



# Experiencia inicial en el Servicio de Trasplante Renal del Hospital Juárez de México de toma de biopsia por punción guiada por ultrasonido en pacientes con disfunción del injerto renal

Diana Fabiola Fernández Ángel,\* Víctor Hugo Portilla Flores,\*\* Pablo Iván Beltrán Ruiz,\* Evelyn Contreras Jurado,\* Andrés Bazán Borges,\*\*\* Agustín Rodríguez Blas,\*\*\*\* Ricardo Balcazar Vázquez\*\*\*\*\*

## RESUMEN

**Introducción.** La biopsia del injerto renal es fundamental en el diagnóstico de las complicaciones del trasplante renal. En caso de disfunción, valorando el daño tisular, la interpretación debe correlacionarse con la clínica y el laboratorio y no interpretarse como un examen aislado. La biopsia percutánea tiene menor trauma quirúrgico, estancia intrahospitalaria y tiempo de recuperación.

**Objetivo.** Determinar si las muestras tomadas son adecuadas para el estudio histopatológico e inmunohistoquímico y comparar la experiencia inicial del Hospital Juárez de México con la literatura médica mundial asequible. **Material y métodos.** Se incluyó a todos los pacientes a quienes se les realizó biopsia guiada por Ultrasonido de enero a diciembre del 2006. **Resultados.** En las biopsias percutáneas realizadas en 7 pacientes se encontró: 1 rechazo (14%), 1 glomerulopatía extracapilar recidivante (14%), 1 Necrosis Tubular (14%), 1 intoxicación por Ciclosporina (14%), 1 reflujo urinario (14%) y 2 hipoperfusiones crónicas (29%). La morbilidad fue en un caso por hematoma del injerto correspondiendo al 14% de la muestra y mortalidad no hubo. En todos los casos, la biopsia fue adecuada. La biopsia del injerto es la técnica de elección en el diagnóstico diferencial entre necrosis tubular aguda, rechazo, nefrotoxicidad, glomerulonefritis y complicaciones. **Conclusión.** La biopsia percutánea es segura, puede examinarse con técnicas histológicas rutinarias y la información recabada puede ser de valor crítico e irremplazable para el manejo de un paciente con injerto renal.

**Palabras clave:** Biopsia percutánea, trasplante, injerto renal.

## ABSTRACT

**Introduction.** The biopsy of the kidney allograft is fundamental in the diagnosis of the complications kidney transplantation, valuing the damage tissue, interpretation should associate with the clinic and the laboratory and don't interpreted as an isolated exam. The percutaneous biopsy has smaller surgical trauma and to stay less in hospital and the time of recovery. **Objective.** It was to determine if the taken sample was adequate for the study histopathology and immunohistochemistry, and to compare the initial experience of the Hospital Juárez de México with the world medic literature. **Material and methods.** Includes all the patients who are carried out biopsy guided by Ultrasound, from January to December of 006. **Results.** Were carried out biopsy percutaneous to 7 patients. It was 1 rejection (14%), 1 extracapillary recidivating glomerulopathy (14%), 1 Tubular Necrosis (14%), 1 intoxication for Cyclosporine (14%), 1 reflux urinal (14%), 2 chronic hipoperfusions (29%). The morbidity was in a case for haematoma of the allograft corresponding to 14% and mortality didn't have. In all the cases the biopsy was adequate. The biopsy of the allograft is the election technique in the differential diagnosis among acute tubular, rejection, nefrotoxicity, glomerulonephritis and complications.

**Keys words:** Percutaneous biopsy, transplantation, kidney allograft.

\* Médico Cirujano en Adiestramiento de Trasplante Renal, Hospital Juárez de México.

\*\* Médico Cirujano adscrito de Trasplante Renal en el Hospital Juárez de México.

\*\*\* Médico Cirujano, Jefe de la Unidad de Trasplante Renal en el Hospital Juárez de México.

\*\*\*\* Médico Radiólogo Intervencionista, Servicio de Imagenología en el Hospital Juárez de México.

\*\*\*\*\* Médico Radiólogo Adscrito a USG Doppler del Servicio de Imagenología en el Hospital Juárez de México.

