoquímica es más rápida y, por otro lado, nefropatía por IgG4. Además, podemos demostrar virus Epstein Barr (EB) mediante hibridación *in situ*, en trastornos linfoproliferativos asociado a Tx. La determinación de CD3 y CD20 permite evaluar la presencia y el tipo de células inmunes en el tejido renal. Ellas son marcadores de superficie celular que se utilizan para identificar diferentes tipos de células inmunes: CD3: es un marcador de células T, rechazo celular, y CD20 de células B rechazo por anticuerpos. La presencia de CD 138 indica infiltración por células plasmáticas. Las hibridaciones *in situ* para virus Epstein Barr también es otra técnica que se debe disponer en la eventualidad de que exista un síndrome linfoproliferativo como causa de falla renal en el trasplante.

Por otro lado, la inmunofluorescencia es imprescindible sobre todo para la pesquisa de reproducción de glomerulopatía o enfermedad de novo en el injerto.

La ME es fundamental para pesquisar elementos de daño endotelial, eventualmente, subclínico o elementos de daño endotelial, especialmente, en formas tempranas de rechazo por anticuerpos no HLA. Los rechazos tempranos subclínicos pueden mostrar alteraciones a nivel de capilares intersticiales que jamás las veríamos en la microscopia óptica, y solo la microscopia electrónica determina esos cambios. Además, toda enfermedad glomerular por reproducción de enfermedad o de novo, requiere también de examen de ME.

A continuación, pueden ver una clasificación simple de los presumibles hallazgos de la Bx dependiendo del período.

- I. Período inmediato postrasplante.
- II. Período precoz postrasplante (2 a 5 días).
- III. Período temprano postrasplante (6 a 60 días).
- IV. Disfunción tardía del trasplante (> 60 días):
 - a. Disfunción aguda.
 - b. Disfunción crónica.

I. Período inmediato postrasplante

- a. Daño tubular agudo - NTA isquémica.
- b. Catástrofe vascular (trombosis arterial o venosa).
- c. Uropatía obstructiva.
- d. Rechazo hiperagudo (anticuerpos preformados).

II. Período precoz postrasplante (2 a 5 días)

- a. Rechazo acelerado mediado por anticuerpos.
- b. Toxicidad por ciclosporina (CyA).
- c. Uropatía obstructiva - lesión quirúrgica (ruptura uréter parcial o total).
- d. Daño tubular agudo (NTA).
- e. Recurrencia de enfermedad (GSFS, microangiopatía trombótica, en especial asociada a alteraciones vía alterna del complemento).
- f. Daño tubular agudo asociado a estados hiperoxalúricos.
- g. Daño tubular agudo asociado a hipofosfatemia/hiperfosfaturia.

III. Período temprano postrasplante (6 a 60 días)

- a. Rechazo agudo, (50% de los casos) en general mediado por linfocitos T, pero también por anticuerpos.
- b. Toxicidad por CyA.
- c. Uropatía obstructiva.
- d. Azotemia pre renal.
- e. Infección por CMV – Virus BK -Adenovirus (raras tan precozmente).
- f. Recurrencia aguda de enfermedad.

IV. Disfunción tardía del trasplante (> 60 días):

a. Disfunción Aguda

- i. Causas prerrenales.
- ii. Toxicidad crónica por CyA. (ahora se sabe que mucho de los casos atribuidos a toxicidad por CyA corresponden a rechazo crónico por anticuerpo, pero existe el daño tardío por ciclosporina en cierto grupo de pacientes).
- iii. Rechazo agudo, por reducción dosis de inmunosupresores o mala adherencia a esta terapia.
- iv. Nefropatía por Virus BK -CMV-Adenovirus.
- v. Recurrencia de enfermedad.
- vi. Enfermedad de novo.
- vii. Uropatía obstructiva.

b. Disfunción Crónica Tardía

- i. Rechazo crónico (nefropatía crónica del trasplante).
- ii. Toxicidad crónica por ciclosporina.
- iii. Lesiones vasculares secundarias a hipertensión arterial (nefroesclerosis) o a rechazo crónico por anticuerpos con daño intenso ya en estructuras arteriales.
- iv. Enfermedad recurrente o de novo.

La clasificación de Banff es en el fondo la herramienta principal para la evaluación de la Bx.

Se estableció para estandarizar criterios de análisis histológico, permitiendo así comparaciones entre estudios de distintos centros⁽²⁾.

Con el tiempo se le han incorporado criterios serológicos y criterios de biología molecular en la última década que le dan fuerza entonces al correlato del diagnóstico del rechazo. (BANF molecular).

Los criterios de biología molecular no están desarrollados en nuestro país y, por lo tanto, dependemos de los hallazgos histológicos y de la serología.

En los últimos años, desde el año 2015 en adelante, la clasificación de BANF ha hecho algunos cambios dentro de los hallazgos de rechazo agudo en el injerto^(3,4).

Especial relevancia tiene las posibilidades de diagnóstico de rechazo humoral en ausencia de anticuerpos donante específico, si se encuentra inflamación microvascular.

A 30 años de la primera publicación del Banff, se busca estandarizar criterios para estudios prospectivos, para estandarizar los criterios de diagnóstico, sin embargo, siendo honestos, no todos los patólogos hacemos la *checklist* (lista de verificación) completa que sugiere los criterios de Banff, que incluyen todos los criterios a evaluar histológicamente para un rechazo. Eso es una tarea pendiente, disponer de esta estandarización y de la *checklist* para confrontarlo con las respuestas a tratamientos, con los tratamientos que se hicieron, con los pronósticos, o evoluciones.

