

Recomendaciones para la indicación, obtención, procesamiento y evaluación de biopsias en el trasplante renal

D. Serón^{1*}, F. Anaya², R. Marcén³, R. García del Moral⁴, E. Vázquez Martul⁵, A. Alarcón⁶, A. Andrés⁷, D. Burgos⁸, L. Capdevila⁹, M. González Molina⁸, C. Jiménez¹⁰, J. M. Morales⁷, F. Oppenheimer¹¹, L. Pallardó¹² y A. Sánchez Fructuoso¹³

¹Hospital Universitari de Bellvitge. Barcelona. ²Hospital Gregorio Marañón. Madrid. ³Hospital Ramón y Cajal. Madrid. ⁴Hospital Universitario de Granada. Granada. ⁵Complejo Hospitalario Universitario Juan Canalejo. A Coruña. ⁶Hospital Universitario Son Dureta. Palma de Mallorca. ⁷Hospital 12 de Octubre. Madrid. ⁸Hospital Regional Universitario Carlos Haya. Málaga. ⁹Hospital de la Vall d'Hebron. Barcelona. ¹⁰Hospital Universitario La Paz. Madrid. ¹¹Hospital Clínic. Barcelona. ¹²Hospital Doctor Peset. Valencia. ¹³Hospital Clínico San Carlos. Madrid.

Nefrología 2008; 28 (4) 385-396

INTRODUCCIÓN

A pesar de la importante actividad trasplantadora en España¹ lo cierto es que todavía no se ha desarrollado en nuestro país un consenso sobre las situaciones clínicas en las que sería recomendable realizar una biopsia diagnóstica, ni sobre cómo mejorar en la práctica clínica el uso de biopsias de protocolo o de biopsias del donante. De este modo, una visión global detecta una elevada heterogeneidad entre los distintos centros e incluso ciertas prácticas que podrían considerarse inadecuadas. Por ejemplo, a pesar de las importantes evidencias favorables a la realización de biopsias en ciertos tipos de donantes o del uso de las biopsias de protocolo^{2,3}, un reciente estudio epidemiológico puso de manifiesto que las primeras tan sólo representan un 3% del total de las biopsias que se practican en España al año⁴, mientras que tan sólo dos centros en nuestro país realizan biopsias de protocolo de forma seriada. También el análisis de las biopsias diagnósticas evidencia importantes diferencias en relación a la actividad de los distintos centros, observándose en algunos casos particulares diferencias de hasta 10 veces en los índices biopsias/trasplantes reportados⁴. Además, tampoco parece haber un acuerdo claro sobre cómo obtener y procesar las muestras de tejido renal, existiendo relevantes diferencias en relación al uso de diversos calibres de aguja para la punción, así como un empleo bastante limitado de las técnicas diagnósticas más específicas, como la inmunofluorescencia, la inmunohistoquímica o la microscopía electrónica⁴.

Ante esta situación, en octubre de 2007 se celebró en Toledo una conferencia de consenso en la que un grupo de clínicos y nefropatólogos expertos en trasplante renal abordaron conjuntamente los diversos aspectos de interés sobre la indicación, el procesamiento y la evaluación de las biopsias renales en los pacientes trasplantados. Las principales conclusiones y recomendaciones al respecto de dicho grupo de consenso se resumen en el presente documento.

UTILIDAD CLÍNICA DE LA BIOPSIA EN EL TRASPLANTE RENAL

Biopsia del donante

Múltiples estudios han demostrado que la presencia de lesiones preexistentes en la biopsia del donante se asocia con la presencia de rechazo agudo, con una peor función, con el desarrollo de lesiones posteriores y con una supervivencia reducida del injerto⁵⁻²⁰. A pesar de las diferencias metodológicas entre los distintos trabajos y de ciertos resultados dispares²¹, actualmente existe bastante acuerdo en que el hallazgo en la biopsia en el momento del implante de lesiones glomerulares, tubulointersticiales y vasculares, representa uno de los principales factores dependientes del donante que pueden condicionar la evolución del injerto renal. En efecto, se ha podido demostrar en varias series que la determinación en la biopsia del donante de una glomeruloesclerosis del ~20% se asocia con la presencia de función retardada del injerto (FRI) en el post-trasplante inmediato, así como con una reducción de la función renal o con la pérdida del injerto a largo plazo^{8,13-15,18}. También la presencia de daño tubulointersticial heredado del donante, como la fibrosis intersticial, la atrofia tubular o la necrosis tubular aguda, tiene un papel destacado y se correlaciona con el desarrollo posterior en el receptor de glomeruloesclerosis y daño crónico intersticial. Dichos fenómenos determinan de forma significativa la función renal y la supervivencia del órgano implantado¹⁸⁻²⁰ y real-

Correspondencia: Daniel Serón
Servei de Nefrologia. Hospital Universitari de Bellvitge
Feixa Llarga s/n
08907 L'Hospitalet. Barcelona. España
17664dsm@comb.es

artículo especial

zan la importancia de la indicación de esta biopsia en el donante con la utilización de una buena metodología de análisis²². En relación al daño vascular, Nankivell y cols., hallaron en el 2001 que las lesiones de pequeños vasos en el donante predicen la detección de lesiones típicas de nefropatía crónica en las biopsias obtenidas a los 3 meses de evolución del trasplante¹⁷, mientras que, a largo plazo, la detección del engrosamiento fibroso de la íntima en la biopsia al tiempo del implante se ha asociado con la aparición y la severidad de fibrosis intersticial, así como a una reducción del aclaramiento de creatinina¹². Teniendo en cuenta todo lo anterior, es comprensible que el interés por la realización de biopsias en el donante se haya incrementado significativamente durante los últimos años de forma paralela al mayor uso de órganos marginales provenientes de pacientes añosos, diabéticos o hipertensos. Obviamente, la presencia de estos factores se asocia con el desarrollo en el riñón de las citadas lesiones histológicas^{23,24}, las cuales se relacionan consistentemente con peores resultados en la evolución del injerto^{25,26} tal y como se ha comentado.

En consecuencia, la evaluación histológica del posible injerto constituye, junto con los datos clínicos y de laboratorio, un procedimiento que se ha venido utilizando para considerar la realización de un trasplante simple o doble, o si por el contrario los órganos de ese donante deben ser descartados²⁷⁻²⁹. Ésta es en la actualidad la principal indicación de la biopsia del donante en muchos centros aunque no hay que olvidar que la obtención de una muestra en tiempo cero, incluso en los donantes óptimos, es de gran ayuda para el patólogo para la correcta interpretación de lesiones posteriores que puedan presentarse en el receptor, por lo que su realización no debería limitarse únicamente al estudio de la viabilidad de los injertos.

Finalmente, es necesario recordar también que la realización de biopsias en el donante es especialmente interesante en el contexto de un ensayo clínico con el fin de disponer de datos morfológicos pareados antes y después del trasplante.

Biopsia en el receptor

El examen histológico de la biopsia renal sigue constituyendo a día de hoy la excelencia para la identificación diagnóstica de la patología del injerto y su utilidad se refleja en que más del 70% de las indicaciones de biopsias en pacientes trasplantados renales en nuestro país se realizan por motivos diagnósticos⁴. Su principal valor reside en la posibilidad de diferenciar de forma detallada la presencia de lesiones sugerentes de rechazo agudo, nefrotoxicidad por inhibidores de la calcineurina o lesiones de tipo crónico, así como diagnosticar entidades no sospechadas clínicamente, como las glomerulopatías de novo, la recidiva de enfermedad recurrente o la nefropatía asociada a poliovirus tipo BK. En este sentido, la introducción en los últimos años de los criterios de Banff y sus respectivas actualizaciones³⁰⁻³³ ha permitido disponer de una herramienta reproducible³⁴, con una elevada correlación clínico-patológica³⁵ e internacionalmente aceptada para la descripción de las lesiones agudas y crónicas

de los distintos compartimentos renales. Además, la incorporación reciente de nuevas técnicas histológicas y de marcadores, como la detección del C4d y de los anticuerpos donante-específicos, han aumentado la capacidad diagnóstica y pronóstica de la biopsia renal, ofreciendo a los patólogos la posibilidad de realizar diagnósticos cada vez más precisos. En este sentido, el creciente volumen de evidencias acumuladas mediante estos procedimientos ha permitido recientemente a la conferencia de Banff proponer la introducción de un nuevo concepto, el rechazo tardío mediado por anticuerpos, así como los criterios necesarios para su diagnóstico³³.

