

Marcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante de riñón

Informes de Evaluación
de Tecnologías Sanitarias
SESCS

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



Marcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante de riñón

Informes de Evaluación
de Tecnologías Sanitarias
SESCS

INFORMES, ESTUDIOS E INVESTIGACIÓN



PERESTELO-PÉREZ, L.

Marcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante de riñón / L. Perestelo-Pérez... [et al.]. – Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Santa Cruz de Tenerife: Servicio Canario de la Salud, –88 p.; 24 cm. – (Colección: Informes, estudios e investigación. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad) (Serie: Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias).

NIPO: 680-15-038-2

1. Biomarcadores en orina 2. Ácido ribonucleico mensajero 3. Rechazo agudo de riñón
I. Canarias. Servicio Canario de la Salud II. España. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad

El Servicio de Evaluación de la Dirección del Servicio Canario de la Salud asume la responsabilidad exclusiva de la forma y el contenido final de este informe. Las manifestaciones y conclusiones de este informe son las del Servicio de Evaluación y no las de sus revisores.

Edita: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio Canario de la Salud

Este documento se ha realizado al amparo del convenio de colaboración suscrito por el Instituto de Salud Carlos III, organismo autónomo del Ministerio de Economía y Competitividad, y la Fundación Canaria de Investigación y Salud (FUNCIS), en el marco del desarrollo de actividades de la Red Española de Agencias de Evaluación de Tecnologías Sanitarias y Prestaciones del Sistema Nacional de Salud, financiadas por el Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.

Para citar este informe:

Perestelo-Pérez L, Rivero-Santana A, Pérez-Ramos J, Torres A, Cuéllar-Pompa L, Almirall J, Serrano-Aguilar P. Marcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante de riñón. Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud; 2014. Informes de Evaluación de Tecnologías Sanitarias.



Agradecimientos

Los autores del presente estudio queremos expresar nuestro especial agradecimiento a Carlos González Rodríguez por el apoyo en la búsqueda y obtención de los artículos de la revisión. Los autores también queremos agradecer a la Dra. Inmaculada Alarcón Torres y a M^a del Mar Romero Fernández por la revisión del glosario.

Índice

Siglas y Acrónimos	11
Resumen Ejecutivo	13
Executive Summary	17
I. Introducción	21
II. Objetivo	23
III. Métodos	25
III.1. Criterios de selección de los estudios de la revisión	25
III.2. Estrategia de búsqueda, selección y revisión de los estudios	27
III.3. Evaluación crítica de la calidad de los estudios	28
III.4. Extracción, análisis y síntesis de datos	29
III.5. Análisis estadístico	29
IV. Resultados	31
IV.1. Calidad metodológica	32
IV.2. Descripción de los estudios incluidos	37
IV.2.1. Revisiones sistemáticas	37
IV.2.2. Estudios primarios	37
V. Discusión	63
VI. Conclusiones	65
VII. Recomendaciones	67

Contribución de los autores y revisores externos	69
Declaración de intereses	71
Referencias	73
Anexos	77
Anexo 1. Estrategia de búsqueda	77
Anexo 2. Escala de Oxman	81
Anexo 3. Escala Quadas-2	82
Anexo 4. Glosario	84

Índice de tablas

Tabla 1. Criterios de selección de los estudios.....	26
Tabla 2. Base de datos electrónicas consultadas.....	27
Tabla 3. Resultados en las bases de datos consultadas	31
Tabla 4. Calidad de las RS y MA (Escala de Oxman et al., 1994)	33
Tabla 5. Calidad metodológica de los estudios incluidos según la escala QUADAS-2	34
Tabla 6. Principales características de los estudios incluidos	39
Tabla 7. Resultados de los estudios incluidos para Granzima B	45
Tabla 8. Resultados de los estudios incluidos para Perforina.....	48
Tabla 9. Resultados de los estudios incluidos para CXCL-10 (IP-10).....	51
Tabla 10. Resultados de los estudios incluidos para FOXP3.....	53
Tabla 11. Resultados de los estudios incluidos para OX40	54
Tabla 12. Resultados de los estudios incluidos para OX40L	55
Tabla 13. Resultados de los estudios incluidos para Fas Ligand.....	55
Tabla 14. Resultados de los estudios incluidos para PI-9.....	56
Tabla 15. Resultados de los estudios incluidos para CD103.....	57
Tabla 16. Resultados de los estudios incluidos para CXCL9.....	57
Tabla 17. Resultados de los estudios incluidos para CXCR3	58
Tabla 18. Resultados de los estudios incluidos para TIM-3.....	58
Tabla 19. Resultados de los estudios incluidos para otros marcadores (CD3ε, PSMB10, ARNR 18S).....	59
Tabla 20. Estudios que informan sobre modelos multivariados.....	60

Índice de figuras

Figura 1. Proceso de selección de estudios.....	32
Figura 2. Metanálisis de Sensibilidad de la Granzima B.....	47
Figura 3. Metanálisis de Especificidad de la Granzima B.....	47
Figura 4. Metanálisis de Sensibilidad de la Granzima B (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010))	48
Figura 5. Metanálisis de Especificidad de la Granzima B (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010))	48
Figura 6. Metanálisis de Sensibilidad de la Perforina.....	50
Figura 7. Metanálisis de Especificidad de la Perforina	50
Figura 8. Metanálisis de Sensibilidad de la Perforina (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010)).....	51
Figura 9. Metanálisis de Especificidad de la Perforina (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010))	51
Figura 10. Metanálisis de Sensibilidad de la CXCL10 (IP-10).....	52
Figura 11. Metanálisis de Especificidad de la CXCL10 (IP-10).....	53

Siglas y Acrónimos

ARN	Ácido ribonucleico
ARNm	Ácido ribonucleico mensajero
ARNr	Ácido ribonucleico ribosómico
AUC	Área bajo la curva (del inglés, área under curve)
CRD	Centre for Reviews & Dissemination
CMV	Cytomegalovirus
ELISA	Ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas (del inglés, <i>Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay</i>)
ES	Especificidad
FEI	Función estable del injerto
fg	Femtogramo
FI/AT	Fibrosis intersticial y Atrofia tubular
IC	Intervalo de confianza
ITU	Infección del tracto urinario
ln	Logaritmo natural
log	Logaritmo
LTA	Lesión tubular aguda
MA	Metanálisis
µg	Microgramo
NCI	Nefropatía crónica del injerto
n.i.	No informado
NIC	Nefrotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina
no-RA	No rechazo agudo
NTA	Necrosis tubular aguda
NTA-RA	Necrosis tubular aguda-rechazo agudo
OR	Odds ratio
OH	Otros hallazgos
RA	Rechazo agudo
RACT	Rechazo agudo mediado por células-T
RACT-I	Rechazo agudo mediado por células-T, tipo I
RACT-II	Rechazo agudo mediado por células-T, tipo II
RBN	Resultados de biopsia normales
RCP	Reacción en cadena de la polimerasa
RCPc-TR	Reacción en cadena de la polimerasa (cuantitativa), tiempo real
RCPsc-TR	Reacción en cadena de la polimerasa (semi-cuantitativa), tiempo real
RMA	Rechazo agudo mediado por anticuerpos

ROC	Característica operativa del receptor (del inglés, <i>Receiver Operating Characteristic</i>)
RS	Revisión sistemática
RSC	Rechazo subclínico
SE	Sensibilidad

Resumen Ejecutivo

Introducción

El trasplante renal constituye el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedad renal crónica avanzada y, gracias al desarrollo alcanzado, ha permitido lograr altas tasas de supervivencia tanto del paciente como del órgano injertado. Una mejoría en el mantenimiento del donante y la preservación del órgano, adecuadas técnicas quirúrgicas y la introducción de nuevos medicamentos inmunosupresores han contribuido notoriamente a este avance. Sin embargo, la supervivencia del injerto a largo plazo sigue siendo considerada uno de los mayores obstáculos para el éxito del trasplante renal. La agresión inmunológica contra el injerto es la respuesta normativa después de un trasplante. En cada individuo esa respuesta es diferente y depende en gran medida de lo distintos que sean los antígenos del donante respecto a los del receptor, de la modulación que logre alcanzarse con los inmunosupresores entre otros factores. Esta variabilidad en la respuesta inmune contra el injerto produce diferentes manifestaciones clínicas y hace que la supervivencia del órgano sea distinta en cada receptor.

Cuando se producen los primeros síntomas que indican el posible rechazo, el único método disponible hasta ahora para su comprobación era la biopsia; método que pese a haber mejorado mucho durante los últimos años todavía es costoso, invasivo y no exenta de riesgo.

Recientemente, investigadores estadounidenses han desarrollado un test experimental que predice el rechazo del trasplante renal por medio de un análisis de orina, que permite la cuantificación absoluta de los niveles de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) identificados y aislados mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP).

A partir de este importante hallazgo, el objetivo de la presente revisión sistemática de la literatura es determinar la efectividad y coste-efectividad del uso de biomarcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante renal.

Método

Se realizó una revisión sistemática (RS) en las bases de datos MEDLINE y PreMedline, EMBASE, CINAHL, Cochrane Library, y Centre for Reviews & Dissemination (CRD) hasta marzo de 2014. Dos revisores independientes seleccionaron RS con metanálisis (MA) y estudios primarios que ofrecieran datos sobre el rendimiento diagnóstico del ARNm en orina para la predicción del rechazo agudo de riñón diagnosticado mediante biopsia, y en caso de duda y/o desacuerdos entre ellos se acudió a un tercer revisor. La calidad metodológica de los estudios incluidos fue evaluada mediante la escala de Oxman para las RS, y la escala QUADAS-2 para los estudios primarios. Se realizó un MA de la sensibilidad y especificidad de aquellos marcadores que fueran evaluados por tres o más estudios.

Resultados

Se obtuvieron un total de 1699 referencias, de las que se seleccionaron 136 abstracts y finalmente se incluyeron un total de 15 estudios: 2 RS con MA sobre el rendimiento diagnóstico de la granzima B y la perforina, respectivamente, y 13 estudios primarios. Se realizaron dos MA para estos dos marcadores, con seis estudios cada uno. Para la granzima B se obtuvieron unos valores acumulados de sensibilidad y especificidad del 80% y 78%, respectivamente, con heterogeneidad significativa para la segunda, mientras que en el caso de la perforina los resultados fueron del 80% y 72%, respectivamente, con heterogeneidad significativa en ambos casos. Otros marcadores que obtuvieron buenos resultados fueron FOXP3, OX40, FasL, TIM-3 y PI-9, aunque fueron evaluados en sólo uno o dos estudios. Cinco estudios analizaron diferentes modelos multivariados, con resultados de sensibilidad entre 71%-95%, y de especificidad entre 72%-94%. No se encontraron estudios de costes ni evaluaciones económicas.

Conclusiones

Los estudios incluidos muestran una importante variabilidad en los marcadores evaluados y los grupos de comparación, y su calidad metodológica muestra limitaciones especialmente en la selección de pacientes y en la utilización de puntos de corte diagnósticos extraídos de la propia muestra de estudio. Los modelos multivariados analizados no coinciden en los grupos de comparación y los marcadores evaluados. El estudio de mayor calidad metodológica obtiene unos valores de sensibilidad y especificidad en la muestra externa de validación ligeramente por encima del 70%.

Recomendaciones

En el estado actual de conocimiento no es posible recomendar el análisis de ARNm en orina mediante RCPc-TR para la predicción del rechazo agudo de riñón. Se necesitan nuevos estudios que realicen una validación prospectiva de los distintos modelos diagnósticos obtenidos en los estudios de mayor calidad metodológica comentados en esta revisión, así como su superioridad comparativa en eficacia y coste-efectividad frente a otras técnicas actualmente en estudio..

Executive Summary

Introduction

Renal transplant is the treatment of choice for patients with advanced chronic renal disease and, thanks to the development achieved, this has enabled attaining high survival rates for the allografted organ. Improved maintenance of the donor and storage of the organ, appropriate surgery techniques and the introduction of new immunosuppressants has significantly contributed to this progress. However, the long-term survival of the allograft is still considered one of the most important obstacles for renal transplant to be successful. Aggression against the graft is a common response post-transplant. Each individual has a different response and this largely depends on how different the donor's antigens are compared to those of the recipient, the modulation attained with immunosuppressants and several other factors. This variable immune response against the graft leads to different clinical manifestations and means that the organ's survival in each recipient is different.

When the initial symptoms that suggest rejection occur, the only available method up to now to verify this has been biopsy; this method, despite improving significantly over the last few years is still costly, invasive and complex.

Researchers from North American have recently developed an experimental test that predicts rejection of the renal transplant by means of urinary cell analysis, which enables absolute quantification of the levels of messenger ribonucleic acid (mRNA) identified and isolated by means of the polymerase chain reaction (PCR) technique.

Taking this important finding as a premise, the aim of this systematic literature review is to determine the effectiveness and cost-effectiveness of using urinary biomarkers to predict renal transplant rejection.

Method

A systematic review (SR) was performed in the databases MEDLINE and PreMedline, EMBASE, CINAHL, Cochrane Library, and Centre for Reviews & Dissemination (CRD) up until March 2014. Two independent reviewers selected SR with meta-analysis (MA) and primary studies that offered data on the diagnostic performance of urinary cell mRNA to

predict acute rejection after renal transplant diagnosed by means of biopsy. The methodological quality of the studies included was evaluated by means of the Oxman and QUADAS-2 scales for the SR and primary studies, respectively. A MA of the sensitivity and specificity of those markers, which were evaluated by three or more studies, was performed.

Results

A total of 1699 references were obtained, from which 136 abstracts were selected; a total of 15 studies were finally included: 2 SR with MA on the diagnostic performance of the granzyme B and perforin, respectively, and 13 primary studies. Two MA, each with six studies, were performed for these markers. For the granzyme B some cumulative sensitivity and specificity values of 80% and 78% respectively were obtained; the latter showed significant heterogeneity whilst in the case of perforin results were 80% and 72%, with significant heterogeneity in both cases. Other markers that showed good results were FOXP3, OX40, FasL, TIM-3 and PI-9, although they were only evaluated in one or two studies. Five studies analysed different multivariate models with sensitivity and specificity results of 71%-95% and 72%-94%, respectively. No costs studies or economic evaluations were found.

Conclusions

The studies included reveal major variability in the markers evaluated and the comparison groups; their methodological quality shows limitations especially for the selection of patients and the use of diagnostic thresholds taken from the study sample itself. The multivariate models analysed do not coincide with the markers evaluated. The study with the highest methodological quality obtained some sensitivity and specificity values for the external validation sample that were marginally above 70%.

Recommendations

The current state of knowledge does not facilitate recommending urinary cell mRNA analysis by means of cPCR-TR to predict acute rejection after renal transplant. Further studies need to be performed to prospectively validate the diagnostic performance of the different models obtained

from the studies with the highest methodological quality considered in this review.

