

TESIS DOCTORAL

**UNIVERSIDAD DE BARCELONA
FACULTAD DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS CLÍNICAS**

**ADAPTACION GLOMERULAR EN EL TRASPLANTE RENAL
EVALUADA MEDIANTE BIOPSIAS DE PROTOCOLO**

Gabriela Alperovich

**Directores: Dr. Daniel Serón
Dr. Francesc Moreso**

AGRADECIMIENTOS

Antes de entrar en el desarrollo formal de la tesis, quisiera hacer una pequeña introducción sobre lo que han sido los años de preparación de la misma.

He llegado a Barcelona, y más concretamente al Hospital de Bellvitge, en septiembre de 2002 teniendo como objetivos principales la profundización de mis conocimientos en el campo del trasplante renal y la ejecución de mi tesis doctoral. Unos meses atrás, el Dr. Grinyó me había aceptado como becario en su servicio. Desde la primera etapa, él me ha ido contagiando todo su entusiasmo, y ha posibilitado que me integrara en muchos de los proyectos clínicos y experimentales puestos en marcha, en otros por comenzar, e incluso me dio la posibilidad de que comenzara a trabajar en alguna líneas nuevas a nivel experimental. Tengo muchísimas cosas que agradecerle, pero hay una muy especial: que haya confiado en mí cuando apenas me conocía.

Los primeros tiempos no han sido fáciles. Me encontraba en un sitio de trabajo, una ciudad y un país completamente nuevos para mí. Sin embargo, con el pasar del tiempo, todos hemos ido conociéndonos mutuamente, y he empezado a ver los frutos de un trabajo largo pero reconfortante.

Desde el inicio (creo que desde el primer mes) Daniel Serón y Francesc Moreso, mis directores de tesis, con toda generosidad me han ido involucrando en algunas de sus líneas de investigación en el campo de la nefropatía crónica del trasplante, y en el estudio de las biopsias de protocolo. Daniel, con toda su

dedicación y paciencia, me ha enseñado durante horas y días frente al microscopio la realización de las técnicas de histomorfometría que posibilitaron la realización de las publicaciones que son objeto de esta tesis, y hemos dedicado una gran parte de nuestro tiempo a la recolección de los datos y al análisis estadístico de los mismos junto con Francesc, y también a la escritura de los artículos, lo cual nos llevó a poder publicar nuestros resultados en revistas médicas tales como American Journal of Transplantation y Nephrology, Dialysis and Transplantation. Ha sido muy placentero trabajar con Daniel y Francesc (Paco para los que lo conocemos), y es admirable ver cómo se hacen tiempo para seguir siempre con la línea de trabajo que les apasiona, y el gran equipo que hacen entre ambos. Son un excelente ejemplo de trabajo y esfuerzo, y además son excelentes personas. A los dos, todo mi agradecimiento por haberme permitido llevar a cabo esta tesis, y por haberme apoyado hasta ahora en esto.

Quisiera agradecer a Xavier Fulladosa por todo su apoyo técnico y científico y por todo el esfuerzo que siempre ha puesto en los estudios histomorfométricos llevados a cabo en este Servicio. Él ha posibilitado con su dedicación y su paciencia la realización de estudios que hoy son un orgullo para todos los integrantes del grupo, algunos de los cuales han servido de base para el desarrollo de esta tesis. Agradezco también a Meritxell Ibernón por su ayuda, y por la continuidad en el estudio de la histomorfometría en las biopsias de protocolo, y a las patólogas Montserrat Gomá y Marta Carrera por toda su colaboración, y por facilitarnos siempre el acceso a las muestras.

Quiero agradecer a todas mis compañeras del Laboratorio de Nefrología Experimental. A Núria Lloberas, por toda su ayuda en todo cuanto pudo hacer por mí (y más también), durante mi estancia en el Laboratorio, y también después de irme de Barcelona. Núria ha sido una de las personas que más apoyo me ha dado en mi experiencia experimental. He contado con ella incondicionalmente siempre y actualmente puedo decir que es una verdadera amiga. Además, gracias a ella he logrado sortear desde Madrid todos los trámites administrativos que implica la realización de una tesis doctoral. Quiero agradecer a Marcel.la Franquesa, con quien he trabajado durante muchos meses y de manera muy cercana en la línea de isquemia-reperfusión, y que también me ha dado su apoyo con los trámites en los últimos tiempos, a Núria Bolaños, por toda su ayuda y su interés en que todo salga siempre lo mejor posible, y a Inmaculada Herrero, por todo su apoyo científico. Y muy especialmente, a Inés Rama, por haberme hecho sentir bien a su lado desde mi primer día en el hospital, cuando ella aún era residente; ha sido un placer para mí ser su compañera hasta el último momento. A Joan Torras, por haberme prestado su ayuda, su experiencia y haberse lanzado a nuevas y complicadas líneas de trabajo. A Josep M. Cruzado, por haberme confiado el análisis histológico, morfométrico e inmunohistoquímico de sus trabajos de diabetes. Todas estas líneas también han concluído en originales y prestigiosas publicaciones.

Por otra parte, no puedo olvidar que fue físicamente en el laboratorio donde realicé todas las técnicas histomorfométricas, por lo cual el tiempo transcurrido con todos sus integrantes ha sido intenso y muy provechoso.

No quiero olvidar agradecer a Mercedes, a Anna Caldés, y a todo el Servicio de Nefrología en general, por haber podido contar con ellos siempre: antes de mi llegada a Barcelona, durante mi estancia en el Servicio, y aún después de haberme ido.

Esta tesis doctoral es el fruto de 4 años de trabajo. En los artículos que la conforman, han colaborado conmigo y de manera muy especial Rafael Maldonado, Augusto Vallejos y Fabio Azevedo, los dos primeros compañeros y compatriotas argentinos, y el último brasileño. A los tres, mi mayor agradecimiento por haber posibilitado estas tres publicaciones, ya que todos han sido muy importantes en la ejecución de estos proyectos.

El tiempo ha pasado; ya no estoy en Bellvitge ni en Barcelona, pero esta ha sido una etapa importante de mi vida que nunca olvidaré.

Finalmente, quiero agradecer a mi familia: a mi marido, Jorge, y a mis dos hijos Javier y Florencia, por apoyarme cada cual desde su sitio y siempre en todo lo que hago.

Y también a mis padres, aunque estén lejos, porque sin ellos no hubiera podido llegar al primer escalón de esta larga carrera.

ÍNDICE

INTRODUCCION.....	2
MASA NEFRONAL E INSUFICIENCIA RENAL	2
ESTIMACION DEL NÚMERO DE NEFRONAS EN EL HOMBRE.....	3
RELACION ENTRE NÚMERO Y VOLUMEN DE NEFRONAS	6
CONSECUENCIAS DEL BAJO APORTE NEFRONAL. HIPOTESIS DE HIPERFILTRACION EN EL TRASPLANTE RENAL.....	8
GLOMERULOMEGALIA: ¿MECANISMO DE ADAPTACIÓN O DE ENFERMEDAD?	11
NEFROPATÍA CRÓNICA DEL TRASPLANTE: CLASIFICACIÓN DE BANFF	14
UTILIDAD DE LAS BIOPSIAS DE PROTOCOLO EN EL TRASPLANTE RENAL	23
APORTACIONES DE LA MORFOMETRIA A LA PATOLOGIA DEL TRASPLANTE.....	26
MEDICIÓN DEL VOLUMEN GLOMERULAR. MÉTODOS ESTEREOLÓGICOS	28
VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS DIFERENTES MÉTODOS ESTEREOLÓGICOS	34
UTILIDAD DEL ESTUDIO DEL ÍNDICE DE RESISTENCIA RENAL COMO PREDICTOR DE EVOLUCIÓN DEL INJERTO	35
JUSTIFICACION GENERICA DEL TEMA	38
PUBLICACIONES DE LA TESIS	38
OTRAS PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TRABAJO PRESENTADO	41
HIPOTESIS	42
OBJETIVOS.....	44
RESULTADOS	45
DISCUSIÓN.....	49
CONCLUSIONES.....	56
BIBLIOGRAFIA	58
PUBLICACIONES.....	68

INTRODUCCION

MASA NEFRONAL E INSUFICIENCIA RENAL

Muchas de las características clínicas e histológicas propias de la nefropatía crónica del trasplante (NCT) son típicas respuestas a la reducción de masa nefronal. Los donantes muy jóvenes o muy mayores, los de raza negra y los de sexo femenino, presentan una reducción de masa nefronal que puede tener consecuencias tan graves sobre el injerto como la presencia de isquemia fría prolongada o la discrepancia en el sistema HLA. Por otro lado, factores asociados al receptor, como la superficie corporal o el sexo masculino, también son determinantes de la evolución del injerto a largo plazo ¹.

La teoría de Brenner, que describe la asociación entre bajo número de nefronas e hipertensión arterial e insuficiencia renal ², ha ido cobrando cada vez más vigencia, y se complementa con otra hipótesis, en este caso formulada por Barker, que sostiene la existencia de asociaciones epidemiológicas entre desnutrición fetal de diversas causas, expresada como bajo peso al nacer, y morbimortalidad de diversas causas en la vida adulta. Barker propone que existen períodos críticos durante el desarrollo fetal, y que la falta de nutrientes y de oxígeno determinan la alteración del proceso de división celular, programando de esta manera la aparición de enfermedades en la vida adulta ^{3,4}. A partir de esta hipótesis, se postula que el número reducido de nefronas que acompaña al bajo peso al nacer incrementa la vulnerabilidad a padecer enfermedad renal crónica en la vida adulta ⁶, y algunos estudios describen como el bajo número de nefronas que se produce como consecuencia de la malnutrición fetal promueve la aparición de microalbuminuria en la vida adulta y

posteriormente el inicio y la evolución de la enfermedad renal ^{7,8}. Hoy y cols. demuestran en un estudio realizado en aborígenes australianos cómo el bajo peso al nacer predispone a la insuficiencia renal, pero no observan asociación con hipertensión ni diabetes, aunque no descartan la existencia de resistencia a la insulina en esta población. En cambio, sí destacan el rol de la alteración en la nefrogénesis que produce la malnutrición fetal, y la posible asociación de una base genética en el desarrollo de insuficiencia renal en ciertas poblaciones ⁷, ya descrita en estudios previos ^{9,10}.

Se sabe que la Vitamina A y su principal derivado, el ácido retinoico, están involucrados en la nefrogénesis; a nivel experimental se ha observado que una leve deficiencia de vitamina A durante el embarazo puede llevar a déficit nefronal, aumentando el riesgo de enfermedad renal ^{11,12}.

ESTIMACION DEL NÚMERO DE NEFRONAS EN EL HOMBRE

Habitualmente, el número de nefronas se estima como una medida subrogada del número de glomérulos (Ng). El número total de glomérulos en sujetos normales muestra una variabilidad muy importante, entre 0,2 y 1,8 x 10⁶ por riñón ¹³⁻¹⁵. La evaluación directa del Ng in vivo no es posible. Sin embargo, un estudio realizado en perros demostró que el uso de resonancia magnética para medir el volumen cortical sumado a una biopsia renal, evaluada por morfometría, para determinar el volumen glomerular (Vg) y la fracción de volumen cortical glomerular, permitía estimar el Ng de manera bastante precisa ¹⁶. Posteriormente, se ha descrito en un grupo de receptores estables de trasplante renal que la combinación de resonancia magnética con análisis histológico de biopsias evaluadas por histomorfometría a través de dos

métodos diferentes estiman el Ng por riñón de manera muy fiable ¹⁷. Fulladosa y cols. observan en su estudio que el total de glomérulos trasplantados es determinante de la función del injerto, ya que la tasa de filtrado glomerular (TFG) correlaciona positivamente con el Ng.

Por otra parte, la información cuantitativa más confiable hasta el momento proviene de estudios de riñones completos provenientes de autopsias ^{13,14,18-20}, a través del uso de técnicas que evalúan la diferente densidad de los glomérulos en la corteza renal, o con técnicas histomorfométricas ^{21,22}. Nyengaard y Bendtsen publicaron en 1992 los resultados de un análisis realizado sobre riñones provenientes de autopsias, sin historia de enfermedad renal ni de hipertensión. Para esto utilizaron un método estereológico no sesgado, el fraccionador. El número total de glomérulos fue estimado como la inversa de las fracciones de muestreo por el Ng de la muestra. Para estos autores, el número promedio de glomérulos fue de 617.000 (rango 331.000-1.424.000) ¹⁴.

Keller et al utilizaron el método del disector/fraccionador para estimar el Ng y el Vg en 20 muestras de autopsias de víctimas de accidentes de tránsito de raza blanca de 35 a 59 años de edad. Diez individuos hipertensos fueron comparados con diez sujetos normotensos de edad, sexo, peso y talla similares. Los hipertensos tuvieron un promedio de 746468 ± 126408 glomérulos por riñón, mientras que los normotensos tuvieron 1402359 ± 346357 ($p < 0.001$). Por lo tanto, los autores concluyen que estos datos dan soporte a la hipótesis de que el número de nefronas está reducido en pacientes blancos con hipertensión arterial esencial ¹⁹. Más recientemente, Hughson y cols. observaron, en un estudio realizado en autopsias de 140 sujetos blancos

y afro-americanos de entre 18 y 65 años provenientes de la Universidad de Mississippi, correlación entre bajo número de nefronas e hipertensión en la población blanca que moría a una edad promedio de 49.4 años. También describieron una correlación inversa entre la edad de muerte y el peso al nacimiento; esto indica que los eventos cardiovasculares ocurrieron con mayor frecuencia en sujetos jóvenes con historia de bajo peso al nacer, y con historia de hipertensión arterial. Sin embargo, en este estudio no se observó una fuerte asociación entre bajo número de nefronas a hipertensión en la población afro-americana ($\text{Ng } 961840 \pm 292750$ en normotensos y 867358 ± 341958 en hipertensos, $p=0,28$). Finalmente, en la población blanca, el Ng de los sujetos normotensos fue de 923377 ± 256391 , y el de los hipertensos de 754319 ± 329506 ($p=0,03$). Otro dato muy interesante fue que, si bien analizando globalmente a la población caucásica y a la de raza negra no hubo relación estadísticamente significativa entre Ng y tensión arterial media, el Ng correlacionó positivamente con el peso al nacimiento y negativamente con la fibrosis intimal ²³. Este estudio, tal como afirma Haas en su comentario, es extremadamente laborioso, ya que involucra análisis morfométricos muy especializados e incluye un análisis muy detallado de los datos de los pacientes ²⁴.

La pérdida de glomérulos con la edad parece ocurrir de manera continua en la vida adulta, con una pérdida esperada de aproximadamente 4500 glomérulos por riñón por año entre los 18 y los 70 años ²⁵. El estudio de Nyengaard realizado en series de autopsia muestra claramente una significativa correlación negativa entre el Ng y la edad ($p<0,05$; $r=-0.35$). ¹⁴. Previamente, Kappel había demostrado que la fracción de glomérulos escleróticos se

incrementaba significativamente con la edad en riñones humanos normales ²⁶. El estudio de Nyengaard corrobora que los glomérulos esclerosados se atrofian, y eventualmente desaparecen con la edad, sugiriendo que la disminución de la función renal que ocurre con la edad podría deberse, al menos en parte, a una reducción en el número de nefronas ¹⁴.

RELACION ENTRE NÚMERO Y VOLUMEN DE NEFRONAS

Poco se sabe sobre la influencia genética sobre la masa nefronal en humanos ^{27,28}. La oligomeganefronia congénita, que ocurre muchas veces en forma esporádica y otras en forma familiar, puede estar asociada a causas genéticas ²⁹, y hasta se ha descrito una asociación con mutaciones del gen PAX2 ³⁰.

El retardo de crecimiento intrauterino y el bajo peso al nacer se asocian a una significativa reducción de masa nefronal ³¹⁻³³, y a un aumento del Vg ^{34,35}. El desarrollo nefronal comienza en la 9^o semana de gestación, pero el 60 % de la población nefronal se forma durante el tercer trimestre de la gestación ^{36,37}. Por lo tanto, cualquier interferencia que ocurra en este período afecta a su desarrollo. En el stress de la vida intrauterina, el desarrollo de órganos como el cerebro y el corazón muchas veces está preservado a expensas del desarrollo del riñón y de otros órganos, y del crecimiento somático ³⁸. Un estudio reciente realizado con ecografías seriadas muestra que niños con retardo de crecimiento intrauterino no sólo tienen riñones más pequeños al momento del nacimiento, sino también un menor crecimiento renal durante los primeros 18 meses de vida, tanto en términos absolutos, como en relación con el peso corporal ^{39,40}. Un estudio histológico en el que se observa que el número de nefronas en niños pre-término se encuentra muy reducido, muestra que la

nefrogenesis continúa luego, pero de manera subóptima. Además, la glomerulomegalia y la proliferación mesangial eran evidentes en los supervivientes a largo plazo ⁴¹. Por otra parte, la malnutrición infantil y la presencia de infecciones repetidas podría alterar la maduración renal, impactando especialmente en la población con retardo en el crecimiento intrauterino ⁴².

En un estudio realizado sobre autopsias renales, se encontró una significativa correlación entre el peso de nacimiento y el Ng, y el coeficiente de regresión predijo un incremento de 254426 glomérulos por cada kg de incremento del peso de nacimiento. Entre los adultos, el único factor predictivo de Vg en el análisis de regresión lineal múltiple fue el Ng, hallándose una poderosa relación inversa entre tamaño y número, lo cual demuestra un proceso adaptativo en el cual el volumen se incrementa para compensar la existencia de una baja población de nefronas ¹⁸. Otro estudio realizado en individuos con hipertensión primaria muestra que el Ng es más bajo en esta población que en individuos controles, y que el Vg es significativamente más alto, proponiendo entonces que el Vg podría ser una medida indirecta del Ng ¹⁹.

