

Citohistopatología del rechazo renal

R. Mañalich, C. Cuéllar, M. Lagarde y P. Jiménez

Instituto de Nefrología. Habana (Cuba).

El rechazo del alotransplante renal es un complicado proceso inflamatorio producido por una cascada de elementos celulares y moleculares que, si no es prevenida o revertida a tiempo, puede llevar a la destrucción del riñón trasplantado¹.

En el riñón trasplantado existe un continuo tráfico de leucocitos. Estas células entran al riñón por vía de la circulación sanguínea y salen del mismo por la vía linfática, circulando a lo largo de la matriz extracelular y el intersticio renal.

Las células involucradas en la reacción de rechazo incluyen linfocitos T CD8+ citotóxicos y DC4+ facilitadores, células B formadoras de anticuerpos, natural killer (NK), monocitos y macrófagos².

Tanto las subclases CD8+ citotóxicos como CD4+ facilitadores tienen un efecto citotóxico directo contra las células del aloinjerto. La diferencia estriba en que los linfocitos CD4+ son atraídos por las células que expresan en su superficie antígenos de clase II, mientras que los linfocitos CD8+ por las células que expresan en su superficie antígenos de clase I.

En el aloinjerto hay una marcada infiltración de células mononucleadas en las primeras semanas haya o no rechazo³. Dentro de ellas se han identificado linfocitos CD8+, CD4+, NK y células B. Un marcador importante del daño tisular formado por estas células es el aumento de la inmunogenicidad del riñón por un incremento en la expresión de los antígenos MHC en la superficie de las células y la infiltración de estructuras vitales.

La identificación del infiltrado y los receptores de interleucina 2 (IL-2R), así como el daño al endotelio vascular y al glomérulo, son más importantes que el infiltrado celular mononuclear del intersticio renal, por grande que éste sea⁴.

Biopsia renal

El examen directo de los cambios citohistopatológicos del aloinjerto renal mediante la biopsia renal (BR) es el procedimiento idóneo para el diagnóstico de los eventos inflamatorios y estructurales que están ocurriendo en el ri-

ñón trasplantado y se realiza con tres tipos diferentes de agujas: una aguja gruesa (trocar de Menghine o Tru-cut), una aguja mediana (Biofty-cut)⁵ y una aguja fina con trocar espinal número 22G, para realizar la biopsia por aspiración⁶.

A la histopatología convencional se le adicionan las técnicas de inmunohistoquímica con el uso de anticuerpos monoclonales en el tejido con el fin de precisar las subpoblaciones celulares que infiltran al riñón en las distintas fases del trasplante y que por la simple morfología resultan indistinguibles⁷⁻⁹.

De igual manera se realiza la inmunocitoquímica para poner en evidencia las células CD8+, CD4+, macrófagos y las células renales que expresan los antígenos clase II y los receptores de transferrina e IL-2R.

Clasificación histopatológica del rechazo renal

La histopatología ha sido la base fundamental para clasificar los rechazos en hiperagudo, acelerado, agudo y crónico.

Rechazo hiperagudo

El rechazo hiperagudo que ocurre durante el acto quirúrgico o dentro de las primeras horas de realizado el trasplante renal (TR) y que obedece a la existencia de anticuerpos citotóxicos circulantes en contra de los antígenos HLA o de incompatibilidad ABO. Su característica histopatológica es muy típica, encontrándose microtrombos vasculares con apolotonamiento de hematíes en los capilares glomerulares y peritubulares, infiltración intersticial de polimorfonucleares, trombos de pequeños vasos y necrosis cortical.

El rechazo acelerado puede tener también un mecanismo humoral de producción y es posible observarlo en el TR de donante vivo, presentando un cuadro histopatológico similar al anterior.

Rechazo agudo

Excluyendo estos dos tipos de rechazos, que pueden ser evitados, el rechazo agudo del aloinjerto es el más frecuente y ocurre entre el quinto día y los tres meses de

Dr. R. Mañalich
Instituto de Nefrología
La Habana (Cuba)

realizado, aunque puede aparecer en cualquier momento de su evolución.

Por la histopatología se observa una nefritis intersticial, con edema e infiltración cortical por células mononucleadas, invasión de la membrana basal de los túbulos, presencia de linfocitos entre las células epiteliales y necrosis tubular aguda (NTA).