## INTRODUCCIÓN

La evaluación histológica del aloinjerto es sin duda el estudio directo del que se dispone para valorar y estudiar el daño tisular del mismo, pero es importante enfatizar que su interpretación debe de estar correlacionada con los hallazgos clínicos y de laboratorio y nunca se debe interpretar como un examen aislado.

La biopsia de los injertos renales se realiza más frecuentemente en el momento de la disfunción del injerto, cuando la etiología no se puede aclarar de forma precisa por medios clínicos o no invasivos. Las biopsias protocolizadas se realizan a intervalos de tiempo predeterminados tras el trasplante en algunos hospitales en un intento por determinar fenómenos subclínicos, teniendo en cuenta como principio médico fundamental no dañar. La biopsia por punción dirigida por ultrasonido es un método menos cruento respecto a las biopsias a cielo abierto, por tanto se evitan los pasos de cicatrización y un menor riesgo de infección en los pacientes trasplantados con una economía inmunocomprometida. Además otro beneficio directo considerable de este procedimiento es la menor estancia intrahospitalaria en relación a la biopsia a cielo abierto debido a que esta se hace en quirófano, generalmente con anestesia regional, comparado con la guiada que se hace en la sala de ultrasonido con anestesia local. De ahí que el dolor sea menor y más controlable y, como beneficio indirecto, el gasto de recursos humanos, materiales y tiempo de recuperación del paciente sea también menor.

## OBJETIVO

El objetivo general de este estudio es conocer las indicaciones, complicaciones y beneficios de la biopsia por punción guiada por ultrasonido descritos en la literatura médica internacional en pacientes trasplantados de riñón, así como determinar si las muestras tomadas son adecuadas para el estudio histopatológico e inmunohistoquímico. Además de correlacionar el diagnóstico histopatológico con el clínico y compararlas con la experiencia inicial del Hospital Juárez de México.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se incluyó a todos los pacientes con trasplante renal en el Hospital Juárez de México a quienes se les realizó una biopsia guiada por Ultrasonido que cuenten con expediente completo, durante el periodo de enero a diciembre del 2006. Se trató de un estudio retrospectivo, longitudinal, biomédico, observacional regido por la

declaración de Helsinki respecto a la bioética y los derechos de los pacientes.

## TÉCNICA

La biopsia por punción guiada por ultrasonido del injerto renal se hizo con cooperación del médico radiólogo intervencionista y en la sala de ultrasonido Doppler. Se realizó mediante punción con aguja Tru-core calibre 16g x 20 cm. y dispositivo automático para el disparo siguiendo todo el protocolo de asepsia y antisepsia para este procedimiento. El sitio de punción se seleccionó por palpación y ultrasonido del riñón trasplantado, donde se colocaron los respectivos campos estériles y se infiltró con xilocaína simple al 2%. Previamente se realizó una incisión en piel menor a 5 mm. para introducir la aguja y se hizo el disparo con el dispositivo automático para extraer la muestra tomando como máximo 3 muestras, preferentemente de los polos renales que incluyeran corteza y médula. Terminado el procedimiento se hizo compresión durante al menos 10 minutos.

## RESULTADOS

Durante el periodo comprendido entre el 1 de enero al 31 de diciembre del 2006, se realizaron biopsias percutáneas guiadas por Ultrasonido en 7 pacientes con injerto renal: 2 mujeres (29%) y 5 hombres (71%), de los cuales 2 provenían de donador vivo (29%) y 5 de cadáver (71%) con edades comprendidas entre los 21 y 49 años y un periodo entre el trasplante y la biopsia desde los 13 días hasta los 2 años 5 meses (Fig. 1).

Con diagnóstico de insuficiencia renal de Síndrome de Alport en 1 paciente (14%), 2 con hipoplasia renal (29%) e idiopática en 4 pacientes (57%) (Fig. 2).