I. Introducción

El trasplante renal constituye el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedad renal crónica avanzada y, gracias al desarrollo alcanzado, ha permitido lograr altas tasas de supervivencia tanto del paciente como del órgano injertado. En la actualidad, las alteraciones y complicaciones en los primeros días posteriores al trasplante son suficientemente conocidas y se ha avanzado bastante en su prevención y manejo, lográndose una gran mejoría en la supervivencia a corto plazo.

A partir de los datos procedentes de distintos países, la incidencia de rechazo agudo se sitúa por debajo del 15% y la supervivencia del injerto es superior al 90% al año del trasplante. La tasa de pérdida del injerto a partir del año del trasplante se sitúa entre 3-6% anual, pero aún resulta incierto exponer resultados a largo plazo [1,2].

Una mejoría en el mantenimiento del donante y la preservación del órgano, adecuadas técnicas quirúrgicas y la introducción de nuevos medicamentos inmunosupresores han contribuido notoriamente a este avance. Sin embargo, la supervivencia del injerto a largo plazo sigue siendo considerada uno de los mayores obstáculos para el éxito del trasplante renal [3]. Actualmente no se dispone en España de un registro de trasplante renal que ofrezca información precisa sobre la tasa de pérdida del injerto y sus causas, aunque sí se dispone de registros internacionales, autonómicos y un estudio español que evaluó cohortes de casi 5000 pacientes en total, que alcanzaron el año del trasplante con un injerto funcional [4-6].

La agresión inmunológica contra el injerto es la respuesta normativa después de un trasplante. En cada individuo esa respuesta es diferente y depende en gran medida de lo distintos que sean los antígenos del donante respecto a los del receptor, de la modulación que logre alcanzarse con los inmunosupresores y de otros muchos factores. Esta variabilidad en la respuesta inmune contra el injerto produce diferentes manifestaciones clínicas y hace que la supervivencia del órgano sea distinta en cada receptor.

Según estudios realizados, existe una mayor supervivencia del paciente e injerto en los trasplantes renales realizados con órganos procedentes de donante vivo, en relación a los donantes cadáver [7]. Para contribuir a la acogida del órgano, el paciente trasplantado debe ser medicado de por vida con fármacos inmunosupresores, pero en

ocasiones este tipo de medicación no logra evitar el rechazo y el paciente debe volver a someterse al tratamiento con diálisis, y optar si es posible a realizar un nuevo trasplante.

Cuando se producen los primeros síntomas que indican el posible rechazo, el único método disponible hasta ahora para su diagnóstico era la biopsia; método que pese a haber mejorado mucho durante los últimos años todavía es costoso, invasivo y no exento de complicaciones. Aunque la biopsia renal es el método de elección para el diagnóstico del rechazo agudo, debe tenerse en cuenta que la gradación del rechazo agudo celular no tiene una reproducibilidad exacta con un nivel de concordancia en el diagnóstico de rechazo entre distintos nefropatólogos del 90% (valores del estadístico kappa entre 0.73-0.87). Además, las lesiones histológicas características del rechazo agudo celular pueden ser focales. En este sentido, se ha reportado que evaluando dos cilindros de tejido renal se puede observar signos de rechazo en uno de ellos y ausencia de rechazo en el otro hasta en el 10% de los casos [8].

Recientemente, investigadores de diversos hospitales y centros de investigación estadounidenses han desarrollado un test experimental para predecir el rechazo del trasplante renal por medio de un análisis de orina, que permite la cuantificación absoluta de los niveles de ácido ribonucleico mensajero (ARNm) identificados y aislados mediante la técnica de la reacción en cadena de la polimerasa (RCP) [9]¹. Mediante la detección de estos biomarcadores, presentes en la orina, son capaces de diagnosticar el posible rechazo del riñón, antes incluso de que aparezcan los síntomas clínicos.

Para llegar a esta conclusión, los investigadores analizaron 4300 muestras de orina pertenecientes a casi 480 trasplantados durante los 12 meses posteriores al implante, y los compararon con muestras de orina anteriores a la operación. Los investigadores observaron que, en los casos en que se produjo rechazo, había tres moléculas (CD3 ARNm, IP-10 ARNm y 18S ARNr) que estaban claramente relacionadas con el rechazo.

A partir de este importante hallazgo, el objetivo de la presente revisión sistemática de la literatura es determinar la efectividad y eficiencia (coste-efectividad) del uso de biomarcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante renal.

¹ Del que no se dispone de ningún "kit" diagnóstico en el mercado de España.

II. Objetivo

Identificar, evaluar y sintetizar el conocimiento científico disponible sobre la efectividad y coste-efectividad de la determinación de las proteínas (perfil ARNm) en orina evaluadas mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), como biomarcadores para la predicción del rechazo del trasplante renal.

III. Métodos

Para evaluar el rendimiento diagnóstico de las proteínas (perfil ARNm) en orina como biomarcadores para la predicción del rechazo del trasplante renal se llevó a cabo una revisión sistemática (RS) de estudios primarios (estudios diagnósticos) y secundarios (RS con metanálisis) hasta marzo de 2014.

Para ello se desarrolló un protocolo detallado que describe las siguientes etapas del proceso: 1) definición de los objetivos de la RS, 2) descripción de los criterios de selección de los estudios de la revisión, 3) fuentes de información y estrategia de búsqueda de los estudios, 4) evaluación de la calidad y riesgo de sesgo de los estudios, 5) extracción, análisis y síntesis de datos.

III.1. Criterios de selección de los estudios de la revisión

Se consideraron los siguientes criterios de inclusión: a) Revisiones sistemáticas con y sin metanálisis (MA) que evaluaran el rendimiento diagnóstico de las proteínas (perfil ARNm) en orina como biomarcadores para la predicción del rechazo del trasplante renal, b) Estudios diagnósticos primarios que evaluaran el rendimiento diagnóstico de las proteínas (perfil ARNm) en orina como biomarcadores para la predicción del rechazo del trasplante renal.

Se incluyeron estudios que consideraron la capacidad diagnóstica de las proteínas (perfil ARNm) en orina como biomarcadores para la predicción del rechazo del trasplante renal (sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo, valor de las odds ratio (OR), área bajo la curva (AUC, del inglés, *area under curve*)), como medida de resultado.

En la Tabla 1 se describen detalladamente los criterios de selección de los estudios, a partir de las preguntas clínicas estructuradas en formato PICO (del inglés, P: Population / patient; I: Intervention / indicator; C: Comparator / control; O: Outcome):

Tabla 1. Criterios de selección de los estudios

Criterio	Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
Diseño de estudio	<p>Revisión sistemática (RS) con y sin metanálisis (MA)</p> <p>Estudios en los que se determine la validez descriptiva, predictiva y utilidad diagnóstica de los biomarcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante renal (estudios diagnósticos transversales o longitudinales)</p> <p>Evaluaciones económicas (coste-efectividad / coste-utilidad)</p>	<p>RS sin MA (cuando estuviesen disponibles otras RS con MA)</p> <p>Estudios no originales (revisiones narrativas, editoriales, cartas al editor, artículos de opinión)</p> <p>Estudios de análisis coste-minimización, análisis coste-consecuencia y evaluaciones económicas incompletas, salvo estudios de costes realizados en España</p>
Características de la población	Personas con trasplante renal	Personas con trasplante multiorgánico
Intervención	Análisis de la expresión del ácido ribonucleico mensajero (perfil ARNm) evaluada mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa (RCP)	Otras técnicas de análisis de biomarcadores en orina (citometría de flujo, ELISA...)
Comparador	Biopsia (resultados normales u otras patologías renales)	
Medidas de resultado	<p>Eficacia y efectividad: Sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo (VPP) y negativo (VPN), valor de las odds ratio (OR) diagnóstica, área bajo la curva (AUC, del inglés, <i>area under curve</i>)</p> <p>Coste-efectividad: ratio coste-efectividad incremental, ratio coste-utilidad incremental</p>	Se excluyen estudios en los que no figuren datos sobre el rendimiento diagnóstico o no puedan ser calculados a partir de los datos informados
Idioma	Inglés, español	Otros idiomas

III.2. Estrategia de búsqueda, selección y revisión de los estudios

En la Tabla 2 se describen las bases de datos electrónicas que fueron consultadas hasta marzo de 2014 y en el Anexo 1 se hace explícita la estrategia de búsqueda para identificar las RS y estudios diagnósticos.

Tabla 2. Base de datos electrónicas consultadas	
Bases de datos	Período de búsqueda
MEDLINE y PreMedline (OvidSP)	1950 – marzo 2014
EMBASE (Elsevier)	1980 - marzo 2014
CINAHL (Ebsco Host)	1982 - marzo 2014
Cochrane Library	1982 - marzo 2014
Centre for Reviews & Dissemination (CRD)	1973 - marzo 2014

El proceso de selección de los estudios se realizó por dos revisores de forma independiente y en caso de duda y/o desacuerdos entre ellos se acudió a un tercer revisor, que comprobó los criterios del protocolo e intentó llegar a un consenso con los otros dos revisores.

La selección de los estudios se realizó a partir de los abstracts recuperados en las bases de datos según los criterios de selección antes citados y previa valoración de la relevancia para esta RS.

A continuación, se recuperaron las publicaciones completas (incluyendo todas aquellas en las que su elegibilidad no se podía determinar por el abstract) y se volvió a comprobar la concordancia con los criterios de la revisión.

Una vez seleccionados los artículos, se extrajeron posibles referencias de interés. El análisis bibliográfico se complementó con la consulta manual de referencias extraídas de los estudios incluidos, siempre que éstas cumplieren los criterios de selección establecidos.

Las búsquedas estructuradas se complementaron con varias búsquedas manuales en las referencias de los documentos seleccionados. El proceso se amplió a otros motores de búsqueda no específicos de ciencias de la salud, como Google®, con el objetivo de localizar literatura gris que pudiera ser relevante. Finalmente, se consultó

con expertos para identificar otras posibles publicaciones de interés. Las referencias bibliográficas fueron gestionadas a través del programa Reference Manager 10.

III.3. Evaluación crítica de la calidad de los estudios

Los artículos y otros productos obtenidos en la búsqueda de la literatura científica fueron valorados críticamente por dos revisores de forma independiente. La calidad de las RS y MA se evaluó mediante la Escala de Oxman (Anexo 2) [10], cuyas puntuaciones oscilan entre 0 y 10 puntos. Esta escala evalúa cinco categorías, que se puntúan con 0 (no se cumple el criterio o no se informan los datos necesarios para valorarlo), 1 (se cumple parcialmente) o 2 puntos (se cumple adecuadamente): i) definición del tema de estudio de la RS (pregunta de investigación claramente formulada en términos de población de estudio, intervención realizada y resultados considerados), ii) selección de los artículos de la RS (estudios con un diseño adecuado para responder a la pregunta de investigación), iii) importancia y relevancia de los artículos incluidos en la RS (exhaustividad de la búsqueda bibliográfica), iv) valoración de la calidad de los estudios incluidos en la RS y v) combinación de los resultados de los estudios incluidos en la RS (conveniencia y adecuación de la combinación cuantitativa de resultados).

La calidad de los estudios primarios (estudios diagnósticos) se evaluó con la escala QUADAS-2 (Anexo 3) [11]. En esta escala se consideran cuatro áreas fundamentales de evaluación [12]: 1) La selección de los pacientes; 2) El test o prueba en estudio; 3) Los estándares de referencia; y 4) El flujo de los pacientes y el cronograma del estudio; que se aplica en las siguientes fases: 1) Resumen de la pregunta de investigación (pacientes, prueba diagnóstica, prueba de referencia, enfermedad o condición de salud que se estudia); 2) Adaptación de la escala al estudio en concreto que se analiza; 3) Diagrama de flujo de cada estudio, que permitirá evaluar el riesgo de sesgo de cada estudio e identificar el método de inclusión de los participantes; 4) Evaluación del riesgo de sesgo y aplicabilidad (¿qué información se proporciona para evaluar el riesgo de sesgo?, preguntas orientativas, valoración del riesgo de sesgo y aplicabilidad). En esta RS, se añadieron 3 categorías adicionales al QUADAS-2 estándar para evaluar la calidad metodológica de los estudios: 1) Cálculo previo del

tamaño muestral; 2) Utilización de la técnica de remuestreo (bootstrap); 3) Uso de una muestra para la validación externa.

III.4. Extracción, análisis y síntesis de datos

Una vez identificados los estudios a incluir en la RS, se realizó la extracción de los datos en una hoja/ficha para cada estudio y se clasificó la información en tablas de evidencia. Los resultados se han descrito priorizando aquellas RS que incluyeron una síntesis cuantitativa de resultados (MA), y analizando las potenciales discrepancias entre las distintas revisiones. A continuación, se presentan los estudios primarios que describen el rendimiento diagnóstico de los biomarcadores en orina para la predicción del rechazo del trasplante renal. Para la extracción de datos se contempló tanto la información general como la información específica sobre las características del estudio y las medidas utilizadas para valorar los resultados. Para cada artículo, se tuvieron en cuenta los siguientes datos: autor de la publicación, país de origen del estudio, criterios diagnósticos, marcadores evaluados, diagnóstico de la muestra, diseño y metodología del estudio, sensibilidad (SE), especificidad (ES), media (M), desviación estándar (DE), período de seguimiento, gravedad del rechazo agudo (según los criterios de Banff 1997 [13]), tipo de análisis (univariado, multivariado).

III.5. Análisis estadístico

Se realizó un MA con el programa MetaDisc 1.1.1 para aquellos marcadores cuyo rendimiento diagnóstico fue evaluado por tres o más estudios. El cálculo de la heterogeneidad entre estudios se realizó con el estadístico Q, con un umbral de significación de 0.10 (debido a la poca potencia de este contraste cuando hay pocos estudios). Se calcularon los valores acumulados de SE y ES para cada marcador. En caso de observarse heterogeneidad significativa se ofrecen los resultados del modelo de efectos aleatorios, y en caso contrario el de efectos fijos. El efecto umbral se evaluó mediante la correlación de Spearman (ρ) entre los valores de SE y ES. Se especificaron a priori las siguientes variables confusoras para un potencial análisis de subgrupos: tipo de técnica de RCP, grupo de comparación, y gen de referencia. En caso de obtener pocos estudios se realizó tan sólo un análisis de SE excluyendo un estudio cada vez, para explorar la influencia de cada estudio en los resultados observados.

IV. Resultados

Un total de 2148 referencias fueron localizadas en las bases de datos electrónicas. En la Tabla 3 se describen los resultados obtenidos en cada una de las bases de datos electrónicas consultadas. Tras eliminar los duplicados de las citas resultaron 1699 referencias, de las que se seleccionaron 136 abstracts y se descartaron 1563 referencias. Finalmente se incluyeron un total de 15 estudios: 2 RS con metanálisis [13,14] y 13 estudios primarios diagnósticos (4 de los cuales se habían considerado en las 2 RS incluidas en esta revisión) [8,15–26]. No se encontraron estudios de costes ni evaluaciones económicas.