Dentro de la misma especie, y en especies diferentes, hay una correlación directa entre la masa renal y el peso corporal. Los resultados del estudio de Nyengaard sugieren que el peso del riñón, el Ng y el Vg disminuyen con la edad. En este estudio, se observa una débil correlación entre el Ng y el Vg medio ($p=ns$; $r=0,04$) ¹⁴. Además, independientemente del peso corporal, el género masculino se asocia con riñones de mayor tamaño, y hasta un 20% más de nefronas ⁴³.

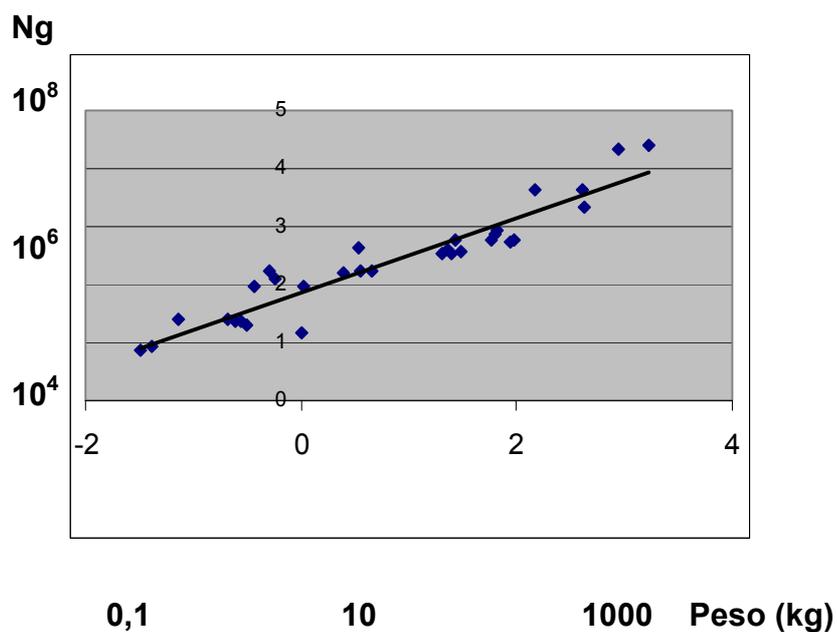


Figura 1. Relación entre peso y Ng

CONSECUENCIAS DEL BAJO APOORTE NEFRONAL. HIPOTESIS DE HIPERFILTRACION EN EL TRASPLANTE RENAL

Brenner propone que la relación masa renal/peso receptor (Kw/Bw) refleja una relación entre el “aporte renal” y la demanda metabólica total, concluyendo entonces que la distribución de órganos debería realizarse teniendo en cuenta esta relación, evitando de esta manera discrepancias importantes entre donante y receptor ^{1,44}. Un estudio posterior realizado sobre un análisis del registro renal de UNOS (United Network for Organ Sharing), remarca la necesidad de una mejor correlación entre masa renal del donante y del receptor para mejorar los resultados del trasplante renal ⁴⁵. Algunos grupos proponen incluso que la selección del receptor de un donante marginal se realice sobre la base de su necesidad de masa nefronal estimada, y reduciendo

al mínimo la pérdida de nefronas durante la preservación del órgano, logrando de esta forma una función y supervivencia del injerto a los 18 meses similar a la que se obtiene cuando se utilizan donantes standard ⁴⁶.

Cuando la masa renal disminuye, las nefronas remanentes adaptan su estructura y función para hacer frente a una mayor demanda metabólica. Sin embargo, los cambios hemodinámicos que ocurren en el glomérulo inician y perpetúan la injuria glomerular. Este daño también ocurre cuando se pierden nefronas por enfermedades intrínsecas del riñón, o en casos de déficits nefronales congénitos, como la agenesia renal unilateral o la oligomeganefronia ^{47,48}. Además, la capacidad del riñón para crecer y adaptarse a la pérdida de masa nefronal disminuye progresivamente con la edad ⁴⁹. Existen evidencias experimentales en ratas uninefrectomizadas de que los glomérulos aumentan su volumen respecto a los animales controles, y de que al trasplantar un riñón de estas ratas en receptores con un solo riñón normal o hipertrófico, el Vg regresa a su tamaño control ⁵⁰.

La masa renal ha demostrado ser determinante de la función del injerto ⁵¹. Recientemente, Poggio y cols. publicaron un estudio en el cual el volumen renal de los donantes vivos era medido por tomografía helicoidal y el filtrado glomerular por el método del ¹²⁵I-iothalamato. Luego, el efecto del volumen del riñón trasplantado era estudiado en el receptor, observándose que un volumen renal mayor de 120 cc/1.73 m² se asociaba de forma independiente a una mejor filtrado glomerular a los 2 años del trasplante ⁵².

Una masa renal insuficiente puede no poder hacer frente a las demandas metabólicas del receptor, y desencadenar hiperfiltración. A partir del surgimiento de la hipótesis de hiperfiltración como importante factor de riesgo

en la progresión de la enfermedad renal ⁵³, se han acumulado evidencias posteriores que implican a la hiperfiltración como factor de riesgo de progresión de daño del injerto ^{54,55}. Esta hiperfiltración ocurre como consecuencia de la masa nefronal aportada por el donante, pero también es consecuencia de la pérdida de nefronas que ocurren a partir del momento de inicio de la preservación del órgano para el trasplante, y que incluyen el proceso de isquemia reperfusión, los episodios de rechazo, o el uso de inmunosupresores nefrotóxicos. Aunque la masa nefronal no puede medirse in vivo, el peso del riñón parece ser la mejor medida subrogada de la misma ^{14,56}. En un contexto clínico, medidas tales como el peso corporal ⁵⁷, el área de superficie corporal (BSA) ⁵⁸, y el índice de masa corporal (BMI) ⁵⁹ representan adecuadamente las demandas metabólicas del potencial receptor.

El grupo de Oh realizó un estudio prospectivo sobre el efecto de la masa renal sobre la función del injerto en receptores de donante vivo con función renal inmediata. El riñón donado se pesaba luego de iniciada la isquemia fría. Posteriormente se evaluaba en el receptor la creatinina sérica y urinaria, las proteínas en orina, el clearance de creatinina y el peso seco. Se recogía también edad, BSA, BMI y peso magro de donante y receptor. La función del injerto medida por función renal no correlacionó directamente con el peso del riñón, pero sí con la relación peso del riñón/medidas de demanda metabólica del receptor. En el análisis multivariante la relación peso del injerto/peso del receptor resultó un predictor independiente de función temprana del injerto ⁶⁰.

GLOMERULOMEGALIA: ¿MECANISMO DE ADAPTACIÓN O DE ENFERMEDAD?

La glomerulomegalia es un marcador de riesgo en pacientes con enfermedad renal o en determinadas poblaciones para la progresión de la enfermedad. Se ha observado que los aborígenes australianos y los pacientes de raza negra^{20,61} tienen un mayor Vg en comparación con pacientes de raza blanca, y mayor prevalencia de insuficiencia renal crónica terminal^{13,62-64}. En niños con oligomeganefronia congénita, el extremado aumento del Vg lleva a la glomeruloesclerosis y al deterioro progresivo de la función renal^{65,66}. Fogo et al han observado en niños con síndrome nefrótico que el Vg es una característica que permite discriminar la glomeruloesclerosis focal y segmentaria (GEFS) de la enfermedad por cambios mínimos, antes de que aparezca histológicamente esclerosis glomerular⁶⁷. También está descrita la asociación entre glomerulomegalia y obesidad. La glomerulopatía asociada a obesidad puede definirse morfológicamente como glomerulomegalia aislada o asociada a glomeruloesclerosis^{68,69}. En pacientes con reducción de la masa nefronal por agenesia renal unilateral o con masa renal remanente de menos del 25%, se ha observado una clara asociación entre BMI elevado y evolución a proteinuria e insuficiencia renal. Se sabe que la obesidad induce la aparición de cambios hemodinámicos renales importantes consistentes en hiperperfusión glomerular e hiperfiltración, y que esta hiperfiltración mejora con la pérdida de peso y con el uso de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina y con los bloqueantes de los receptores de angiotensina^{70,71}. Esto demuestra la importancia de algunos factores que en condiciones de baja masa nefronal pueden ser desencadenantes de la evolución y la progresión a la insuficiencia renal.

En su estudio sobre GEFS luego de la administración de adriamicina y con nefrectomía tres cuartos en ratas Munich-Wistar, Fries y cols. observaron que cuando el glomérulo se hipertrofia, todas las células se multiplican excepto los podocitos, que en cambio se hipertrofian para cubrir un mayor área de membrana basal glomerular (MBG). Por lo tanto, este trabajo concluye que este proceso lleva a que algunos segmentos de la MBG se denuden, culminando en el desarrollo de GEFS en el glomérulo hipertrofiado ⁷². Este concepto es reforzado más tarde ⁷³, y queda aún más claramente demostrado en un trabajo de Bhathena, que desarrolla a partir de un estudio histomorfométrico el concepto patogenético de “hipertrofia glomerular máxima”. Hay un tamaño glomerular límite para cada estado nefronopénico por debajo del cual la hipertrofia compensadora es inocua. Sin embargo, si este umbral es alcanzado o excedido, la evolución es hacia la GEFS, y clínicamente esto se evidencia como proteinuria e insuficiencia renal progresiva. La capacidad de los podocitos para hipertrofiarse en respuesta a la nefronopenia es mucho mayor en estados nefronopénicos congénitos que en las variedades adquiridas. Y es sobre todo la del riñón trasplantado aquella situación en la que el podocito se encuentra más limitado para extender su citoplasma sobre la MBG, limitando así el desarrollo de hipertrofia glomerular en los injertos renales. A partir de este límite o umbral el glomérulo se autodestruye a través del proceso de GEFS ⁷⁴.

Posteriormente, el grupo de Bhathena observó en un estudio morfométrico realizado en pacientes con agenesia renal unilateral y oligomeganefronia, con proteinuria e insuficiencia renal, volúmenes glomerulares aumentados en 5 veces, y asociados con esclerosis focal. Sin embargo, el mismo estudio

histomorfométrico realizado en un paciente con riñón solitario que había perdido la función del riñón contralateral por una enfermedad adquirida, demostró un incremento glomerular significativamente menor (Vg aumentado al doble), y ausencia de esclerosis focal ⁴⁸. Más adelante, este mismo grupo realizó nuevos estudios donde se evaluó el Vg en riñones trasplantados y la asociación con glomeruloesclerosis. En ellos observaron que a los 3 años del trasplante, sólo aquellos injertos con aumento significativo del Vg desarrollaron GEFS. Sin embargo, el aumento del diámetro glomerular medio en estos receptores fue significativamente menor que el observado en riñones nativos nefronopénicos (37% vs 70%). Esto sugiere que los injertos renales sin hipertrofia glomerular significativa estarían “protegidos” del desarrollo de GEFS, mientras que aquellos que desarrollan hipertrofia, están en riesgo de evolucionar a la GEFS ⁷⁵. Más tarde, otro estudio analizó la relación entre GEFS e hipertrofia glomerular máxima en diferentes condiciones de nefronopenia. Se compararon 7 grupos nefronopénicos: oligomeganefronia sin GEFS; agenesia unilateral, uninefrectomizados, y trasplantados renales con y sin GEFS. Para los grupos con GEFS el diámetro glomerular medio de los pacientes trasplantados renales fue significativamente menor que en cualquiera de los otros grupos con riñones nativos ($p < 0,01$). Esto indica que el umbral para el desarrollo de esclerosis glomerular en trasplantados renales es mucho más bajo que en otros estados nefronopénicos ⁷⁶.

Experimentos realizados en modelos animales demuestran que el aporte de mayor masa nefronal en modelos de trasplante renal y de isquemia caliente en ratas disminuye la existencia de lesiones crónicas ⁷⁷⁻⁷⁹. Un estudio realizado por Abdi y cols. ⁸⁰ demuestran el impacto del Vg del donante en la función del

injerto del receptor a largo plazo. En este estudio, se evaluaron las biopsias en forma intraoperatoria para estudiar el Vg. Se observó que este correlacionaba positivamente con la edad y con la raza negra. En el análisis de regresión lineal, se observó correlación entre Vg y valores de creatinina, sugiriendo que el Vg basal es un predictor independiente temprano de evolución del injerto. Por lo tanto, este estudio ya propone la utilización de drogas que reduzcan la presión glomerular, o aún el bloqueo de citoquinas fibrinogénicas. Más tarde, Li demuestra la importancia del Vg del donante como predictor de disfunción tardía del injerto ⁸¹.

Existen resultados que avalan que los riñones provenientes de donantes de menor tamaño tienen mayor riesgo de fallo tardío cuando son injertados en receptores de mayor tamaño ^{56,58,82,83}.

El trasplante renal dual surge como una alternativa para aumentar el pool de donantes, utilizando para trasplante órganos que si se injertaran como riñón único, tendrían una pobre evolución por provenir de donantes mayores o marginales ⁸⁴⁻⁸⁶. Teniendo en cuenta que la masa nefronal parece un factor crítico en el pronóstico del injerto a largo plazo, esta es una alternativa adecuada. Numerosos estudios demuestran que el trasplante renal dual es bien tolerado, mejora el filtrado, y ofrece una buena opción en receptores mayores para disminuir los tiempos en lista de espera ⁸⁷⁻⁹¹.

NEFROPATÍA CRÓNICA DEL TRASPLANTE: CLASIFICACIÓN DE BANFF

La uniformidad en la interpretación de las biopsias del injerto renal es fundamental para poder guiar el tratamiento de los pacientes trasplantados. El

Banff Working Classification of Renal Allograft Pathology se ha desarrollado para este fin. Este grupo de trabajo se originó en Banff, Canadá, en 1991, y la clasificación surgida para uniformar criterios sobre biopsias del injerto renal, fue publicada en 1993⁹². Posteriormente, ha sido validada en numerosos estudios⁹³⁻⁹⁷, reformulada en 1997 (tabla 1) y publicada nuevamente en 1999⁹⁸. Actualmente, patólogos y nefrólogos continúan reuniéndose periódicamente en la ciudad de Banff para actualizar la clasificación vigente y discutir sobre eventuales cambios en la misma.

La clasificación de Banff 97 considera adecuada una muestra que contenga al menos 10 glomérulos y al menos 2 arterias, pero se acepta que debe haber al menos 7 glomérulos y 1 arteria. También se recomienda que se realicen tinciones con hematoxilina-eosina, PAS y plata, para mejorar la identificación de tubulitis, glomerulitis, hialinosis, incremento de matriz mesangial, dobles contornos y engrosamiento de la membrana basal tubular. El tricrómico es útil para definir la fibrosis intersticial.

Se establecen también criterios cuantitativos para tubulitis (tabla 2), arteritis (tabla 3), infiltrado intersticial (tabla 4) y glomerulitis (tabla 5). También se establecen criterios cuantitativos de cronicidad para fibrosis intersticial (tabla 6), atrofia tubular (tabla 7), glomerulopatía del trasplante (tabla 8), incremento de matriz mesangial (tabla 9), engrosamiento intimal (tabla 10) y hialinosis arteriolar (tabla 11)⁹⁸.

Tabla 1. Categorías diagnósticas de Banff 97 para biopsias del injerto renal

- 1) Normal
- 2) Rechazo mediado por anticuerpos
Rechazo debido, al menos en parte, a anticuerpos anti-donante.
 - a) Inmediato (hiperagudo)
 - b) Retrasado (agudo acelerado)
- 3) Cambios borderline sospechosos de rechazo agudo. No hay arteritis intimal, pero hay focos de tubulitis leve (1 a 4 mononucleares por sección tubular) y al menos i1.

4) Rechazo agudo/activo

<u>Tipo (Grado)</u>	<u>Hallazgos histopatológicos</u>
IA	Infiltrado intersticial significativo (>25% del parénquima afectado) y focos de tubulitis moderada (>4 mononucleares por sección tubular o grupo de 10 células tubulares)
IB	Infiltrado intersticial significativo (>25% del parénquima afectado) y focos de tubulitis severa (>10 mononucleares por sección tubular o grupo de 10 células tubulares)
IIA	Arteritis intimal leve a moderada (v1)
IIB	Arteritis intimal severa, que comprende >25% del área luminal (v2)
III	Arteritis transmural y/o necrosis fibrinoide de la media (v3 con linfocitos acompañantes)

5) Nefropatía crónica del trasplante

<u>Grado</u>	<u>Hallazgos histopatológicos</u>
Grado I (leve)	Fibrosis intersticial y atrofia tubular leves sin (a) o con (b) cambios de rechazo crónico
Grado II (moderado)	Fibrosis intersticial y atrofia tubular moderadas (a) o (b)
Grado III (severa)	Fibrosis intersticial y atrofia tubular severas y pérdida de túbulos (a) o (b)
Otras	Cambios no considerados como debidos a rechazo.