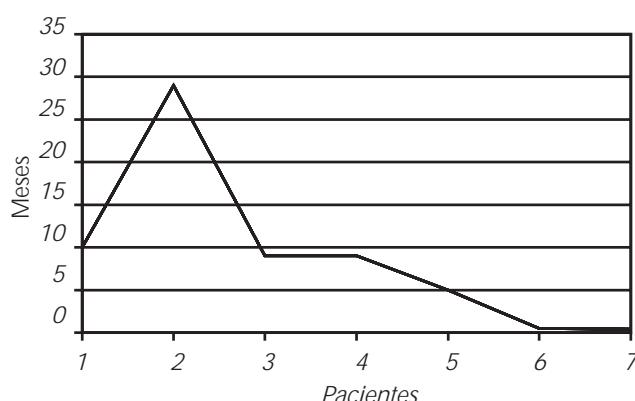


Figura 1. Tiempo entre el trasplante y la toma de la biopsia.

Teniendo como indicación de la toma de la biopsia en 5 casos disfunción del injerto (71%) y en 2 casos retardo en la función del injerto (29%), los 5 pacientes tuvieron como complicaciones postrasplante de Necrosis tubular aguda en 1 (20%), rechazo humorar en 3 (60%) y en 1 paciente ninguna complicación (20%).

El grupo sanguíneo de los pacientes fue O RH + en 4 pacientes (57%), A RH + en 2 pacientes (29%) y B RH + en 1 paciente (14%). Respecto a los donadores, estos tuvieron el mismo grupo sanguíneo con el receptor en 4 casos (57%) y diferente en 3 (43%). Las coincidencias de HLA entre donador y receptor en 2 pacientes no tenemos datos completos y en 5 pacientes tenemos 1 compatibilidad en un paciente (20%), 2 compatibilidades en uno (20%), 3 compatibilidades en otro (20%) y 4 compatibilidades en 2 pacientes (40%).

Los niveles de Creatinina pretrasplante variaron de 2.7 a 8.6 mg/dl, urea de 105 a 214 y aclaramiento de creatinina calculada de 9 a 30 ml/min.

Los niveles de Creatinina postrasplante variaron de 2.4 a 8.6 mg/dl, urea de 80 a 260 y aclaramiento de creatinina calculada de 9 a 40 ml/min.

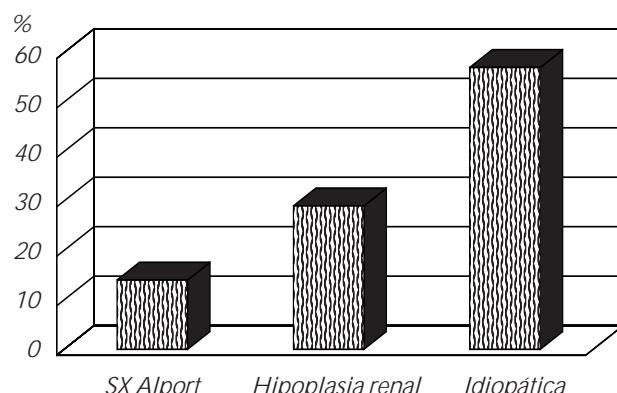


Figura 2. Causas de insuficiencia renal crónica.

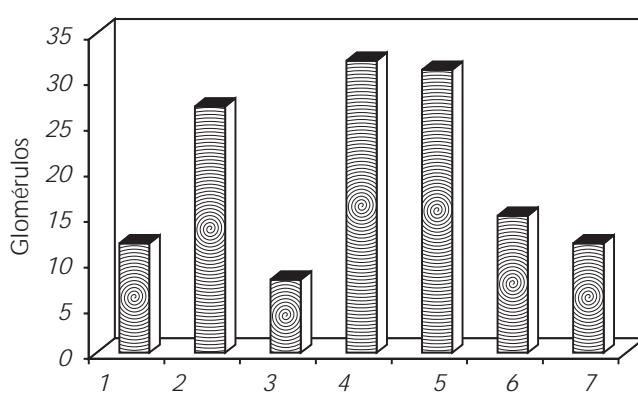


Figura 3. Número de glomérulos reportados en la biopsia.