El componente humoral está dado por una inflamación del endotelio del capilar glomerular y peritubular, necrosis fibrinoide de arteriolas, trombos de fibrina con agregado de plaquetas en el ovillo glomerular y en los capilares peritubulares.

Para discernir en la composición y la capacidad funcional de las células infiltrantes se pueden utilizar anticuerpos monoclonales en el tejido para identificar linfocitos CD8+, CD4+, NK, macrófagos, expresión de antígenos clase II, receptores de transferrina e IL-2R¹⁰.

El examen histopatológico siempre se realiza para confirmar o no un diagnóstico; pero nunca puede utilizarse como método de vigilancia por la morbilidad que puede ocasionar la BR.

Citología renal por punción aspiración con aguja fina

La biopsia aspiración con aguja fina (BAAF) se puede realizar como un método de vigilancia de la crisis de rechazo agudo (CRA), ya que es posible realizarla daramente, si es necesario, sin daño para el riñón ni para el paciente. Brinda, además, un cuadro dinámico de la inflamación intrarrenal, su respuesta al tratamiento, así como los cambios que se producen en las células parenquimatosas renales¹¹.

El examen citopatológico identifica dos tipos celulares: las células parenquimatosas (endoteliales y tubulares) y las células inflamatorias que infiltran el riñón⁶.

Las células parenquimatosas se clasifican en cuatro grados según el daño estructural y las células inflamatorias son muy bien definidas en las láminas coloreadas con May Grumwald-Giemsa, apreciándose con mucha mayor definición que con la histopatología convencional.

La cuantificación de las células inflamatorias se realiza después de la sustracción de la contaminación con sangre en la toma de la biopsia y se corrige por un factor que está en relación con la importancia que tengan las células en la reacción de rechazo. La suma de todos los incrementos celulares corregidos da el incremento corregido total (TCI), que si es superior a 3 indica un proceso inflamatorio intrarrenal.

En la CRA celular se aprecia un incremento de la actividad blástica: linfoblastos, plasmoblastos-plasmocitos, monoblastos y linfocitos activados, que puede estar precedido por un incremento de los monocitos y linfocitos adultos¹²⁻¹⁴.

Esta actividad blástica en la citología aspirativa es una traducción morfológica celular de la inmunoadactivación del

rechazo. Los cambios celulares parenquimatosos, con presencia de vacuolización, inclusiones citoplasmáticas y necrosis, son una expresión de la capacidad citodestructiva de las células efectoras.

El incremento celular del proceso inflamatorio puede, en ocasiones, realizarse a base de monoblastos-monocitos-macrófagos, como suele observarse en el rechazo vascular irreversible.

La inmunocitoquímica, como la inmunohistoquímica, ayudan a discernir el tipo de célula mononucleada y la expresión en la superficie celular de los antígenos clase II¹⁵⁻¹⁸ y los IL-2R¹⁹; pero esta técnica no aporta más datos que el que ofrece el citodiagnóstico convencional con láminas teñidas con May Grumwald-Giemsa²⁰.

Comportamiento de la citopatología renal en el marco de una crisis de rechazo

En 42 pacientes con TR de riñón de cadáver se realizaron 256 BAAF durante el primer mes de realizado el injerto. La CRA se presentó en 35 pacientes y fue diagnosticada retrospectivamente por los datos clínicos, exámenes de laboratorio y respuesta al tratamiento. Se utilizó azatioprina (Aza) y esteroides como tratamiento inmunosupresor.

El comportamiento de la actividad inflamatoria intrarrenal durante la evolución del rechazo puede verse en la figura 1.

Tres días antes del inicio de la crisis, el TCI promedio fue de $4,0 \pm 2,1$ (1 SD). Dos días antes del comienzo del rechazo, el TCI promedio fue de $7,7 \pm 4,5$ (1 SD). Entre un día antes y el mismo día de iniciado el rechazo, el TCI promedio fue de $5,0 \pm 3,6$ (1 SD).

En los primeros tres días de iniciado el rechazo, el TCI promedio fue de $5,0 \pm 5,3$ (1 SD). En los primeros cinco días de establecido el rechazo, el TCI promedio fue de $3,5 \pm 2,3$ (1 SD).

A siete pacientes que no hicieron CRA se les tomaron 25 BAAF, y el TCI promedio en todos los períodos fue de $2,43 \pm 1,17$ (SD).