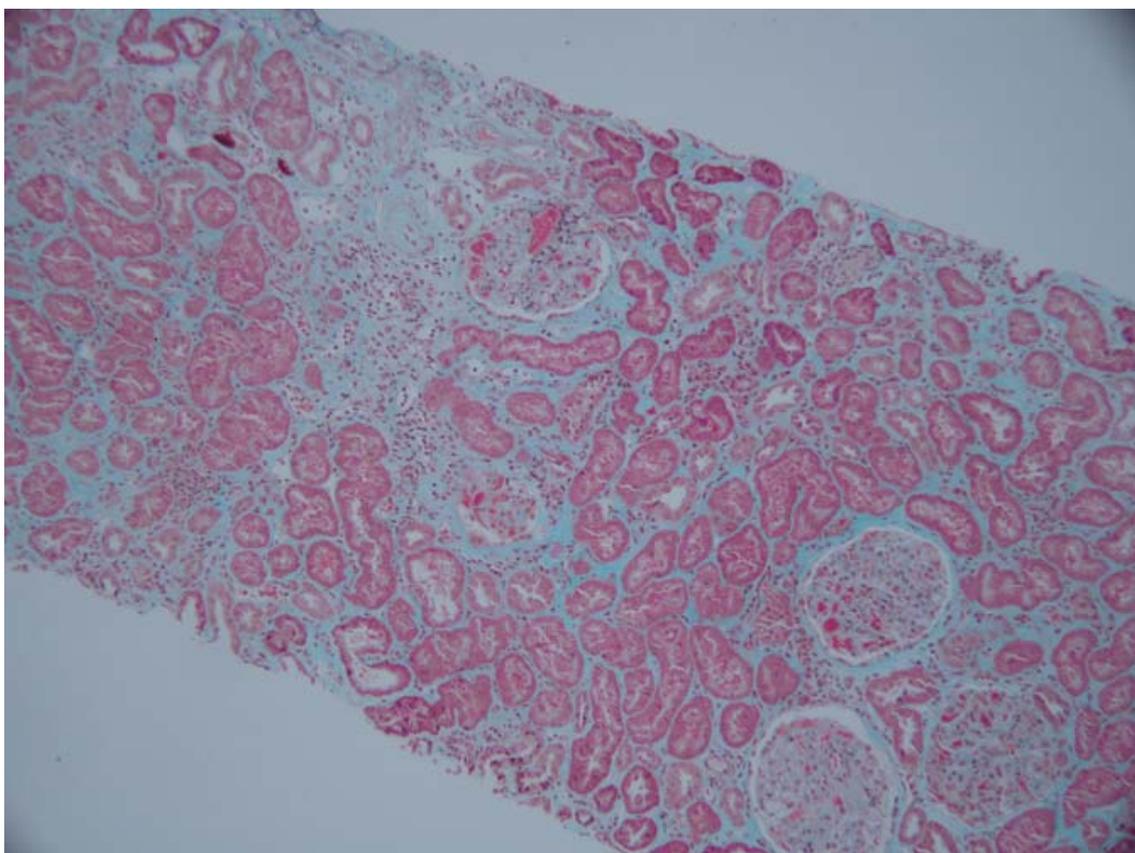


Fig. 1. Nefropatía crónica del trasplante grado II a. Fibrosis intersticial y atrofia tubular moderada. Tricómico de Masson, 100X.

Tabla 2. Criterios de tubulitis (“t”)

t0- Ausencia de células mononucleares en los túbulos.

t1- Focos de 1-4 células por sección tubular (o 10 células tubulares)

t2- Focos de 5-10 células por sección tubular

t3- Focos de >10 células por sección tubular, o presencia de al menos 2 áreas de destrucción de la membrana basal tubular acompañada de i2/i3 y t2 en cualquier zona de la biopsia

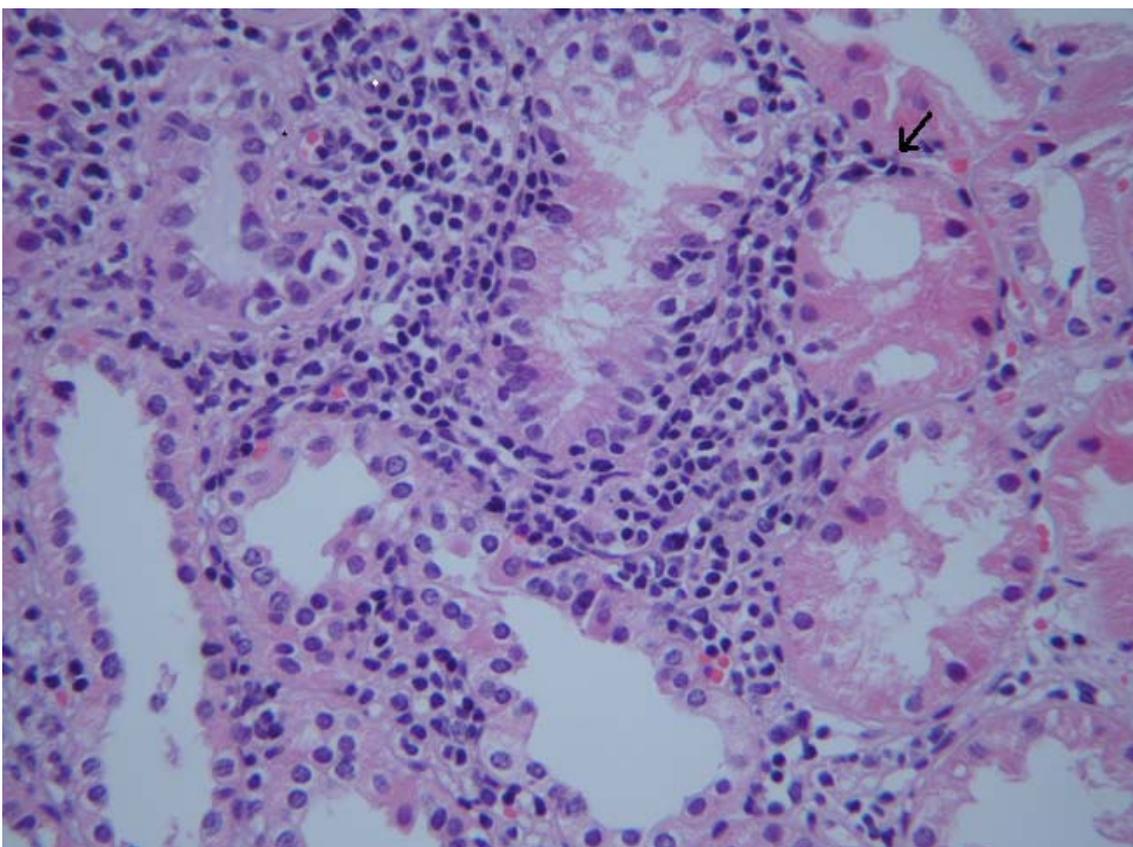


Fig 2. Tubulitis (t2). Se observan 5 células mononucleares en esta sección tubular (HE 400X).

Tabla 3. Criterios de arteritis intimal (“v”)

v0- Sin arteritis

v1- Arteritis intimal leve-moderada en al menos una sección arterial.

v2- Arteritis intimal severa con al menos un 25% de pérdida del área luminal en al menos una sección arterial

v3- Arteritis transmural y/o necrosis fibrinoide con infiltrado linfocitario en el vaso

Tabla 4- Criterios de infiltrado intersticial (“i”)

i0- Sin inflamación intersticial, o leve (<10% del parénquima)

i1- 10-25% del parénquima inflamado

i2- 26-50% del parénquima inflamado

i3- más del 50% del parénquima inflamado

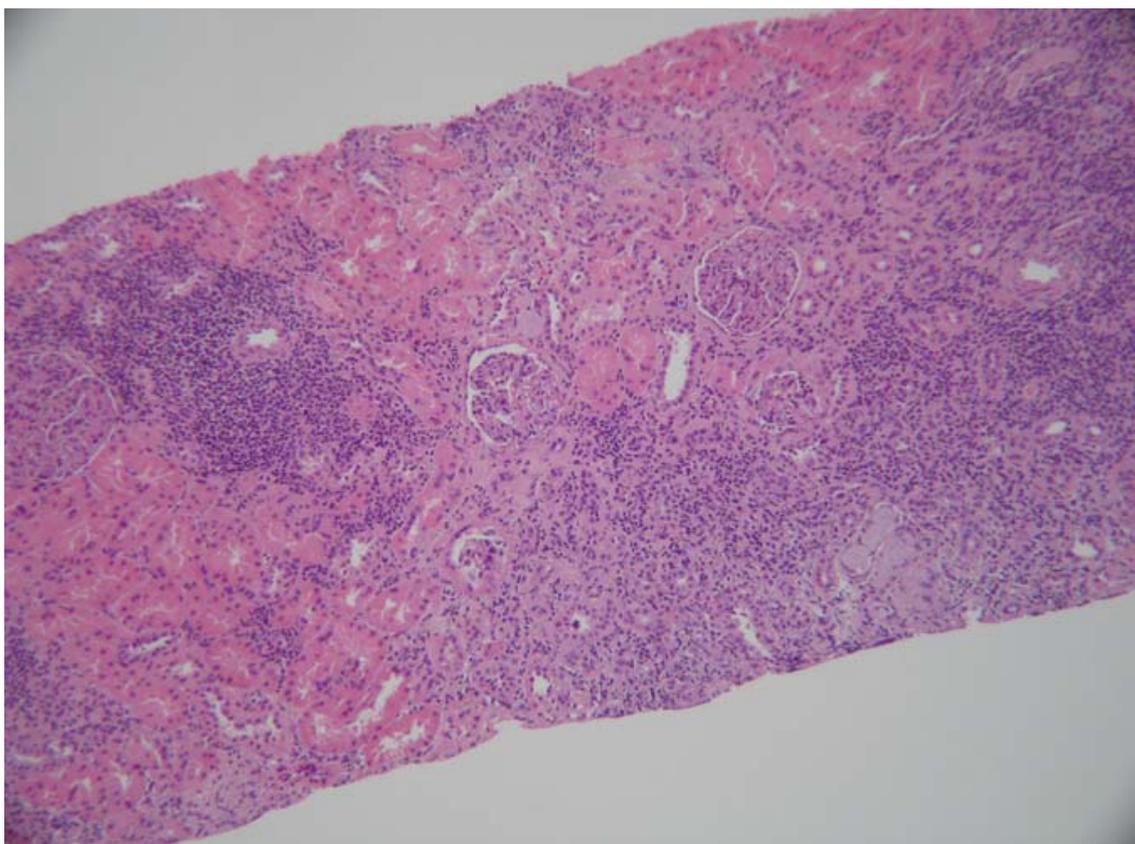


Fig 3. Se observa infiltrado intersticial en más del 50% de la superficie del parénquima (i3). HE 100X.

Tabla 5- Criterios de glomerulitis (“g”)

g0- Sin glomerulitis

g1- Glomerulitis en menos del 25% de los glomérulos

g2- Glomerulitis global o segmentaria en 25-75% de los glomérulos

g3- Glomerulitis en más del 75% de los glomérulos

Tabla 6- Criterios de fibrosis intersticial (“ci”)

ci0- Fibrosis intersticial en hasta un 5% del área cortical

ci1- Fibrosis leve-moderada en 6-25% del área cortical

ci2- Fibrosis moderada en 26-50% del área cortical

ci3- Fibrosis severa en >50% del área cortical

Tabla 7- Criterios de atrofia tubular (“ct”)

ct0- Sin atrofia tubular

ct1- Atrofia tubular de hasta el 25% del área cortical tubular

ct2- Atrofia tubular que involucra el 26-50% de los túbulos corticales

ct3-Atrofia tubular en más del 50% de los túbulos corticales

Tabla 8- Criterios de glomerulopatía del trasplante (“cg”)

cg0- Sin glomerulopatía, o dobles contornos en menos del 10% de los ovillos capilares periféricos en los glomérulos más afectados

cg1- Dobles contornos en hasta el 25% de los ovillos capilares periféricos en los glomérulos más afectados no esclerosados

cg2- Dobles contornos en 26% a 50% de los ovillos capilares periféricos en los glomérulos más afectados no esclerosados

cg3- Dobles contornos en más del 50% de los ovillos capilares periféricos en los glomérulos más afectados no esclerosados

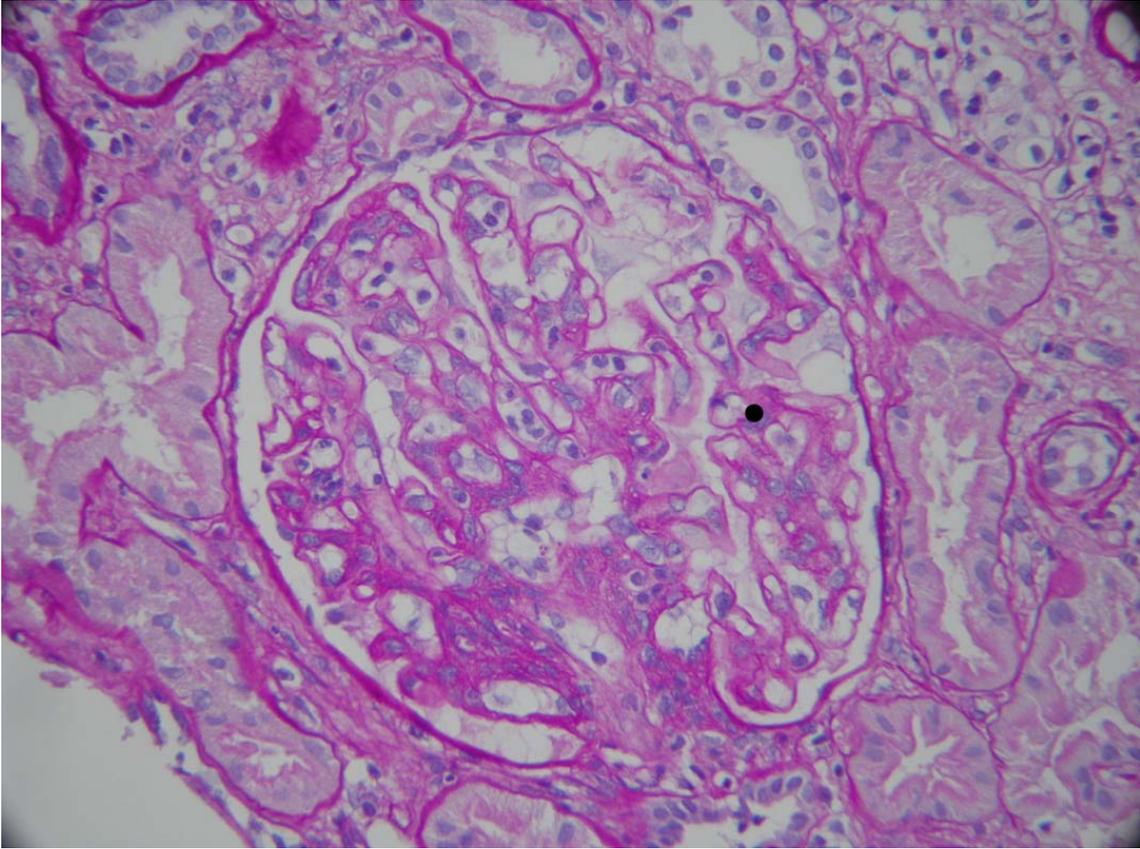


Fig 4. Glomerulopatía del trasplante. Se observan dobles contornos en paredes capilares. PAS 630X.

Tabla 9- Criterios de expansión de matriz mesangial (“mm”)

mm0- Sin incremento de matriz mesangial

mm1- Hasta un 25% de glomérulos no esclerosados afectados

mm2- 26-50% de glomérulos no esclerosados afectados (al menos moderado incremento matricial)

mm3- >50% de glomérulos no esclerosados afectados (al menos moderado incremento matricial)

Tabla 10- Criterios de engrosamiento intimal (“cv”)

cv0- Sin cambios crónicos vasculares

cv1- Estrechamiento de hasta el 25% del área luminal por engrosamiento fibrointimal de la arteria ± brechas en la lámina elástica interna o células espumosas o mononucleares

cv2- Incremento en la severidad de los cambios descritos, con 26-50% de estrechamiento de la luz vascular

cv3- Severos cambios vasculares con >50% de estrechamiento del área luminal

Tabla 11- Criterios de hialinosis arteriolar (“ah”)

ah0- Sin engrosamiento hialino PAS positivo.

ah1- Engrosamiento hialino PAS positivo leve a moderado en al menos una arteriola

ah2- Engrosamiento hialino PAS positivo moderado a severo en más de una arteriola

ah3- Engrosamiento hialino PAS positivo severo en muchas arteriolas

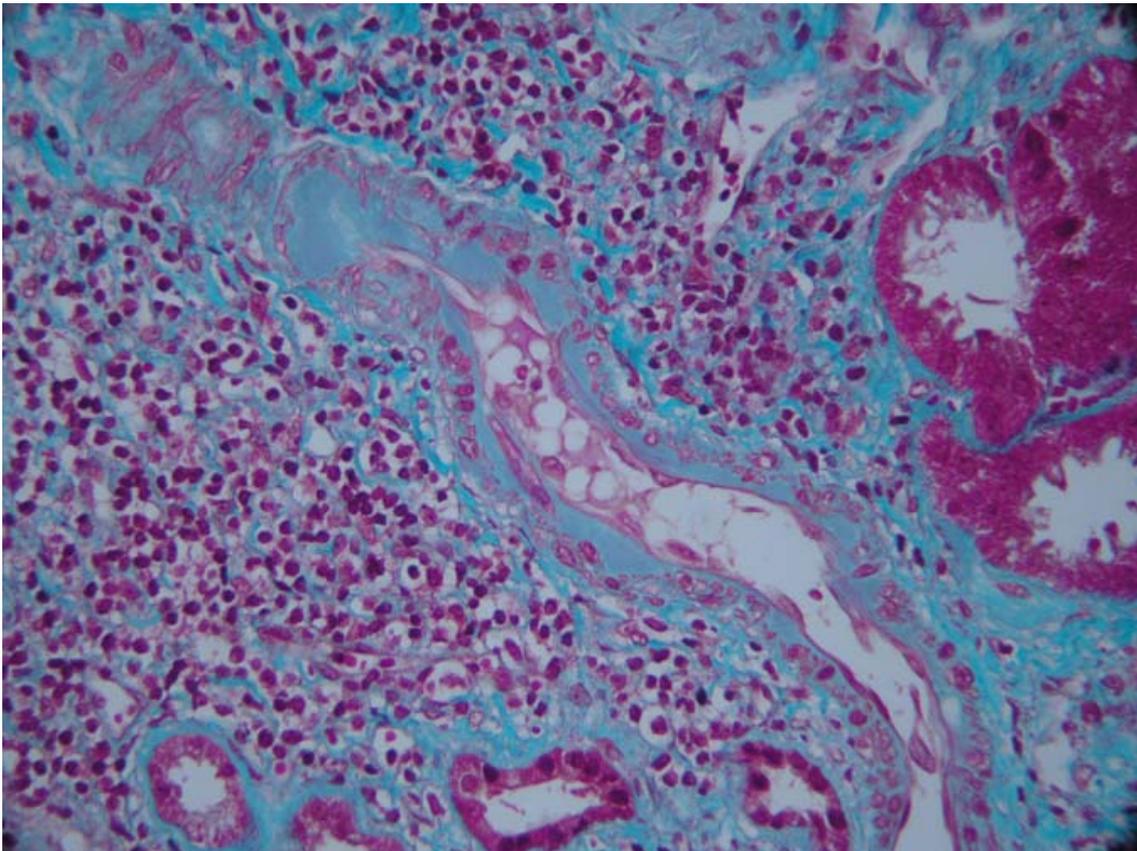


Fig 5. Hialinosis arteriolar. Tricrómico de Masson, 400X.