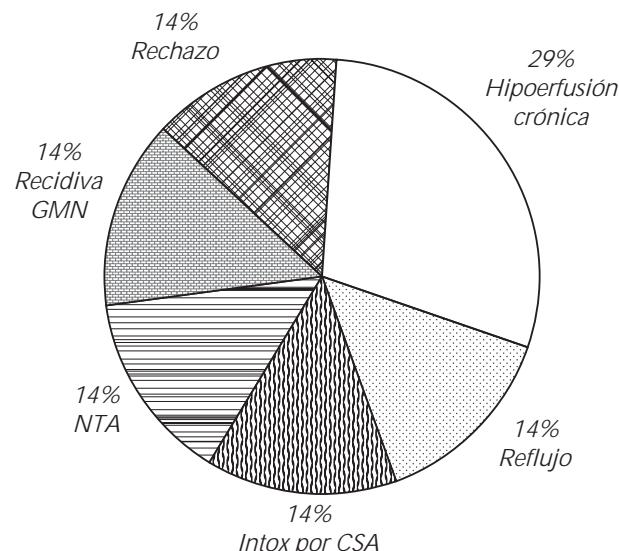


Figura 4. Diagnóstico reportado en la biopsia.

En cada biopsia se tomaron 3 cilindros y el número de glomérulos reportados fue entre 8 y 32 con un promedio de 19 y media de 15 (Fig. 3).

Los días de estancia intrahospitalaria post trasplante fueron de 1 día en 5 casos (71%) y de 10 y 15 días en 2 casos (29%), ya que ambos casos presentaban retardo en la función del injerto y continuaban con manejo de sosten.

La morbilidad fue en un caso por hematoma del injerto correspondiendo al 14% y mortalidad no hubo.

Los resultados de las biopsias fueron de un solo caso de rechazo (14%) y en 6 sin evidencia de rechazo (86%).

Los resultados de las biopsias fueron de un solo caso de rechazo (14%), glomerulopatía extracapilar recidivante (14%), en un caso Necrosis Tubular (14%), un caso (14%) de hipoperfusión aguda (intoxicación por Ciclosporina), cambios por reflujo urinario (14%) e hipoperfusión crónica por nefropatía diabética (29%) (Fig. 4). Los días de estancia intrahospitalaria post trasplante fueron de 1 en 5 casos (71%) y en 2 casos (29%) fue de 10 y 15 días respectivamente, ya que ambos casos presentaban retardo en la función del injerto y continuaban con manejo de sosten.

En todos los casos fue crucial el resultado de la biopsia para determinar el diagnóstico y, por lo tanto, la conducta terapéutica.

## DISCUSIÓN

La evaluación histológica es sin duda el estudio más directo y disponible para estudiar el daño tisular; puede ser una tarea difícil si consideramos que el paciente trasplantado está en el posible riesgo de múltiples agresiones, ya

sean específicas del trasplante, lesiones secundarias al tratamiento u otras condiciones que se presentan tanto en el riñón transplantado, como en el riñón nativo.

La biopsia renal se debe realizar con el paciente hospitalizado. El paciente debe estar al tanto de los riesgos, particularmente de la posibilidad de sangrado y de la pérdida ocasional del injerto, además de aceptar formalmente la realización de la biopsia mediante un consentimiento informado que describa dichas complicaciones en términos de porcentaje.<sup>1-3</sup>

El Ultrasonido proporciona información precisa sobre el tamaño, localización, profundidad del riñón transplantado y la presencia de colecciones perirrenales. El lugar seleccionado puede marcarse en la superficie de la piel.<sup>1-3</sup>

Generalmente se toman como mínimo dos y máximo cinco muestras, las cuales serán inmediatamente examinadas en un estéreo microscopio, microscopio de luz o lupas con el fin de asegurar la presencia de glomérulos en los especímenes obtenidos.<sup>1-3</sup>

La muestra debe ser dividida en 3 segmentos que contengan glomérulos: uno para estudios inmunopatológicos, otro para microscopia de luz y el tercero para microscopia electrónica.

En caso de que se sospeche de un proceso infeccioso, una muestra pequeña puede ser sometida a cultivos virales o microbiológicos, así como estudios de reacción de polimerasa en cadena (PCR) para agentes infecciosos, etc.