No voy a ir al detalle, pero en lo general el criterio de rechazo celular son la existencia de un 25% de compromiso inflamatorio intersticial con extensión al epitelio del túbulo de células inflamatorias de cualquier estirpe, usualmente, linfocitaria y mononucleares. (tubulitis).

Para rechazo por anticuerpos el principal criterio es inflamación microvascular, capilaritis a nivel del glomérulo, capilaritis a nivel del intersticio, capilaritis peritubular y presencia de C4d y anticuerpos donante específicos (DSA).

Existen otros criterios para plantear rechazo humoral en la falla renal aguda, como es un componente de lesión microtrombótica en capilares intersticiales. En los casos de rechazos por anticuerpos muy tempranos, prácticamente, no se ve este tipo de lesión. La lesión arterial también tiene una categoría diagnóstica importante y se relaciona con rechazo por células T, pero a mayor intensidad de la lesión arterial, cuando es transmural de todo el perímetro del vaso, o francamente angeítica, con necrosis y destrucción de la pared, significa que se ha agregado un mecanismo humoral.

Otro problema es la lesión vascular aislada, como se ve en biopsias con solo una endotelitis aislada o una endarteritis, y no hay tubulitis ni inflamación intersticial. Se ha visto que las angieitis son parte de todos los rechazos, tanto los por células T como de los mediados por anticuerpos.

Tenemos un subgrupo de rechazo que no tienen lesión vascular, que son tanto celulares como humorales. Si la biopsia nos demuestra C4d, vamos a plantear un rechazo por anticuerpos. Eso es un cambio evolutivo dentro de la clasificación de Banff, pero tener en cuenta que pulsos de producción de anticuerpos son irregulares en el tiempo, dependen de diversos factores y, por lo tanto, la presencia de C4d no siempre es positiva en la Bx, pero sí los pulsos son continuos en el tiempo, inclusive de manera subclínica, siempre van a llevar en el fondo un deterioro constante del endotelio.

Otra situación anatomo-clínica es la disfunción aguda del injerto con inflamación microvascular C4d negativo, pero anticuerpo donante específico (DSA) positivo. Eso es rechazo humoral.

C4d puede reemplazar la presencia de los anticuerpos anti donantes si está positivo y, por lo tanto, diagnosticamos un rechazo humoral. Si ambos son negativos y tenemos esta capilaritis y glomerulitis intensa, se recomienda hacer un diagnóstico descriptivo,

pero que, probablemente, pueda corresponder a un rechazo humoral. Es la tarea del clínico, correlacionar este planteamiento diagnóstico en ausencia de anticuerpos y CD existe la posibilidad que exista un rechazo mediado por anticuerpos, por lo que se deben buscar otros anticuerpos que no se pesquisan en la rutina.

Otros criterios diagnósticos son hemorragia intersticial, que significa daño de la microvasculatura, daño de los endotelios de los capilares intersticiales, y como son pocas las patologías que dañan los endotelios el diagnóstico es el rechazo humoral reproducción de vasculitis de pequeño vaso.

Hemos visto casos donde los pacientes tienen incluso CD4 + y tienen un rechazo activo humoral, una microangiopatía trombótica y, además, el paciente ha tenido una trombofilia de base. Es muy importante tener todos los antecedentes a la mano.

Básicamente, hay nuevos criterios para diagnosticar la tubulitis en aquellos túbulos que son medianamente atróficos, para decir que no disminuyen más allá del 50% del diámetro normal, para darle valor positivo a la tubulitis en aquellos túbulos afectados dentro de una biopsia, entonces catalogarlo como un rechazo crónico.

CONCLUSIONES DE LA PRESENTACIÓN

El diagnóstico histológico de la disfunción de aguda del injerto renal, se basa en los elementos clínicos y laboratorios complementarios, donde la biopsia renal continúa siendo un pilar fundamental para su identificación.

La biopsia renal requiere de centros especializados.

El estudio de una biopsia renal de trasplante necesita la ejecución de las tres técnicas, microscopia de luz, inmunofluorescencia y ME. Además, se debe disponer de las pruebas complementarias de inmunohistoquímica.

El análisis de la Bx tiene un estándar de calidad de muestra de evaluación y que está determinado por los criterios unificados que se exponen en Banff, y que están disponibles. Ante hallazgos infrecuentes, se deben considerar los elementos clínicos y el laboratorio complementario.

REFERENCIAS

1. Mengel M, Loupy A, Haas M, Roufosse C, Naesens M, Akalin E, et al. Banff 2019 Meeting Report: Molecular diagnostics in solid organ. Consensus for the Banff Human Organ Transplant (B-HOT) gene panel and open source multicenter validation. *Am J Transplant.* 2020;20(9):2305-17.
2. Solez K. International standardization of criteria for histologic diagnosis of chronic rejection in renal allografts. *Clin Transplant.* 1994;8(3 Pt 2):345-50.

3. Naesens M, Roufosse C, Haas M, Lefaucheur C, Mannon RB, Adam BA, et al. The Banff 2022 Kidney Meeting Report: Reappraisal of microvascular inflammation and the role of biopsy-based transcript diagnostics. *Am J Transplant*. 2024;24(3):338-349.
4. Roufosse C, Naesens M, Haas M, Lefaucheur C, Mannon RB, Afrouzian M, et al. The Banff 2022 Kidney Meeting Work Plan: Data-driven refinement of the Banff Classification for renal allografts. *Am J Transplant*. 2024;24(3):350-361.