En relación a las biopsias de protocolo, estudios recientes han podido establecer la historia natural de las lesiones que afectan al injerto renal³⁶, así como el impacto de cada una de ellas en el pronóstico del trasplante. Gracias al uso de biopsias seriadas se sabe que la prevalencia de infiltrados intersticiales y tubulitis en injertos estables, el denominado rechazo subclínico (RSC)³⁷, es máxima durante los primeros meses de evolución post-trasplante para luego decaer progresivamente (a pesar de que en algunos pacientes el RSC puede persistir más allá del año)³⁸. La presencia de estas lesiones agudas, incluso en los casos de mínima inflamación, se asocia consistentemente con la aparición de lesiones de tipo crónico como la fibrosis intersticial y la atrofia tubular (FI/AT)^{36,39-41} y con una reducción de la supervivencia del injerto a largo plazo, tal y como se ha observado recientemente en pacientes con lesiones de RSC a la segunda semana de trasplante seguidos durante 10 años⁴². Por su parte, y una vez establecida, la FI/AT progresa rápidamente durante los primeros meses y a pesar de ser clínicamente silente al inicio^{36,43,44} también se relaciona con una peor función renal y con la pérdida del injerto a largo plazo^{45,46}, incluso cuando se detecta precozmente a los 6 meses del trasplante⁴⁷. De hecho, el valor predictivo de la FI/AT es independiente de otros marcadores clásicos como la creatinina sérica, la proteinuria o el rechazo agudo⁴⁸.

En este contexto, últimamente ha aumentado el interés por la detección de patrones de lesión en las biopsias que ayudarían a predecir mejor y de forma más temprana la evolución del trasplante que la valoración de las mismas por separado. Se ha demostrado que la combinación de FI/AT y daño vascular se asocia significativamente a una peor supervivencia del injerto a 10 años que la presencia única de FI/AT⁴⁹ y resultados parecidos se han observado a 5 años en pacientes con lesiones de FI/AT y glomerulopatía del trasplante⁵⁰. Además, la combinación de lesiones agudas y crónicas también predice peores resultados a largo plazo, de modo que la FI/AT presenta un especial peor pronóstico cuando se asocia de forma concomitante a la presencia de RSC^{41,50,51}. De hecho, ciertos patrones de lesiones hallados en biopsias de protocolo en los primeros 6 meses de trasplante, como la presencia de FI/AT más vasculopatía del trasplante o FI/AT y RSC, han demostrado una sensibilidad y una especificidad en la predicción de la viabilidad del injerto a 7 años no inferior a la de marcadores clásicos como el rechazo agudo o la función renal¹.

De especial interés es conocer también que las biopsias de protocolo podrían tener un papel importante en la mejoría del

Tabla I. Recomendaciones para la indicación, obtención, procesamiento y evaluación de biopsias en el donante**Indicación**

- Donantes con criterios expandidos (aconsejable en todos los trasplantes para evaluar la progresión de las lesiones).
- Todos los ensayos clínicos que incluyan biopsias de protocolo.

Obtención y tamaño de la muestra

- Mediante aguja o cuña (5 x 5 x 5 mm).
- En zonas representativas de la morfología renal en ambos riñones del donante.
- El tamaño mínimo de la muestra debe ser de 50 glomérulos entre los dos riñones (no menos de 15 en la muestra con menor cantidad de glomérulos) con 2 o más secciones arteriales con lámina elástica interna presente.

Procesamiento

- Procesamiento rápido en parafina mediante tecnología de horno microondas.
- Grosor de los cortes histológicos de 3-4 micras.
- Tinción con HE y PAS (tricrómico de Masson recomendable).

Evaluación

- De forma conjunta (ambos riñones de un mismo donante) siguiendo los criterios de Banff' 97.

HE: Hematoxilina-eosina; PAS: Periodic acid-Schiff.

pronóstico del injerto. Existen dos publicaciones al respecto que, a pesar de ser metodológicamente limitadas, así lo demuestran. La primera fue un estudio en el que se realizaron biopsias de protocolo en los meses 1, 2, 3, 6 y 12 del trasplante. En este trabajo, Rush y cols., observaron que la detección y el tratamiento precoz del RSC con bolus de corticoides resultaba en una menor progresión de las lesiones a los 6 meses y una mejor función renal a los 2 años frente al grupo control⁵². En el segundo estudio, Buehrig y cols., reportaron que la detección precoz de la nefropatía por el virus del poliovirus mediante biopsias de protocolo en el primer año de trasplante permitió modificar la inmunosupresión en fases iniciales de la enfermedad. A los 6 meses, la supervivencia y la funcionalidad de los injertos en estos pacientes fueron significativamente superiores a la de aquellos pacientes en los que se detectó la enfermedad de forma tardía mediante una biopsia diagnóstica por deterioro de la función renal⁵³.

En conclusión, la biopsia no sólo constituye la mejor alternativa para la evaluación diagnóstica de las lesiones de un injerto renal, si no que también es una buena herramienta para la evaluación pronóstica y de viabilidad de dicho injerto. Gracias a las evidencias disponibles se ha planteado que las biopsias de protocolo podrían considerarse como un marcador subrogado de la supervivencia del injerto⁵⁴ y actualmente varios grupos de investigadores están centrando sus esfuerzos en hallar distintos patrones de lesión, así como nuevos parámetros cuantitativos para valorar estas biopsias, que mejorarían su valor predictivo³. Finalmente, no hay que olvidar la importante utilidad de las biopsias de protocolo como variable de eficacia secundaria en el contexto de un ensayo clínico. La experiencia en este campo es ya destacable en varios estu-

dios que pretenden describir las posibles diferencias en el impacto sobre la histología renal de los distintos tratamientos inmunosupresores⁵⁵⁻⁵⁸.

RECOMENDACIONES PARA REALIZACIÓN DE BIOPSIAS EN EL DONANTE (tabla I)**Indicaciones***Indicación clara*

En los últimos años, la disparidad creciente entre el número de pacientes en lista de espera para recibir un trasplante renal y el número de injertos disponibles ha propiciado la necesidad de ampliar los criterios mediante los cuales se considera a un riñón adecuado para el trasplante⁵⁹. En el 2001, la UNOS («United Network for Organ Sharing») definió a los donantes con criterios expandidos (DCE) a aquellos donantes cadavéricos con una edad ≥ 60 años o bien con una edad comprendida entre los 50 y 59 años y al menos 2 de los siguientes 3 factores de riesgo: muerte por accidente cerebrovascular, hipertensión o creatinina sérica terminal $> 1,5$ mg/dL⁶⁰. En varias series se ha observado que la implantación de injertos provenientes de DCE se asocia a un mayor riesgo de disfunción primaria y FRI, así como a una reducción de la supervivencia del injerto y del receptor a largo plazo⁶¹⁻⁶³. En consecuencia, la realización de una biopsia en estos donantes subóptimos puede aportar información pronóstica importante^{2,29} que ayude a la hora de tomar decisiones clínicas sobre la viabilidad del órgano y recientemente se han objetivado significativas mejoras en la evolución del trasplante mediante esta estrategia²⁷.

artículo especial

Por todo lo anterior se aconseja realizar una biopsia a todos los injertos provenientes de DCE con el objetivo de evaluar la viabilidad de los órganos y ayudar a indicar adecuadamente a qué receptores deberán ser implantados, así como para conocer la situación histológica de partida que permita posteriormente evaluar la evolución de las lesiones en el injerto.

Por otra parte, también se considera conveniente contar con una biopsia del donante (estándar o expandido) en todos los ensayos clínicos que incluyan biopsias de protocolo para la evaluación de nuevos fármacos o de cambios en la inmunosupresión existente en el momento cero del trasplante, con el fin de interpretar más adecuadamente la evolución de las lesiones.