El criterio de una muestra adecuada debe de contener uno o dos centros de la corteza renal o por lo menos 10 glomérulos y 2 arterias. El umbral a partir del cual se considera inadecuada la muestra es de 7 glomérulos y una sección arterial. La biopsia que contiene entre 1 y 6 glomérulos con al menos una sección arterial se considera insuficiente, ya que existe una mayor probabilidad de infravalorar la severidad de las lesiones. En nuestro caso, todas las biopsias fueron adecuadas porque el mínimo reportado de biopsias fue de 8. Aun cuando la muestra sea limitada, con frecuencia es posible encontrar lesiones o rechazo agudo (arteritis, tubulitis, glomerulonefritis o glomeruloesclerosis) que establecen un diagnóstico que a su vez ayuda a orientar el tratamiento o confirmar el diagnóstico. Algo que debe considerarse es que una sola muestra de biopsia central con aguja al azar puede no ser representativa, ya que por lo general el rechazo no es homogéneo en todas las áreas en su etapa inicial. Con el fin de reducir el error del muestreo se aconseja la obtención y la evolución de dos cilindros de tejido renal.<sup>1-3</sup>

El porcentaje de muestras insuficientes para el examen histológico varía entre el 3 al 12%, en nuestro estudio fue del 0%.

Siempre se recomienda que la muestra sea adecuada, aun cuando esto implique repetir la biopsia, ya que es más fácil confirmar una lesión cuando los hallazgos histológicos están presentes, que descartar una lesión por hallazgos negativos.

El estudio de la biopsia renal asume que el fragmento bajo observación es representativo del resto del riñón y, por ello, es pertinente recordar que, durante el trasplante, la región subcapsular puede sufrir trastornos de irrigación, los cuales determinan una fibrosis intersticial, infiltración leve de células mononucleares, atrofia y, ocasionalmente, esclerosis glomerular, todos ellos localizados únicamente en la zona cortical superficial, sin cambios histológicos, relevantes en otras áreas y sin trastornos del funcionamiento renal ni evidencia de rechazo.

De cualquier manera, la evaluación histológica permite generalmente el diagnóstico de rechazo y el pronóstico de otras enfermedades del injerto renal.<sup>1-3</sup>

La glomerulonefritis de novo se presenta cuando la glomerulonefritis del aloinjerto es distinta morfológicamente a la enfermedad original y diferente de la glomerulonefropatía de trasplante. Se presume que la etiología es similar a la glomerulonefritis del riñón natural. La glomerulonefritis membranosa es la más frecuente. Enfermedad recurrente es cuando se encuentran lesiones del injerto que son morfológicamente similares a la enfermedad original 17 que se presumen son secundarias por persistencia de los mecanismos patogénicos que condujeron a la etapa Terminal de la enfermedad del riñón natural. Las lesiones glomerulares con un porcentaje de recurrencia reportado son: Enfermedad por depósito denso (90%), Nefropatía Ig A (38%), Púrpura Henoch-Schönlein (38%), esclerosis glomerular focal primaria (24%), síndrome ureico hemolítico (27%), glomerulonefritis membrana proliferativa tipo I (20 y 30%), glomerulonefritis membrana proliferativa tipo II (60 y 80%), glomerulonefritis membrana proliferativa tipo III (5 y 10%), amiloidosis (27%), glomerulonefritis membranosa, glomerulonefritis idiopática creciente (15%), enfermedad anti- $<$  GMB (5%), granulomatosis de Wegener (7%), lupus eritematoso sistémico (5%) y diabetes mellitus (< 5%), la glomerulonefritis sin recurrencia descrita, síndrome urémico hemolítico clásico de Alport, formas secundarias de glomeruloesclerosis focal, síndrome nefrótico congénito y glomerulonefritis secundaria a infección. En nuestro estudio encontramos recidiva de la glomerulonefritis membrana proliferativa tipo III en una paciente, lo cual modificó radicalmente el manejo.<sup>4-10</sup>

También se encontró un paciente con datos de rechazo agudo, basado en la Clasificación de Banff.<sup>5,6</sup>



## NEFROPATÍA CRÓNICA DEL INJERTO (NCI)

También conocida como rechazo crónico y glomerulopatía del trasplante, es una entidad clínico patológica de origen multifactorial caracterizada por daño túbulo-intersticial, vascular, glomerular con proteinuria, hipotensión arterial y deterioro progresivo de la función renal a largo plazo. Puede estar presente a los pocos meses postrasplante y su progresión a la insuficiencia Renal Terminal (IRT) es muy variable.