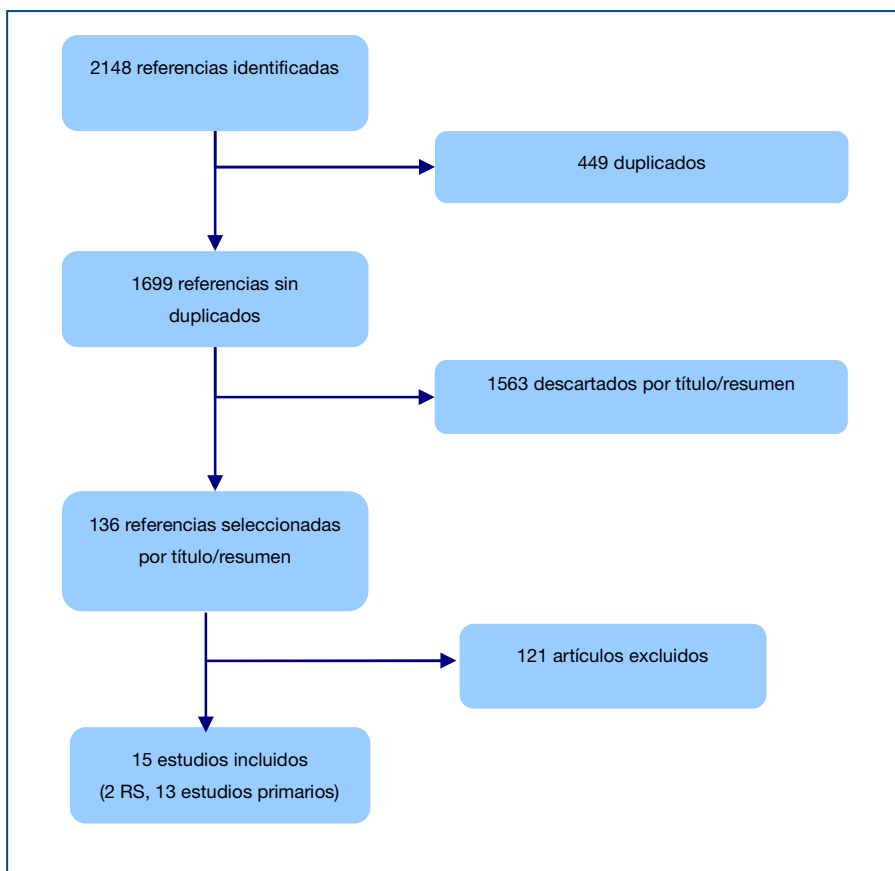
De aquí en adelante, los estudios incluidos serán mencionados con el nombre del primer autor y el año de publicación. Los diagnósticos histológicos se presentarán mediante abreviaturas, cuyo significado se presenta en el listado de siglas y acrónimos. Asimismo, en el glosario (Anexo 4) se ofrece una breve descripción de los marcadores evaluados en los estudios incluidos sobre los que se muestran datos de rendimiento diagnóstico.

Tabla 3. Resultados en las bases de datos consultadas

Bases de datos	Nº de resultados obtenidos
MEDLINE y PreMedline (OvidSP)	1140
EMBASE (Elsevier)	916
CINAHL (Ebsco Host)	36
Cochrane Library (Cochrane Library)	54
Centre for Reviews & Dissemination (CRD)	2
Total de referencias con duplicados	2148
Total de referencias sin duplicados	1699

En la Figura 1 se muestra el proceso de selección de referencias identificadas en las bases de datos electrónicas consultadas.

Figura 1. Proceso de selección de estudios



IV.1. Calidad metodológica

Para evaluar la calidad metodológica de las RS y MA incluidos en esta revisión, se utilizó la escala de calidad de Oxman [9]. En la Tabla 4 se puede encontrar la descripción de las puntuaciones de calidad y validez para las RS y MA incluidos.

Las dos RS obtienen la máxima puntuación de calidad [14,15]. En ambas se incluyeron los mismos cuatro estudios que utilizaron muestras de orina (que han sido incluidos entre los estudios primarios de esta RS).

Tabla 4. Calidad de las RS y MA (Escala de Oxman et al., 1994)

Estudio	Puntuación (/10)	Tema (/2)	Selección (/2)	Importancia y relevancia (/2)	Calidad (/2)	Combinación de resultados (/2)
Shang (2012)	10	2	2	2	2	2
Shang (2013)	10	2	2	2	2	2

La calidad de los estudios primarios (estudios diagnósticos) se analizó según los criterios QUADAS-2 [10]. La Tabla 5 muestra las puntuaciones obtenidas por los estudios primarios incluidos.

Ningún estudio obtuvo una valoración de bajo riesgo de sesgo en todas las áreas evaluadas. El estudio mejor valorado ha sido el de Suthanthiran (2013) [9], con riesgo de sesgo bajo y alta aplicabilidad en tres de las cuatro áreas evaluadas.

En cuanto a la *selección de pacientes*, el riesgo de sesgo y la aplicabilidad se han valorado como “dudoso” en la mayoría de los estudios. Si bien en ningún caso se ha utilizado un diseño de casos y controles, la mayoría de los estudios no explicita la naturaleza de la muestra (consecutiva, aleatoria, etc) ni los criterios de inclusión y exclusión. Sólo Suthanthiran (2013) [9] recibe una valoración de aplicabilidad alta.

En cuanto a la *prueba diagnóstica*, ningún estudio utiliza un valor externo para determinar el umbral de concentración de ARNm a partir del cuál calcular la SE y ES, y sólo Suthanthiran (2013) [9] utiliza una muestra externa (submuestra aleatoria del estudio de Hricik 2013 [16]) para validar el modelo diagnóstico obtenido en la muestra original. Asimismo, este es el único estudio donde se menciona explícitamente que los resultados de la prueba diagnóstica fueron analizados sin conocimiento de los resultados de la biopsia.

El *test de referencia* para el diagnóstico de rechazo agudo (RA) fue en todos los casos el resultado de la biopsia de riñón, considerado como “gold standard”. Cuatro estudios no explicitan si los resultados de la biopsia se interpretaron de forma ciega, por lo que su riesgo de sesgo y aplicabilidad han sido valorados como “dudoso”.

Tabla 5. Calidad metodológica de los estudios incluidos según la escala QUADAS-2

Autor (año)	DOMINIO 1 Selección de pacientes					DOMINIO 2 Test diagnóstico				DOMINIO 3 Test de referencia				DOMINIO 4 Flujo y cronograma					CTM	TR	VE
	A-2	A-3	A-4	RS	AP	A-2	A-3	RS	AP	A-2	A-3	RS	AP	A-3	A-4	A-5	RS	AP			
Afaneh (2010)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	S	S	B	A	N	N	N
Aquino-Dias (2008)	S	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	S	S	B	A	N	N	N
Ding (2003)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	N	S	D	D	N	N	N
Galante (2006)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	D	D	D	S	N	S	D	D	N	N	N
Hricik (2013)	S	S	D	D	D	D	N	A	B	S	D	D	D	S	S	N	D	D	S	S	N
Lí (2001)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	S	N	D	D	N	N	N
Manfro (2008)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	S	S	B	A	N	N	N

Tabla 5. Calidad metodológica de los estudios incluidos según la escala QUADAS-2

Autor (año)	DOMINIO 1 Selección de pacientes					DOMINIO 2 Test diagnóstico				DOMINIO 3 Test de referencia				DOMINIO 4 Flujo y cronograma					CTM	TR	VE
	A-2	A-3	A-4	RS	AP	A-2	A-3	RS	AP	A-2	A-3	RS	AP	A-3	A-4	A-5	RS	AP			
Matignon (2014)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	S	S	B	A	N	S	N
Matz (2006)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	N	S	D	D	N	N	N
Ozbay (2009)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	D	D	D	D	N	N	A	B	N	N	N
Suthanthiran (2013)	S	S	S	B	A	S	N	B	A	S	S	B	A	S	S	N	D	D	S	S	S
Tatapudi (2004)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	S	B	A	S	N	S	D	D	N	N	N
van Ham (2010)	D	S	D	D	D	D	N	A	B	S	D	D	D	S	S	N	D	D	N	N	N

A: alta; B: baja; D: dudoso; AP: aplicabilidad; CTM: cálculo del tamaño muestral; RS: riesgo de sesgo; TR: técnica de remuestreo; VE: validación externa

En cuanto al *flujo de pacientes*, en todos los casos salvo Ozbay (2009) [17] se explicita que las muestras de orina se recogieron en el momento de la biopsia, inmediatamente antes o en las 24 horas previas o posteriores. Cinco estudios incluyeron en el análisis ROC, ya sea conjunta o individualmente, comparadores no diagnosticados mediante biopsia (como los grupos de “funcionamiento estable del injerto” (FEI), diagnosticados clínicamente). Cinco estudios informaron de pérdidas en el seguimiento. Sólo Hricik (2013) [16] y Suthanthiran (2013) [9] muestran el cálculo previo del tamaño muestral necesario, y junto con Matignon (2014) [18] son los únicos que aplican técnicas de remuestreo para estimar la generalizabilidad de los resultados.

IV.2. Descripción de los estudios incluidos

IV.2.1. Revisiones sistemáticas

IV.2.1.1. Características de los estudios

Las dos RS incluidas (Shang 2012, 2013) [14,15] tenían como objetivo analizar el rendimiento diagnóstico de la perforina y la granzima B, respectivamente, evaluadas mediante técnicas de reacción en cadena de la polimerasa (RCP), en la detección del rechazo agudo (RA) de riñón. En ambas RS se incluyen estudios con muestras biológicas no sólo de orina, sino también de sangre y de tejido obtenido por biopsia. En el caso de la orina, se incluyeron los mismos cuatro estudios primarios [17,19–21] en ambas revisiones, pues todos evaluaron la granzima B y la perforina.

IV.2.1.2. Rendimiento diagnóstico

Para los cuatro estudios primarios incluidos en las RS de Shang (Shang 2012, 2013) [14,15] se obtuvo, en el caso de la perforina, una sensibilidad (SE) de 0.89 (IC 95%: 0.80–0.95), una especificidad (ES) de 0.85 (IC 95%: 0.75–0.92), una odds ratio (OR) diagnóstica de 36.76 (IC 95%: 13.59–99.39), y un área bajo la curva (AUC) de 0.92. Para la granzima B, los mismos cuatro estudios obtuvieron unos valores de 0.83 (IC 95%: 0.73–0.90), 0.77 (IC 95%: 0.66–0.86), 14.41 (IC 95%: 4.94–42.10) y 0.90, respectivamente. No se informan los índices de heterogeneidad.

IV.2.2. Estudios primarios

IV.2.2.1. Características de los estudios

En la Tabla 6 pueden verse las características de los estudios primarios incluidos. Siete de ellos se desarrollaron en EEUU, tres en Brasil, y uno en Alemania, Dinamarca y Países Bajos, respectivamente. La edad media de los participantes estuvo entre 39-51 años, y el porcentaje de mujeres entre 30%-46%.

Para el diagnóstico histológico de las muestras de biopsia se utilizó en diez estudios la clasificación de Banff (1997) [13], mientras que los tres restantes usaron la actualización de dichos criterios de 2005 y 2007 [22,23]. Los grupos de comparación varían considerablemente, pues en algunos casos el RA se compara directamente con grupos diagnósticos específicos (siendo la nefropatía crónica del injerto (NCI) y la necrosis tubular aguda (NTA) los grupos más frecuentes, con cinco estudios en ambos casos donde se muestra el rendimiento diagnóstico para dichas comparaciones), mientras que en otros estudios distintos grupos diagnósticos se agrupan en “otros hallazgos” (OH) o “no-RA”. En cinco estudios se incluyó un grupo con resultados de biopsia normales (RBN), y en siete se incluyó un grupo con funcionamiento estable del injerto (FEI), evaluado clínicamente pero sin datos histológicos.

Tabla 6. Principales características de los estudios incluidos

Autor (año) País	Marcadores (gen de referencia)	Clasificación y grupos diagnósticos (sujetos/muestras)	Subgrupos en rechazo agudo	Tiempo hasta la biopsia (media días)	Edad media (años)	% mujeres	Técnica (unidad de medida)	Análisis multivariado
Afaneh (2010) EE.UU.	OX40, OX40L, PD-1, PD-L1, PD-L2, granzima B, perforina, FOXP3 (ARNr 18S)	Banff 1997 1) RA (21/21) 2) RBN (25/25)	- IA (57%) - IB (43%)	RA: 180 RBN: 51 (medianas)	46.1	46%	RCPc-TR (Cuantificación absoluta: copias de ARNm en un µg de ARNr / copias de ARNr 18S en un fg de ARN)	Sí
Aquino-Días (2008) Brasil	Fas-L, granzima B, FOXP3, perforina, PI- 9 (ciclofilina)	Banff 1997 1) RA (14/20) 2) NTA (21/28) 3) NIC (8/8) 4) NCI (12/12) 5) RBN (12/10)	- Borderline (15%) - IA (40%) - IIA (30%) - III (15%)	RA, NTA: 21 NIC: 225 NCI: 269 RBN: 74	45.2	39%	RCP-TR (Cuantificación relativa: 2 ^{ΔΔCT})	No
Ding (2003) EE.UU.	CD103 (ARNr 18S)	Banff 1997 1) RA (30/32) 2) OH (12/12) 3) NCI (12/12) 4) FEI (25/33)	- Borderline (6%) - IA (22%) - IB (47%) - IIA (13%) - III (13%)	n.i.	44.8	44%	RCPc-TR (Cuantificación absoluta: copias por µg de ARN total)	No

Tabla 6. Principales características de los estudios incluidos

Autor (año) País	Marcadores (gen de referencia)	Clasificación y grupos diagnósticos (sujetos/muestras)	Subgrupos en rechazo agudo	Tiempo hasta la biopsia (media días)	Edad media (años)	% mujeres	Técnica (unidad de medida)	Análisis multivariado
Galante (2006) Brasil	Perforina, granzima B, Fas-L (ciclofilina A)	Banff 1997 1) RA (13/13) 2) Pielonefritis (10/10) 3) NCI (13/13) 4) NTA (13/13) 5) FEI (11/11)	- Tipo 1 (54%) - IB (15%) - IIA (23%) - IIB (8%)	RA: 499 Pielonefritis: 767 NCI: 1537 NTA: 14 FEI: 350	39.3	33%	RCP-TR (Cuantificación relativa: 2(Rt – Et) /2(Rn – En))	No
Hricik (2013) EE.UU.	CCR1, CCR5, CXCR3, CCL5, CXCL9, CXCL10 (IP-10), IL-8, perforina, granzima B (ARNr 18S)	Banff 1997 1) RA (33/n.i.) 2) Sospecha de RA (35/n.i.) 3) OH (181/ n.i.) Total muestras orina válidas = 2095 (promedio: 8/paciente)	≥1A	Biopsias por protocolo: 6 meses Biopsias por indicación clínica: a discreción del médico	43.5	40%	RCPc-TR (Cuantificación absoluta: (copias por µg de ARN total))	Sí
Li	Perforina, granzime B	Banff 1997	- Borderline (8%)	n.i.	46.9	32%	RCPc	No