Indicación recomendable

En el donante estándar que no esté incluido en ningún ensayo clínico, la biopsia se considera recomendable (aunque no obligatoria) para poder monitorizar la progresión de la lesión en el injerto después del trasplante. A pesar de ello, las ventajas de su realización deberán contrapesarse frente a los riesgos que el paciente puede tener debido a este procedimiento, principalmente el riesgo de hemorragia, debiéndose tener en cuenta también el impacto económico de esta estrategia. En consecuencia, la decisión deberá tomarse valorando la relación riesgo-beneficio en cada caso.

Obtención y tamaño de la muestra

A modo de introducción es importante remarcar que la completa realización de estas biopsias (obtención, procesamiento y evaluación) no debería incrementar de forma significativa el tiempo de isquemia fría.

Se considera que la biopsia en el donante se puede realizar indistintamente con aguja o en cuña (según la práctica habitual de cada centro) en una zona representativa de la morfología renal, recomendándose obtener una muestra en ambos riñones del donante. Con el objetivo de intentar garantizar un tamaño de la muestra suficiente se aconseja realizar cuñas de un tamaño no inferior a los 5 x 5 x 5 mm, procurando al mismo tiempo no ir más allá de 1 cm de profundidad para evitar comprometer las arterias arcuatas y aumentar así el riesgo de sangrado tras la cirugía de implante. De hecho, aún no han sido bien analizadas las implicaciones pronósticas derivadas de las posibles complicaciones asociadas a la biopsia del donante, como la presencia de hematomas perirrenales. Es por ello que, y en ausencia de evidencias clínicas, es recomendable realizar una estrecha vigilancia analítica y ecográfica de los pacientes receptores de un injerto renal biopsiado.

En relación al tamaño de la muestra, y teniendo en cuenta que uno de los aspectos más interesantes a estudiar en las biopsias del donante es la glomerulosclerosis, es de suma importancia que las muestras contengan un número mínimo de glomerulos que permita estimar el porcentaje de esclerosis del injerto con un coeficiente de variación aceptable. Remuzzi y cols., sugirieron hace unos años que al menos 25 glomerulos en cada riñón eran necesarios para calcular adecuadamente el por-

centaje de glomerulosclerosis en el donante²⁸. A la vista de los buenos resultados observados posteriormente mediante el uso del modelo propuesto^{27,28} se recomienda que 50 glomerulos entre los dos riñones sea el tamaño mínimo de la muestra que siempre se debería intentar obtener. Por debajo de esta cantidad el valor de las biopsias para la estimación de la glomerulosclerosis ofrece una baja fiabilidad, tal y como se muestra en la simulación de la figura 1. Además, es aconsejable que la muestra renal con menos glomerulos no tenga menos de 15. Por otra parte, se recomienda que en la biopsia del donante se incluyan como mínimo 2 secciones arteriales con lámina elástica interna presente para poder valorar adecuadamente el daño vascular crónico en el donante (en general, se aconseja que el informe de la biopsia describa el número de glomerulos y de secciones arteriales obtenidas).

Finalmente, una buena práctica a desarrollar en relación al presente apartado sería la puesta en marcha de un registro de biopsias en el que cada centro registre los datos provenientes de sus biopsias en el donante para poder evaluar al cabo de un tiempo de forma retrospectiva si su metodología les permite obtener consistentemente una cantidad de material suficiente.

Procesamiento

Teniendo en cuenta la importancia de las decisiones clínicas que dependen de la biopsia del donante, se recomienda que en la medida de lo posible tanto el técnico encargado del manejo de los tejidos como el patólogo sean expertos en patología renal.

En España la mayoría de centros trasplantadores siguen usando a día de hoy técnicas de congelación para procesar las muestras provenientes del donante. El estudio del tejido congelado permite evaluar adecuadamente el porcentaje de glomerulosclerosis y el engrosamiento de la íntima arterial, siempre y cuando los cortes de los vasos sean transversales. En general, la viabilidad de estas muestras depende en gran medida de la calidad de la congelación y del corte realizado, siendo difícil evaluar adecuadamente la fibrosis intersticial y la atrofia tubular si el procesamiento del tejido no ha sido adecuado. Además, incluso en las muestras de buena calidad es muy complicada la valoración de la hialinosis arteriolar, que para algunos autores es un dato morfológico clave⁹, por lo que la determinación de falsos positivos es habitual en este apartado. Por el contrario está bien establecido que la inclusión en parafina de los tejidos permite una detallada evaluación de los distintos compartimentos renales²², aunque lo cierto es que en la actualidad no existe ningún trabajo comparativo en biopsias renales de donante que evalúe el rendimiento de este procedimiento frente a los cortes congelados. La mayoría de estas aproximaciones se han realizado en el marco del estudio histológico del cáncer de mama en el que se han observado significativamente peores resultados diagnósticos con el material congelado, por lo que su uso está actualmente desaconsejado, incluso en las biopsias intraoperatorias⁶⁴. Por todo lo anterior, y en aquellos casos en los que el objetivo de la biopsia renal del donante sea valorar la viabilidad del órgano para el tras-

plante, se recomienda la utilización de un procesamiento rápido en parafina mediante tecnología de horno microondas (~ 3 horas)⁶⁵. En este sentido, sería deseable que dicho sistema de procesamiento rápido pudiera realizarse de forma centralizada en una área sanitaria, de manera que se ofreciera un servicio permanente de 24 horas al día para dar soporte logístico a los centros que así lo requirieran.

El grosor recomendado para las preparaciones histológicas es de 3-4 micras para las muestras procesadas en parafina y

6-10 micras para las muestras congeladas. En general, todas las muestras deben teñirse siempre con hematoxilina-eosina (HE) y con la tinción de PAS («periodic acid-Schiff»), siendo aconsejable también el uso del tricómico de Masson para la adecuada valoración de la fibrosis intersticial.

Tabla II. Modelo propuesto para el estudio de las biopsias del donante en la Comunidad Autónoma de Andalucía (en revisión)⁶⁶

1. Glomérulos esclerosados o con atrofia total por quistificación

- 0: Ausencia.
- 1: 0-10%.
- 2: 11-20.
- 3: Más del 20%.

Nota: La afectación subcapsular exclusiva no debe ser considerada como condición excluyente del órgano a no ser que esté asociada a patología relevante vascular, tubular del parénquima subyacente.

2. Arteriopatía hialina

- 0: Ausencia de engrosamiento hialino Pas (+) de las paredes arteriolas.
- 1: De leve a moderado engrosamiento hialino Pas (+) en al menos una arteriola.
- 2: De moderado a intenso engrosamiento hialino Pas (+) en más de una arteriola.
- 3: Intenso engrosamiento hialino Pas (+) en la mayoría de las arteriolas.

3. Engrosamiento fibroso de la íntima vascular

- 0: Ausencia de lesiones vasculares crónicas.
- 1: Menos del 25% de estrechamiento de la luz vascular por engrosamiento miointimal.
- 2: Incremento de las lesiones descritas en 1 afectando entre el 26-50% de la luz vascular.
- 3: Incremento de las lesiones descritas en 2 afectando a más del 50% de la luz vascular.

4. Atrofia tubular

- 0: Ausencia de atrofia tubular cortical.
- 1: Menos del 25% de túbulo corticales atróficos.
- 2: 26%-50% de túbulo corticales atróficos.
- 3: Más del 50% de túbulo corticales atróficos.

5. Fibrosis intersticial

- 0: 5% o menos del área cortical afectada.
- 1: 6%-25% del área cortical afectada.
- 2: 26%-50% del área cortical afectada.
- 3: Más del 50% del área cortical afectada.

Valoración de la puntuación total:

Muestra renal con histología favorable si la puntuación es ≤ 7 .