La realización sistemática de la BAAF a partir de las 48 horas de realizado el TR, y con una periodicidad de dos o tres veces por semana, puede poner en evidencia el inicio de una inflamación intrarrenal cuando todavía no tenga trascendencia clínica, como ocurre en la NTA del período inmediato al TR o cuando la función renal se mantiene estable o se inicia la recuperación de la NTA.

Durante el evento inflamatorio se aprecia un deterioro estructural de las células parenquimatosas, las que se muestran más vacuoladas, con inclusiones citoplasmáticas y en ocasiones necrosadas, demostrando el efecto citotóxico de la reacción de rechazo.

La citología aspirativa se debe complementar con la BR convencional para confirmar una crisis de rechazo o cuando no hay respuesta al tratamiento o se prolongue la fase de NTA.

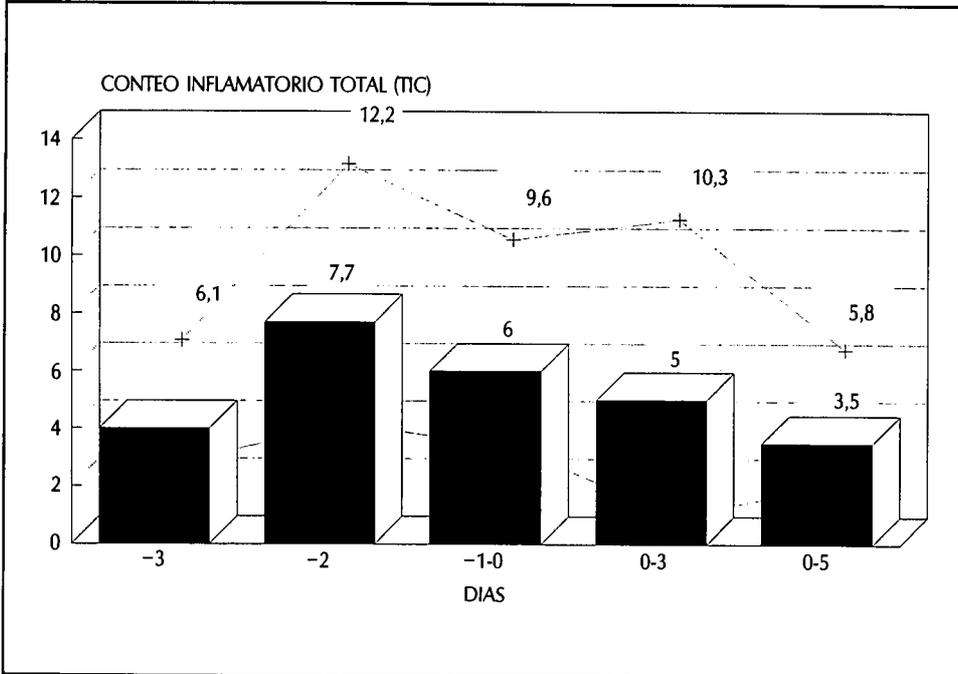


Fig. 1.—Citología renal. Actividad inflamatoria y rechazo.

Correlación entre la histopatología y la citología renal en la crisis aguda de rechazo

Algunos autores han señalado la buena correlación que existe entre la BAAF y la BR²¹⁻²³. En 25 pacientes que presentaron una CRA se realizó

BR percutánea convencional. A ocho pacientes se les practicó en el mismo momento BAAF y a los 17 restantes entre 24 y 48 horas de haberles realizado la biopsia renal.

La relación entre ambos métodos se observa en la figura 2. Todos los casos que no muestran rechazo por la his-