Tabla 6. Principales características de los estudios incluidos

Autor (año) País	Marcadores (gen de referencia)	Clasificación y grupos diagnósticos (sujetos/muestras)	Subgrupos en rechazo agudo	Tiempo hasta la biopsia (media días)	Edad media (años)	% mujeres	Técnica (unidad de medida)	Análisis multivariado
(2001) EE.UU.	(ciclofilina B)	1) RA (22/24) 2) NCI (5/5) 3) OH (11/15) 4) FEI (47/107)	- IA (25%) - IB (33%) - IIA (21%) - IIB (8%) - III (4%)				(Cuantificación absoluta: fg de ARNm específico / µg de ARN total)	
Manfro (2008) Brasil	Tim-3 (B-actina)	Banff 1997 1) RA (18/24) 2) NTA (22/38) 3) NTA-RA (28/41) 4) NIC (10/13) 5) FI/AT (22/29). 5) RBN (15/15)	n.i.	RA: 116 NTA: 22 NTA-RA: 16 NIC: 149 FI/AT: 664 RBN: 101	42.6	40%	RCP-TR (Cuantificación relativa: 2 ^{-ΔΔCT})	No
Matignon (2014) EE.UU.	CD3, Granzima B, Perforina, FoxP3, OX40, CD105, CD146, factor von Willebrand, IgJ, PSMB10, TRIB1, TLR4, CD14, factor de complemento 3,	Banff 2007 1) RACT (26/26) 2) RMA (26/26) 3) LTA (32/32)	- IA (19%) - IB (58%) - IIA (15%) - IIB (8%)	RACT: 132 RMA: 486 LTA: 36 (medianas)	49.1	38%	RCPc-TR (Cuantificación absoluta: copias por µg de ARN total)	Sí

Tabla 6. Principales características de los estudios incluidos

Autor (año) País	Marcadores (gen de referencia)	Clasificación y grupos diagnósticos (sujetos/muestras)	Subgrupos en rechazo agudo	Tiempo hasta la biopsia (media días)	Edad media (años)	% mujeres	Técnica (unidad de medida)	Análisis multivariado
	factor de complemento 5, properdina, factor de complemento B, CD55, CD46, Vimentina, IL-6, NKCC2, E-cadherina, CXCL13, CD20, TGFb1 (ARNr 18S)							
Matz (2006) Alemania	IP-10 (Histona)	Banff 1997 1) RA (21/n.i.) 2) Borderline (14/ n.i.) 3) CMV (5/ n.i.) 4) ITU (10/ n.i.) 5) FEI (26/ n.i.)	- I (60%) - II (37%) - III (3%)	n.i.	51.2	43%	RCP-TR (cuantificación relativa: 2- Δ CT)	No
Ozby (2009) Dinamarca	Perforina, granzima B, granulisina (ciclofilina B)	Banff 2005 1) RA (24/n.i.) 2) Bacteriuria (12/n.i.) 3) CMV (11/n.i.) 4) FEI (17/n.i.) 142 muestras orina en	- Borderline (38%) - IA (33%) - IB (17%) - IIA (8%) - IIB (4%)	RA: 84 Bacteriuria: 44 CMV: 68 FEI: 62	46.3	44%	RCPc-TR (Cuantificación relativa: copias del gen específico / copias del gen	Sí

Tabla 6. Principales características de los estudios incluidos

Autor (año) País	Marcadores (gen de referencia)	Clasificación y grupos diagnósticos (sujetos/muestras)	Subgrupos en rechazo agudo	Tiempo hasta la biopsia (media días)	Edad media (años)	% mujeres	Técnica (unidad de medida)	Análisis multivariado
		total (promedio: 2.2/paciente)					de referencia)	
Suthanthiran (2013) EE.UU.	CD3c, perforina, granzima B, PI-9, CD103, IP-10, CXCR3, TGF-β1 (ARNr 18S)	Banff 1997 Muestra interna/validación: 1) RACT (34/43)/ (21/24) 2) Borderline (17/19) 3) RBN (126/163) 4) OH (8/9)/ (43/47) 5) FEI (202/1540) 6) RMA (9/10)	Muestra interna/validación: - IA (44%)/(46%) - IB (23%)/(17%) - IIA (26%)/(29%) - IIB (5%)/(4%) - III (2%)/(4%)	n.i.	48.4	41%	RCPc-TR (Cuantificación absoluta: copias por µg de ARN total)	Sí
Tatapudi (2004) EE.UU.	IP-10, CXCR3 (ARNr 18S)	Banff 1997 1) RA (24/27) 2) OH (19/20) 3) NCI (15/16) 4) FEI (24/27)	n.i.	n.i.	45.3	38%	RCPc-TR (Cuantificación absoluta: copias por µg de ARN total)	No
van Ham (2010) Países Bajos	Granzima A, Granzima B, perforina, PI-9 (ARNr 18S)	Banff (2005) 1) RBN (10/n.i.) 2) NTA (9/n.i.) 3) NCI (4/n.i.) 4) RSC (10/n.i.)	- I (74%) - II (26%)	Biopsias por protocolo: 6 y 12 meses	Medianas por subgrupos 44-57	30%	RCPsc-TR (Cuantificación relativa)	No

Tabla 6. Principales características de los estudios incluidos

Autor (año) País	Marcadores (gen de referencia)	Clasificación y grupos diagnósticos (sujetos/muestras)	Subgrupos en rechazo agudo	Tiempo hasta la biopsia (media días)	Edad media (años)	% mujeres	Técnica (unidad de medida)	Análisis multivariado
		5) RACT-I (20/n.i.) 6) RACT-II (7/n.i.) 7) CMV (10/n.i.)						

ARN: ácido ribonucleico; **ARNm:** ácido ribonucleico mensajero; **ARNr:** ácido ribonucleico ribosómico; **CMV:** citomegalovirus; **FEI:** función estable del injerto; **fg:** femtogramo; **FI/AT:** fibrosis intersticial y atrofia tubular; **ITU:** infección del tracto urinario; **LTA:** lesión tubular aguda; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **n.i.:** no informado; **NIC:** neurotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina; **NTA:** necrosis tubular aguda; **NTA-RA:** necrosis tubular aguda-rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **RACT:** rechazo agudo mediado por células-T; **RACT-I:** rechazo agudo mediado por células-T, tipo I; **RACT-II:** rechazo agudo mediado por células-T, tipo II; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RCPc:** reacción en cadena de la polimerasa (cuantitativa); **RCPc-TR:** reacción en cadena de la polimerasa (cuantitativa) en tiempo real; **RCPsc-TR:** reacción en cadena de la polimerasa (semi-cuantitativa) en tiempo real; **RMA:** rechazo mediado por anticuerpos; **RSC:** rechazo subclínico; **µg:** microgramo

IV.2.2.2. Rendimiento diagnóstico

Las Tablas 7-9 muestran los resultados obtenidos para los marcadores analizados, que se describen a continuación.

Modelos univariados

Granzima B

Siete estudios presentan datos de rendimiento diagnóstico (Tabla 7) [16–21,24]. En la mayoría de los casos se encontraron concentraciones significativamente mayores de granzima B en los grupos de RA frente al resto de los grupos. Las excepciones fueron Li (2001) [21] en el caso de la NCI, Ozbay (2009) [17] con el CMV, y Hricik (2013) [16] en el caso de sospecha de RA e ITU.

Tabla 7. Resultados de los estudios incluidos para Granzima B							
Autor (año)	Marcador	N° sujetos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Aquino-Días (2008)	Granzima B	35 (48)	RA> NTA, NIC, NCI, RBN	NTA	0.85 (0.69-1.01)	0.83	0.86
Galante (2006)	Granzima B	23 (23) 26 (26) 26 (26) 24 (24)	RA> Pielonefritis, NCI, NTA, FEI	Pielonefritis NCI NTA FEI	0.99 (0.99-1.00) 0.83 (0.62-1.00) 0.99 (0.99-1.00) 0.99 (0.99-1.00)	0.85 0.85 0.85 0.85	1.00 0.75 1.00 1.00
Hricik (2013)	Granzima B	265 (2095)	RA> OH RA= sospecha de RA, infección	no-RA (sospecha de RA, infección, OH)	0.73	0.71	0.82
Li (2001)	Granzima B	38 (44)	RA> OH, FEI RA=NCI	no-RA (NCI, OH)	n.i.	0.79	0.65

Tabla 7. Resultados de los estudios incluidos para Granzima B

Autor (año)	Marcador	N° sujetos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Matignon (2014)	Granzima B	84 (84)	RACT> RMA, LTA	RMA LTA	0.83 (0.71-0.94) 0.82 (0.74-0.91)	n.i.	n.i.
Ozbay (2009)	Granzima B	64 (142)	RA> Bacteriuria, FEI RA=CMV	no-RA (Bacteriuria, CMV, FEI)	0.78 (0.65-0.92)	0.83	0.59
van Ham (2010)	Granzima B	29 (n.i.) 30 (n.i.)	RACT-I> NTA, RBN RACT-I= RSC	NTA RBN	0.81 (0.61-1.00) 0.83 (0.69-0.98)	0.90 0.80	0.88 0.70

AUC: área bajo la curva ROC; **CMV:** citomegalovirus; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **LTA:** lesión tubular aguda; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **NIC:** neurotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina; **NTA:** necrosis tubular aguda; **n.i.:** no informado; **no-RA:** no rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **RACT:** rechazo agudo mediado por células-T; **RACT-I:** rechazo agudo mediado por células-T, tipo I; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RMA:** rechazo mediado por anticuerpos; **RSC:** rechazo subclínico; **SE:** sensibilidad

En cuanto al rendimiento diagnóstico, Matignon (2014) [18] sólo informa el AUC, con valores de 0.83 (IC 95%: 0.71-0.94) y 0.82 (IC 95%: 0.74-0.91) para las comparaciones RACT vs. RMA y RA vs. LTA, respectivamente. Los seis estudios restantes fueron incluidos en el MA (Figura 2 y Figura 3), sin que se observase un efecto umbral significativo. Dado que Galante (2006) [20] y van Ham (2010) [24] compararon el RA con distintos grupos por separado (cuatro en el estudio de Galante (2006) [20] y dos en el de van Ham (2010) [24]), se incluyó, en primer lugar en el MA, el resultado de la comparación frente a NTA, grupo evaluado por ambos estudios. Se obtuvo una SE acumulada del 80% (IC 95%: 0.72-0.86) sin heterogeneidad significativa, y una ES del 78% (IC 95%: 0.72-0.84), aunque en este caso la heterogeneidad sí resultó significativa. La exclusión sucesiva de un estudio cada vez no logró eliminar dicha significación estadística.

Figura 2. Metanálisis de Sensibilidad de la Granzima B

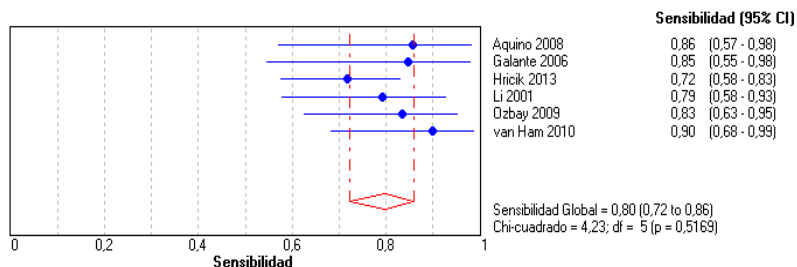
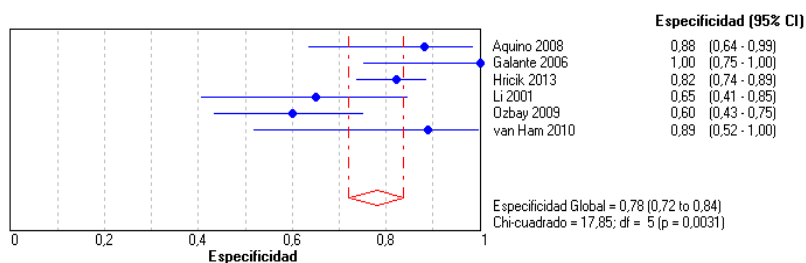


Figura 3. Metanálisis de Especificidad de la Granzima B



Posteriormente se realizó el mismo MA, pero incluyendo, para los estudios de Galante (2006) [20] y van Ham (2010) [24], los resultados de las comparaciones frente a NCI y RBN, respectivamente (Figura 4 y Figura 5). La SE se redujo al 78% (IC 95%: 0.71-0.85) y la ES al 76% (IC 95%: 0.70-0.82), de nuevo con heterogeneidad significativa para esta última. El análisis de sensibilidad mostró que dicha significación desapareció al excluir a Hricik (2013) [16], Li (2002) [21] u Ozbay (2009) [17].

Figura 4. Metanálisis de Sensibilidad de la Granzima B (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010))

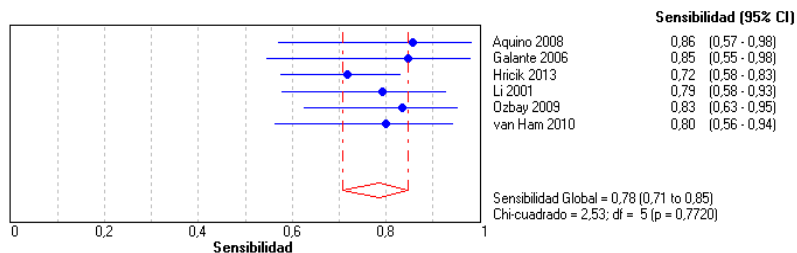
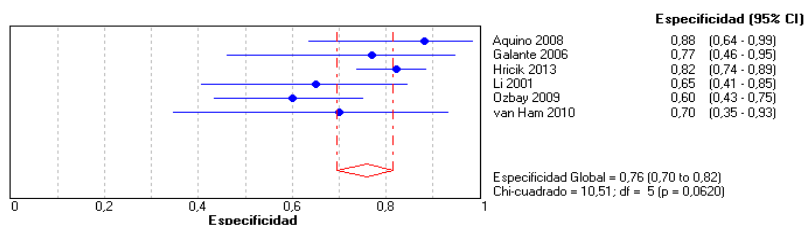


Figura 5. Metanálisis de Especificidad de la Granzima B (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010))



Perforina

Se incluyeron siete estudios [16–21,24], de los que seis informan diferencias de medias o medianas (Tabla 8). Se encontraron niveles significativamente mayores en los grupos de RA, salvo en Galante (2006) [20] cuando se comparó con NCI y pielonefritis, y en Ozbay (2009) [17], al comparar con el grupo de ITU.