UTILIDAD DE LAS BIOPSIAS DE PROTOCOLO EN EL TRASPLANTE RENAL

La utilidad de las biopsias de protocolo (BP) para evaluar elementos predictores de evolución del injerto comienza a describirse desde hace más de una década ^{95,99-103}. En 1997, Serón y cols. demuestran que la realización temprana de BP en pacientes estables, a los 3 meses del trasplante, resulta útil para detectar pacientes con riesgo de pérdida del injerto en aquellas biopsias que tempranamente presentan lesiones de NCT ¹⁰³. Este valor predictivo de la BP es independiente de la función renal. En este estudio, no se observaron lesiones de rechazo agudo en el grupo evaluado. En los estudios de Rush y cols., a los 6 meses de seguimiento e independientemente de la función renal que presentaran, el 28% de las BP mostraban rechazo agudo, y el 25% presentaban lesiones de NCT ^{95,104}.

Desde entonces, varios estudios intentan definir los momentos más adecuados para la realización de las BP ^{105,106}, y de identificar factores de riesgo para la aparición de NCT ^{107,108}. Nickerson y cols. realizaron un estudio prospectivo en 71 pacientes para evaluar qué variables clínicas y/o histopatológicas determinadas a los 6 meses del trasplante eran determinantes del deterioro en la función del injerto a los 2 años. Los resultados que encontraron en el análisis multivariante indicaron que las variables que correlacionaron independientemente con la creatinina a los 2 años del trasplante fueron el score de cronicidad en las BP a los 3 y 6 meses ($r^2=0,67$), la presencia de rechazo subclínico tardío, la media de niveles de ciclosporina al mes y a los 2 meses del trasplante y el retraso en la función del injerto ¹⁰⁵. Estos hallazgos refuerzan los hallados en el trabajo de Serón y cols. ¹⁰³ en cuanto al valor predictivo de las BP realizadas tempranamente, y los de otros estudios que

previamente habían mostrado la gran utilidad de las BP para predecir evolución del injerto a largo plazo ^{109,110}.

Otro estudio analiza la evolución de las lesiones renales de acuerdo a la clasificación de Banff en BP secuenciales realizadas a los 4 y 14 meses del trasplante ¹⁰⁶. En este se observa que aunque las lesiones de NCT progresan moderadamente entre el 4º y el 14º mes post-trasplante, la función renal permanece estable. En este período, los niveles de ciclosporina tienden a ser más bajos, lo cual en parte podría explicar la falta de deterioro funcional, a pesar de la progresión de las lesiones crónicas. Estos hallazgos demuestran que la correlación entre daño histológico y parámetros clínicos en pacientes trasplantados renales no es lo suficientemente adecuada para considerar la función renal o la proteinuria como marcador confiable de NCT, y que por lo tanto las BP aportan mayor información que la contenida en los datos clínicos. La incidencia de NCT entre la primera y la segunda biopsia aumenta del 40 al 53%. Las lesiones crónicas progresan rápidamente durante los primeros meses, y más lentamente luego, sugiriendo que la mejor estrategia para monitorizar la progresión de NCT es realizar una biopsia de donante y una BP durante el primer año de realizado el trasplante.

Un estudio retrospectivo evaluó en 4 centros la utilidad de la realización de biopsias seriadas de protocolo vs el riesgo derivado de estas. No hubo ningún caso de muerte del paciente. Sólo se observó, en un total de 2127 biopsias, un caso de pérdida del injerto, en el cual se destaca que esta pérdida podría haberse evitado; 3 episodios de hemorragia requirieron intervención por angiorradiología, y otros 3 requirieron transfusiones. Hubo 2 episodios de peritonitis. Todas las complicaciones serias ocurrieron dentro de las 4 primeras

horas después de la biopsia. Por lo tanto, este estudio concluye que la incidencia de complicaciones significativas después de la BP en receptores estables es baja, por lo cual está éticamente justificada la realización de las mismas ¹¹¹.

Las BP realizadas en el primer año post-trasplante son útiles para identificar rechazo agudo subclínico y NCT, y el tratamiento temprano de ambos puede redundar en una importante mejoría de la función del injerto a largo plazo. Además, el procedimiento es seguro. Sin embargo, algunos cuestionan que aún no hay certezas sobre el momento ideal para realizarlas, ni sobre cuales son los métodos más confiables para cuantificar los cambios histológicos observados ¹¹². En muchas ocasiones, las BP se siguen considerando como una herramienta muy útil, pero que está poco establecida en la práctica en muchos centros de trasplante renal. Además, las BP permiten detectar toxicidad por inhibidores de calcineurina, nefropatía por poliovirus, y fibrosis temprana de cualquier causa ¹¹³. Existen varias técnicas para cuantificar fibrosis ¹¹⁴, cuyo uso se está haciendo cada vez más frecuente, pero en manos experimentadas, la estimación de fibrosis intersticial y atrofia tubular en especímenes teñidos con tricrómico de Masson sin histomorfometría, puede ser aún muy confiable. En una revisión reciente, Racusen recomienda, en base a que las BP son procedimientos seguros, realizarlas de inicio, durante el implante del injerto, idealmente luego de la anastomosis vascular, para contar con una medida basal de fibrosis y/o enfermedad vascular preexistente, diagnóstico de enfermedad previa en el donante, y potencialmente para detectar rechazo agudo temprano en pacientes hipersensibilizados. Luego,

recomienda realizar una BP a la semana en todos los pacientes que presenten función retrasada del injerto, y a los 3 meses en individuos hipersensibilizados. Finalmente, recomienda especialmente la realización de BP entre los 6 y los 12 meses del trasplante en pacientes con alta exposición a anticalcineurínicos, historia de rechazo o retraso en la función del injerto, y recomienda en todo estudio intervencional la realización de BP antes de los 3 meses, y luego entre los 6 y 12 meses. La reflexión final de esta revisión es que el monitoreo temprano sobre la injuria del injerto puede alterar el curso natural de los cambios estructurales y funcionales del mismo que ocurren en la mayoría de los trasplantes renales, y que por lo tanto, la BP es el actual “gold standard” para lograr esta meta ¹¹⁵.

APORTACIONES DE LA MORFOMETRIA A LA PATOLOGIA DEL TRASPLANTE

Las medidas histomorfométricas del volumen intersticial y del Vg en biopsias de donante han demostrado su utilidad para predecir la función renal en el receptor ^{80,116}. En 1996 Nicholson y cols. describen mediante un método histomorfométrico la utilidad de la medición de la fracción de volumen intersticial en BP realizadas a los 6 meses del trasplante como predictor de la función del injerto ¹¹⁷. Más tarde, el grupo de Bosmans describe la utilidad de la medición morfométrica del engrosamiento intimal en biopsias de donante como predictor de mala función renal y de daño histológico en BP realizadas a los 18 meses del trasplante ¹¹⁸, a través de un programa de análisis de imágenes.

Posteriormente se observó, también a través de métodos histomorfométricos y con biopsias de donante, BP seriadas a los 4 meses y al año, cómo el engrosamiento intimal y el aumento del volumen intersticial se producen tempranamente después del trasplante, mientras que entre los 4 meses y el año es mínimo, sugiriendo entonces que las medidas que pueden tomarse en cuanto a prevención de la vasculopatía del trasplante deben ser tempranas ¹¹⁹. El engrosamiento vascular a los 4 meses del trasplante se asoció con daño vascular pre-existente en la biopsia del donante, pero también con los niveles de colesterol y con factores inmunológicos, como la presencia de rechazo agudo y el grado de histocompatibilidad.

A este respecto, debe remarcarse la importancia del tratamiento de la hipercolesterolemia, ya que el colesterol sérico es un predictor independiente de daño vascular ¹²⁰. La utilidad de los hipolipemiantes para la prevención y/o progresión de la vasculopatía del trasplante ha sido bien caracterizada en el trasplante cardíaco ¹²¹, e incluso se ha descrito que los niveles bajos de HDL colesterol en el receptor llevan a la acumulación de LDL oxidado en el intersticio renal del injerto, con acumulación de macrófagos y la consiguiente evolución a fibrosis intersticial ¹²².

Existían datos de que la relación Vv intersticio/corteza en biopsias realizadas a los 6 meses, pero no antes, se asociaba a supervivencia del injerto a largo plazo ¹¹⁷. En su trabajo con biopsias secuenciales, Moreso y cols. demuestran que el aumento de la fracción intersticial ocurre tempranamente después del trasplante, y progresa lentamente más tarde ¹¹⁹.

Las BP han sido también utilizadas para correlacionar datos funcionales, como la reserva funcional renal (RFR), con datos histológicos y morfométricos.

Fulladosa y cols. observaron en su estudio de RFR y BP que el único dato histológico que se asoció con disminución de la RFR fue la presencia de hialinosis arteriolar ¹²³.

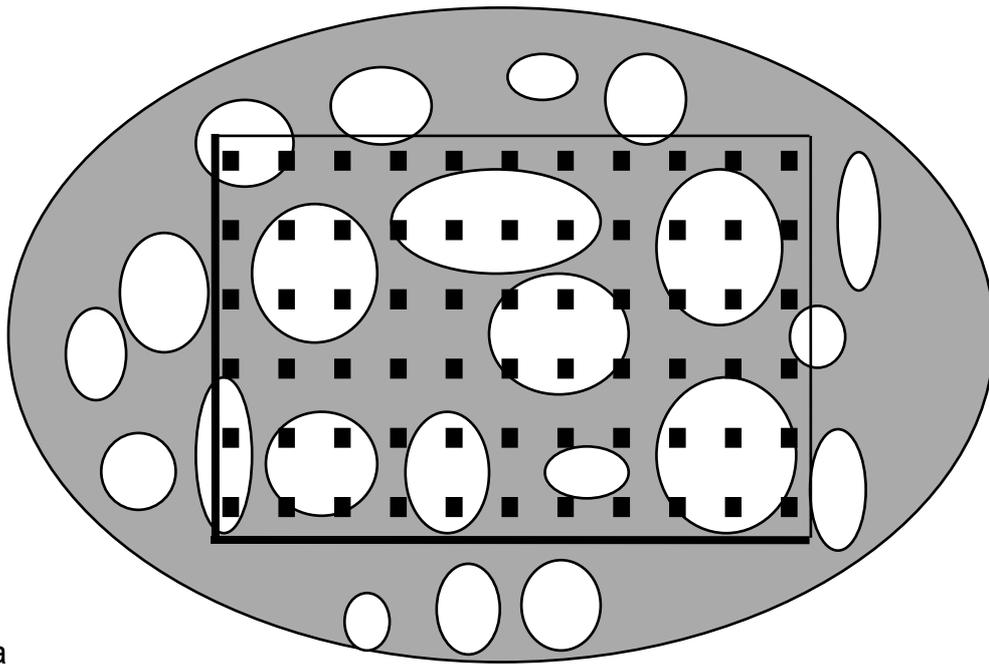
A partir de las BP, y con ayuda de resonancia magnética, también se ha podido estimar el número de glomérulos (Ng) en una población estable de trasplantados renales. En este estudio también se utilizaron 2 métodos diferentes para estimar el Vg. Se observó que la edad del donante correlacionaba positivamente con el Vg y negativamente con el Ng. Por otra parte, el Ng correlacionó positivamente con el filtrado glomerular, estimado mediante el clearance de inulina ¹⁷.

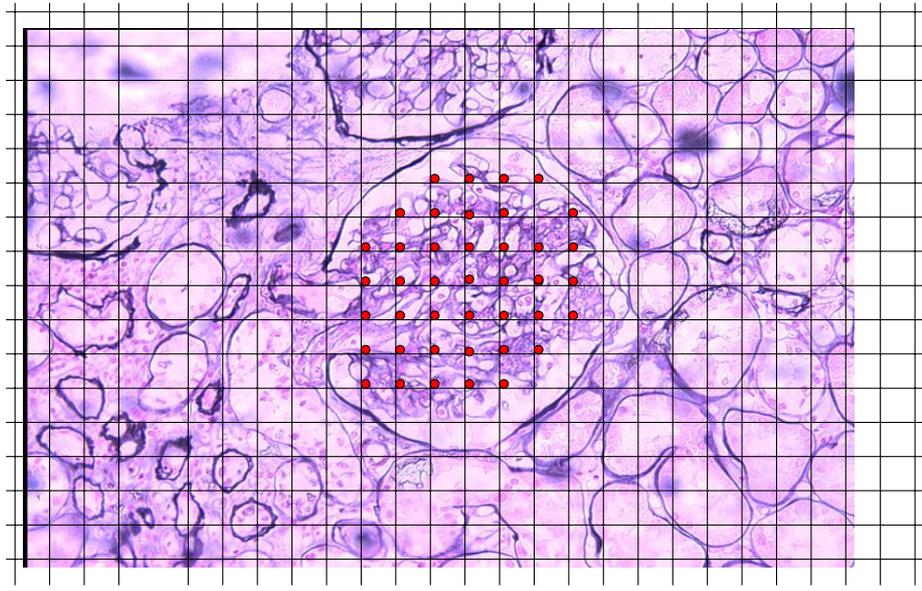
A pesar de la existencia de todas las evidencias presentadas, no había hasta el momento estudios que evaluaran la adaptación glomerular en trasplantados renales con biopsias pareadas de donante y receptor, ni se conocía la utilidad del Vg como predictor de supervivencia del injerto.

MEDICIÓN DEL VOLUMEN GLOMERULAR. MÉTODOS ESTEREOLÓGICOS

Cuando en 1963 se funda la Sociedad Internacional de Estereología, dicho término se define como “la ciencia de la interpretación tridimensional de imágenes bidimensionales”. Probablemente, el primer método estereológico se publicó en 1848, cuando el geólogo francés Delesse ¹²⁴ estimó el área de fracción de un mineral en una muestra de roca. Delesse indicó que la fracción de volumen de este mineral en la roca entera era igual al área de fracción del mineral en la superficie de corte de una muestra representativa de la roca. Esto corresponde a la idea de que una estructura tridimensional es representada

como un área en secciones bidimensionales planas. Todos los métodos de contaje de puntos se basan en el principio de cuantificar el número de puntos que intersectan la estructura de interés, para luego estimar el volumen. El contaje de puntos es aún uno de los pilares de muchos métodos estereológicos y provee una estimación del volumen de forma tan o más eficiente que los analizadores de imágenes ¹²⁵.





b

Figura 2. Métodos de conteo de puntos

- a) Graticula de puntos
- b) Cuadrícula de líneas

Los métodos estereológicos son herramientas prácticas, basadas en principios matemáticos y estadísticos. Una gran ventaja de la estereología moderna, es que puede minimizarse el muestreo, otorgando información fiable sobre la estructura de interés.

Una condición básica en estereología es que todas las estructuras en estudio deben ser identificadas. En muchos métodos estereológicos, el número, longitud, área de superficie y volumen es estimado en el volumen de referencia. El volumen de referencia es el volumen total de tejido en estudio.

Cuando un riñón es cortado en pequeños bloques, se crean bordes y superficies artificiales, y se corre el riesgo de que la estructura de interés quede fuera. Las deformaciones del tejido por edema o por procesamiento del mismo, influyen en las estimaciones de tamaño ¹²⁶.

El método más seguro para evaluar el tamaño glomerular involucra la estimación del área de múltiples secciones de un glomérulo individual y el uso de estas áreas para calcular su volumen a través del principio de Cavalieri ¹²⁷.

El principio de Cavalieri es un método no sesgado, que sirve para estimar el volumen (V) total de cualquier objeto físico. Cortando el objeto en láminas de un grosor conocido (t), y contando el número de puntos (P) asociados a un área conocida (alp), se puede estimar el volumen total:

$$V=t \times (alp) \times \sum P$$

El uso del Principio de Cavalieri requiere simplemente que las secciones sean paralelas, y que el grosor de las mismas sea constante. Su desventaja es que por requerir secciones completas de cada glomérulo es costoso, consume mucho tiempo y no permite evaluar el volumen de glomérulos que no están completos en biopsias renales.