Evaluación

Actualmente no existe ningún consenso sobre cómo deben valorarse las biopsias renales en el donante y lo cierto es que apenas existen escalas validadas para tal propósito. Hasta la fecha, algunos centros e instituciones han propuesto sus propios protocolos a nivel local para el estudio de las biopsias del donante, como por ejemplo el protocolo que varios hospitales en Andalucía se encuentran actualmente ultimando para dicha Comunidad Autónoma (tabla II)⁶⁶. En el año 2006 Remuzzi y cols., siguieron un esquema desarrollado previamente por un panel de expertos²⁸ para evaluar la viabilidad de riñones procedentes de donantes mayores de 60 años. El sistema propuesto de forma empírica consiste en la evaluación del daño crónico en los cuatro compartimentos renales mediante una escala semicuantitativa graduada de 0 a 3. Tras la suma de los resultados, los injertos con una puntuación entre 0 y 3 se utilizan para trasplante simple, los injertos con un resultado de 4 a 6 se utilizan para trasplante dual y los injertos con un resultado ≥ 7 se descartan. En dicho trabajo, los autores observaron que la supervivencia a largo plazo de los injertos seleccionados mediante esta escala fue significativamente superior en comparación con una cohorte de pacientes a los que también se habían implantado injertos de donantes mayores de 60 años aunque sin valoración histológica previa²⁷. A pesar de los buenos resultados reportados, lo cierto es que el modelo en cuestión no está exento de ciertas limitaciones que dificultan el poder recomendar su generalización, como por ejemplo el reducido número de pacientes incluidos en el estudio, el hecho de que se incluyeran trasplantes simples o dobles y la necesidad de hallar una glomerulosclerosis muy intensa (> 50%) para que este ítem recibiera la máxima puntuación en la escala propuesta.

En la última reunión de Banff celebrada en A Coruña en 2007 se aconsejó evaluar las biopsias del donante siguiendo los criterios establecidos por la propia Conferencia⁶⁷, aunque de hecho la mayoría de grupos trasplantadores ya vienen utilizando desde hace tiempo el esquema de Banff 97³¹ para estudiar la viabilidad de los órganos antes del trasplante. A pesar de que dicho protocolo no ha sido específicamente desarrollado para tal propósito, está claro que permite describir adecuadamente la presencia de lesiones crónicas y recientemente se ha demostrado la utilidad de su aplicación a la biopsia del donante. Efectivamente, Lopes y cols., observaron en el 2005 en muestras procesadas en parafina que la evaluación mediante Banff de la biopsia del donante tiene un poder predictivo sobre la función renal y la supervivencia del injerto similar a la evaluación morfológica. En base a un detallado análisis estadístico los autores propusieron un sistema de suma de resultados que tenía en cuenta la glomerulosclerosis

Tabla III. Recomendaciones para la indicación, obtención, procesamiento y evaluación de biopsias diagnósticas en el receptor de un trasplante renal**Indicación**

- Pacientes con FRI si existe empeoramiento en el renograma o la FRI se prolonga más de 2-3 semanas.
- Pacientes con función renal inferior a la esperada según características del donante a partir de los primeros meses de evolución del trasplante.
- Pacientes con deterioro brusco de la función del injerto atribuible a enfermedad renal.
- Pacientes con un aumento progresivo en los niveles de creatinina ($\geq 20\%$ respecto a creatinina nadir) en un periodo de 3-6 meses.
- Pacientes con proteinuria > 1 g.
- Pacientes con alteraciones del sedimento sin causas urológicas aparentes.
- Aconsejable antes de cambios en el tratamiento inmunosupresor.

Obtención de la muestra

- Obtención de 2 cilindros mediante aguja de 16 G.
- Uso de pistolas automáticas y guía ultrasonográfica.

Procesamiento

- Inclusión del tejido en parafina según la metodología de Banff y tinción con HE, PAS y tricrómico de Masson.
- Procesar tejido congelado para la determinación de inmunoglobulinas y complemento mediante inmunofluorescencia.
- Teñir con C4d todas las biopsias diagnósticas.
- Utilizar técnicas de inmunohistoquímica o microscopía electrónica (a criterio del patólogo).

Informe

- Reportar la presencia y severidad de las lesiones en los distintos compartimentos renales según criterios de Banff.
- Informar sobre el número de glomérulos presentes en la muestra y el porcentaje de glomeruloesclerosis.
- Describir los diagnósticos de la biopsia.
- Comentar la evolución de las lesiones en caso de disponer de una biopsia del donante.

FRI: Función retardada del injerto; HE: Hematoxilina-eosina; PAS: Periodic acid-Schiff.

(evaluada como ausente o presente dependiendo de si la tasa de glomérulos esclerosados era inferior o superior al 10%), el grado de fibrosis intersticial (ci-score) y el daño vascular crónico (cv-score) evaluados de acuerdo con los criterios de Banff. En este estudio se observó que los injertos con un resultado de 0 a 2 son útiles para trasplante simple y los injertos con resultado de 3, dada su mala evolución, podrían considerarse para trasplante doble²⁹.

A modo de conclusión, y hasta que los diversos protocolos locales no sean validados adecuadamente, el presente grupo de consenso considera que lo más recomendable en la actualidad es realizar las evaluaciones histológicas de las biopsias del donante siguiendo los criterios de Banff⁶⁷ con el fin de adaptarse a las guías internacionales. Se recomienda además que las biopsias de ambos riñones de un mismo donante se evalúen conjuntamente siempre que no se observen diferencias macroscópicas que sugieran la existencia de una patología específica en uno de ellos. En general, la principal ventaja de adoptar los criterios de Banff para la biopsia del donante es que esta estrategia facilita el estudio de la progresión de las lesiones cuando se evalúan las biopsias del receptor. Sin embargo, la información disponible en la actualidad es aún limitada como para aconsejar un algoritmo basado en la suma de resultados para la aceptación o el descarte de un injerto^{27,29}. Por otra parte, si sólo se dispone de tejido congelado se eva-

luará únicamente el porcentaje de glomeruloesclerosis debido a la dificultad de estudiar la fibrosis intersticial y la atrofia tubular en estas muestras. En este sentido, en un documento de consenso de la Sociedad Española de Nefrología se ha propuesto que en el caso de hallarse una glomeruloesclerosis de más del 20% se plantee la realización de un trasplante dual⁹.

RECOMENDACIONES PARA REALIZACIÓN DE BIOPSIAS EN EL RECEPTOR DE UN INJERTO RENAL (tabla III)

Indicaciones para la biopsia diagnóstica

A modo de recomendación general, se insta a los grupos trasplantadores a que mantengan una actitud activa frente a la biopsia diagnóstica, de modo que ésta se debería indicar siempre de forma precoz ante la sospecha de la presencia de algún tipo de problema y no retrasarse hasta que la situación clínica se encuentre ya muy avanzada.

Función retardada del injerto (FRI)

La FRI constituye una forma de insuficiencia renal aguda que se asocia en el post-trasplante con un mayor riesgo de rechazo agudo y de pérdida del injerto a largo plazo⁶⁸. En los grandes

Tabla IV. Función renal (filtrado glomerular según la fórmula abreviada del MDRD) observada en pacientes trasplantados renales a los tres meses de evolución del trasplante según la edad del donante (datos procedentes del Hospital Universitario Ramón y Cajal, Madrid)

Edad del donante (años)	N	Filtrado glomerular (mL/min) a los 3 meses (media \pm DE)	Mediana
< 30	359	55,4 \pm 21,2	53,7
30-40	131	50,6 \pm 20,1	47,8
40-50	179	50,9 \pm 17,7	48,8
50-60	142	42,0 \pm 15,9	41,5
60-70	114	36,5 \pm 14,5	34,8
> 70	26	33,7 \pm 9,0	31,9

DE: Desviación estándar.

estudios multicéntricos la FRI se ha definido clínicamente como la necesidad de al menos una sesión de diálisis durante la primera semana de evolución tras la implantación del órgano⁶⁹. Tal y como se ha comentado, varios factores dependientes del donante se asocian a la aparición de la FRI, pero también existen múltiples factores presentes durante el trasplante y en el propio receptor que favorecen el retraso funcional⁶⁸. De hecho, uno de los más importantes es el grado de sensibilización del receptor que puede determinar el desarrollo de un rechazo precoz mediado por anticuerpos.