Tabla 8. Resultados de los estudios incluidos para Perforina

Autor (año)	Marcador	Nº sujetos (nº muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Aquino-Díaz (2008)	Perforina	35 (48)	RA> NTA, NIC, NCI, RBN	NTA	0.92 (0.79–1.04)	1.00	0.86

Tabla 8. Resultados de los estudios incluidos para Perforina

Autor (año)	Marcador	Nº sujetos (nº muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Galante (2006)	Perforina	23 (23) 26 (26) 26 (26) 24 (24)	RA> NTA, FEI RA= Pielonefritis, NCI	Pielonefritis NCI NTA FEI	0.71 (0.45- 0.90) 0.73 (0.47- 0.90) 0.82 (0.59- 1.00) 0.95 (0.85- 1.00)	0.85 0.85 0.85 0.85	0.55 0.62 0.75 0.90
Hricik (2013)	Perforina	265 (2095)	n.i.	no-RA (sospecha de RA, infección, OH)	0.70	0.67	0.63
Li (2001)	Perforina	38 (44)	RA> NCI, OH, FEI	no-RA (NCI, OH)	n.i.	0.83	0.85
Matignon (2014)	Perforina	84 (84)	RACT> RMA, LTA	RMA LTA	0.81 (0.69- 0.93) 0.84 (0.75- 0.93)	n.i.	n.i.
Ozbay (2009)	Perforina	64 (142)	RA> CMV, FEI RA= Bacteriuria	no-RA (Bacteriuria, CMV, FEI)	0.82 (0.69- 0.96)	0.88	0.77
van Ham (2010)	Perforina	59 (NR)	RACT-I> NTA, RBN RACT-I = RSC	NTA RBN	0.86 (0.70- 1.02) 0.95 (0.85- 1.03)	0.85 0.95	0.90 0.80

AUC: área bajo la curva ROC; **CMV:** citomegalovirus; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **LTA:** lesión tubular aguda; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **NIC:** neurotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina; **NTA:** necrosis tubular aguda; **n.i.:** no informado; **no-RA:** no rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **RACT:** rechazo agudo mediado por células-T; **RACT-I:** rechazo agudo mediado por células-T, tipo I; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RMA:** rechazo mediado por anticuerpos; **RSC:** rechazo subclínico; **SE:** sensibilidad

Matignon (2014) [18] muestra un AUC de 0.81 (0.69-0.93) y 0.84 (0.75-0.93) para las comparaciones RACT vs. RMA y RA vs. LTA, respectivamente. El MA de los restantes seis estudios [16,17,19–21,24], con la misma estrategia aplicada con Galante (2006) [20] y van Ham (2010) [24] en el caso de la granzima B, produjo una SE acumulada del 80% (IC 95%: 0.73-0.86) y una ES de 0.72 (IC 95%: 0.65-0.78), con heterogeneidad significativa en ambos casos (Figura 6 y Figura 7). La exclusión de Aquino-Dias (2008) [19] y la de Hricik (2013) [16] eliminó la significación de la heterogeneidad en el caso de la SE, mientras que para la ES esto ocurrió sólo al excluir a Hricik (2013) [16]. No se observó efecto umbral significativo.

Figura 6. Metanálisis de Sensibilidad de la Perforina

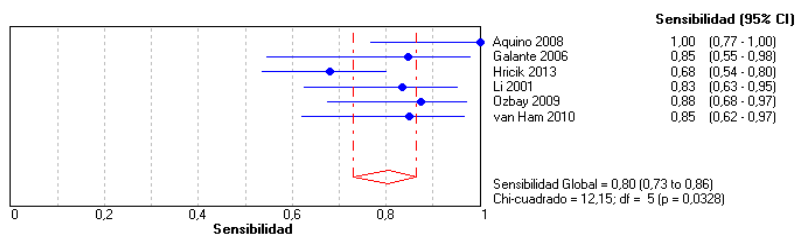
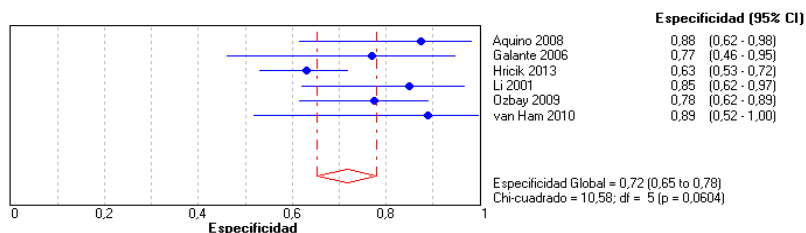


Figura 7. Metanálisis de Especificidad de la Perforina



Al repetir el MA incluyendo los resultados de las comparaciones frente a NCI y RBN en los estudios de Galante (2006) [20] y van Ham (2010) [24], respectivamente, los resultados apenas variaron (Figura 8 y Figura 9).

Figura 8. Metanálisis de Sensibilidad de la Perforina (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010))

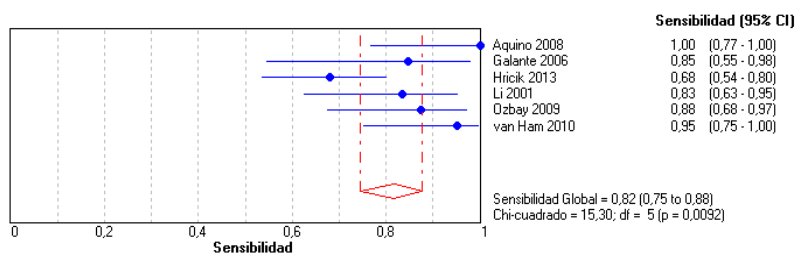
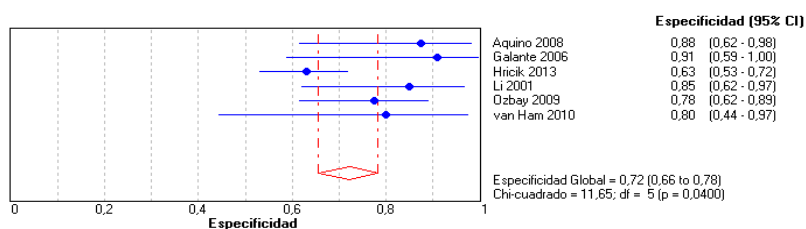


Figura 9. Metanálisis de Especificidad de la Perforina (con diferentes grupos de comparación para Galante (2006) y van Ham (2010))



CXCL10 (IP-10)

Tres estudios [16,25,26] informaron sobre el rendimiento diagnóstico de este marcador (Tabla 9). Hricik (2013) [16] no encontró diferencias significativas entre grupos, y Matz (2006) [25] sólo observó una diferencia significativa frente al grupo de FEI. Por su parte, Tatapudi (2004) [26] encontró niveles significativamente mayores del marcador en el grupo de RA frente a cada uno de los otros grupos.

Tabla 9. Resultados de los estudios incluidos para CXCL-10 (IP-10)

Autor (año)	Marcador	Nº sujetos (nº muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Hricik (2013)	CXCL10 (IP-10)	265 (2095)	RA= sospecha de RA, infección,	no-RA (sospecha de RA, infección,	0.63	0.71	0.53

Tabla 9. Resultados de los estudios incluidos para CXCL-10 (IP-10)

Autor (año)	Marcador	Nº sujetos (nº muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
			OH	OH)			
Matz (2006)	CXCL10 (IP-10)	35 (48)	RA> FEI RA= Borderline, CMV, ITU	FEI	0.73	0.58	0.85
Tatapudi (2004)	CXCL10 (IP-10)	82 (90)	RA> NCI, FEI, OH	no-RA (NCI, FEI, OH)	0.90 (0.82-0.98)	1.00	0.78

AUC: área bajo la curva ROC; **CMV:** citomegalovirus; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **ITU:** infección del tracto urinario; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **no-RA:** no rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **SE:** sensibilidad

EL MA de estos tres estudios produjo una SE del 74% (IC 95%: 0.65-0.82) y una ES del 65% (IC 95%: 0.57-0.72), con heterogeneidad altamente significativa en ambos casos (Figura 10 y Figura 11). Tatapudi (2004) [26] es responsable de dicha heterogeneidad en el caso de la SE, y Hricik (2013) [16] en el caso de la ES.

Figura 10. Metanálisis de Sensibilidad de la CXCL10 (IP-10)

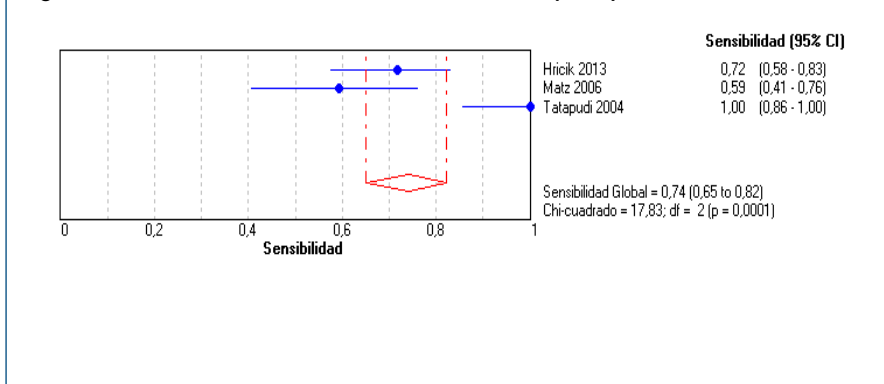
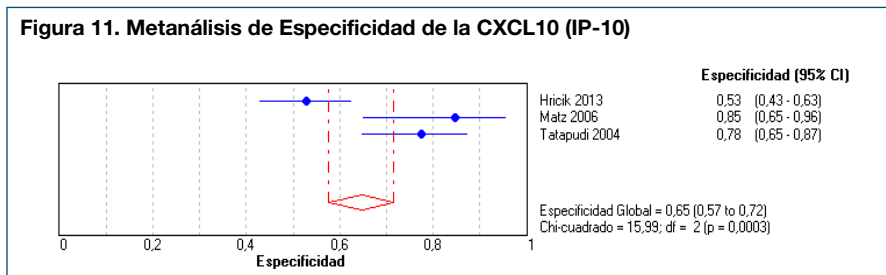


Figura 11. Metanálisis de Especificidad de la CXCL10 (IP-10)



FOXP3

Dos estudios midieron las concentraciones de este marcador [18,19], y en ambos casos los grupos de RA mostraron niveles significativamente mayores que cada uno de los grupos con los que se comparó (Tabla 10). Aquino-Dias (2010) [19] ofrece datos de SE y ES, observando un rendimiento diagnóstico perfecto en la muestra evaluada. Matignon (2014) [18] encontró un AUC de 0.87 (IC 95%: 0.77-0.97) al comparar RACT vs. RMA, y de 0.87 (IC 95%: 0.80-0.94) para la comparación RA vs. LTA.

Tabla 10. Resultados de los estudios incluidos para FOXP3

Autor (año)	Marcador	Nº sujetos (nº muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Aquino-Díaz (2008)	FOXP3	35 (48)	RA> NTA, NIC, NCI, RBN	NTA	1.00 (1.00-1.00)	1.00	1.00
Matignon (2014)	FOXP3	84 (84)	RACT> RMA, LTA	RMA LTA	0.87 (0.77-0.97) 0.87 (0.80-0.94)	n.i.	n.i.

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **LTA:** lesión tubular aguda; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **NIC:** neurotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina; **NTA:** necrosis tubular aguda; **n.i.:** no informado; **RA:** rechazo agudo; **RACT:** rechazo agudo mediado por células-T; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RMA:** rechazo mediado por anticuerpos; **SE:** sensibilidad

OX40

Los dos estudios incluidos encontraron diferencias significativas en la cantidad de este marcador, con mayores niveles en el grupo de RA (Tabla 11) [18,27]. En cuanto al rendimiento diagnóstico, Afaneh (2010) [27] obtuvo valores de SE y ES de 81% y 88%, respectivamente. Matignon (2014) [18] encontró un AUC de 0.81 (IC 95%: 0.70-0.93) al comparar RACT vs. RMA, y de 0.79 (IC 95%: 0.70-0.89) para la comparación RA vs. LTA.

Tabla 11. Resultados de los estudios incluidos para OX40

Autor (año)	Marcador	N° sujetos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Afaneh (2010)	OX40	46 (46)	RA> RBN	RBN	0.88 (0.78-0.98)	0.81	0.88
Matignon (2014)	OX40	84 (84)	RACT> RMA, LTA	RMA LTA	0.81 (0.70- 0.93) 0.79 (0.70- 0.89)	n.i.	n.i.

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **LTA:** lesión tubular aguda; **n.i.:** no informado; **RA:** rechazo agudo; **RACT:** rechazo agudo mediado por células-T; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RMA:** rechazo mediado por anticuerpos; **SE:** sensibilidad

OX40L

Afaneh (2010) [27] observó un nivel significativamente mayor de este marcador en el grupo de RA frente a RBN (Tabla 12). La SE obtenida fue de 90% y la ES de 64%.

Tabla 12. Resultados de los estudios incluidos para OX40L

Autor (año)	Marcador	N° suje tos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Afaneh (2010)	OX40L	46 (46)	RA> RBN	RBN	0.81 (0.68-0.94)	0.90	0.64

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **RA:** rechazo agudo; **RBN:** resultado de biopsia normal; **SE:** sensibilidad

FasL

Los dos estudios que ofrecen datos sobre este marcador [19,20], observaron niveles significativamente mayores de este marcador en el grupo de RA comparado con cada uno del resto de grupos (Tabla 13). Galante (2006) [20] aplica el análisis ROC por separado, obteniendo una SE del 88% y una ES perfecta frente a NTA, NCI y FEI. Aquino-Dias (2008) [19], en la comparación frente a NTA, obtuvo una SE del 100%, pero una baja ES (64%).