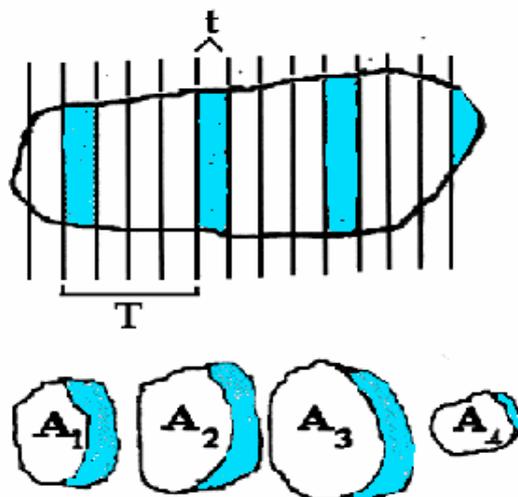


Fig. 3. Principio de Cavalieri

El método del área de máximo perfil (MPA), requiere también muchas secciones a través de un glomérulo, para identificar el área máxima del mismo. En estereología, perfil se define como la representación bidimensional de una partícula, una vez que esta es seccionada. Este método tiene la ventaja de ser menos laborioso y de permitir el examen de glomérulos incompletos, pero parte de asumir que el glomérulo es una esfera, por lo cual tiende a sobreestimar el V_g .

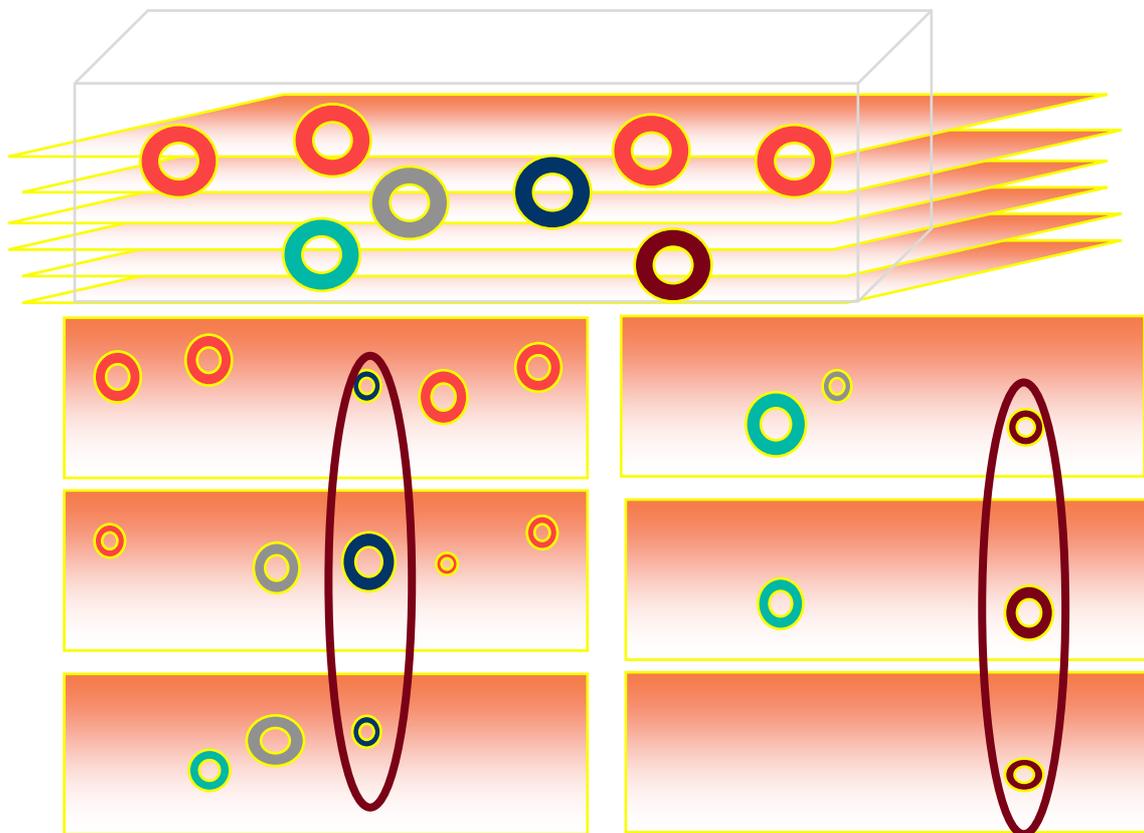


Figura 4. Método del Maximal Profile Area (MPA)

Finalmente, el método de Weibel y Gómez (W&G), asume también que el glomérulo es una esfera, pero permite la estimación del V_g en una sola sección ¹²⁸, lo cual lo hace más rápido y sencillo.

$$V_g \text{ W\&G} = (A_g^{3/2} \times \beta) / d$$

$\beta = 1,38$ (coeficiente de la esfera)

$d = 1,01$ (distribución del tamaño glomerular, considerando un coeficiente de variación del 10%)

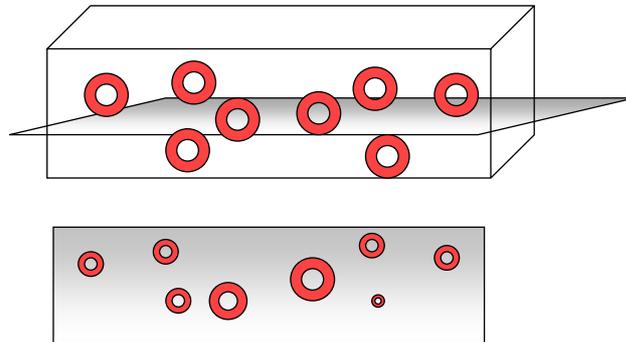
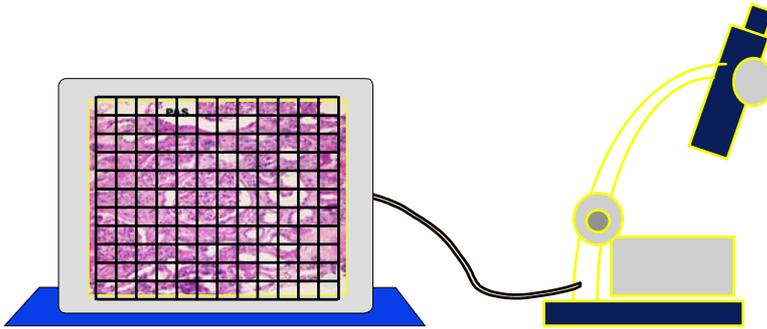


Figura 5. Método de Weibel & Gómez

Para medir el volumen glomerular por el método de W&G, se emplean secciones de biopsias renales teñidas con metenamina-plata. El área glomerular media se estima por un método de contaje de puntos a un aumento de 200X, en todos los glomérulos disponibles completos y no esclerosados en una sección. Los glomérulos situados en el límite de una biopsia, que no conservan la cápsula de Bowman intacta se descartan. Se coloca una grilla de 560 puntos sobre una pantalla de televisión, y la distancia entre los puntos se calibra con una regla micrometrada. Los glomérulos se definen como el área que queda dentro del polígono convexo descrito por los capilares externos del

ovillo. El número total de puntos que llenan el ovillo glomerular se cuenta a 200X. Luego se estima el Vg por el método descrito.



VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS DIFERENTES MÉTODOS ESTEREOLÓGICOS

Diferentes estudios han intentado establecer la fidelidad de los métodos estereológicos descriptos. Lane ¹²⁹ concluye que con los 3 métodos se obtienen estimaciones confiables del Vg, pero que el método de Cavalieri es el que provee información más real. Más tarde, otro estudio realizado en ratas y en biopsias renales humanas compara el método de Cavalieri con el de MPA, determinando que valores similares de Vg son obtenidos con ambos métodos ¹³⁰. Por último, un trabajo más reciente compara los métodos de MPA y W&G; aunque el método de W&G sobreestima ligeramente el Vg, la correlación entre ambos métodos se mantiene, igual que ya lo había descrito Lane, sugiriendo los autores que el método de W&G permite una estimación razonable del Vg

UTILIDAD DEL ESTUDIO DEL ÍNDICE DE RESISTENCIA RENAL COMO PREDICTOR DE EVOLUCIÓN DEL INJERTO

El índice de resistencia (IR) medido por ecografía Doppler, es un parámetro útil para cuantificar alteraciones en el flujo sanguíneo renal que pueden estar presentes en distintas enfermedades renales, y no es más que una medida de compliancia vascular. IR se calcula con la siguiente fórmula:

$$IR = [1 - (V_{min}/V_{max})] \times 100$$

V_{min}= Velocidad diastólica mínima

V_{max}= Velocidad sistólica máxima

Diferentes estudios han definido que el IR renal medio es aproximadamente, y en condiciones normales de 60. Las series más grandes reportan un promedio de 60 en pacientes sin enfermedad renal preexistente ¹³¹. En general, la mayoría de los ecografistas consideran el umbral máximo normal de IR renal en adultos normales en 70 ^{132,133}. Sin embargo, hay que tener en cuenta que los niños menores de 4 años de edad pueden tener en condiciones normales IRs mayores a 70 ^{134,135}. También en pacientes ancianos sin insuficiencia renal el IR puede ser mayor a 70, probablemente debido a cambios en la compliancia vascular, o a cambios en los pequeños vasos que ocurren en el riñón envejecido ^{136,137}.

Aunque la ecografía Doppler no sustituye a la biopsia renal, muchos estudios han sugerido que puede ser útil en el manejo de la enfermedad renal establecida, prediciendo la evolución de la misma. Se ha descrito la correlación entre IR y compromiso renal en pacientes con esclerosis sistémica ¹³⁸. También se ha observado la utilidad del Doppler como predictor de evolución en la nefropatía lúpica ¹³⁹, y en otras enfermedades del riñón nativo ^{140,141}.

En 1989, Skotnicki describió las características del estudio Doppler de los pacientes con alteración funcional del injerto por rechazo o por toxicidad por ciclosporina, afirmando que la resistencia periférica se incrementaba, y que esto se reflejaba primariamente en una disminución en la velocidad de flujo diastólico¹⁴². Mucho más tarde, Radermacher describe que en pacientes con estenosis de la arteria renal, IRs mayores a 80 predicen una mala evolución, a pesar del tratamiento corrector con angioplastia o cirugía¹⁴³. Posteriormente, también se demuestra que IRs mayores a 80 predicen mala evolución en pacientes con deterioro de función renal de cualquier causa, y se correlacionan con la tasa de pérdida de función¹⁴⁴. Este mismo grupo realizó otro estudio en el que se medía IR por Doppler en 601 pacientes 3 meses después de realizado el trasplante renal, volviendo a describir el mismo hallazgo: un IR mayor o igual a 80 se asocia a mal funcionamiento del injerto y a mortalidad por causa cardiovascular. Sin embargo, no se halló ninguna relación entre IR e histología renal al momento de la medición¹⁴⁵.

Otro estudio realizado en pacientes pediátricos trasplantados renales, encuentra una significativa correlación entre IRs mayores a 80 y disfunción del injerto a largo plazo. En este caso, se asoció un método de medición de fracción de volumen de fibrosis intersticial, resultando este último también predictor independiente de NCT¹⁴⁶.

Recientemente, un estudio realizado en 105 receptores de trasplante renal cuestiona el hecho de que el IR refleje el daño renal local, y asocia esta variable con factores de riesgo cardiovascular, y con la presencia de aterosclerosis sistémica¹⁴⁷. Otro estudio demuestra que la resistencia vascular renal (RVR) es uno de los más importantes predictores de pérdida del

injerto y mortalidad en el receptor. RVR fue mejor predictor de mortalidad que la función renal y la proteinuria, pero esto se debió principalmente al efecto en la tensión arterial media. En contraste, RVR pareció ser más que la suma de sus componentes como predictor de pérdida del injerto, pero resultó peor predictor que la creatinina ¹⁴⁸. Aunque este estudio coloca a RVR como uno de los más importantes predictores de supervivencia de injerto y receptor, los resultados no son tan claros como los obtenidos por Radermacher y cols. ¹⁴⁵. Probablemente esto se deba a que de Vries y cols. realizaron mediciones de RVR en momentos fijos luego del trasplante (a los 12 meses), mientras que Radermacher y cols. realizaron mediciones en un período más amplio, de entre 3 y 317 meses luego del trasplante, lo cual podría resultar en un sesgo, ya que el IR es tiempo-dependiente ¹⁴⁹. Esto sugiere que el valor predictivo del IR puede incrementarse si se mide en forma tardía, en un momento cercano a la pérdida del injerto.

JUSTIFICACION GENERICA DEL TEMA

PUBLICACIONES DE LA TESIS

(3 publicaciones)

1. Glomerular enlargement assessed by paired donor and early protocol renal allograft biopsies.

G. Alperovich, R. Maldonado, F. Moreso, X. Fulladosa, JM. Grinyó, D. Serón.

Am J Transplant. 2004, 4: 650-654. **IF: 5.678**

Se evalúa la evolución del volumen glomerular 4 meses después del trasplante con biopsias pareadas de donante y receptor. Se observa que el volumen glomerular aumenta después del trasplante, y que al menos en etapas tempranas este aumento se correlaciona positivamente con el clearance de creatinina, sugiriendo que el crecimiento es una condición necesaria para la adaptación renal al receptor.

2. Glomerular size in early protocol biopsies is associated with graft

outcome. F. Azevedo, G. Alperovich, F. Moreso, M. Ibernón, M. Gomà, X.

Fulladosa, M. Hueso, M. Carrera, JM. Grinyó, D. Serón.

Am J Transplant. 2005, 5: 2877-2882. **IF: 5.678**

Se evalúan las consecuencias del crecimiento glomerular a largo plazo, relacionando el volumen glomerular estimado en biopsias de protocolo con la supervivencia y la función del injerto.

Se observa que el volumen glomerular aumentado, la presencia de un score de

Banff de cronicidad elevado, y el deterioro de la función renal son predictores independientes de la supervivencia del injerto.

3. Resistive index and chronic allograft nephropathy evaluated in protocol biopsies as predictors of graft outcome.

A. Vallejos, G. Alperovich, F. Moreso, C. Cañas, ME de Lama, M. Gomá, X. Fulladosa, M. Carrera, M. Hueso, JM. Grinyó, D. Serón.

Nephrol Dial Transplant. 2005, 20: 2511-2516. **IF: 2.84**

Se evalúa el valor de otros predictores de supervivencia del injerto, como la NCT y el índice de resistencia (IR).

Después del trasplante renal, la NCT es la principal causa de pérdida del injerto, y la enfermedad cardiovascular es la principal causa de mortalidad. Se ha postulado que un incremento en el IR del injerto renal se asocia con la supervivencia del injerto a largo plazo, y con la mortalidad por causa cardiovascular, sugiriendo que el IR sería una medida de arteriosclerosis, y del daño histológico del injerto.

Un estudio publicado recientemente determina que NCT e IR son predictores de supervivencia del injerto, pero no observa correlación entre daño histológico e IR.

Con el fin de caracterizar la relación entre IR y lesiones histológicas en el injerto, estudiamos la correlación entre IR y lesiones histológicas en biopsias de protocolo, utilizando para ello la clasificación de Banff y técnicas morfométricas. También evaluamos el valor predictivo de NCT e IR sobre la supervivencia del injerto.

Observamos que el IR elevado se asoció a mayor edad del receptor, presión diastólica elevada, e índice de presión de pulso. Tal como había sido demostrado por Radermacher y cols., no encontramos correlación entre IR y lesiones histológicas. Nuestro mayor aporte ha sido evaluar por métodos morfométricos V_g , V_v int/cortex, y V_v íntima/arteria, ya que estos constituyen medidas reproducibles de NCT. Sin embargo, ninguna de estas medidas se asoció con IR, descartando la utilidad de este último como medida de daño histológico, al menos en las etapas tempranas del trasplante. Confirmamos que los pacientes con NCT en la biopsia de protocolo tienen mayor riesgo de pérdida de función del injerto, pero no encontramos asociación entre IR y evolución del injerto. La única lesión estructural asociada con IR fue la presencia de glomerulitis, sugiriendo que esta lesión podría indicar una relación estructural entre un IR elevado, y una menor supervivencia del injerto a largo plazo.

OTRAS PUBLICACIONES RELACIONADAS CON EL TRABAJO PRESENTADO

En la siguiente publicación, se relacionan los hallazgos obtenidos en biopsias de protocolo con los diferentes esquemas inmunosupresores recibidos:

1. Histologic findings in protocol biopsies performed in stable renal allografts under different immunosuppressive schedules.

F. Moreso, G. Alperovich, X. Fulladosa, S. Gil-Vernet, M. Ibernón, M. Carrera, AM. Castela, M. Hueso, JM. Grinyó, D. Serón.

Transplant Proc. 2003; 35(5):1666-1668.

Analizamos la influencia de la inmunosupresión sobre la presencia de lesiones agudas y crónicas a los 4 meses del trasplante.

Para obtener muestras suficientes, consideramos 3 grupos terapéuticos: pacientes con terapia de inducción con anticuerpos poli o monoclonales, pacientes tratados con micofenolato o pacientes tratados con tacrolimus. Aquellos pacientes tratados con tacrolimus presentaron lesiones agudas de menor severidad y mayor proporción de biopsias normales, pero similar grado de lesiones crónicas.

Concluimos que las biopsias de protocolo realizadas a los 4 meses de realizado el trasplante muestran menos lesiones agudas en pacientes tratados con tacrolimus, y que por lo tanto las biopsias de protocolo pueden ser útiles para evaluar la eficacia de distintos esquemas inmunosupresores sobre la evolución del injerto.

HIPOTESIS

Se ha observado que un Vg aumentado en el donante se asocia a una peor función del injerto en el receptor, y que determina la aparición de glomeruloesclerosis a largo plazo.

Sin embargo, no se había observado qué ocurría con el tamaño glomerular con biopsias pareadas de donante y receptor.

Por eso, nos planteamos que ante una situación de bajo aporte de masa nefronal, como es el del trasplante renal, el glomérulo podría crecer, y quisimos evaluar como influía ese eventual crecimiento en la función del injerto.