Por todo lo anterior, y ante la presencia de FRI en trasplantados renales con riesgo estándar (no hiperinmunizados) se recomienda indicar la realización de una biopsia diagnóstica a partir de la primera semana de evolución del trasplante (entre

los días 7 y 12) con el objetivo de hallar y tratar precozmente la causa subyacente. En pacientes hiperinmunizados esta biopsia se deberá realizar antes, teniendo en cuenta previamente los resultados obtenidos en las pruebas complementarias (renograma, ecografía y ecografía doppler).

Función subóptima

La función del órgano en el post-trasplante depende tanto de las características del donante como del propio receptor y es realmente difícil considerar de forma precisa en cada caso cuál debería ser la función renal esperable de un injerto a partir de dichas características. A pesar de ello, y aunque no se trate aún de una práctica universalmente extendida, lo cierto

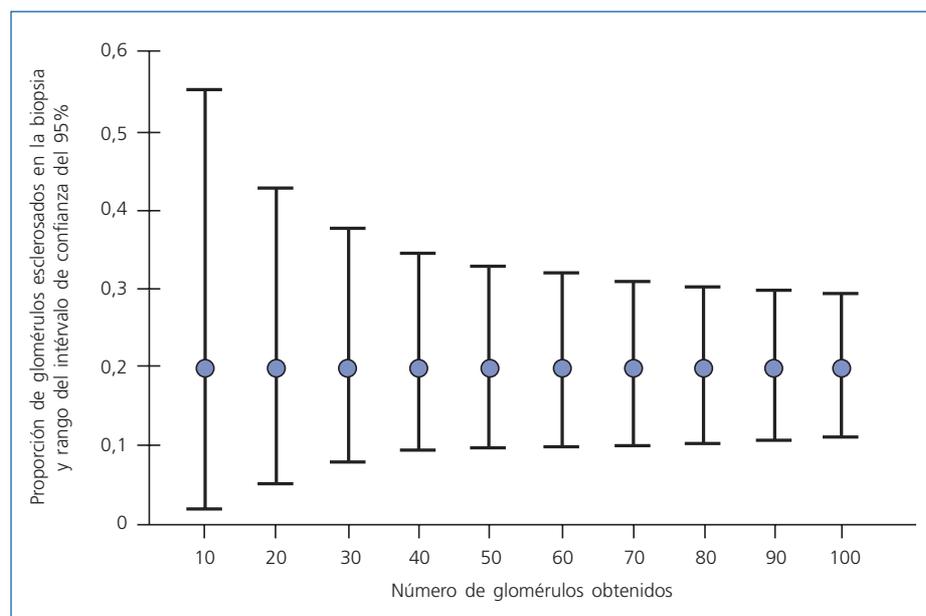


Figura 1. En la figura 1 se presenta una simulación en la que se observa la amplitud del intervalo de confianza del 95% según el número total de glomérulos obtenidos en biopsias del donante (2 riñones) en las que la valoración histológica ha hallado un 20% de glomérulos esclerosados. La gráfica muestra como el rango del intervalo decrece progresivamente a medida que se obtiene un mayor número de glomérulos en las muestras, incrementando la fiabilidad de la biopsia en la estimación de la glomerulosclerosis del donante.

artículo especial

es que en los últimos años está aumentando el interés por biopsiar a los pacientes que a las pocas semanas del trasplante se estabilizan en unos valores de creatinina sérica no adecuados o superiores a los que cabría esperar. Dichos niveles subóptimos podrían indicar la presencia de lesiones precoces en el injerto que estarían ya afectando su funcionalidad. En la tabla IV se presentan, clasificados según la edad del donante, los valores medios de filtrado glomerular observados en pacientes receptores de injertos renales a los tres meses post-trasplante. Teniendo en cuenta los datos presentados en dicha tabla, se aconseja realizar una biopsia diagnóstica en aquellos pacientes que a partir de los primeros meses de evolución del trasplante presenten un filtrado glomerular por debajo de dos desviaciones estándar respecto a la media esperable de acuerdo con las características del donante.

Deterioro agudo

Se recomienda realizar siempre una biopsia diagnóstica en el paciente trasplantado ante la presencia de un deterioro brusco de la función renal definido por un aumento rápido (1-2 días) en los niveles séricos de creatinina superior al 10-25% respecto a la determinación anterior⁷⁰. Dicho aumento ha de ser atribuible a una enfermedad parenquimatosa del riñón, por lo que se deben excluir previamente posibles causas pre-renales u obstructivas.

Deterioro crónico

La disfunción crónica del injerto, caracterizada por un progresivo deterioro de la función renal asociado con la aparición o el empeoramiento de hipertensión arterial y proteinuria, representa el más importante determinante de la supervivencia del órgano a largo plazo⁷¹. En estos pacientes el aumento progresivo de los niveles de creatinina en el tiempo, fenómeno denominado en inglés como «creeping creatinine», se considera una característica indicadora de dicha disfunción⁷² y se ha sugerido que para su definición es necesario demostrar la existencia de una pendiente negativa en el inverso de la creatinina mediante un mínimo de 6 determinaciones realizadas durante los últimos meses de seguimiento (de 3 a 18)⁷³. En consecuencia, y con el fin de diagnosticar las lesiones en el injerto en estadios iniciales, se recomienda biopsiar precozmente a los pacientes que presenten en un periodo mínimo aproximado de entre 3-6 meses un aumento en los niveles de creatinina sérica $\geq 20\%$ con respecto a la creatinina nadir, acompañado o no de proteinuria.

Proteinuria

Se recomienda siempre realizar biopsia en aquellos pacientes que presenten una proteinuria superior a 1 g, especialmente si están en tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina (IECA) o antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARA II), ya que en estos casos el riesgo de

enfermedades como la nefropatía crónica o la recidiva de la enfermedad primaria es mayor.

Por otra parte, existe aún en la actualidad poca experiencia en la realización de biopsias en pacientes con valores de proteinuria entre 0,5-1 g (con o sin tratamiento con IECAs o ARA II) para determinar si el diagnóstico histológico puede ayudar a modificar la historia natural de las lesiones. En este sentido, se aconseja a los centros que registren los datos de las biopsias que realicen en este perfil de pacientes para poder realizar recomendaciones al respecto más adelante.

Alteraciones del sedimento

Ante la presencia de alteraciones del sedimento en los pacientes con trasplante renal (microhematuria persistente o cilindruuria) debería indicarse en todos los casos una biopsia diagnóstica, siempre y cuando se hayan podido descartar previamente posibles causas urológicas que explicaran dichas alteraciones.

Cambios en la inmunosupresión

Es aconsejable la realización de una biopsia renal de forma previa a la introducción de cambios en el tratamiento inmunosupresor con el objetivo de poder valorar posteriormente la posible evolución de las lesiones del injerto con el nuevo régimen de fármacos.

Aspectos técnicos de la biopsia diagnóstica

Tamaño de la aguja y número de cilindros

La obtención de material suficiente y representativo de la corteza renal, junto con la minimización de las posibles morbilidades asociadas al proceso (tales como hematuria macroscópica, fístulas arterio-venosas o hematomas perirrenales^{4,74}, constituyen los principales objetivos de la biopsia diagnóstica en el paciente trasplantado. En la actualidad se dispone de 3 calibres de aguja para la realización de biopsias renales: 14, 16 y 18 G. Evidentemente, la aguja del calibre superior (14G) es la que permite obtener más cantidad de tejido pero su uso se asocia habitualmente a mayores molestias para el paciente⁷⁵, así como a una mayor incidencia y extensión de hematomas post-biopsia y a una reducción significativa del hematocrito⁷⁶. De hecho, el uso de este tipo de cilindros constituye en la actualidad una práctica bastante abandonada, prefiriéndose el uso de agujas del calibre 16G por ser las que aportan una mejor relación entre la obtención de una cantidad de tejido adecuado y el desarrollo de complicaciones. En general se recomienda obtener siempre 2 cilindros para asegurar un tamaño de muestra adecuado.