Tabla 13. Resultados de los estudios incluidos para Fas Ligand

Autor (año)	Marcador	N° suje tos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Aquino-Díaz (2008)	Fas ligand	35 (48)	RA> NTA, NIC, NCI, RBN	NTA	0.89 (0.76-1.01)	1.00	0.64
Galante (2006)	Fas ligand	23 (23) 26 (26) 26 (26) 24 (24)	RA> Pielonefritis, NCI, NTA, FEI	Pielonefritis NCI NTA FEI	0.97 (0.91-1.00) 0.98 (0.94-1.00) 0.99 (0.99-1.00) 0.98 (0.95-1.00)	0.88 0.88 0.88 0.88	0.89 1.00 1.00 1.00

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **NIC:** neurotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina; **NTA:** necrosis tubular aguda; **RA:** rechazo agudo; **RBN:** resultado de biopsia normal; **SE:** sensibilidad

PI-9

Dos estudios ofrecen información sobre este marcador (Tabla 14) [19,24]. Aquino-Dias (2008) [19] observó niveles significativamente mayores de PI-9 en el grupo de RA frente a NTA, NCI, FEI, pero no frente al grupo de NIC. Por su parte, van Ham (2010) [24] informó de un nivel significativamente mayor de PI-9 comparado con el grupo de FEI pero no frente al de NTA. El rendimiento diagnóstico al diferenciar RA de NTA ofrece una buena SE en ambos estudios (92% y 85%, respectivamente) pero una baja ES. En la comparación frente a FEI, van Ham (2010) [24] obtuvo valores de SE y ES de 80% y 90%, respectivamente.

Tabla 14. Resultados de los estudios incluidos para PI-9							
Autor (año)	Marcador	Nº sujetos (nº muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Aquino (2008)	PI-9	35 (48)	RA> NTA, NIC, NCI, RBN	NTA	0.88 (0.75–1.01)	0.92	0.64
van Ham (2010)	PI-9	59 (n.i.)	RACT-I> RBN RACT-I= NTA, RSC	NTA RBN	0.63 (0.35-0.91) 0.84 (0.69-0.98)	0.85 0.80	0.44 0.90

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **NIC:** neurotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina; **NTA:** necrosis tubular aguda; **n.i.:** no informado; **RA:** rechazo agudo; **RACT-I:** rechazo agudo mediado por células-T, tipo I; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RSC:** rechazo subclínico; **SE:** sensibilidad

CD103

Ding (2003) [28] encontró mayores niveles de este marcador en el grupo de RA frente a NCI, FEI y un grupo de “otros hallazgos” (Tabla 15). Al comparar el rendimiento diagnóstico frente a estos grupos conjuntamente, se obtuvo una SE de 59% y una ES de 76%.

Tabla 15. Resultados de los estudios incluidos para CD103

Autor (año)	Marcador	N° suje tos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Ding (2003)	CD103	79 (99)	RA> NCI, FEI, OH	no-RA (NCI, FEI, OH)	0.73 (0.62-0.82)	0.59	0.76

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **no-RA:** no rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **SE:** sensibilidad

CXCL9

La diferencia entre grupos con respecto al nivel de este marcador fue significativa en Hricik (2013) [16] con niveles mayores en el grupo de RA frente al de infección urinaria y al de “otros hallazgos” (Tabla 16). La SE fue de 67% y la ES de 80%.

Tabla 16. Resultados de los estudios incluidos para CXCL9

Autor (año)	Marcador	N° suje tos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Hricik (2013)	CXCL9	265 (2095)	RA> infección, OH RA= sospecha de RA	no-RA (sospecha de RA, infección, OH)	0.79	0.67	0.80

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **no-RA:** no rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **SE:** sensibilidad

CXCR3

Tatapudi (2004) [26] no observó diferencias significativas en el nivel de este marcador entre el grupo de RA y el de NCI, pero sí mayores niveles en el primero con respecto a FEI y “otros hallazgos” (Tabla 17). Los valores de SE y ES al comparar con todos estos grupos conjuntamente fueron de 63% y 83% respectivamente.

Tabla 17. Resultados de los estudios incluidos para CXCR3

Autor (año)	Marcador	N° sujetos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Tatapudi (2004)	CXCR3	82 (90)	RA> FEI, OH RA= NCI	no-RA (NCI, FEI, OH)	0.76 (0.64-0.88)	0.63	0.83

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **no-RA:** no rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **SE:** sensibilidad

TIM-3

Manfro (2008) [29] observó concentraciones significativamente mayores de este marcador en el grupo de RA frente a los de NIC, FI/AT y RBN (Tabla 18). El rendimiento diagnóstico frente a estos grupos conjuntamente ofreció una SE= 84% y ES= 96%. Al comparar un grupo de NTA-RA frente a NTA, también encontró mayores niveles del marcador, y un rendimiento diagnóstico perfecto.

Tabla 18. Resultados de los estudios incluidos para TIM-3

Autor (año)	Marcador	N° sujetos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Manfro (2008)	TIM-3	115 (160)	NTA-RA> NTA RA>NIC, FI/AT, RBN	no-RA (NIC, FI/AT, RBN)	0.96 (0.91-1.00)	0.84	0.96

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **FI/AT:** Fibrosis intersticial y Atrofia tubular; **NIC:** neurotoxicidad inducida por inhibidores de la calcineurina; **NTA:** necrosis tubular aguda; **NTA-RA:** necrosis tubular aguda-rechazo agudo; **no-RA:** no rechazo agudo; **RA:** rechazo agudo; **RBN:** resultado de biopsia normal; **SE:** sensibilidad

Otros marcadores

Matignon (2014) [18] ofrece el AUC obtenido para una serie de marcadores en orina adicionales a los comentados anteriormente (Tabla

19). En la comparación frente a LTA, sólo en el caso del marcador CD3 la AUC superó el valor de 0.85 (0.88, IC 95%: 0.81-0.95). En el caso de la comparación frente a RMA, dicho umbral fue alcanzado o superado por los marcadores CD3 (AUC= 0.87, IC 95%: 0.78-0.97) y PSMB10 (AUC= 0.85, IC 95%: 0.74-0.95).

Tabla 19. Resultados de los estudios incluidos para otros marcadores (CD3 , PSMB10, ARNr 18S)

Autor (año)	Marcador	N° suje tos (n° muestras)	Dif. sig. (medias o medianas)	Comp. en la curva ROC	AUC	SE	ES
Matignon (2014)	CD3	84 (84)	(RACT+RMA)> LTA RACT> RMA	RMA LTA	0.87 (0.78- 0.97) 0.88 (0.81- 0.95)	n.i.	n.i.
Matignon (2014)	PSMB10	84 (84)	RACT> RMA	RMA	0.85 (0.74- 0.95)	n.i.	n.i.
Ding (2003)	ARNr 18S	79 (99)	RA= NCI, FEI, OH	no-RA (NCI, FEI, OH)	0.59 (0.43-0.75)	n.i.	n.i.
Matignon (2014)	ARNr 18S	84 (84)	(RACT+RMA)> LTA RACT> RMA	RMA LTA	0.61 (0.48- 0.74) 0.77 (0.64-0.90)	n.i.	n.i.
Suthanthiran (2013)	ARNr 18S	160 (206)	RACT> RBN, Borderline, FEI	RBN	n.i.	n.i.	n.i.
Tatapudi (2004)	ARNr 18S	82 (90)	RA> FEI, OH RA= NCI	no-RA (NCI, FEI, OH)	0.57 (0.43-0.72)	n.i.	n.i.

AUC: área bajo la curva ROC; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **LTA:** lesión tubular aguda; **NCI:** nefropatía crónica del injerto; **n.i.:** no informado; **no-RA:** no rechazo agudo; **OH:** otros hallazgos; **RA:** rechazo agudo; **RACT:** rechazo agudo mediado por células-T; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RMA:** rechazo mediado por anticuerpos; **SE:** sensibilidad

ARNr 18S

De los siete estudios que utilizaron el ARNr 18S como gen de referencia, en cuatro [9,18,26,28], se muestran las diferencias de medias

observadas entre grupos (Tabla 19). Tres de ellos observaron concentraciones significativamente mayores en los grupos de RA [9,18,26], excepto en la comparación frente a NCI en el caso de Tatapudi (2004) [26]. Tres estudios ofrecen el AUC, con bajos valores en todos los casos. Suthanthiran (2013) [9] no ofrece el rendimiento diagnóstico de este marcador por separado, que sí resulta significativo en el modelo multivariado, como se explica en el siguiente apartado.

Modelos multivariados

Cinco estudios [9,16–18,27] analizaron modelos multivariados en la predicción del RA (Tabla 20). Ozbay (2009) [17] analizó el rendimiento de la granzima B, perforina y granzulina en el diagnóstico del RA (frente a bacteriuria, CMV y FEI conjuntamente). Su modelo multivariado produjo una AUC=0.83 ($p<0.005$), que no se diferenció significativamente de la obtenida por cada uno de los marcadores por separado.

Afaneh (2010) [27] encontró que una combinación de los marcadores OX40, OX40L, PD-1 y Foxp3 proporcionó un AUC de 0.98 (IC 95%: 0.96-1.00; $p<0.0001$) en la predicción de RA frente a RBN, significativamente mayor ($p=0.03$) que el obtenido por OX40 en solitario (AUC=0.98, IC 95%: 0.78-0.98; $p<0.0001$). La SE y ES fueron de 95% y 92%, respectivamente. Al añadir los marcadores restantes (PD-L1, PD-L2, granzima B y perforina) se obtuvo un rendimiento diagnóstico perfecto, pero los autores consideraron que este resultado probablemente refleje un sobre-ajuste del modelo.

En el estudio de Hricik (2013) [16], además de los niveles de ARNm de los marcadores se midieron los niveles de proteína en orina mediante espectrometría de masas y ELISA. El modelo con mejor rendimiento predictivo (también cuando se eliminaron los casos de infección) fue el formado por la proteína CXCL9 y sus niveles de ARNm (AUC=0.89, $p<0.0001$; SE=87%, ES=89%).

Tabla 20. Estudios que informan sobre modelos multivariados

Autor (año)	Modelo	AUC	SE	ES
Afaneh (2010)	RA vs. RBN OX40, OX40L, PD-1 y FOXP3	0.98 (0.96-1.00)	0.95	0.92

Tabla 20. Estudios que informan sobre modelos multivariados

Autor (año)	Modelo	AUC	SE	ES
Hricik (2013)	RA vs. no-RA (sospecha de RA, infección, OH) Proteína CXCL9, ARNm CXCL9	0.89	0.83	0.87
Matignon (2014)	(<u>RACT+RMA</u>) vs. LTA: (0.523 ln CD3e) + (1.023 ln CD105) + (0.813 ln TLR4) + (21.163 ln CD14) + (0.283 ln Factor de complemento B) + (20.793 ln Vimentina)	0.92 (0.86-0.98)	0.79	0.94
	<u>RACT vs. RMA</u> : (0.673 ln CD3e) + (21.183 ln CD105) + (1.303 ln CD14) + (20.833 ln CD46) + (0.453 ln 18S)	0.81 (0.68-0.93)	0.89	0.73
Ozbay (2009)	RA vs.no-RA (Bacteriuria, CMV, FEI) Perforina, Granzima B, Granulisisina	0.83	n.i.	n.i.
Suthanthiran (2013)	<u>RACT vs. RBN</u> -6.1487 + 0.8534 log ₁₀ (CD3e /18S) + 0.6376 log ₁₀ (IP-10/18S) + 1.6464 log ₁₀ (18S)	0.85 (0.78-0.91) 0.74 (0.61-0.86)*	0.79 0.71*	0.78 0.72*

***Muestra de validación**

AUC: área bajo la curva **ROC;** **CMV:** citomegalovirus; **ES:** especificidad; **FEI:** función estable del injerto; **In:** logaritmo natural; **log:** logaritmo; **LTA:** lesión tubular aguda; **n.i.:** no informado; **no- OH:** otros hallazgos; **RA:** no rechazo agudo; **RA:** rechazo agudo; **RACT:** rechazo agudo mediado por células-T; **RBN:** resultado de biopsia normal; **RMA:** rechazo mediado por anticuerpos; **SE:** sensibilidad

Matignon (2014) [18] analizó una gran cantidad de biomarcadores para discriminar entre RA (tanto mediado por células-T como por anticuerpos) y LTA. El modelo que obtuvo mejores resultados estuvo compuesto por los marcadores: CD3 , CD105, TLR4, CD14, Factor de complemento B y Vimentina. Una validación cruzada interna de 10 iteraciones produjo una estimación de AUC=0.92 (IC 95%: 0.86-0.98, p<0.001). Los autores evaluaron también la capacidad de los marcadores para diferenciar el RA mediado por células-T frente al mediado por anticuerpos. El modelo obtenido incluyó los marcadores CD3 , CD105, CD14, CD46 y ARNr 18S, que produjo una AUC=0.81 (IC 95%: 0.68-0.93, p<0.001). En ambos casos los autores obtuvieron los valores de SE y ES para distintos puntos de corte, y en la Tabla 20 se incluyen los que produjeron un mayor índice de Youden (SE+ES-1).

Por último, Suthanthiran (2013) [9] obtuvieron un modelo con los marcadores CD3 /18S, IP-10/18S y ARNr 18S, que produjo un AUC=0.85 (IC 95%: 0.78-0.91, p<0.001), con SE y ES de 0.79 y 0.78 respectivamente. Una validación cruzada mediante “bootstrapping”

produjo una AUC estimada de 0.83. Finalmente se aplicó el modelo a una muestra externa de 64 pacientes (submuestra aleatoria del estudio CTOT-01, Hricik (2013) [16]), obteniéndose un AUC=0.74 (IC 95%: 0.61-0.86; $p<0.001$), no significativamente distinta de la obtenida en la muestra inicial. La SE obtenida en esta muestra externa fue de 71% (IC: 95%: 0.53-0.89) y la ES de 72% (IC 95%: 0.62-0.83).

V. Discusión

Los estudios incluidos en esta revisión muestran una variabilidad considerable en los marcadores evaluados, así como en los grupos con los que se compara su rendimiento diagnóstico frente al RA, lo cual limita la interpretación conjunta de los resultados. Por otra parte, la valoración de la calidad metodológica de los estudios incluidos refleja incertidumbre sobre varios aspectos referidos a la selección y flujo de los pacientes, y especialmente en la ausencia de puntos de corte externos para el cálculo de los índices de rendimiento diagnóstico.

Los marcadores más frecuentemente analizados han sido la granzima B y la perforina. En el primer caso, el MA realizado produjo valores de SE y ES alrededor del 80%, mientras que para la perforina la ES fue algo menor (72%). En cualquier caso, la heterogeneidad observada impide extraer conclusiones definitivas, y no ha sido posible realizar análisis de subgrupos debido a los pocos estudios incluidos.

Para el resto de marcadores analizados individualmente, cabe destacar el buen rendimiento diagnóstico de los marcadores FOXP3, OX40, FasL, TIM-3 y PI-9 (éste último cuando se compara con RBN), si bien han sido evaluados solamente por uno o dos estudios.

De los estudios que analizaron modelos multivariados, Ozbay (2009) [17] no observó unos resultados significativamente mejores que los obtenidos por los marcadores individualmente, si bien sólo evaluó el rendimiento de granzima B, perforina y granulisina.