Una vez observados los resultados del primer estudio, donde confirmamos que los glomérulos crecían a los 4 meses de realizado el trasplante, y que este crecimiento era una condición necesaria para lograr una buena función del injerto, quisimos saber qué consecuencias a largo plazo tenía este crecimiento glomerular, ya que es conocido que en muchas condiciones un Vg aumentado es predictor de glomeruloesclerosis, y por lo tanto de pérdida de función renal.

Por eso, basados en esta observación, asumimos que aunque inicialmente el crecimiento glomerular que ocurre después del trasplante renal es una respuesta adaptativa a una mayor demanda metabólica, que resulta en un mayor filtrado glomerular en forma inmediata, sus consecuencias a largo plazo podrían resultar en una peor función y en una menor supervivencia del injerto.

Existen evidencias de que el IR del injerto renal se asocia con la supervivencia del injerto a largo plazo, y con la mortalidad por causa cardiovascular, sugiriendo que el IR sería una medida de arteriosclerosis, y del daño

histológico del injerto. Por tal motivo, quisimos evaluar si había alguna relación entre medidas histomorfométricas, como Vg e IR.

OBJETIVOS

1. Evaluar la evolución del Vg en los primeros 4 meses después del trasplante renal.
2. Evaluar la asociación entre el crecimiento glomerular y variables clínicas y demográficas tales como edad del donante y receptor, género del donante y receptor, índice de masa corporal (BMI), área de superficie corporal (BSA), anticuerpos reactivos contra panel (PRA), discrepancias DR, tiempo de isquemia fría, retraso en la función del injerto, rechazo agudo, tiempo de realización de la BP, creatinina sérica, clearance de creatinina, proteinuria, tensión arterial media y nivel de exposición a anticalcineurínicos.
3. Evaluar la asociación entre crecimiento glomerular y presencia de lesiones histológicas evaluadas mediante la clasificación de Banff.
4. Determinar la relación entre el Vg determinado en la biopsia de protocolo y la función y supervivencia del injerto.
5. Analizar la relación entre los datos clínicos e histológicos con la supervivencia del injerto.
6. Analizar si hay relación entre IR del injerto renal y otros predictores de supervivencia del injerto como Vg.

RESULTADOS

1. Crecimiento glomerular

Los glomérulos crecen durante los primeros 4 meses luego de realizado el trasplante.

2. Variables clínicas y demográficas asociadas al crecimiento glomerular

Ni la edad del donante ni el sexo se asociaron con Vg en las biopsias del donante. La creatinina ($R=0,31$, $p=0,04$) y el clearance de creatinina ($R=0,38$, $p=0,01$) se asociaron con Vg en la BP. En el análisis multivariante, la edad del donante y Vg en la BP fueron los únicos predictores independientes del clearance de creatinina ($R=0,53$, $p=0,02$).

3. Asociación entre crecimiento glomerular y presencia de lesiones crónicas

Los pacientes con NCT en la BP tuvieron glomérulos más pequeños que los pacientes sin NCT. De acuerdo con este dato, los glomérulos no crecieron en pacientes con NCT, mientras que sí hubo un significativo incremento del Vg en pacientes sin NCT. Se observó una relación inversa entre Vg en la biopsia del donante y el crecimiento glomerular ($R=-0,30$, $p=0,05$). El análisis multivariante mostró que tanto la presencia de NCT en la BP como el Vg del donante fueron predictores independientes de crecimiento glomerular ($R=0,48$, $p=0,007$).

4. Vg y supervivencia del injerto

Para caracterizar mejor el valor predictivo de Vg sobre la supervivencia del injerto, el mejor punto de corte para esta variable se evaluó considerando los siguientes umbrales en un modelo univariante de riesgo proporcional de Cox: 4, 4.5, 5, 5.5 y 6 x 10⁶ μ³. La mejor predicción de Vg sobre la supervivencia del injerto se obtuvo binarizando Vg como mayor o menor de 5 x 10⁶ μ³ (Riesgo relativo [RR]: 2.4, 95% intervalo de confianza [CI]: 1.03-5.6, p=0.04). De la misma manera, el mejor punto de corte para el CI de creatinina se evaluó considerando los siguientes umbrales: 50, 55, 60 y 65 ml/min. El mejor predictor de supervivencia se obtuvo binarizando el CI de creatinina como menor o mayor a 60 ml/min (RR: 3.5, 95% CI: 1.04-11.9, p=0.04). Finalmente, el mejor punto de corte para el score de cronicidad se determinó a partir de los siguientes umbrales: 1, 2, 3 y 4. La mejor predicción, en este caso, se obtuvo binarizando el score crónico como mayor a 2 (RR: 3.4, 95% CI: 1.03-8.9, p=0.012). El análisis multivariante mostró que Vg, clearance de creatinina y score crónico fueron predictores independientes de supervivencia del injerto (RR: 3.3, 95%CI: 1.4-7.9, p<0.01; RR: 4.2, 95% CI: 1.2-14.6, p=0.02 y RR: 2.9, 95%CI: 1.1-7.8, p=0.04 respectivamente). Se realizó análisis de regresión de Cox ajustando por edad del donante, tratamiento inmunosupresor y rechazo agudo antes de la BP, confirmando que las 3 variables eran predictores independientes de supervivencia del injerto (RR: 4.2, 95%CI: 1.6-11.2, p<0.01, RR: 4.9, 95% CI: 1.3-18.2, p=0.01, RR: 3.4, 95%CI: 1.2-9.6, p=0.01 respectivamente).

5. Supervivencia del injerto según Vg y clearance de creatinina

Con el objetivo de explorar mejor la relación entre Vg, clearance de creatinina y supervivencia del injerto, se clasificó a los pacientes en 4 grupos de acuerdo a estos parámetros: a) glomérulo pequeño con buena función renal, b) glomérulo pequeño con mala función renal, c) glomérulo grande con buena función renal y d) glomérulo grande con mala función renal. Los pacientes del grupo a (glomérulo pequeño y buena función renal) tuvieron una supervivencia del injerto de 95% a los 15 años, mientras que en aquellos con glomérulo grande y mala función fue del 45%. En los dos grupos restantes la supervivencia del injerto resultó intermedia (78 y 73%).

6. Características clínicas e histológicas según Vg y clearance de creatinina

Se analizaron las características clínicas e histológicas de los pacientes en estos 4 grupos. A pesar de que no hubo diferencias entre grupos en los scores agudos y crónicos, se observó que la glomerulitis fue significativamente menor en los pacientes con glomérulo pequeño y buena función renal ($p=0,013$) y el score cv fue significativamente más alto en los pacientes con glomérulo grande y mala función renal ($p=0,009$).

7. IR y Vg

El IR correlacionó con la edad del receptor ($R=0,52$, $p<0,0001$), la presión diastólica, ($R=-0,36$, $p=0,0006$), el índice de presión de pulso ($R=0,27$, $p=0,009$) y el score de glomerulitis ($R=0,30$, $p=0,054$). Sin embargo, no encontramos relación entre IR y medidas histomorfométricas, ni con scores de cronicidad de Banff.

DISCUSIÓN

En situaciones de bajo aporte de masa nefronal, como en el trasplante renal, los glomérulos se adaptan a una mayor demanda metabólica incrementando su volumen. El Vg en adultos normales es variable, y por lo tanto sólo estudios con datos pareados pueden controlar esta variabilidad entre donantes.

Nuestros datos, obtenidos de un estudio con biopsias pareadas de donante y receptor, demuestran que los glomérulos crecen en los primeros meses luego de realizado el trasplante en aproximadamente un 20%, y que este crecimiento se acompaña de un mejor filtrado glomerular. Sin embargo, estos datos parecen contradecir conocimientos previos sobre el valor predictivo de la glomerulomegalia tanto en algunas razas, como en ciertas condiciones patológicas, en los que claramente el Vg elevado se asocia a evolución a glomeruloesclerosis y pérdida de función renal^{13,20,61-63,65-69}. El aumento del Vg es una característica común en la GEFS, la glomerulopatía asociada a obesidad, la nefropatía diabética y la hipertensión.

La evaluación morfométrica del tamaño glomerular ha aumentado el conocimiento sobre la patogenia de enfermedades tales como la nefropatía diabética¹⁵⁰, y sobre la progresión de otras enfermedades renales^{67,150}. En 1990, Fogo et al publican un estudio en el que identifican retrospectivamente por histomorfometría que los pacientes pediátricos con diagnóstico de glomerulopatía a cambios mínimos que luego evolucionaban a GEFS, presentaban en la biopsia renal inicial una hipertrofia glomerular significativa con respecto a aquellos pacientes que tenían buena evolución de la

enfermedad. Por lo tanto concluyen que la presencia de hipertrofia glomerular en biopsias de niños con cambios mínimos constituye una herramienta pronóstica de mala evolución ⁶⁷.

En el estudio de Abdi et al, en el que se mide por el método de MPA el Vg de 103 donantes de riñón, se identifica claramente la importancia de la raza negra sobre el tamaño glomerular, independientemente de la edad, y se propone que este fenómeno, asociado a un menor Ng y/o a una relativa hipertensión e hiperperfusión glomerular, puede ser una explicación parcial al mayor riesgo de desarrollo de glomeruloesclerosis y progresión de enfermedad renal en la raza negra ⁶¹. Bertram et al también han descrito en especímenes de biopsia renal, que el Vg es significativamente mayor en la población aborigen australiana que en la población no aborigen ¹⁵¹. Moore et al también observaron que las lesiones de glomeruloesclerosis diabética y la glomerulomegalia idiopática eran mayores en la población aborigen australiana respecto a la población no aborigen ¹⁵². A partir de estos estudios, se observa un comportamiento bifásico en el Vg y el desarrollo de GEFS en aborígenes australianos. En una primera fase, el Vg se incrementa en un 100%, pero en estadíos más avanzados de esclerosis glomerular el Vg retorna a su tamaño normal, e incluso disminuye ⁶². De todos modos, el origen del mayor Vg en esta población podría explicarse como una hipertrofia compensadora en respuesta a un bajo aporte nefronal. Y a su vez, este bajo aporte nefronal, podría originarse en la vida intrauterina.

Un estudio retrospectivo con biopsias renales y medida glomerular realizado en obesidad, demuestra que los pacientes con glomerulopatía asociada a obesidad (ORG) presentan un diámetro glomerular significativamente mayor que los controles ($226 \pm 24,6 \mu\text{m}$ y $168 \pm 12 \mu\text{m}$ respectivamente, $p < 0,001$).

Por otra parte, en este estudio se observa que la glomerulomegalia estuvo presente en el 100% de los pacientes con ORG, mientras que sólo se observó en el 10% de los pacientes con GEFS idiopática ⁶⁸.

Durante la infancia, el riñón humano experimenta un crecimiento del Vg, para adaptar el filtrado glomerular al crecimiento corporal ^{14,31,153}. El estudio realizado por Mañalich et al en autopsias de 35 neonatos fallecidos por distintas causas, demuestra que aquellos con peso menor a 2,5 kg al momento de nacer tienen un número significativamente menor de glomérulos que los niños de peso normal. Asimismo, el Vg resultó significativamente mayor en los niños de bajo peso con respecto a los de peso normal (592.1 ± 187.63 vs $158 \pm 49,89 \mu^3 \times 10^{-3}$). La conclusión de este novedoso estudio es que hay una fuerte correlación directa entre el bajo peso al nacer y el Vg, y una fuerte correlación inversa con el Ng. Además, se halló una relación significativa entre hipertensión y tabaquismo materno con el bajo aporte de masa nefronal en los neonatos ³¹.

En adultos uninefrectomizados, se ha observado que el Vg se incrementa al doble, pero habitualmente sin evolucionar a la glomeruloesclerosis. Sin embargo, esta lesión sí se desarrolla en casos de agenesia renal u oligomeganefronia congénita, en los que el Vg suele aumentar en 5-8 veces su tamaño ^{47,48}. La capacidad del glomérulo para aumentar su tamaño es entonces edad-dependiente, y cuando la hipertrofia glomerular alcanza un volumen límite, se puede desencadenar el complejo mecanismo que lleva al desarrollo de glomeruloesclerosis, con la consiguiente pérdida de nefronas funcionantes.

Existían datos previos a nuestros estudios que sugerían que el Vg en trasplantados renales podía crecer hasta un 250% de su tamaño basal, desencadenando a partir de entonces glomeruloesclerosis. En el estudio histomorfométrico de Bathena sobre riñones trasplantados, este encuentra que la única diferencia significativa entre el grupo de pacientes que evoluciona a la glomeruloesclerosis después de 2 años del trasplante y los que no lo hacen es el diámetro glomerular ⁷⁵. Sin embargo, el volumen que podían alcanzar riñones nefronopénicos nativos era aún mucho mayor, lo cual lleva a la conclusión de que el Vg umbral para el desarrollo de glomeruloesclerosis es mucho más bajo en el riñón trasplantado que en el riñón propio. Nosotros hallamos que existe una asociación entre Vg aumentado y mala evolución del injerto a largo plazo, a pesar de que los pacientes con Vg aumentado tenían mejor filtrado glomerular al momento de la BP. Esta observación sugiere que el aumento del Vg desencadena mecanismos que a largo plazo llevan a la glomeruloesclerosis.

En nuestro trabajo se observa también que la presencia de NCT al momento de la BP interfería con la capacidad del glomérulo para aumentar su volumen. Esto sugiere que la adaptación glomerular a una mayor demanda metabólica requiere de la preservación de las estructuras tubulointersticiales. Además, otra variable que mostró interferir en el crecimiento glomerular fue el Vg del donante. A mayor Vg en la biopsia del donante, menor crecimiento glomerular post-trasplante. No encontramos ninguna asociación entre crecimiento glomerular y BMI o BSA del receptor, a pesar de que la asociación entre

obesidad y glomerulomegalia está descrita en el riñón nativo ^{68,69,154,155}. Además, el trabajo de Nyengaard realizado en riñones de autopsia, también muestra una correlación positiva entre BSA y Vg ($p < 0.05$; $r = 0.56$) ¹⁴.

En nuestro segundo estudio, hallamos una asociación entre edad del donante y Vg. No podemos saber si este Vg aumentado en la BP se debe a la edad del donante o al proceso adaptativo a una mayor demanda metabólica del receptor, pero sí observamos una asociación entre Vg aumentado y disminución de supervivencia del injerto. Previamente, Abdi et al habían descrito como un Vg mayor en el donante se asociaba a disfunción crónica del injerto en el receptor ⁸⁰.

En numerosos estudios epidemiológicos se ha reiterado el rol de la función renal sobre la supervivencia del injerto ¹⁵⁶⁻¹⁵⁹. También está claramente demostrado que la presencia de daño crónico en la BP es un predictor independiente de fallo tardío del injerto ^{103,160}. Nosotros no sólo hemos confirmado que la función renal y la NCT se asocian a la supervivencia del injerto, sino que además hemos observado que el Vg es un predictor independiente de la misma. Por esta razón proponemos que el Vg es un parámetro de utilidad en la evaluación de las BP.

Otro importante hallazgo de nuestro estudio ha sido el hecho de que la evolución del injerto fue mucho peor en aquellos pacientes con glomérulos grandes y mala función renal. En este grupo, los receptores tuvieron un BMI más alto, y además recibieron riñones de donantes mayores. Quizás estos

glomérulos no pudieron adaptarse a una mayor demanda metabólica del receptor, porque la capacidad de crecimiento ya había llegado a su límite antes del trasplante. Este concepto refuerza lo demostrado en nuestro primer estudio, donde observamos que a mayor Vg en el donante, menor crecimiento en la BP. Por el contrario, los pacientes con glomérulos grandes y buena función renal, con supervivencia intermedia del injerto, recibieron riñones de donantes más jóvenes, y además tuvieron una menor exposición a ciclosporina. Esto último sugiere que esta droga interfiere en la capacidad del glomérulo para crecer. A este respecto, existen evidencias experimentales de que la administración de ciclosporina en ratas inhibe la hipertrofia glomerular ^{161,162}. También ha sido descrita la inhibición del crecimiento glomerular por ciclosporina en niños con síndrome nefrótico que recibían tratamiento con este anticalcineurínico ¹⁶³. El grupo con glomérulos pequeños y mala función renal, también mostró una supervivencia intermedia. En este grupo, los receptores tuvieron un menor BMI, y probablemente su demanda metabólica no fue suficiente para estimular el crecimiento glomerular; además los niveles de ciclosporina fueron los más elevados, lo cual avala la hipótesis explicada para el grupo anterior.

Finalmente, la mejor supervivencia fue la del grupo con glomérulo pequeño y buena función renal. En este caso, los donantes fueron más jóvenes, y probablemente su aporte nefronal estuvo más acorde a sus requerimientos metabólicos, con lo cual los glomérulos no necesitaron crecer, ya que su tamaño era suficiente para asegurar una buena superficie de filtración.

Aunque varios autores han demostrado que el IR del injerto renal ¹⁴⁵⁻¹⁴⁷, o aún del riñón nativo ¹⁶⁴, es marcador pronóstico de evolución renal, no hemos podido establecer correlación entre IR y Vg, ni con otras medidas

morfométricas, así como tampoco hallamos correlación entre IR y NCT evaluada mediante el score de Banff.

CONCLUSIONES

1) Crecimiento glomerular

Los glomérulos aumentan su volumen para adaptarse a la demanda metabólica del receptor en los primeros meses posteriores al trasplante renal. Este crecimiento es una condición necesaria para lograr una buena función renal, al menos en etapas tempranas del trasplante.

2) Predictores independientes de función del injerto

A pesar de lo afirmado en el párrafo previo, un Vg aumentado y una mala función renal al momento de la BP son predictores de una baja supervivencia del injerto. Por el contrario, un Vg pequeño, y una adecuada función renal al momento de la BP predicen una excelente supervivencia del injerto a largo plazo.