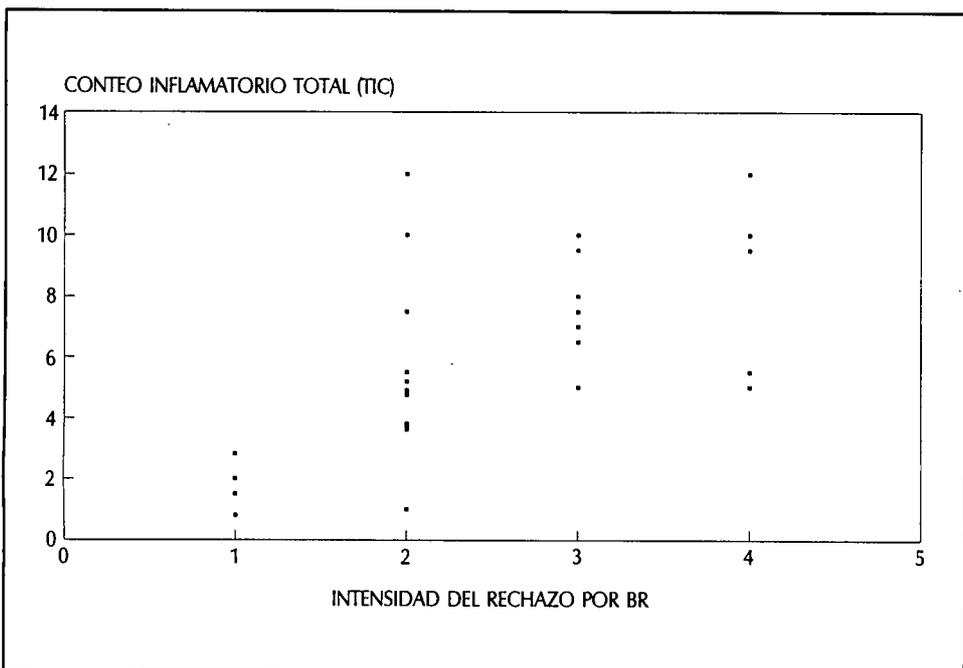


Fig. 2.—Citología renal. Comparación entre BAAF y BR.

topatología tuvieron una citología aspirativa sin inflamación intrarrenal. De los 10 pacientes que tuvieron un rechazo agudo ligero en la muestra histológica, sólo uno no presentó inflamación intrarrenal en la citología. Hubo total acuerdo entre ambos métodos en las CRA moderado y severo.

Sensibilidad y especificidad de la citología renal aspirativa

Para conocer si la BAAF es un buen método de vigilancia para el diagnóstico de la CRA y la nefrotoxicidad por ciclosporina (CsA) se midió la sensibilidad y especificidad de 226 BAAF realizados a 81 pacientes con TR de donante de cadáver durante su primer mes de evolución.

En 32 pacientes se utilizó tratamiento triple: CsA, 6 mg/kg/día; Aza, 2 mg/kg/día, y prednisona, 0,5-0,25 mg/kg/día. En 49 pacientes se administró Aza y prednisona. En cuatro pacientes se administró IORT-3 de forma profiláctica, 5 mg/kg/día durante 15 días.

Se diagnosticaron 43 crisis de rechazo agudo (35 rechazos celulares y ocho vasculares).

La nefrotoxicidad por CsA se diagnosticó por la medición de la concentración de CsA en sangre (kit monoclonal Sandoz) y la mejoría de la función renal al reducir o suspender la droga.

La BAAF mostró actividad inflamatoria intrarrenal en 41 pacientes (sensibilidad 95 %), con dos casos falsos negativos. De los 38 pacientes que no hicieron CRA, la citología renal fue negativa en 28 (especificidad del 73 %), con 10 casos falsos positivos.

La eficiencia fue del 85 %; el valor predictivo positivo, del 80 %, y el valor predictivo negativo, del 93 %²⁴.

El TCI en las 155 BAAF de los 43 pacientes con rechazo agudo fue de 5,44 ± 4,72. El TCI de las 71 BAAF en los 38 pacientes que no tuvieron rechazo fue de 1,75 ± 1,57.

De los ocho pacientes que tuvieron rechazo vascular importante, sólo dos presentaron la inflamación intrarrenal a base de monocitos-monoblastos-macrófagos, por lo que el rechazo vascular escapa al diagnóstico citológico en gran número de casos.

La microvacuolización isométrica de las células tubulares se observó en cuatro pacientes con nefrotoxicidad por CsA y en dos casos con NTA que no habían recibido la droga, por lo que su presencia no es específica de la nefrotoxicidad²⁵.

En nuestra experiencia, la microvacuolización isométrica tiene mayor valor como exponente de nefrotoxicidad por CsA si en las citologías aspirativas previas no estaba presente y si no se asocia a una reacción blástica.

Rechazo crónico

El rechazo crónico (RC) es un síndrome complejo en el que intervienen varios procesos de diferentes etiologías.

Desde el punto de vista histopatológico, el glomérulo es pequeño, isquémico; la membrana basal, plegada y engrosada, con incremento de la matriz mesangial, pudiendo estar los glomérulos hialinizados o esclerosados. Los cambios vasculares muestran proliferación de la íntima con obliteración de la luz, necrosis de la capa media, con cambios degenerativos de la lámina elástica interna. Hay atrofia tubular con fibrosis intersticial.