En la comparación frente a otras patologías, tanto Matignon (2014) [18] (frente a LTA) como Hricik (2013) [16] (frente a otras patologías) ofrecen modelos multivariados, con buenos resultados en ambos casos, especialmente de ES. Aunque ambos estudios utilizaron técnicas de remuestreo para obtener estimadores más robustos, sería deseable una validación prospectiva en muestras mayores.

En la diferenciación del RA frente al funcionamiento normal confirmado por biopsia, el estudio de Suthantiran (2013) [9] representa el trabajo más reciente y de mayor calidad metodológica. Sin embargo, la validación externa del modelo diagnóstico realizada es retrospectiva y en una muestra pequeña ($n=64$), y obtuvo un AUC relativamente bajo (0.74, con el límite inferior del intervalo de confianza de 0.61), con los valores de SE y ES ligeramente por encima del 70%. Los autores comentan que este AUC no se diferenció significativamente del observado en la muestra inicial (0.85), pero no se muestra la potencia de

este análisis. Por otra parte, este estudio no evaluó los marcadores que conforman el modelo final del estudio de Afaneh (2010) [27] (OX40, OX40L, PD-1 y FOXP3), que si bien se trata de un estudio de menor calidad metodológica, obtiene unos resultados de SE y ES del 95% y 92% respectivamente (AUC= 0.98, IC95%: 0.96-1.00). La investigación sobre el marcador FOXP3 en concreto muestra resultados prometedores: Aquino-Díaz (2008) [19] obtuvo un rendimiento perfecto en la diferenciación de RA frente a NTA, y un estudio reciente mostró que la presencia de este marcador en las células T-reguladoras del injerto en pacientes con rechazo subclínico (incluso en presencia de FI/AT) se relaciona con una evolución favorable a los cinco años, no significativamente distinta de la experimentada por los participantes con funcionamiento normal del injerto [30]. Por otra parte, mayores niveles de FOXP3 se relacionan significativamente con una mayor probabilidad de reversión del RA y una menor probabilidad de pérdida del injerto [31].

Por otra parte, los estudios que además del análisis de orina analizaron la expresión de ARNm en muestras de sangre [20,23], obtuvieron resultados comparables, y lo mismo puede decirse de aquellos que además de la RCPC-TR utilizaron otras técnicas para la detección de biomarcadores proteínicos en orina (e.g, citometría de flujo, ELISA) [16,17,27]. Por tanto, es necesaria más investigación para obtener conclusiones definitivas sobre la efectividad y coste-efectividad relativas del análisis de ARNm en orina mediante RCPC-TR.

VI. Conclusiones

En el momento actual, aun existe un considerable nivel de incertidumbre sobre el rendimiento diagnóstico de la expresión de ARNm en orina para el diagnóstico del RA de riñón. Se necesitan nuevos estudios que realicen una validación prospectiva de los distintos modelos obtenidos en los estudios de mayor calidad metodológica comentados en esta revisión, así como su superioridad comparativa en eficacia y coste-efectividad frente a otras técnicas actualmente en estudio.

VII. Recomendaciones

En el estado actual de conocimiento no es posible recomendar el análisis de ARNm en orina mediante RCPc-TR para el diagnóstico del rechazo agudo de riñón.

Contribución de los autores y revisores externos

Autores

- *Lilisbeth Perestelo Pérez*. Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS). Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas (REDISSEC). Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias (CIBICAN). Tenerife, España.
- *Amado Rivero Santana*. Fundación Canaria de Investigación y Salud (FUNCIS). Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas (REDISSEC). Tenerife, España.
- *Jeanette Pérez Ramos*. Fundación Canaria de Investigación y Salud (FUNCIS). Tenerife, España.
- *Armando Torres*. Servicio de Nefrología. Centro Hospitalario Universitario de Canarias (SCS). Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias (CIBICAN). RedInRen (RD12/0021/0008). Instituto de Salud Carlos III. Tenerife, España.
- *Leticia Cuéllar Pompa*. Fundación Canaria de Investigación y Salud (FUNCIS). Tenerife, España.
- *Jaume Almirall*. Corporació Sanitària Parc Taulí. Universitat Autònoma de Barcelona, Departament de Medicina. Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas (REDISSEC). Barcelona, España.
- *Pedro Serrano Aguilar*. Jefe del Servicio de Evaluación del Servicio Canario de la Salud (SESCS). Red de Investigación en Servicios de Salud en Enfermedades Crónicas (REDISSEC). Centro de Investigaciones Biomédicas de Canarias (CIBICAN). Tenerife, España.

Revisores externos

El presente informe, una vez finalizado y antes de su publicación, se sometió a un proceso de revisión crítica por parte de los siguientes reconocidos expertos en el tema, para asegurar su calidad, precisión y validez. Las aportaciones realizadas que modificaban las conclusiones iniciales del informe fueron incorporadas al documento sólo si estuvieron suficientemente argumentadas o basadas en pruebas científicas de calidad.

- *Alberto Martínez Castela*. Servicio de Nefrología. Hospital Universitario de Bellvitge. Presidente de la Sociedad Española de Nefrología. Barcelona. España.
- *Francesc Moreso Mateos*. Servicio de Nefrología. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Barcelona, España.

Declaración de intereses

Los autores del presente informe, así como sus revisores externos, declaran que no tienen intereses que puedan competir con el interés primario y los objetivos de este informe e influir en su juicio profesional al respecto.

Referencias

1. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA, Taranto SE, McIntosh MJ, Stablein D. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N. Engl. J. Med.* 2000 Mar 2;342(9):605–12.
2. Meier-Kriesche H-U, Schold JD, Kaplan B. Long-term renal allograft survival: have we made significant progress or is it time to rethink our analytic and therapeutic strategies? *Am. J. Transplant.* 2004 Aug;4(8):1289–95.
3. Moreso F, Hernández D. Has the survival of the graft improved after renal transplantation in the era of modern immunosuppression? *Nefrología.* 2013 Jan 18;33(1):14–26.
4. Serón D, Arias M, Campistol JM, Morales JM. Late renal allograft failure between 1990 and 1998 in Spain: a changing scenario. *Transplantation.* 2003 Dec 15;76(11):1588–94.
5. Serón D, Moreso F, Arias M, Campistol JM, Curto J, Hernandez D, et al. Estimation of renal allograft half-life: fact or fiction? *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011 Sep;26(9):3013–8.
6. Hernández D, Sánchez Fructuoso A, Serón D, Arias M, Campistol JM, Morales JM, et al. [Chronic transplant nephropathy]. *Nefrología.* 2006 Jan;26 Suppl 1:1–38.
7. Guirado L, Vela E, Clèries M, Díaz JM, Facundo C, García-Maset R. [Why renal transplant from living donors gives better results than cadaver renal transplant?]. *Nefrología.* 2008 Jan;28(2):159–67.
8. Colvin RB, Cohen AH, Saiontz C, Bonsib S, Buick M, Burke B, et al. Evaluation of pathologic criteria for acute renal allograft rejection: reproducibility, sensitivity, and clinical correlation. *J. Am. Soc. Nephrol.* 1997 Dec;8(12):1930–41.
9. Suthanthiran M, Schwartz JE, Ding R, Abecassis M, Dadhania D, Samstein B, et al. Urinary-cell mRNA profile and acute cellular rejection in kidney allografts. *N. Engl. J. Med.* 2013 Jul 4;369(1):20–31.

10. Oxman AD, Cook DJ, Guyatt GH. Users' guides to the medical literature. VI. How to use an overview. Evidence-Based Medicine Working Group. *JAMA*. 1994 Nov 2;272(17):1367–71.
11. Whiting PF, Rutjes AWS, Westwood ME, Mallett S, Deeks JJ, Reitsma JB, et al. QUADAS-2: a revised tool for the quality assessment of diagnostic accuracy studies. *Ann. Intern. Med.* 2011 Oct 18;155(8):529–36.
12. QUADAS. A quality assessment tool for diagnostic accuracy studies. University of Bristol. Fecha de consulta 25 mayo 2014. Disponible en: <http://www.bris.ac.uk/quadas/>.
13. Racusen LC, Solez K, Colvin RB, Bonsib SM, Castro MC, Cavallo T, et al. The Banff 97 working classification of renal allograft pathology. *Kidney Int.* 1999 Feb;55(2):713–23.
14. Shang Y, Ju W, Kong Y, Liang W, Ling X, Guo Z, et al. Performance of polymerase chain reaction techniques detecting granzyme B in the diagnosis of acute renal rejection: a meta-analysis. *Transplantation*. 2013 May 15;95(9):1105–12.
15. Shang Y, Ju W, Kong Y, Schroder PM, Liang W, Ling X, et al. Performance of polymerase chain reaction techniques detecting perforin in the diagnosis of acute renal rejection: a meta-analysis. *PLoS One*. 2012 Jan;7(6):e39610.
16. Hricik DE, Nickerson P, Formica RN, Poggio ED, Rush D, Newell KA, et al. Multicenter validation of urinary CXCL9 as a risk-stratifying biomarker for kidney transplant injury. *Am. J. Transplant.* 2013 Oct;13(10):2634–44.
17. Øzbay A, Tørring C, Olsen R, Carstens J. Transcriptional profiles in urine during acute rejection, bacteriuria, CMV infection and stable graft function after renal transplantation. *Scand. J. Immunol.* 2009 Apr;69(4):357–65.
18. Maignon M, Ding R, Dadhania DM, Mueller FB, Hartono C, Snopkowski C, et al. Urinary cell mRNA profiles and differential diagnosis of acute kidney graft dysfunction. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014 Jul;25(7):1586–97.
19. Aquino-Dias EC, Joelsons G, da Silva DM, Berdichevski RH, Berdichewski RH, Ribeiro AR, et al. Non-invasive diagnosis of acute rejection in kidney transplants with delayed graft function. *Kidney Int.* 2008 Apr;73(7):877–84.

20. Galante NZ, Câmara NOS, Kallas EG, Salomão R, Pacheco-Silva A, Medina-Pestana JO. Noninvasive immune monitoring assessed by flow cytometry and real time RT-PCR in urine of renal transplantation recipients. *Transpl. Immunol.* 2006 Aug;16(2):73–80.
21. Li B, Hartono C, Ding R, Sharma VK, Ramaswamy R, Qian B, et al. Noninvasive diagnosis of renal-allograft rejection by measurement of messenger RNA for perforin and granzyme B in urine. *N. Engl. J. Med.* 2001 Mar 29;344(13):947–54.
22. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Sis B, Halloran PF, Birk PE, et al. Banff '05 Meeting Report: differential diagnosis of chronic allograft injury and elimination of chronic allograft nephropathy ("CAN"). *Am. J. Transplant.* 2007 Mar;7(3):518–26.
23. Solez K, Colvin RB, Racusen LC, Haas M, Sis B, Mengel M, et al. Banff 07 classification of renal allograft pathology: updates and future directions. *Am. J. Transplant.* 2008 Apr;8(4):753–60.
24. Van Ham SM, Heutinck KM, Jorritsma T, Bemelman FJ, Strik MCM, Vos W, et al. Urinary granzyme A mRNA is a biomarker to diagnose subclinical and acute cellular rejection in kidney transplant recipients. *Kidney Int.* 2010 Nov;78(10):1033–40.
25. Matz M, Beyer J, Wunsch D, Mashreghi M-F, Seiler M, Pratschke J, et al. Early post-transplant urinary IP-10 expression after kidney transplantation is predictive of short- and long-term graft function. *Kidney Int.* 2006 May;69(9):1683–90.
26. Tatapudi RR, Muthukumar T, Dadhania D, Ding R, Li B, Sharma VK, et al. Noninvasive detection of renal allograft inflammation by measurements of mRNA for IP-10 and CXCR3 in urine. *Kidney Int.* 2004 Jun;65(6):2390–7.
27. Afaneh C, Muthukumar T, Lubetzky M, Ding R, Snopkowski C, Sharma VK, et al. Urinary cell levels of mRNA for OX40, OX40L, PD-1, PD-L1, or PD-L2 and acute rejection of human renal allografts. *Transplantation.* 2010 Dec 27;90(12):1381–7.
28. Ding R, Li B, Muthukumar T, Dadhania D, Medeiros M, Hartono C, et al. CD103 mRNA levels in urinary cells predict acute rejection of renal allografts. *Transplantation.* 2003 Apr 27;75(8):1307–12.

29. Manfro RC, Aquino-Dias EC, Joelsons G, Nogare AL, Carpio VN, Gonçalves LFS. Noninvasive Tim-3 messenger RNA evaluation in renal transplant recipients with graft dysfunction. *Transplantation*. 2008 Dec 27;86(12):1869–74.
30. Bestard O, Cuñetti L, Cruzado JM, Lucia M, Valdez R, Olek S, et al. Intragraft regulatory T cells in protocol biopsies retain foxp3 demethylation and are protective biomarkers for kidney graft outcome. *Am. J. Transplant*. 2011 Oct;11(10):2162–72.
31. Muthukumar T, Dadhania D, Ding R, Snopkowski C, Naqvi R, Lee JB, et al. Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients. *N. Engl. J. Med*. 2005 Dec 1;353(22):2342–51.