3) ¿Es bueno o malo que el Vg aumente después del trasplante?

Por lo expresado anteriormente, podemos concluir que el aumento del Vg en el post trasplante temprano representa un mecanismo de adaptación de una masa nefronal insuficiente a una mayor demanda metabólica, y este mecanismo adaptativo se asocia con una mejor función renal. Sin embargo, a largo plazo, esta adaptación puede desencadenar el desarrollo de glomeruloesclerosis, y por lo tanto llevar a la pérdida progresiva de función del injerto.

4) Los datos histológicos son más útiles que el IR del injerto para predecir la evolución del mismo.

Nuestros hallazgos sugieren que, al menos en pacientes con función renal estable, que son quienes se someten a BP, la histología y la histomorfometría resultan superiores al IR como predictores de función y supervivencia del injerto.

BIBLIOGRAFIA

1. **Brenner BM, Cohen RA, Milford EL.** In renal transplantation, one size may not fit all. *J Am Soc Nephrol* 1992;3-2:162-9.
2. **Brenner BM, Garcia DL, Anderson S.** Glomeruli and blood pressure. Less of one, more the other? *Am J Hypertens* 1988;1-4 Pt 1:335-47.
3. **Barker DJ, Osmond C.** Infant mortality, childhood nutrition, and ischaemic heart disease in England and Wales. *Lancet* 1986;1-8489:1077-81.
4. **Barker DJ, Osmond C.** Death rates from stroke in England and Wales predicted from past maternal mortality. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1987;295-6590:83-6.
5. **Barker DJ.** Intrauterine programming of adult disease. *Mol Med Today* 1995;1-9:418-23.
6. **Brenner BM, Chertow GM.** Congenital oligonephropathy and the etiology of adult hypertension and progressive renal injury. *Am J Kidney Dis* 1994;23-2:171-5.
7. **Hoy WE, Rees M, Kile E, Mathews JD, Wang Z.** A new dimension to the Barker hypothesis: low birthweight and susceptibility to renal disease. *Kidney Int* 1999;56-3:1072-7.
8. **Lackland DT, Bendall HE, Osmond C, Egan BM, Barker DJ.** Low birth weights contribute to high rates of early-onset chronic renal failure in the Southeastern United States. *Arch Intern Med* 2000;160-10:1472-6.
9. **Van Buynder PG, Gaggin JA, Mathews JD.** Renal disease patterns in aboriginal Australians. A family-based study in a high incidence community. *Med J Aust* 1993;159-2:82-7.
10. **Hoy WE, Mathews JD, McCredie DA, Pugsley DJ, Hayhurst BG, Rees M, Kile E, Walker KA, Wang Z.** The multidimensional nature of renal disease: rates and associations of albuminuria in an Australian Aboriginal community. *Kidney Int* 1998;54-4:1296-304.
11. **Merlet-Benichou C.** Influence of fetal environment on kidney development. *Int J Dev Biol* 1999;43-5:453-6.
12. **Reyes L, Manalich R.** Long-term consequences of low birth weight. *Kidney Int Suppl* 2005-97:S107-11.
13. **Hoy WE, Douglas-Denton RN, Hughson MD, Cass A, Johnson K, Bertram JF.** A stereological study of glomerular number and volume: preliminary findings in a multiracial study of kidneys at autopsy. *Kidney Int Suppl* 2003-83:S31-7.
14. **Nyengaard JR, Bendtsen TF.** Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man. *Anat Rec* 1992;232-2:194-201.
15. **Merlet-Benichou C, Gilbert T, Vilar J, Moreau E, Freund N, Lelievre-Pegorier M.** Nephron number: variability is the rule. Causes and consequences. *Lab Invest* 1999;79-5:515-27.
16. **Basgen JM, Steffes MW, Stillman AE, Mauer SM.** Estimating glomerular number in situ using magnetic resonance imaging and biopsy. *Kidney Int* 1994;45-6:1668-72.
17. **Fulladosa X, Moreso F, Narvaez JA, Grinyo JM, Seron D.** Estimation of total glomerular number in stable renal transplants. *J Am Soc Nephrol* 2003;14-10:2662-8.
18. **Hughson M, Farris AB, 3rd, Douglas-Denton R, Hoy WE, Bertram JF.** Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. *Kidney Int* 2003;63-6:2113-22.

19. Keller G, Zimmer G, Mall G, Ritz E, Amann K. Nephron number in patients with primary hypertension. *N Engl J Med* 2003;348-2:101-8.
20. Samuel T, Hoy WE, Douglas-Denton R, Hughson MD, Bertram JF. Determinants of Glomerular Volume in Different Cortical Zones of the Human Kidney. *J Am Soc Nephrol* 2005.
21. Gundersen HJ, Bagger P, Bendtsen TF, Evans SM, Korbo L, Marcussen N, Moller A, Nielsen K, Nyengaard JR, Pakkenberg B, et al. The new stereological tools: disector, fractionator, nucleator and point sampled intercepts and their use in pathological research and diagnosis. *Apmis* 1988;96-10:857-81.
22. Bertram JF. Counting in the kidney. *Kidney Int* 2001;59-2:792-6.
23. Hughson MD, Douglas-Denton R, Bertram JF, Hoy WE. Hypertension, glomerular number, and birth weight in African Americans and white subjects in the southeastern United States. *Kidney Int* 2006;69-4:671-8.
24. Haas M. Hypertension, race, and glomeruli: more than simply a numbers game. *Kidney Int* 2006;69-4:640-2.
25. Hoy WE, Hughson MD, Bertram JF, Douglas-Denton R, Amann K. Nephron number, hypertension, renal disease, and renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2005;16-9:2557-64.
26. Kappel B. OS. Cortical interstitial tissue and sclerosed glomeruli in the normal human kidney, related to age and sex. A quantitative study. 1980;387:271-7.
27. Ingelfinger JR. Is microanatomy destiny? *N Engl J Med* 2003;348-2:99-100.
28. Ingelfinger JR. Pathogenesis of perinatal programming. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2004;13-4:459-64.
29. Kusuyama Y, Tsukino R, Oomori H, Kuribayashi K, Katayama H, Koike M, Saito K. Familial occurrence of oligomeganephronia. *Acta Pathol Jpn* 1985;35-2:449-57.
30. Salomon R, Tellier AL, Attie-Bitach T, Amiel J, Vekemans M, Lyonnet S, Dureau P, Niaudet P, Gubler MC, Broyer M. PAX2 mutations in oligomeganephronia. *Kidney Int* 2001;59-2:457-62.
31. Manalich R, Reyes L, Herrera M, Melendi C, Fundora I. Relationship between weight at birth and the number and size of renal glomeruli in humans: a histomorphometric study. *Kidney Int* 2000;58-2:770-3.
32. Langley-Evans SC, Welham SJ, Jackson AA. Fetal exposure to a maternal low protein diet impairs nephrogenesis and promotes hypertension in the rat. *Life Sci* 1999;64-11:965-74.
33. Marchand MC, Langley-Evans SC. Intrauterine programming of nephron number: the fetal flaw revisited. *J Nephrol* 2001;14-5:327-31.
34. Schreuder MF, Nyengaard JR, Fodor M, van Wijk JA, Delemarre-van de Waal HA. Glomerular Number and Function Are Influenced by Spontaneous and Induced Low Birth Weight in Rats. *J Am Soc Nephrol* 2005.
35. Rodriguez MM, Gomez A, Abitbol C, Chandar J, Montane B, Zilleruelo G. Comparative renal histomorphometry: a case study of oligonephropathy of prematurity. *Pediatr Nephrol* 2005;20-7:945-9.
36. Hinchliffe SA, Sargent PH, Howard CV, Chan YF, van Velzen D. Human intrauterine renal growth expressed in absolute number of glomeruli assessed by the disector method and Cavalieri principle. *Lab Invest* 1991;64-6:777-84.
37. Hinchliffe SA, Lynch MR, Sargent PH, Howard CV, Van Velzen D. The effect of intrauterine growth retardation on the development of renal nephrons. *Br J Obstet Gynaecol* 1992;99-4:296-301.

- 38. Lumbers ER, Yu ZY, Gibson KJ.** The selfish brain and the barker hypothesis. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2001;28-11:942-7.
- 39. Schmidt IM, Damgaard IN, Boisen KA, Mau C, Chellakooty M, Olgaard K, Main KM.** Increased kidney growth in formula-fed versus breast-fed healthy infants. *Pediatr Nephrol* 2004;19-10:1137-44.
- 40. Schmidt IM, Chellakooty M, Boisen KA, Damgaard IN, Mau Kai C, Olgaard K, Main KM.** Impaired kidney growth in low-birth-weight children: distinct effects of maturity and weight for gestational age. *Kidney Int* 2005;68-2:731-40.
- 41. Rodriguez MM, Gomez AH, Abitbol CL, Chandar JJ, Duara S, Zilleruelo GE.** Histomorphometric analysis of postnatal glomerulogenesis in extremely preterm infants. *Pediatr Dev Pathol* 2004;7-1:17-25.
- 42. Moser K, Shkolnikov V, Leon DA.** World mortality 1950-2000: divergence replaces convergence from the late 1980s. *Bull World Health Organ* 2005;83-3:202-9.
- 43. Singer MA.** Of mice and men and elephants: metabolic rate sets glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis* 2001;37-1:164-78.
- 44. Brenner BM, Milford EL.** Nephron underdosing: a programmed cause of chronic renal allograft failure. *Am J Kidney Dis* 1993;21-5 Suppl 2:66-72.
- 45. Terasaki PI, Gjertson DW, Cecka JM, Takemoto S.** Fit and match hypothesis for kidney transplantation. *Transplantation* 1996;62-4:441-5.
- 46. Stratta RJ, Rohr MS, Sundberg AK, Armstrong G, Hairston G, Hartmann E, Farney AC, Roskopf J, Iskandar SS, Adams PL.** Increased kidney transplantation utilizing expanded criteria deceased organ donors with results comparable to standard criteria donor transplant. *Ann Surg* 2004;239-5:688-95; discussion 95-7.
- 47. Ohshima T, Inaba S, Arai M, Sakai Y, Kurose K, Ishihara S, Takahashi T, Takai R, Matukura H, Yoshida R, et al.** [A case of oligomeganephronia--quantitative measurement of the glomerular surface area and the number of glomeruli with a color image analyzer]. *Nippon Jinzo Gakkai Shi* 1994;36-3:271-6.
- 48. Bhatena DB, Julian BA, McMorrow RG, Baehler RW.** Focal sclerosis of hypertrophied glomeruli in solitary functioning kidneys of humans. *Am J Kidney Dis* 1985;5-5:226-32.
- 49. Hayslett JP.** Effect of age on compensatory renal growth. *Kidney Int* 1983;23-4:599-602.
- 50. Schwartz MM, Churchill M, Bidani A, Churchill PC.** Reversible compensatory hypertrophy in rat kidneys: morphometric characterization. *Kidney Int* 1993;43-3:610-4.
- 51. Pourmand G, Taheri M, Mehrsai AR, Nourijelyani K.** Impact of donor nephron mass on outcomes in renal transplantation. *Transplant Proc* 2001;33-5:2828-9.
- 52. Poggio ED, Hila S, Stephany B, Fatica R, Krishnamurthi V, del Bosque C, Goldfarb D, Herts B, Dennis VW, Heeger PS, Braun W.** Donor kidney volume and outcomes following live donor kidney transplantation. *Am J Transplant* 2006;6-3:616-24.
- 53. Brenner BM, Meyer TW, Hostetter TH.** Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease. *N Engl J Med* 1982;307-11:652-9.
- 54. Terasaki PI, Koyama H, Cecka JM, Gjertson DW.** The hyperfiltration hypothesis in human renal transplantation. *Transplantation* 1994;57-10:1450-4.
- 55. Kim YS, Moon JI, Kim DK, Kim SI, Park K.** Ratio of donor kidney weight to recipient bodyweight as an index of graft function. *Lancet* 2001;357-9263:1180-1.

- 56. Nishimura Y, Tomikawa S, Beck Y, Nomura Y, Ando Y, Kikuchi K, Ichikawa N, Meigata K, Muto T, Inoue S, Kuzuhara K, Degawa H, Nagao T, Kuriyama R, Uchida H.** Kidney graft weight as an important risk factor for long-term graft survival. *Transplant Proc* 1998;30-1:107-10.
- 57. Eschwege P, Trifa M, Randrianjohany A, Blanchet P, Desportes L, Decaris J, Joseph L, Larue JR, Charpentier B, Jardin A, et al.** Effects of donor and recipient weight differences on serum creatinine levels in renal transplantation. *Transplant Proc* 1995;27-4:2456.
- 58. Moreso F, Seron D, Anunciada AI, Hueso M, Ramon JM, Fulladosa X, Gil-Vernet S, Alsina J, Grinyo JM.** Recipient body surface area as a predictor of posttransplant renal allograft evolution. *Transplantation* 1998;65-5:671-6.
- 59. Meier-Kriesche HU, Vaghela M, Thambuganipalle R, Friedman G, Jacobs M, Kaplan B.** The effect of body mass index on long-term renal allograft survival. *Transplantation* 1999;68-9:1294-7.
- 60. Oh CK, Jeon KO, Kim HJ, Kim SI, Kim YS, Pelletier SJ.** Metabolic demand and renal mass supply affecting the early graft function after living donor kidney transplantation. *Kidney Int* 2005;67-2:744-9.
- 61. Abdi R, Slakey D, Kittur D, Racusen LC.** Heterogeneity of glomerular size in normal donor kidneys: impact of race. *Am J Kidney Dis* 1998;32-1:43-6.
- 62. Young RJ, Hoy WE, Kincaid-Smith P, Seymour AE, Bertram JF.** Glomerular size and glomerulosclerosis in Australian aborigines. *Am J Kidney Dis* 2000;36-3:481-9.
- 63. Bertram JF JK, Hughson MD, Hoy WE.** Renal glomerular number and size in Australian aborigines, African Americans and white populations from the same locations: a preliminary report. *Image Anal Stereol* 2001;20:153-6.
- 64. Hoy W.** Renal disease in Australian Aborigines. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15-9:1293-7.
- 65. McGraw M, Poucell S, Sweet J, Baumal R.** The significance of focal segmental glomerulosclerosis in oligomeganephronia. *Int J Pediatr Nephrol* 1984;5-2:67-72.
- 66. Nomura S, Osawa G.** Focal glomerular sclerotic lesions in a patient with unilateral oligomeganephronia and agenesis of the contralateral kidney: a case report. *Clin Nephrol* 1990;33-1:7-11.
- 67. Fogo A, Hawkins EP, Berry PL, Glick AD, Chiang ML, MacDonell RC, Jr., Ichikawa I.** Glomerular hypertrophy in minimal change disease predicts subsequent progression to focal glomerular sclerosis. *Kidney Int* 1990;38-1:115-23.
- 68. Kambham N, Markowitz GS, Valeri AM, Lin J, D'Agati VD.** Obesity-related glomerulopathy: an emerging epidemic. *Kidney Int* 2001;59-4:1498-509.
- 69. Praga M, Hernandez E, Herrero JC, Morales E, Revilla Y, Diaz-Gonzalez R, Rodicio JL.** Influence of obesity on the appearance of proteinuria and renal insufficiency after unilateral nephrectomy. *Kidney Int* 2000;58-5:2111-8.
- 70. Gonzalez E, Gutierrez E, Morales E, Hernandez E, Andres A, Bello I, Diaz-Gonzalez R, Leiva O, Praga M.** Factors influencing the progression of renal damage in patients with unilateral renal agenesis and remnant kidney. *Kidney Int* 2005;68-1:263-70.
- 71. Praga M.** Synergy of low nephron number and obesity: a new focus on hyperfiltration nephropathy. *Nephrol Dial Transplant* 2005;20-12:2594-7.
- 72. Fries JW, Sandstrom DJ, Meyer TW, Rennke HG.** Glomerular hypertrophy and epithelial cell injury modulate progressive glomerulosclerosis in the rat. *Lab Invest* 1989;60-2:205-18.