Parece existir similitud morfológica entre el rechazo vascular crónico y la forma acelerada de la arteriosclerosis.

El factor de crecimiento derivado de las plaquetas (PDGF) parece ser el mitógeno mayor para la proliferación del fibroblasto, de las células musculares lisas y las células mesangiales²⁶.

Otro factor que contribuye al desarrollo del RC es la hiperlipemia por su papel en el desarrollo de la aterosclerosis.

También interviene en la producción de este síndrome la hiperfiltración glomerular que ocurre como consecuencia de la reducción de la masa nefronal y que puede llevar a la glomerulosclerosis.

Conclusiones

Se puede afirmar que el examen histopatológico del injerto renal obtenido por BR percutánea convencional es el mejor método para reafirmar o negar una CRA, establecer el diagnóstico de rechazo hiperagudo y rechazo crónico²⁷. Ayuda además a determinar las alteraciones estructurales y vasculares del riñón trasplantado, así como el grado de NTA y la nefrotoxicidad por CsA. Sirve de guía, evalúa conductas terapéuticas y establece índices pronósticos.

La citología renal por medio de la BAAF sirve, en cambio, para vigilar el comienzo y duración del episodio inflamatorio, evaluar el grado de NTA y su recuperación o

Tabla I. Diferencias entre la histopatología y la citología renal en el rechazo agudo

	Biopsia renal	BAAF
Infiltración celular	Densidad distrib. Células mononuc. Fenotipo	Cuantif. inflam. Blastos Fenotipo
Inmunoactivación	IL-2R	IL-2R
Inmunogen.	Antígeno clase II	Antígeno clase II
Daño celular glomérulo	Glomerulopat. rechazo	—
Túbulo	Vacuol., atrofia, nec.	Inflam., vacuol., inc. necrosis
Vasos	Vasculitis	—
Intersticio	Edema	—
Morbilidad	+	—
Indicaciones	Confirmación	Vigilar, diag. precoz, ev. tto.
Periodicidad	Esporádica	Diaria (si necesario)

empeoramiento en el tiempo. Puede medir la respuesta al tratamiento de la CRA e identificar la nefrotoxicidad por CsA aisladamente o concomitando con una CRA.

Debido a su utilización sistemática e iterada, el mejor valor de la BAAF reside en poder diagnosticar una crisis de rechazo celular precozmente, durante la fase de NTA o en el período en que la función renal se recupera con descenso de los niveles de azoados o cuando la función renal se mantiene estable o se asocia una nefrotoxicidad por CsA. Las diferencias entre la BR convencional y la BAAF pueden verse en la tabla I.

La citología aspirativa no es un método que se ha desarrollado para reemplazar a la histopatología, sino que son dos procedimientos que brindan información diferente y que se complementan, por lo que deben ser usados en conjunto.