Por otra parte, y en la medida de lo posible, es aconsejable que las biopsias las realicen personal experimentado mediante guía ultrasonográfica. También se recomienda el uso de pistolas automáticas frente a la realización de biopsias manuales.

Procesamiento

En este apartado se recomienda en primer lugar observar los cilindros obtenidos en la biopsia con una lupa estereoscópica con el objetivo de poder seleccionar el material más adecuado para el procesado de inmunofluorescencia y microscopía electrónica. Posteriormente, se deberá proceder a la inclusión del tejido elegido en parafina siguiendo la metodología descrita en el protocolo de Banff.

Todas las muestras deberán estudiarse con microscopía óptica mediante HE, PAS y tricómico de Masson. Se recomienda también recoger una muestra de tejido congelado para la determinación de inmunoglobulinas y complemento mediante técnicas de inmunofluorescencia, especialmente en las biopsias realizadas a partir de los 6 meses de trasplante, aunque también es recomendable realizar dichas determinaciones en los primeros 6 meses. En este sentido, el depósito de C4d en los capilares peritubulares ha sido asociado tanto con el rechazo agudo como con el deterioro progresivo de la función del injerto⁷⁷⁻⁷⁹, por lo que en general se deberán teñir con C4d todas las biopsias que se realizan por motivos diagnósticos (preferiblemente con inmunofluorescencia, ya que ofrece una mayor sensibilidad y facilidad de observación)⁸⁰. Por otra parte, en aquellas situaciones en las que se requieran técnicas especiales de inmunohistoquímica (como por ejemplo el poliovirus, el CMV o los linfomas), éstas se realizarán por indicación del patólogo cuando exista la sospecha clínica o patológica sobre el material incluido en parafina, para lo que será necesario realizar nuevas secciones histológicas sobre el mismo. Del mismo modo, y aunque la utilización de técnicas para la caracterización de poblaciones leucocitarias que infiltran el riñón no está estandarizada, existen datos que la persistencia de ciertas células, como macrófagos o células B, se asocian a un peor pronóstico⁸¹⁻⁸⁴, por lo que se anima a los patólogos a realizar estas determinaciones y a reportar más datos que aumenten el conocimiento en este área.

Finalmente, también es aconsejable procesar una muestra de tejido de la biopsia para microscopía electrónica especialmente en las biopsias que se realizan a partir del sexto mes, si bien dicho procesamiento podría ser también diagnóstico en el post-trasplante inmediato (como es el caso de la recidiva precoz de la glomeruloesclerosis segmentaria y focal). Dichas muestras se estudiarán en aquellas situaciones en las que no se llega a un diagnóstico con las técnicas anteriores o cuando el patólogo lo considere necesario. En este sentido, la microscopía electrónica es especialmente útil en los casos en los que se plantea un diagnóstico diferencial entre patrones de lesión glomerular similares (glomerulonefritis mesangiocapilar, microangiopatía trombótica en fase crónica o glomerulopatía del trasplante) y para demostrar la «capilariopatía» del capilar peritubular^{85,86}.

Informe de la biopsia

Se recomienda que en el informe de las biopsias el patólogo reporte la evaluación de la severidad de las lesiones en cada

compartimiento renal de acuerdo con los criterios de Banff³¹. También se debería incluir el número de glomérulos presentes en la muestra y el porcentaje de glomérulos esclerosados, los diagnósticos de la biopsia y cualquier otro tipo de comentario que el patólogo considere de interés. Además en los casos en los que se disponga de la biopsia del donante, es aconsejable que el informe del patólogo incluya un comentario sobre la progresión de la lesión observada en la biopsia actual.

Biopsias de protocolo

Hoy en día existe evidencia de que las biopsias de protocolo constituyen un mediada subordinada de la supervivencia del injerto³ y de ahí su interés creciente en su inclusión como variable secundaria en los ensayos clínicos de trasplante⁸⁷. Sin embargo, no existe aún suficiente información que permita recomendar la utilización de las biopsias de protocolo con el objetivo de modificar la inmunosupresión en los pacientes trasplantados de acuerdo con los hallazgos histológicos, por lo que el presente grupo de consenso recomienda la inclusión de biopsias de protocolo en todos los ensayos clínicos de comparación de los distintos fármacos inmunosupresores.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean agradecer a Novartis Pharmaceuticals Inc su colaboración en la organización de la reunión de consenso realizada en Toledo, así como el soporte editorial de Ogilvy Healthworld Barcelona.

El presente documento de consenso está revisado y avalado por la Sociedad Madrileña de Trasplantes.

BIBLIOGRAFÍA

1. Valentín MO, Garrido G, Martín Escobar E, De la Rosa G, Mahillo B, Domínguez-Gil B y cols. [Donation and kidney transplantation activity in Spain. 2006]. *Nefrología* 2007; 27 (4): 434-8.
2. El-Husseini A, Sabry A, Zahran A, Shoker A. Can donor implantation renal biopsy predict long-term renal allograft outcome? *Am J Nephrol* 2007; 27 (2): 144-51.
3. Serón D, Moreso F. Protocol biopsies in renal transplantation: prognostic value of structural monitoring. *Kidney Int* 2007; 72 (6): 690-7.
4. Moreso F, Serón D, Blanco J, Suárez M, De Gracia R, Sánchez-Plumed J y cols. Indicación, procesamiento y diagnóstico de biopsias realizadas en España en pacientes con trasplante renal durante el año 2004. Presentado en el Congreso de la Sociedad Española de Nefrología, Cádiz, España. Octubre de 2007 [Póster # 141].
5. Gaber LW, Gaber AO, Tolley EA, Hathaway DK. Prediction by post-transvascularization biopsies of cadaveric kidney allografts of rejection, graft loss, and preservation nephropathy. *Transplantation* 1992; 53 (6): 1219-25.
6. Lee S, Kim JS, Cho MH, Chae DW, Kim HJ, Nam ES y cols. Relationship of renal implantation biopsies and acute rejection during the immediate posttransplantation period. *Transplant Proc* 1998; 30 (7): 3070-1.
7. Oberbauer R, Rohrmoser M, Regele H, Muhlbacher F, Mayer G. Apoptosis of tubular epithelial cells in donor kidney biopsies predicts early renal allograft function. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 (9): 2006-13.