Las biopsias seriadas muestran que la historia natural de la NCI tiene una evolución bifásica, definida por el tiempo de aparición de las lesiones y su localización.

La primera fase se desarrolla en el primer año de evolución, localizada en los túbulos e intersticio, los cuales son secundarios a isquemia y preceden a las producidas por rechazo agudo. Afecta al 94.2% de los pacientes y el RA o subagudo las incrementa.

En la segunda fase las lesiones se desarrollan a partir del primer año de evolución y afecta los vasos y glomérulos. El tratamiento con anticalcineurínicos se acompaña con un aumento progresivo de la hialinosis arteriolar con estrechamiento de la luz vascular, glomeruloesclerosis y daño túbulo-intersticial.

A los diez años, el 54.8% de los pacientes con trasplante renal presentan lesiones severas de NCI en la biopsia, con esclerosis glomerular del 37.3%. El daño túbulo-intersticial, vascular y glomerular es irreversible y progresivo, provocando deterioro de la función renal hasta la IRC.

La inmunofluorescencia puede mostrar depósitos de C3 IgG y fibrinógeno; por su parte, la microscopia electrónica puede mostrar un aumento de la lámina rara interna de los capilares glomerulares y un desdoblamiento y la laminación de la membrana basal de los capilares peritubulares. En el 60% de los casos estas lesiones se consideran casi específicas de la NCI.<sup>1,9</sup>

El trasplante en los pacientes que presentan nefropatía crónica asociada a vasculopatía tiene un peor pronóstico que en los pacientes con nefropatía que no presentan vasculopatía.

En nuestro estudio se encontró en 2 pacientes (29%) datos de hipoperfusión glomerular crónica, sin poderlo englobar estrictamente en Nefropatía crónica del injerto.

El procedimiento de la biopsia es seguro sólo con algunas complicaciones que requieren intervención. En un amplio estudio se obtuvieron 1421 biopsias con aguja con pistola y no hubo muertes ni pérdidas del injerto. En otro estudio realizado por Wilczek en el Instituto Karolinska, no hubo complicaciones significativas en el 97% (1097 casos) de 1129 muestras de biopsia efectuadas. En 513 pacientes se presentó sangrado importante en 3%

(32 casos). De estos últimos cuatro pacientes fueron intervenidos quirúrgicamente, uno de ellos requirió nefrectomía parcial y los otros 3 extirpación del injerto. Todas las complicaciones graves se manifestaron como sangrado del sistema urinario de intensidad variable. Otros estudios que han confirmado un bajo índice de morbilidad incluyen: hematuria microscópica (16%), anuria transitoria (1.2-6.6), hematuria prolongada (2%), dolor severo (2%), hematoma perirrenal (0.7%), fistula arteriovenosa (0.5%) y hematoma retroperitoneal (0.2%).<sup>1-3</sup> En nuestro estudio sólo se presentó en un caso hematoma del injerto representando el 14%, el cual se percibe elevado debido al número de pacientes del estudio.<sup>1,2,3</sup>

La hematuria microscópica está presente casi siempre, mientras que la macroscópica es menos frecuente (aproximadamente 3% de los casos). En ocasiones la hemorragia puede ser de tal magnitud que puede producir obstrucción urinaria que puede requerir la colocación de una sonda vesical para evacuar los coágulos. En casi todos los pacientes sometidos a biopsia puede detectarse la presencia de hematomas perirrenales a través del ultrasonido. Estos casi siempre son pequeños y desaparecen sin ocasionar problemas.<sup>1-5,10</sup> En nuestro estudio la paciente que presentó el hematoma fue la que se determinó recidiva de glomerulopatía y, por ende, el manejo era específico.

La hematuria macroscópica prolongada se presenta hasta en un 5-10% de los casos, hematoma perirrenal en 1% y fistula arteriovenosa intrarrenal en 0.1%.<sup>3</sup> Las complicaciones hemorrágicas pueden ser manejadas con reposo en cama.

Solamente 0.5-2% de los pacientes sometidos a biopsia del injerto renal requieren una hospitalización más prolongada y administración de transfusiones sanguíneas.