Bibliografía

1. Auchincloss H Jr y Sachs DH: *Transplantation and Graft Rejection: Fundamental Immunology*. Second Edition, edited William E. Paul. Raven Press Ltd., pp. 889-922, Nueva York, 1989.
2. Henny FC, Weennig JJ, Ludwin WM y cols.: Expression of HLA-DR antigens on peripheral blood T lymphocytes and renal graft tubular epithelial cells in association with graft rejection. *Transplantation*, 42:479-483, 1986.
3. Moreno RR, Pallardo LM, García J, Sánchez J y cols.: Relative value of interstitial infiltrate in acute rejection diagnosis after triple - drug immunosuppression. A retrospective morphologic analysis. *Transplantation Proc*, vol. XX, 4:599-600, 1989.
4. Hall BM: Cellular infiltrates in allografts. *Transplantation Proc*, vol. XIX, 1 (febrero):50-53, 1987.
5. Tufveson G, Hanaas E, Lindgren PG y cols.: A review of the Uppsala experience of Biopsy - Cut renal transplant biopsies. *Transplantation Proc*, vol. XXI, 4:3581-3582, 1989.
6. Hayry P, Von Willebrand E: Practical guidelines for fine needle aspiration biopsy of human renal allografts. *Ann Clin Res*, 13:288, 1991.
7. Bishop GA, Hall BM, Duggin GG, y cols.: Immunopathology of renal allograft rejection analysed with monoclonal antibodies to mononuclear cell markers. *Kidney Int*, 29:708-711, 1986.
8. Charpentier BM, Bach MA, Lang P y cols.: Phenotypic composition and in vitro functional capacities of unmodified fresh cells infiltrating acutely rejected human kidney allografts. *Transplantation*, 44:38, 1987.
9. Tatterman TH, Hanaas E, Bergstrom R y cols.: Immunologic diagnosis of kidney rejection using FACS analysis of graft-infiltrating functional and activated T and NK cell subsets. *Transplantation*, 49:817, 1989.
10. Waugh J, Bishop A, Hall BM y cols.: Assessment of fine needle aspiration biopsies from renal transplantation using monoclonal antibodies as lymphocyte markers. *Transplantation Proc*, XVIII:267, 1986.
11. Mañalich R, Lagarde M, Cuéllar C y Jiménez P: Citología renal por punción aspirativa con aguja fina en el trasplante renal. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*, 5 (1):58-67, 1989.
12. Hayry P, Von Willebrand E y cols.: Aspiratin cytology in organ transplantation. *Transplantation Rev*, vol 1:133-156, 1987.
13. Hayry P: Fine - Needle aspiration biopsy in renal transplantation. *Kidney Int*, 36:130-141, 1989.
14. González-Posada JM, García Castro MC, Torres A, Saledo E: Citología aspirativa en el trasplante. *Nefrología*, vol. X, 4:335-338, 1990.
15. González-Posada JM, García Castro MC, Losada M y cols.: Monoclonal analysis of fine needle aspiration biopsy in kidney allografts. *Nephrol Dial Transplant*, 5:226-231, 1990.
16. Wood RFM, Bolton EM, Thompson JF y cols.: Monoclonal antibodies and fine needle aspiration cytology in detecting renal allograft rejection. *Lancet*, 2:278, 1982.
17. Munné A, Serrano S, Mato E, Lloveras J y cols.: Diagnostic and prognostic value of HLA-DR expression in fine needle aspiracion cytology in renal grafts immunosupressed with cyclosporine. *Transplantation Proc*, vol. XX, 4:603-605, 1988.
18. Carrera M, Combalia N, Griñó JM, Castelao AM: HLA-DR antigen expression on tubular and endothelial cell from fine needle aspiration cytology. *Transplantation Proc*, vol. XX, 4:610-611, 1988.
19. Helderman JH, Hernández J, Glennie y Womble D: Analysis of the IL-2 receptor by monoclonal antibody of fine needle aspiration specimens. *Transplantation Proc*, vol. XXI, 4:3574-3575, 1989.
20. Van Oers MHJ, Surachno S, Wilmink JM: Infiltrate analysis by monoclonal antibodies does not contribute to the usefulness of fine needle aspiration biopsy. *Transplantation Proc*, vol. XIX, 1:1646-1649, 1987.
21. Egidi F, Banfi G, Bogetic J y cols.: Correlation between fine needle aspiration biopsy and renal biopsy in renal transplantation. *Transplantation Proc*, vol. XX, 4:589-591, 1988.
22. Mañalich R, Lagarde M, Cuéllar C, Jiménez P: Intrarenal inflammation during rejection crisis in renal allografts. Comparison between fine needle aspiration cytology and renal biopsy. *Transplantation Proc*, vol. XX, 4:601-602, 1988.
23. Hancock WW, Thompson NM, Atkins A: Composition of interstitial cellular infiltrate identified by monoclonal antibodies in renal allografts. *Transplantation*, 35:458, 1983.
24. Mañalich R, Cuéllar C, Lagarde M y Jiménez P: ¿Es el diagnóstico morfológico de la biopsia aspirativa con aguja fina del injerto un método de vigilancia útil en los centros de trasplante renal? *Nefrología*, vol. XII, 1:79-80, 1992.
25. González Posada JM, García Castro MC, Torres A y cols.: Análisis morfológico e inmunocitoquímico en la nefrotoxicidad por ciclosporina mediante citología aspirativa del injerto en el trasplante renal. *Nefrología*, vol. X, 4:423-430, 1990.
26. Fellstrom E, Dimeny E, Larsson E y cols.: Importance of PDGF receptor expression in accelerated atherosclerosis - chronic rejection. *Transplantation Proc*, vol. XXI, 4:3689-3691, 1989.
27. Seron D, Alexopoulos E, Raftery MJ y cols.: Diagnosis of rejection in renal allografts biopsy using presence of activated and proliferating cells. *Transplantation*, 47:811-816, 1989.