8. Gaber LW, Moore LW, Alloway RR, Amiri MH, Vera SR, Gaber AO. Glomerulosclerosis as a determinant of posttransplant function of older donor renal allografts. *Transplantation* 1995; 60 (4): 334-9.
9. Karpinski J, Lajoie G, Cattran D, Fenton S, Zaltzman J, Cardella C y cols. Outcome of kidney transplantation from high-risk donors is determined by both structure and function. *Transplantation* 1999; 67 (8): 1162-7.
10. Eapen G, Hinduja A, Abraham G, Kuruvilla S, Panicker V, Thirumalai R y cols. Does implantation biopsy help in predicting renal allograft management and outcome? *Transplant Proc* 2000; 32 (7): 1795.
11. Kuypers DR, Chapman JR, O'Connell PJ, Allen RD, Nankivell BJ. Predictors of renal transplant histology at three months. *Transplantation* 1999; 67 (9): 1222-30.
12. Bosmans JL, Woestenburg A, Ysebaert DK, Chapelle T, Helbert MJ, Corthouts R y cols. Fibrous intimal thickening at implantation as a risk factor for the outcome of cadaveric renal allografts. *Transplantation* 2000; 69 (11): 2388-94.
13. Randhawa PS, Minervini MI, Lombardero M, Duquesnoy R, Fung J, Shapiro R y cols. Biopsy of marginal donor kidneys: correlation of histologic findings with graft dysfunction. *Transplantation* 2000; 69 (7): 1352-7.
14. Ciccirelli J, Cho Y, Mateo R, El-Shahawy M, Iwaki Y, Selby R. Renal biopsy donor group: the influence of glomerulosclerosis on transplant outcomes. *Transplant Proc* 2005; 37 (2): 712-3.
15. Howie AJ, Ferreira MA, Lipkin GW, Adu D. Measurement of chronic damage in the donor kidney and graft survival. *Transplantation* 2004; 77 (7): 1058-65.
16. Ugarte R, Kraus E, Montgomery RA, Burdick JF, Ratner L, Haas M y cols. Excellent outcomes after transplantation of deceased donor kidneys with high terminal creatinine and mild pathologic lesions. *Transplantation* 2005; 80 (6): 794-800.
17. Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DR, Cheung E, Allen RD, O'Connell PJ y cols. Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome. *Transplantation* 2001; 71 (4): 515-23.
18. Chapman JR. Longitudinal analysis of chronic allograft nephropathy: clinicopathologic correlations. *Kidney Int Suppl* 2005; (99): S108-12.
19. Nankivell BJ, Borrows RJ, Fung CL, O'Connell PJ, Chapman JR, Allen RD. Delta analysis of posttransplantation tubulointerstitial damage. *Transplantation* 2004; 78 (3): 434-41.
20. Cosio FG, Grande JP, Larson TS, Gloor JM, Velosa JA, Textor SC y cols. Kidney allograft fibrosis and atrophy early after living donor transplantation. *Am J Transplant* 2005; 5 (5): 1130-6.
21. Lu AD, Desai D, Myers BD, Dafoe DC, Alfrey EJ. Severe glomerular sclerosis is not associated with poor outcome after kidney transplantation. *Am J Surg* 2000; 180 (6): 470-4.
22. Vázquez Martul E, Veiga Barreiro A. Importance of kidney biopsy in graft selection. *Transplant Proc* 2003; 35 (5): 1658-60.
23. Epstein M. Aging and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7 (8): 1106-22.
24. Baylis C, Corman B. The aging kidney: insights from experimental studies. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9 (4): 699-709.
25. Rao KV, Kasiske BL, Odlund MD, Ney AL, Andersen RC. Influence of cadaver donor age on posttransplant renal function and graft outcome. *Transplantation* 1990; 49 (1): 91-5.
26. Terasaki PI, Gjertson DW, Cecka JM, Takemoto S, Cho YW. Significance of the donor age effect on kidney transplants. *Clin Transplant* 1997; 11 (5 Pt 1): 366-72.
27. Remuzzi G, Cravedi P, Perna A, Dimitrov BD, Turturro M, Locatelli G y cols. Long-term outcome of renal transplantation from older donors. *N Engl J Med* 2006; 354 (4): 343-52.
28. Remuzzi G, Grinyo J, Ruggenenti P, Beatini M, Cole EH, Milford EL y cols. Early experience with dual kidney transplantation in adults using expanded donor criteria. Double Kidney Transplant Group (DKG). *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 (12): 2591-8.
29. Lopes JA, Moreso F, Riera L, Carrera M, Ibernón M, Fulladosa X y cols. Evaluation of pre-implantation kidney biopsies: comparison of Banff criteria to a morphometric approach. *Kidney Int* 2005; 67 (4): 1595-600.
30. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB y cols. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993; 44 (2): 411-22.
31. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T y cols. The Banff '97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999; 55 (2): 713-23.
32. Racusen LC, Colvin RB, Solez K, Mihatsch MJ, Halloran PF, Campbell PM y cols. Antibody-mediated rejection criteria—an addition to the Banff '97 classification of renal allograft rejection. *Am J Transplant* 2003; 3 (6): 708-14.
33. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE y cols. 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.
34. Colvin RB, Cohen AH, Saiontz C, Bonsib S, Buick M, Burke B y cols. Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection: reproducibility, sensitivity, and clinical correlation. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8 (12): 1930-41.
35. Mueller A, Schnuelle P, Waldherr R, Van der Woude FJ. Impact of the Banff '97 classification for histological diagnosis of rejection on clinical outcome and renal function parameters after kidney transplantation. *Transplantation* 2000; 69 (6): 1123-7.
36. 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 (24): 2326-33.
37. Rush DN, Jeffery JR, Gough J. Sequential protocol biopsies in renal transplant patients. Clinico-pathological correlations using the Banff schema. *Transplantation* 1995; 59 (4): 511-4.
38. 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 (2): 242-9.
39. Mengel M, Gwinner W, Schwarz A, Bajeski R, Franz I, Brocker V y cols. Infiltrates in protocol biopsies from renal allografts. *Am J Transplant* 2007; 7 (2): 356-65.
40. Legendre C, Thervet E, Skhiri H, Mamzer-Bruneel MF, Cantarovich F, Noel LH y cols. Histologic features of chronic allograft nephropathy revealed by protocol biopsies in kidney transplant recipients. *Transplantation* 1998; 65 (11): 1506-9.
41. Moreso F, Ibernón M, Goma M, Carrera M, Fulladosa X, Hueso M y cols. 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.
42. Choi BS, Shin MJ, Shin SJ, Kim YS, Choi YJ, Moon IS y cols. Clinical significance of an early protocol biopsy in living-donor renal transplantation: ten-year experience at a single center. *Am J Transplant* 2005; 5 (6): 1354-60.
43. Serón D, Moreso F, Fulladosa X, Hueso M, Carrera M, Grinyo JM. Reliability of chronic allograft nephropathy diagnosis in sequential protocol biopsies. *Kidney Int* 2002; 61 (2): 727-33.
44. Fulladosa X, Moreso F, Torras J, Hueso M, Grinyo JM, Serón D. Structural and functional correlations in stable renal allografts. *Am J Kidney Dis* 2003; 41 (5): 1065-73.
45. Isoniemi HM, Krogerus L, Von Willebrand E, Taskinen E, Ahonen J, Hayry P. Histopathological findings in well-functioning, long-term renal allografts. *Kidney Int* 1992; 41 (1): 155-60.
46. Yilmaz S, Tomlanovich S, Mathew T, Taskinen E, Paavonen T, Navarro M y cols. Protocol core needle biopsy and histologic Chronic Allograft Damage Index (CADi) as surrogate end point for long-term graft survival in multicenter studies. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (3): 773-9.
47. Dimeny E, Wahlberg J, Larsson E, Fellstrom B. Can histopathological findings in early renal allograft biopsies identify patients at risk for chronic vascular rejection? *Clin Transplant* 1995; 9 (2): 79-84.