Menos de 0.1% de los casos en que se toma biopsia necesitan procedimientos quirúrgicos, incluyendo la nefrectomía del riñón trasplantado.

Las fistulas arteriovenosas ocurren en el 10% de los pacientes sometidos a biopsia. Generalmente son asintomáticas pero ocasionalmente pueden asociarse con hematuria persistente. El signo patognomónico aunque poco frecuente es la presencia de un soplo en el riñón biopsiado; el diagnóstico puede hacerse por Ecodoppler, la arteriografía puede requerirse cuando la fistula es muy grave y se desea definir el tamaño de la misma o cuando se contempla cirugía.<sup>1-3</sup>

La biopsia renal forma parte del manejo integral del paciente con trasplante renal y es un método seguro. El tejido puede examinarse utilizando técnicas histológicas rutinarias. La información obtenida con el estudio sistematizado de una sola biopsia puede ser de valor crítico e

irremplazable para el manejo de un paciente con injerto renal.<sup>1-5,10</sup>

## CONCLUSIONES

La biopsia percutánea es segura, puede examinarse con técnicas histológicas rutinarias y la información recabada puede ser de valor crítico e irremplazable para el manejo de un paciente con injerto renal.

El criterio de muestra adecuada es de 10 glomérulos y 2 arterias, inadecuada de 7 glomérulos y una sección arterial e insuficiente entre 1 y 6 glomérulos con al menos una sección arterial, ya que existe una mayor probabilidad de infravalorar la severidad de las lesiones.

La muestra debe ser adecuada, aun cuando esto implique repetir la biopsia, ya que es más fácil confirmar una lesión cuando los hallazgos histológicos están presentes, que descartar una lesión por hallazgos negativos.

La biopsia renal sigue siendo la técnica primordial para el diagnóstico diferencial entre la Necrosis tubular aguda (NTA), el rechazo y la nefrotoxicidad (ciclosporina, tacrolimus). Debe realizarse en la primera semana (3-5 días) si el trasplantado es un paciente con riesgo inmunológico (hiperinmunizado, retrasplante) y en la segunda semana (7-10 días) si el paciente no tiene factores de riesgo, repitiéndose en la tercera semana si no existiera rechazo y persiste la necesidad de diálisis. Así pues, la biopsia de manera programada evita la sobreinmunosupresión en los pacientes con NTA.<sup>10</sup>

La biopsia renal es fundamental en el diagnóstico de las complicaciones del trasplante renal. Las indicaciones de biopsias en los trasplantes son la disfunción del injerto, una vez descartadas las causas urológicas y vasculares.

## REFERENCIAS

1. Danovich. Trasplante renal. Editorial Marban.
2. Santiago E. Trasplante de órganos. JFH Editorial.
3. Avendaño LH. Nefrología. Editorial Panamericana.
4. Vázquez M. Patología del trasplante renal. Principales cuadros histopatológicos. II Congreso virtual hispanoamericano de anatomía patológica.
5. Arias M, Campistol JM, Morales JM. Manual de trasplante renal. Sociedad Española de Nefrología.
6. Solez K, Axelsson RA, Benedickson H, et al. International standardization of criteria for the histologic diagnosis of renal allograft rejection. The Banff working classification of kidney transplant pathology. Kidney Int. 1993; 44: 411-42.
7. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Salinas ML, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. Kidney Int. 1999; 55: 713-23.
8. Colvin RB, Cohen AH, Santoiz C, et al. Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection: Reproducibility, senility and clinical correlation. J Am Soc Nephrology 1997; 8: 1930-41.
9. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, et al. Antibody mediated rejection criteria – an addition to the Banff 97 classification of renal allograft rejection. AM J Transplant 2003; 3: 708-14.
10. Morales CJM, Marcén LR, Valdés CF. Curso de actualización de trasplante renal. Sociedad Española de Nefrología.

### Solicitud de sobretiros:

Dra. Diana Fabiola Fernández Ángel  
Servicio de Trasplante Renal  
Hospital Juárez de México  
Av. Instituto Politécnico Nacional 5160,  
Col. Magdalena de las Salinas, México. D. F.