- 73. Nagata M, Kriz W.** Glomerular damage after uninephrectomy in young rats. II. Mechanical stress on podocytes as a pathway to sclerosis. *Kidney Int* 1992;42-1:148-60.
- 74. Bhathena DB.** Glomerular basement membrane length to podocyte ratio in human nephronopenia: implications for focal segmental glomerulosclerosis. *Am J Kidney Dis* 2003;41-6:1179-88.
- 75. Bhathena DB.** Glomerular size and the association of focal glomerulosclerosis in long-surviving human renal allografts. *J Am Soc Nephrol* 1993;4-6:1316-26.
- 76. Bhathena DB.** Focal glomerulosclerosis and maximal glomerular hypertrophy in human nephronopenia. *J Am Soc Nephrol* 1996;7-12:2600-3.
- 77. Mackenzie HS, Tullius SG, Heemann UW, Azuma H, Rennke HG, Brenner BM, Tilney NL.** Nephron supply is a major determinant of long-term renal allograft outcome in rats. *J Clin Invest* 1994;94-5:2148-52.
- 78. Mackenzie HS, Azuma H, Rennke HG, Tilney NL, Brenner BM.** Renal mass as a determinant of late allograft outcome: insights from experimental studies in rats. *Kidney Int Suppl* 1995;52:S38-42.
- 79. Cruzado JM, Torras J, Riera M, Herrero I, Hueso M, Espinosa L, Condom E, Lloberas N, Bover J, Alsina J, Grinyo JM.** Influence of nephron mass in development of chronic renal failure after prolonged warm renal ischemia. *Am J Physiol Renal Physiol* 2000;279-2:F259-69.
- 80. Abdi R, Slakey D, Kittur D, Burdick J, Racusen L.** Baseline glomerular size as a predictor of function in human renal transplantation. *Transplantation* 1998;66-3:329-33.
- 81. Li M, Nicholls KM, Becker GJ.** Risk factors for late renal allograft dysfunction: effects of baseline glomerular size. *J Nephrol* 2002;15-6:620-5.
- 82. Kasiske BL, Snyder JJ, Gilbertson D.** Inadequate donor size in cadaver kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2002;13-8:2152-9.
- 83. Saxena AB, Busque S, Arjane P, Myers BD, Tan JC.** Preoperative renal volumes as a predictor of graft function in living donor transplantation. *Am J Kidney Dis* 2004;44-5:877-85.
- 84. Johnson LB, Kno PC, Dafoe DC, Schweitzer EJ, Alfrey EJ, Klassen DK, Hoehn-Saric EW, Weir MR, Bartlett ST.** Double adult renal allografts: a technique for expansion of the cadaveric kidney donor pool. *Surgery* 1996;120-4:580-3; discussion 3-4.
- 85. Andres A, Herrero JC, Praga M, Gonzalez E, Morales JM, Ortiz M, Rodicio JL, Diaz R, Polo G, Leiva O.** Double kidney transplant (dual) with kidneys from older donors and suboptimal nephron mass. *Transplant Proc* 2001;33-1-2:1166-7.
- 86. Johnson LB, Kuo PC, Dafoe DC, Drachenberg CB, Schweitzer EJ, Alfrey EJ, Ridge LA, Salvatierra P, Papadimitriou JC, Mergner WJ, Bartlett ST.** The use of bilateral adult renal allografts - a method to optimize function from donor kidneys with suboptimal nephron mass. *Transplantation* 1996;61-8:1261-3.
- 87. Remuzzi G, Grinyo J, Ruggenti P, Beatini M, Cole EH, Milford EL, Brenner BM.** 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.
- 88. Bunnapradist S, Gritsch HA, Peng A, Jordan SC, Cho YW.** Dual kidneys from marginal adult donors as a source for cadaveric renal transplantation in the United States. *J Am Soc Nephrol* 2003;14-4:1031-6.
- 89. Alfrey EJ, Boissy AR, Lerner SM.** Dual-kidney transplants: long-term results. *Transplantation* 2003;75-8:1232-6.

- 90. Palmes D, Wolters HH, Brockmann J, Senninger N, Spiegel HU, Dietl KH.** Strategies for compensating for the declining numbers of cadaver donor kidney transplants. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19-4:952-62.
- 91. Tan JC, Alfrey EJ, Dafoe DC, Millan MT, Scandling JD.** Dual-kidney transplantation with organs from expanded criteria donors: a long-term follow-up. *Transplantation* 2004;78-5:692-6.
- 92. Solez K, Axelsen RA, Benediktsson H, Burdick JF, Cohen AH, Colvin RB, Croker BP, Droz D, Dunnill MS, Halloran PF, et al.** International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection: the Banff working classification of kidney transplant pathology. *Kidney Int* 1993;44-2:411-22.
- 93. Corey HE, Greenstein SM, Tellis V, Schechner R, Greifer I, Bennett B.** Renal allograft rejection in children and young adults: the Banff classification. *Pediatr Nephrol* 1995;9-3:309-12.
- 94. Gaber LW, Moore LW, Alloway RR, Flax SD, Shokouh-Amiri MH, Schroder T, Gaber AO.** Correlation between Banff classification, acute renal rejection scores and reversal of rejection. *Kidney Int* 1996;49-2:481-7.
- 95. 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.
- 96. Gaber LW, Schroeder TJ, Moore LW, Shakouh-Amiri MH, Gaber AO.** The correlation of Banff scoring with reversibility of first and recurrent rejection episodes. *Transplantation* 1996;61-12:1711-5.
- 97. Croker BP, Clapp WL, Abu Shammat AR, Kone BC, Peterson JC.** Macrophages and chronic renal allograft nephropathy. *Kidney Int Suppl* 1996;57:S42-9.
- 98. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, Croker BP, Demetris AJ, Drachenberg CB, Fogo AB, Furness P, Gaber LW, Gibson IW, Glotz D, Goldberg JC, Grande J, Halloran PF, Hansen HE, Hartley B, Hayry PJ, Hill CM, Hoffman EO, Hunsicker LG, Lindblad AS, Yamaguchi Y, et al.** The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int* 1999;55-2:713-23.
- 99. Wilczek HE.** Percutaneous needle biopsy of the renal allograft. A clinical safety evaluation of 1129 biopsies. *Transplantation* 1990;50-5:790-7.
- 100. 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.
- 101. Rush DN, Jeffery JR, Gough J.** Sequential protocol biopsies in renal transplant patients: repeated inflammation is associated with impaired graft function at 1 year. *Transplant Proc* 1995;27-1:1017-8.
- 102. Isoniemi H, Taskinen E, Hayry P.** Histological chronic allograft damage index accurately predicts chronic renal allograft rejection. *Transplantation* 1994;58-11:1195-8.
- 103. Seron D, Moreso F, Bover J, Condom E, Gil-Vernet S, Canas C, Fulladosa X, Torras J, Carrera M, Grinyo JM, Alsina J.** Early protocol renal allograft biopsies and graft outcome. *Kidney Int* 1997;51-1:310-6.
- 104. Rush DN, Henry SF, Jeffery JR, Schroeder TJ, Gough J.** Histological findings in early routine biopsies of stable renal allograft recipients. *Transplantation* 1994;57-2:208-11.
- 105. Nickerson P, Jeffery J, Gough J, McKenna R, Grimm P, Cheang M, Rush D.** Identification of clinical and histopathologic risk factors for diminished renal function 2 years posttransplant. *J Am Soc Nephrol* 1998;9-3:482-7.

- 106. Seron 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.
- 107. Nankivell BJ, Fenton-Lee CA, Kuypers DR, Cheung E, Allen RD, O'Connell PJ, Chapman JR.** Effect of histological damage on long-term kidney transplant outcome. *Transplantation* 2001;71-4:515-23.
- 108. Schwarz A, Mengel M, Gwinner W, Radermacher J, Hiss M, Kreipe H, Haller H.** Risk factors for chronic allograft nephropathy after renal transplantation: a protocol biopsy study. *Kidney Int* 2005;67-1:341-8.
- 109. 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.
- 110. Isoniemi H, Nurminen M, Tikkanen MJ, von Willebrand E, Krogerus L, Ahonen J, Eklund B, Hockerstedt K, Salmela K, Hayry P.** Risk factors predicting chronic rejection of renal allografts. *Transplantation* 1994;57-1:68-72.
- 111. Furness PN, Philpott CM, Chorbajian MT, Nicholson ML, Bosmans JL, Corthouts BL, Bogers JJ, Schwarz A, Gwinner W, Haller H, Mengel M, Seron D, Moreso F, Canas C.** Protocol biopsy of the stable renal transplant: a multicenter study of methods and complication rates. *Transplantation* 2003;76-6:969-73.
- 112. Wilkinson A. Protocol Transplant Biopsies: Are They Really Needed?** *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1-1:130-7.
- 113. Rush D. Protocol Transplant Biopsies: An Underutilized Tool in Kidney Transplantation.** *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1-1:138-43.
- 114. Diaz Encarnacion MM, Griffin MD, Slezak JM, Bergstralh EJ, Stegall MD, Velosa JA, Grande JP.** Correlation of quantitative digital image analysis with the glomerular filtration rate in chronic allograft nephropathy. *Am J Transplant* 2004;4-2:248-56.
- 115. Racusen LC. Protocol Transplant Biopsies in Kidney Allografts: Why and When Are They Indicated?** *Clin J Am Soc Nephrol* 2006;1-1:144-7.
- 116. Seron D, Carrera M, Grino JM, Castela AM, Lopez-Costea MA, Riera L, Alsina J.** Relationship between donor renal interstitial surface and post-transplant function. *Nephrol Dial Transplant* 1993;8-6:539-43.
- 117. Nicholson ML, McCulloch TA, Harper SJ, Wheatley TJ, Edwards CM, Feehally J, Furness PN.** Early measurement of interstitial fibrosis predicts long-term renal function and graft survival in renal transplantation. *Br J Surg* 1996;83-8:1082-5.
- 118. Bosmans JL, Woestenburg A, Ysebaert DK, Chapelle T, Helbert MJ, Corthouts R, Jurgens A, Van Daele A, Van Marck EA, De Broe ME, Verpooten GA.** Fibrous intimal thickening at implantation as a risk factor for the outcome of cadaveric renal allografts. *Transplantation* 2000;69-11:2388-94.
- 119. Moreso F, Lopez M, Vallejos A, Giordani C, Riera L, Fulladosa X, Hueso M, Alsina J, Grinyo JM, Seron D.** Serial protocol biopsies to quantify the progression of chronic transplant nephropathy in stable renal allografts. *Am J Transplant* 2001;1-1:82-8.
- 120. Seron D, Moreso F, Ramon JM, Hueso M, Condom E, Fulladosa X, Bover J, Gil-Vernet S, Castela AM, Alsina J, Grinyo JM.** Protocol renal allograft biopsies and the design of clinical trials aimed to prevent or treat chronic allograft nephropathy. *Transplantation* 2000;69-9:1849-55.

- 121. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, Johnson JA, Yeatman L, Wang XM, Chia D, Terasaki PI, Sabad A, Cogert GA, et al.** Effect of pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995;333-10:621-7.
- 122. Bosmans JL, Holvoet P, Dauwe SE, Ysebaert DK, Chapelle T, Jurgens A, Kovacic V, Van Marck EA, De Broe ME, Verpooten GA.** Oxidative modification of low-density lipoproteins and the outcome of renal allografts at 1 1/2 years. *Kidney Int* 2001;59-6:2346-56.
- 123. Fulladosa X, Moreso F, Torras J, Hueso M, Grinyo JM, Seron D.** Structural and functional correlations in stable renal allografts. *Am J Kidney Dis* 2003;41-5:1065-73.
- 124. Delesse M.** Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches. *1847;25:544.*
- 125. Mathieu O, Cruz-Orive LM, Hoppeler H, Weibel ER.** Measuring error and sampling variation in stereology: comparison of the efficiency of various methods for planar image analysis. *J Microsc* 1981;121-Pt 1:75-88.
- 126. Nyengaard JR.** Stereologic methods and their application in kidney research. *J Am Soc Nephrol* 1999;10-5:1100-23.
- 127. Gundersen HJ, Jensen EB.** The efficiency of systematic sampling in stereology and its prediction. *J Microsc* 1987;147 (Pt 3):229-63.
- 128. Weibel E.** Stereological methods: Practical Methods for Biological Morphometry. *1979;1:40-160.*
- 129. Lane PH, Steffes MW, Mauer SM.** Estimation of glomerular volume: a comparison of four methods. *Kidney Int* 1992;41-4:1085-9.
- 130. Pagtalunan ME, Drachman JA, Meyer TW.** Methods for estimating the volume of individual glomeruli. *Kidney Int* 2000;57-6:2644-9.
- 131. Keogan MT, Kliever MA, Hertzberg BS, DeLong DM, Tupler RH, Carroll BA.** Renal resistive indexes: variability in Doppler US measurement in a healthy population. *Radiology* 1996;199-1:165-9.
- 132. Platt JF, Ellis JH, Rubin JM.** Examination of native kidneys with duplex Doppler ultrasound. *Semin Ultrasound CT MR* 1991;12-4:308-18.
- 133. Platt JF.** Duplex Doppler evaluation of native kidney dysfunction: obstructive and nonobstructive disease. *AJR Am J Roentgenol* 1992;158-5:1035-42.
- 134. Bude RO, DiPietro MA, Platt JF, Rubin JM, Miesowicz S, Lundquist C.** Age dependency of the renal resistive index in healthy children. *Radiology* 1992;184-2:469-73.
- 135. Andriani G, Persico A, Tursini S, Ballone E, Cirotti D, Lelli Chiesa P.** The renal-resistive index from the last 3 months of pregnancy to 6 months old. *BJU Int* 2001;87-6:562-4.
- 136. Terry JD, Rysavy JA, Frick MP.** Intrarenal Doppler: characteristics of aging kidneys. *J Ultrasound Med* 1992;11-12:647-51.
- 137. Tublin ME, Bude RO, Platt JF.** Review. The resistive index in renal Doppler sonography: where do we stand? *AJR Am J Roentgenol* 2003;180-4:885-92.
- 138. Aikimbaev KS, Canataroglu A, Ozbek S, Usal A.** Renal vascular resistance in progressive systemic sclerosis: evaluation with duplex Doppler ultrasound. *Angiology* 2001;52-10:697-701.
- 139. Platt JF, Rubin JM, Ellis JH.** Lupus nephritis: predictive value of conventional and Doppler US and comparison with serologic and biopsy parameters. *Radiology* 1997;203-1:82-6.

- 140. Platt JF, Rubin JM, Ellis JH.** Acute renal failure: possible role of duplex Doppler US in distinction between acute prerenal failure and acute tubular necrosis. *Radiology* 1991;179-2:419-23.
- 141. Frauchiger B, Nussbaumer P, Hugentobler M, Staub D.** Duplex sonographic registration of age and diabetes-related loss of renal vasodilatory response to nitroglycerine. *Nephrol Dial Transplant* 2000;15-6:827-32.
- 142. Skotnicki SH, van Asten WN, Beijneveld WJ, van Roosmalen R, Hoitsma AJ, Wijn PF.** Evaluation of renal allograft function by Doppler spectrum analysis. A preliminary study. *Transpl Int* 1989;2-1:16-22.
- 143. Radermacher J, Chavan A, Bleck J, Vitzthum A, Stoess B, Gebel MJ, Galanski M, Koch KM, Haller H.** Use of Doppler ultrasonography to predict the outcome of therapy for renal-artery stenosis. *N Engl J Med* 2001;344-6:410-7.
- 144. Radermacher J, Ellis S, Haller H.** Renal resistance index and progression of renal disease. *Hypertension* 2002;39-2 Pt 2:699-703.
- 145. Radermacher J, Mengel M, Ellis S, Stuht S, Hiss M, Schwarz A, Eisenberger U, Burg M, Luft FC, Gwinner W, Haller H.** The renal arterial resistance index and renal allograft survival. *N Engl J Med* 2003;349-2:115-24.
- 146. Pape L, Mengel M, Offner G, Melter M, Ehrich JH, Strehlau J.** Renal arterial resistance index and computerized quantification of fibrosis as a combined predictive tool in chronic allograft nephropathy. *Pediatr Transplant* 2004;8-6:565-70.
- 147. Heine GH, Gerhart MK, Ulrich C, Kohler H, Girndt M.** Renal Doppler resistance indices are associated with systemic atherosclerosis in kidney transplant recipients. *Kidney Int* 2005;68-2:878-85.
- 148. de Vries AP, van Son WJ, van der Heide JJ, Ploeg RJ, Navis G, de Jong PE, Gans RO, Bakker SJ, Gansevoort RT.** The predictive value of renal vascular resistance for late renal allograft loss. *Am J Transplant* 2006;6-2:364-70.
- 149. Giraudeau B, Halimi JM.** Renal arterial resistance index. *N Engl J Med* 2003;349-16:1573-4; author reply -4.
- 150. Osterby R GH.** Glomerular size and structure in diabetes mellitus. I. Early abnormalities. *Diabetologia* 1975-11:225-9.
- 151. Bertram JF YR, Seymour AE, Kincaid-Smith P, Hoy W.** Glomerulomegaly in Australian Aborigines. *Nephrology* 1998-4:S46-S53.
- 152. Moore L, Lloyd MS, Pugsley DJ, Seymour AE.** Renal disease in the Australian Aboriginal population: A pathological study. *Nephrology* 1996-2:315-21.
- 153. Akaoka K, White RH, Raafat F.** Human glomerular growth during childhood: a morphometric study. *J Pathol* 1994;173-3:261-8.
- 154. Adelman RD.** Obesity and renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2002;11-3:331-5.
- 155. Cohen AH.** Massive obesity and the kidney. A morphologic and statistical study. *Am J Pathol* 1975;81-1:117-30.
- 156. Najarian JS, Gillingham KJ, Sutherland DE, Reinsmoen NL, Payne WD, Matas AJ.** The impact of the quality of initial graft function on cadaver kidney transplants. *Transplantation* 1994;57-6:812-6.
- 157. First MR.** Renal function as a predictor of long-term graft survival in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18 Suppl 1:i3-6.
- 158. Pascual J, Marcen R, Ortuno J.** Renal function: defining long-term success. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19 Suppl 6:vi3-vi7.
- 159. Kalil RS, Dyer CS, Rayhill SC.** Long-term outcome of deceased donor renal transplants correlates with the 30-day creatinine reduction ratio. *Am J Transplant* 2005;5-9:2253-7.

- 160. 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.
- 161. Schurek HJ, Neumann KH, Jesinghaus WP, Aeikens B, Wonigeit K.** Influence of cyclosporine A on adaptive hypertrophy after unilateral nephrectomy in the rat. *Clin Nephrol* 1986;25 Suppl 1:S144-7.
- 162. Gooch JL, Barnes JL, Garcia S, Abboud HE.** Calcineurin is activated in diabetes and is required for glomerular hypertrophy and ECM accumulation. *Am J Physiol Renal Physiol* 2003;284-1:F144-54.
- 163. Jeong HJ, Kim JH, Kim PK, Choi IJ.** Glomerular growth under cyclosporine treatment in childhood nephrotic syndrome. *Clin Nephrol* 2001;55-4:289-96.
- 164. Ikee R, Kobayashi S, Hemmi N, Imakiire T, Kikuchi Y, Moriya H, Suzuki S, Miura S.** Correlation between the resistive index by Doppler ultrasound and kidney function and histology. *Am J Kidney Dis* 2005;46-4:603-9.

PUBLICACIONES