48. Serón D, Moreso F, Bover J, Condom E, Gil-Vernet S, Canas C y cols. Early protocol renal allograft biopsies and graft outcome. *Kidney Int* 1997; 51 (1): 310-6.
49. Serón D, Moreso F, Ramón JM, Hueso M, Condom E, Fulladosa X y cols. Protocol renal allograft biopsies and the design of clinical trials aimed to prevent or treat chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2000; 69 (9): 1849-55.
50. Cosio FG, Grande JP, Wadei H, Larson TS, Griffin MD, Stegall MD. Predicting subsequent decline in kidney allograft function from early surveillance biopsies. *Am J Transplant* 2005; 5 (10): 2464-72.
51. Shishido S, Asanuma H, Nakai H, Mori Y, Satoh H, Kamimaki I y cols. The impact of repeated subclinical acute rejection on the progression of chronic allograft nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (4): 1046-52.
52. Rush D, Nickerson P, Gough J, McKenna R, Grimm P, Cheang M y cols. Beneficial effects of treatment of early subclinical rejection: a randomized study. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9 (11): 2129-34.
53. Buehrig CK, Lager DJ, Stegall MD, Kreps MA, Kremers WK, Gloor JM y cols. Influence of surveillance renal allograft biopsy on diagnosis and prognosis of polyomavirus-associated nephropathy. *Kidney Int* 2003; 64 (2): 665-73.
54. Lachenbruch PA, Rosenberg AS, Bonvini E, Cavaille-Coll MW, Colvin RB. Biomarkers and surrogate endpoints in renal transplantation: present status and considerations for clinical trial design. *Am J Transplant* 2004; 4 (4): 451-7.
55. Larson TS, Dean PG, Stegall MD, Griffin MD, Textor SC, Schwab TR y cols. Complete avoidance of calcineurin inhibitors in renal transplantation: a randomized trial comparing sirolimus and tacrolimus. *Am J Transplant* 2006; 6 (3): 514-22.
56. Vincenti F, Larsen C, Durrbach A, Wekerle T, Nashan B, Blanco G y cols. Costimulation blockade with belatacept in renal transplantation. *N Engl J Med* 2005; 353 (8): 770-81.
57. Solez K, Vincenti F, Filo RS. Histopathologic findings from 2-year protocol biopsies from a US multicenter kidney transplant trial comparing tacrolimus versus cyclosporine: a report of the FK506 Kidney Transplant Study Group. *Transplantation* 1998; 66 (12): 1736-40.
58. Flechner SM, Kurian SM, Solez K, Cook DJ, Burke JT, Rollin H y cols. De novo kidney transplantation without use of calcineurin inhibitors preserves renal structure and function at two years. *Am J Transplant* 2004; 4 (11): 1776-85.
59. Morales J, Andrés A, Pallardó L, Capdevila L, Campistol J, Gil Vernet J y cols. Trasplante renal en pacientes de edad avanzada con un riñón de donante añoso. *Nefrología* 1998; 18 (Supl. 5): 32-47.
60. Rosengard BR, Feng S, Alfrey EJ, Zaroff JG, Emond JC, Henry ML y cols. Report of the Crystal City meeting to maximize the use of organs recovered from the cadaver donor. *Am J Transplant* 2002; 2 (8): 701-11.
61. Whiting JF. Clinical and economic outcomes of the use of expanded criteria donors in renal transplantation. *Semin Dial* 2000; 13 (5): 316-9.
62. Metzger RA, Delmonico FL, Feng S, Port FK, Wynn JJ, Merion RM. Expanded criteria donors for kidney transplantation. *Am J Transplant* 2003; 3 Supl. 4: 114-25.
63. Ojo AO, Leichtman AB, Punch JD, Hanson JA, Dickinson DM, Wolfe RA y cols. Impact of pre-existing donor hypertension and diabetes mellitus on cadaveric renal transplant outcomes. *Am J Kidney Dis* 2000; 36 (1): 153-9.
64. Scheiden R, Sand J, Tanous AM, Knolle U, Capesius C, Wagnon MC y cols. Accuracy of frozen section diagnoses of breast lesions after introduction of a national programme in mammographic screening. *Histopathology* 2001; 39 (1): 74-84.
65. Kok, LP, Boon ME: *Microwaves for the art of microscopy*. Coulomb Press Leyden, Leyden, 2003, ISBN 90-71421-41-4.
66. Junta de Andalucía, Consejería de Salud. Proceso asistencial: Tratamiento sustitutivo de la insuficiencia renal crónica: diálisis y trasplante renal (consultado en <http://www.juntadeandalucia.es/salud/procesos/documentos.asp?idp=154> el 10 de diciembre del 2007).
67. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M y cols. Banff' 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am J Transplant* 2008; 8 (4): 753-60.
68. Perico N, Cattaneo D, Sayegh MH, Remuzzi G. Delayed graft function in kidney transplantation. *Lancet* 2004; 364 (9447): 1814-27.
69. Koning OH, Ploeg RJ, Van Bockel JH, Groenewegen M, Van der Woude FJ, Persijn GG y cols. Risk factors for delayed graft function in cadaveric kidney transplantation: a prospective study of renal function and graft survival after preservation with University of Wisconsin solution in multi-organ donors. European Multicenter Study Group. *Transplantation* 1997; 63 (11): 1620-8.
70. European Best Practice Guidelines for Renal Transplantation (part 1). *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15 Supl. 7: 1-85.
71. Vadivel N, Tullius SG, Chandraker A. Chronic allograft nephropathy. *Semin Nephrol* 2007; 27 (4): 414-29.
72. Paul LC, Hayry P, Foegh M, Dennis MJ, Mihatsch MJ, Larsson E y cols. Diagnostic criteria for chronic rejection/accelerated graft atherosclerosis in heart and kidney transplants: joint proposal from the Fourth Alexis Carrel Conference on Chronic Rejection and Accelerated Arteriosclerosis in Transplanted Organs. *Transplant Proc* 1993; 25 (2): 2022-3.
73. Dudley C, Pohanka E, Riad H, Dedochova J, Wijngaard P, Sutter C y cols. Mycophenolate mofetil substitution for cyclosporine a in renal transplant recipients with chronic progressive allograft dysfunction: the «creeping creatinine» study. *Transplantation* 2005; 79 (4): 466-75.
74. Vidhun J, Masciandro J, Varich L, Salvatierra O, Jr., Sarwal M. Safety and risk stratification of percutaneous biopsies of adult-sized renal allografts in infant and older pediatric recipients. *Transplantation* 2003; 76 (3): 552-7.
75. Nicholson ML, Wheatley TJ, Doughman TM, White SA, Morgan JD, Veitch PS y cols. A prospective randomized trial of three different sizes of core-cutting needle for renal transplant biopsy. *Kidney Int* 2000; 58 (1): 390-5.
76. Kim D, Kim H, Shin G, Ku S, Ma K, Shin S y cols. A randomized, prospective, comparative study of manual and automated renal biopsies. *Am J Kidney Dis* 1998; 32 (3): 426-31.
77. Mauyyedi S, Crespo M, Collins AB, Schneeberger EE, Pascual MA, Saidman SL y cols. Acute humoral rejection in kidney transplantation: II. Morphology, immunopathology, and pathologic classification. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 (3): 779-87.
78. Mauyyedi S, Pelle PD, Saidman S, Collins AB, Pascual M, Tolkooff-Rubin NE y cols. Chronic humoral rejection: identification of antibody-mediated chronic renal allograft rejection by C4d deposits in peritubular capillaries. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12 (3): 574-82.
79. Regele H, Bohmig GA, Habicht A, Gollowitzer D, Schillinger M, Rockenschaub S y cols. Capillary deposition of complement split product C4d in renal allografts is associated with basement membrane injury in peritubular and glomerular capillaries: a contribution of humoral immunity to chronic allograft rejection. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13 (9): 2371-80.
80. Seemayer CA, Gaspert A, Nickleit V, Mihatsch MJ. C4d staining of renal allograft biopsies: a comparative analysis of different staining techniques. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22 (2): 568-76.
81. Serón D, O'Valle F, Moreso F, Goma M, Hueso M, Grinyo JM y cols. Immunophenotype of infiltrating cells in protocol renal allograft biopsies from tacrolimus-versus cyclosporine-treated patients. *Transplantation* 2007; 83 (5): 649-52.
82. Moreso F, Serón D, O'Valle F, Ibernón M, Goma M, Hueso M y cols. Immunophenotype of glomerular and interstitial infiltrating cells in protocol renal allograft biopsies and histological diagnosis. *Am J Transplant* 2007; 7 (12): 2739-47.
83. Kayler LK, Lakkis FG, Morgan C, Basu A, Blisard D, Tan HP y cols. Acute cellular rejection with CD20-positive lymphoid clusters in kidney transplant patients following lymphocyte depletion. *Am J Transplant* 2007; 7 (4): 949-54.

84. Grimbert P, Mansour H, Desvaux D, Roudot-Thoraval F, Audard V, Dahan K y cols. The regulatory/cytotoxic graft-infiltrating T cells differentiate renal allograft borderline change from acute rejection. *Transplantation* 2007; 83 (3): 341-6.
85. Aita K, Yamaguchi Y, Horita S, Ohno M, Tanabe K, Fuchinoue S y cols. Thickening of the peritubular capillary basement membrane is a useful diagnostic marker of chronic rejection in renal allografts. *Am J Transplant* 2007; 7 (4): 923-9.
86. Ivanyi B, Kemeny E, Szederkenyi E, Marofka F, Szenohradszky P. The value of electron microscopy in the diagnosis of chronic renal allograft rejection. *Mod Pathol* 2001; 14 (12): 1200-8.
87. Oberbauer R, Segoloni G, Campistol JM, Kreis H, Mota A, Lawen J y cols. Early cyclosporine withdrawal from a sirolimus-based regimen results in better renal allograft survival and renal function at 48 months after transplantation. *Transpl Int* 2005; 18 (1): 22-8.