Anexos

Anexo 1. Estrategia de búsqueda

Medline y PreMedline / OvidSP		
1	*RNA, Messenger/	58584
2	*RNA, Ribosomal, 18S/	1122
3	*Gene Expression Profiling/	29311
4	sequential urine.tw.	46
5	Urinary Cells.tw.	94
6	mRNA Profile.tw.	214
7	*RNA, Messenger/ur [Urine]	77
8	*RNA, Ribosomal/ur [Urine]	11
9	RNA, Ribosomal, 18S/ur [Urine]	6
10	*Real-Time Polymerase Chain Reaction/	2334
11	(urinary cell or urinary-cells or mrna or messenger rna or messenger rnas or rna messenger or messenger ribonucleic acid or Messenger RNA levels or CD3 mRNA or 18S ribosomal or rRNA or IP-10 or protein 10 mRNA or 18S rRNA or IP-10 mRNA or 18S rRNA levels).tw.	435435
12	*Kidney Transplantation/	65664
13	*Graft Rejection/di, ge [Diagnosis, Genetics]	1913
14	Acute Cellular Rejection.tw.	1399
15	kidney allografts.tw.	973
16	allograft-rejection status.tw.	3
17	*Graft Rejection/	24358
18	Or/1-11	470733
19	Or/12-17	81728

20	18 and 19	1220
21	limit 20 to (english or Spanish)	1173
22	remove duplicates from 21	1140

Embase / Elsevier		
#10	#5 AND #8 AND ([english]/lim OR [spanish]/lim) AND [embase]/lim	916
#9	#5 AND #8	1024
#8	#6 OR #7	86739
#7	'acute cellular rejection':ab,ti OR 'kidney allografts':ab,ti OR 'allograft-rejection status':ab,ti	3782
#6	'kidney transplantation'/mj OR 'graft rejection'/mj	84203
#5	#1 OR #2 OR #3 OR #4	51724 9
#4	'urinary cell':ab,ti OR 'urinary cells':ab,ti OR mrna:ab,ti OR 'messenger rna':ab,ti OR 'messenger rnas':ab,ti OR 'rna messenger':ab,ti OR 'messenger ribonucleic acid':ab,ti OR 'messenger rna levels':ab,ti OR 'cd3 mrna':ab,ti OR '18s ribosomal':ab,ti OR rna:ab,ti OR 'ip 10':ab,ti OR 'protein 10 mrna':ab,ti OR '18s rna':ab,ti OR 'ip-10 mrna':ab,ti OR '18s rna levels':ab,ti	48962 7
#3	'real time polymerase chain reaction'/mj	7157
#2	'sequential urine' OR 'urinary cells' OR 'mrna profile':ab,ti	423
#1	'messenger rna'/mj OR 'rna 18s'/mj OR 'gene expression profiling'/mj	78682

Cinahl / EbscoHost		
S9	S4 AND S7	(36)
S8	S4 AND S7 Limitadores - Idioma: English, Spanish	(36)

S7	S5 OR S6	(4911)
S6	TI ((Acute Cellular Rejection or kidney allografts or allograft-rejection status)) OR AB ((Acute Cellular Rejection or kidney allografts or allograft-rejection status))	(97)
S5	(MM "Kidney Transplantation")	(4852)
S4	S1 OR S2 OR S3	(12634)
S3	TI ((urinary cell or urinary-cells or mrna or messenger rna or messenger rnas or rna messenger or messenger ribonucleic acid or Messenger RNA levels or CD3 mRNA or 18S ribosomal or rRNA or IP-10 or protein 10 mRNA or 18S rRNA or IP-10 mRNA or 18S rRNA levels or Real-Time Polymerase Chain Reaction or Gene Expression Monitoring or sequential urine or Urinary Cells or mRNA Profile or Intracellular Signaling Peptides)) OR AB ((urinary cell or urinary-cells or mrna or messenger rna or messenger rna ...	(8768)
S2	(MM "Gene Expression Profiling")	(687)
S1	(MM "RNA")	(4201)

Cochrane / Cochrane Library

#1	MeSH descriptor: [RNA, Messenger] this term only	904
#2	MeSH descriptor: [RNA, Ribosomal, 18S] this term only	1
#3	MeSH descriptor: [Gene Expression Profiling] this term only	311
#4	(Gene Expression Monitoring or sequential urine or Urinary Cells or mRNA Profile or urinary cell or urinary-cells or mrna or messenger rna or messenger rnas or rna messenger or messenger ribonucleic acid or Messenger RNA levels or CD3 mRNA or 18S ribosomal or rRNA or IP-10 or protein 10 mRNA or	3743

	18S rRNA or IP-10 mRNA or 18S rRNA levels or urinary protein biomarkers or urinary proteomics or urinary peptidomics):ti,ab,kw (Word variations have been searched)	
#5	#1 or #2 or #3 or #4	3970
#6	MeSH descriptor: [Kidney Transplantation] this term only	3299
#7	MeSH descriptor: [Graft Rejection] this term only	2035
#8	Acute Cellular Rejection or kidney allografts or allograft-rejection status or humoral rejection or chronic rejection:ti,ab,kw (Word variations have been searched)	851
#9	#6 or #7 or #8	4252
#10	#5 and #9	54

DARE / CRD York

1	(MeSH DESCRIPTOR RNA, Messenger)	12
2	(MeSH DESCRIPTOR Gene Expression Profiling)	53
3	((urinary cell or urinary-cells or mrna or messenger rna or messenger rnas or rna messenger or messenger ribonucleic acid or Messenger RNA levels or CD3 mRNA or 18S ribosomal or rRNA or IP-10 or protein 10 mRNA or 18S rRNA or IP-10 mRNA or 18S rRNA levels)))	25
4	#1 OR #2 OR #3	78
5	(MeSH DESCRIPTOR Kidney Transplantation)	348
6	(MeSH DESCRIPTOR Graft Rejection)	162
7	((Acute Cellular Rejection))	7
8	((kidney allografts) OR (allograft-rejection status) OR (humoral rejection))	5
9	#5 OR #6 OR #7 OR #8	404
10	#4 AND #9	2

Anexo 2. Escala de Oxman

Revisor:	Fecha:
REVISIÓN SISTEMÁTICA: Biomarcadores en orina para el rechazo del trasplante renal	
Nº Estudio:	Primer autor:
Fecha de publicación:	Revista:

1. ¿Se hizo la revisión sobre un tema claramente definido?

Sí Sí, parcialmente No se puede saber No

PISTA: Un tema puede ser definido en términos de la población de estudio, la intervención realizada y los resultados (“outcomes”) considerados

2. ¿Buscaron los autores el tipo de artículos adecuados?

Sí Sí, parcialmente No se puede saber No

PISTA: La mejor “clase de estudios” es la que se dirige a la pregunta objeto de la revisión y tiene un diseño apropiado

3. ¿Crees que estaban incluidos los estudios importantes y relevantes?

Sí Sí, parcialmente No se puede saber No

PISTA:

- ¿Qué bases de datos bibliográficas se han usado?
- ¿Seguimiento de las referencias?
- ¿Contacto personal con experto?
- ¿Búsqueda también de estudios no publicados?
- ¿Búsqueda de estudios en idiomas distintos del inglés?

4. ¿Crees que los autores de la revisión han hecho lo suficiente para valorar la calidad de los estudios incluidos?

Sí Sí, parcialmente No se puede saber No

PISTA: Los autores necesitan considerar el rigor de los estudios que han identificado. La falta de rigor puede afectar al resultado de los estudios (“No es oro todo lo que reluce”)

5. Si los resultados de la revisión han sido combinados, ¿era razonable hacer eso?

Sí Sí, parcialmente No se puede saber No

PISTA: Considera si:

- Los resultados de los estudios eran similares entre si
- Los resultados de todos los estudios incluidos están claramente presentados
- Están discutidos los motivos de cualquier variación de los resultados

Estas 5 preguntas están adaptadas de: Oxman AD, Guyatt GH et al. User's Guides to The Medical Literature. VI. How to use an overview. JAMA 1994; 272 (17): 1367-1371

Anexo 3. Escala Quadas-2

Revisor:	Fecha:
REVISIÓN SISTEMÁTICA: Biomarcadores en orina para el rechazo del trasplante renal	
Nº Estudio:	Primer autor:
Fecha de publicación:	Revista:

Fase 1: Tema de la revisión	
Pacientes (ámbito, uso previsto de la prueba en estudio, presentación, evaluaciones previas) Prueba diagnóstica en estudio: prueba de referencia y condición de estudio	
Fase 2: Dibujar un diagrama de flujo para el estudio primario	
Fase 3: Riesgo de sesgo y criterios de aplicabilidad	
QUADAS-2 está estructurada en 4 dominios principales, cada uno clasificado en términos del riesgo de sesgo y en relación con la aplicabilidad. Cada dominio tiene un conjunto clave de preguntas para ayudar a definir los criterios sobre el sesgo y la aplicabilidad	
DOMINIO 1: SELECCIÓN DE PACIENTES	
A. RIESGO DE SESGO	
A.1. Describir los métodos para la selección de los pacientes	
A.2. ¿Es una muestra consecutiva o aleatoria?	
	Si / No / Duda
A.3. ¿Se evitó un diseño de casos y controles?	
	Si / No / Duda
A.4. ¿Se evitaron exclusiones inapropiadas?	
	Si / No / Duda
A.5. ¿Podría haber sesgos en la selección de los pacientes?	
	RIESGO: BAJO / ALTO / DUDA
B. EN RELACIÓN CON LA APLICABILIDAD	
B.1. Descripción de los pacientes incluidos (evaluaciones previas, presentación, uso previsto de la prueba en estudio y ámbito)	
B.2. ¿Hay dudas de que los pacientes incluidos no se ajusten a la pregunta de revisión?	
	PREOCUPACIÓN: BAJA/ALTA/DUDA
DOMINIO 2: PRUEBA DE ESTUDIO	
Si se utilizó más de una prueba diagnóstica, por favor complete para cada prueba	
A. RIESGO DE SESGO	
A. 1. Describa la prueba diagnóstica, cómo se realizó e interpretó	
A.2. ¿Se interpretaron los resultados de la prueba sin conocer los resultados de la prueba de referencia?	
	Si / No / Duda
A.3. Si se usó un punto de corte, ¿se especificó previamente?	
	Si / No / Duda
A.4. ¿Podría haber sesgos en la realización e interpretación de la prueba?	
	RIESGO: BAJO / ALTO / DUDA
B. EN RELACIÓN CON LA APLICABILIDAD	
B.1. ¿Hay dudas de que la realización o interpretación de la prueba difieran de la pregunta de revisión?	
	PREOCUPACIÓN: BAJA / ALTA / DUDA
DOMINIO 3: PRUEBA DE REFERENCIA	
A. RIESGO DE SESGO	
A.1. Describa la prueba de referencia, cómo se realizó e interpretó	
A.2. ¿La prueba de referencia clasifica correctamente la enfermedad en estudio?	
	Si / No / Duda
A.3. ¿Los resultados de la prueba de referencia se interpretaron independientemente de la prueba de estudio?	

	Si / No / Duda
A.4. ¿Podría haber sesgos en la realización o interpretación de la prueba?	RIESGO: BAJO / ALTO / DUDA
B. EN RELACIÓN CON LA APLICABILIDAD	
B.1. ¿Hay dudas de que la condición de estudio (enfermedad), definida por la prueba de referencia, no se ajuste a la pregunta de revisión?	PREOCUPACIÓN: BAJA / ALTA / DUDA
DOMINIO 4: FLUJO Y CRONOGRAMA	
A. RIESGO DE SESGO	
A.1. Describa los pacientes que no recibieron la prueba de estudio o el estándar de referencia o quiénes fueron excluidos de la tabla 2x2 (ver diagrama de flujo)	
A.2. Describir el intervalo de tiempo y cualquier intervención entre la prueba de estudio y la de referencia:	
A.3. ¿Se aplicó un intervalo de tiempo adecuado entre la prueba en estudio y la de referencia?	Si / No / Duda
A.4. ¿Se aplicó a todos los pacientes el patrón de referencia?	Si / No / Duda
A.5. ¿Todos los pacientes recibieron la misma prueba de referencia?	Si / No / Duda
A.6. ¿Se incluyeron todos los pacientes en el análisis?	Si / No / Duda
A.7. ¿El flujo de seguimiento del paciente podría haber producido algún sesgo?	RIESGO: BAJO / ALTO / DUDA

Anexo 4. Glosario

CD3

En inmunología, el CD3 (grupo de diferenciación 3, del inglés, *cluster of differentiation*), co-receptor de células T, es un complejo de proteínas y se compone de cuatro cadenas distintas. En los mamíferos, el complejo CD3 está compuesto una cadena CD3 , una cadena CD3 , ambas son glicoproteínas, mientras que la cadena CD3 , es una proteína no glucosilada. Estas cadenas se asocian con una molécula conocida como el receptor de células T (TCR) y la cadena para generar una señal de activación en linfocitos T resultante de la unión TCR:MCH-antígeno. El TCR, de cadena , y las moléculas CD3 juntos comprenden el complejo TCR.

CD14

En inmunología se denomina CD14 (grupo de diferenciación 12, del inglés, *cluster of differentiation*) a un tipo de antígeno CD propio del sistema inmune de mamíferos. Se caracteriza por poseer un peso molecular de 53-55 kDa y su naturaleza bioquímica es la de un receptor de membrana. Su función biológica en la célula es: recepción del complejo de lipopolisacárido y de la proteína de unión al lipopolisacárido o LBP. Se expresa específicamente en células mielomonocíticas.

CD46

CD46 es una proteína de membrana tipo I y es una parte regulatoria del sistema de complemento. Es un receptor inhibitorio de los complementos C3b y C4b, que protege a la célula huésped de ser dañada por el complemento.

CD103

CD103 es la integrina E, subunidad de la integrina heterodimérica E7 perteneciente a una pequeña subfamilia de la integrina 7. CD103 se expresa en más del 95% de las células T intraepiteliales CD8+ y en un 40% de las células T asociadas a la mucosa, mientras que menos del 2% de los linfocitos en reposo o no activados en sangre son CD103-positivos. En varias condiciones malignas, como linfomas de las células-T o la leucemia de células pilosas, las células expresan CD103.

CD105

CD105 (endoglina) es una glicoproteína de membrana endotelial tipo I que contiene la secuencia de péptido RGD localizada en la superficie de la célula formando parte del complejo receptor del TGF-beta. Esta proteína consiste en un homodímero de 180 kDa con puentes disulfuro. Se ha encontrado en células endoteliales, macrófagos activados, fibroblastos y células de músculo liso y a niveles bajos en células de leucemia linfoblástica y mielóctica aguda.

CXCL9

CXCL9 es una pequeña citoquina perteneciente a la familia de quemoquinas CXC, que también es conocida como monoquina inducida por el interferón gamma. Es una quimioatrayente de las células T, que es inducida por IFN- γ . Está estrechamente relacionada con otras dos quimiocinas CXC llamadas CXCL10 y CXCL11. Las quimiocinas CXCL9, CXCL10 y CXCL11 provocan sus funciones quimiotácticas mediante la interacción con el receptor de quimioquinas CXCR3.

CXCL10 (IP-10)

Quimioquina también denominada IP-10 (interferón gamma inducible por la proteína 10) o pequeña citoquina B10 inducible, es una proteína 8,7 kDa que en humanos está codificada por el gen CXCL10. Esta pequeña citoquina pertenece a la familia de las quimioquinas CXC. CXCL10 es secretada por varios tipos de células en respuesta a IFN- γ . Estos tipos de células incluyen monocitos, células endoteliales y fibroblastos, atrayendo células que expresan el receptor CXCR3 en la superficie. CXCL10 se ha atribuido a varias funciones, tales como la quimioatracción de monocitos / macrófagos, células T, células NK y células dendríticas, la promoción de la adhesión de células T a células endoteliales, actividad antitumoral, inhibición de la formación de colonias en la médula ósea y angiogénesis. Esta quimiocina provoca sus efectos mediante la unión a la superficie celular del receptor de quimiocinas CXCR3.

CXCR3

CXCR3 es un receptor de quimiocinas altamente expresado en células T efectoras. Es un receptor acoplado a proteína G i perteneciente a la familia de receptores de quimioquinas CXC. Otros nombres para CXCR3 son proteína G-receptor acoplado 9 (GPR9) y CD183. Hay dos variantes de CXCR3: CXCR3-A, que se une a la CXC quimiocinas CXCL9 (MIG), CXCL10 (IP-10) y CXCL11 (I-TAC); y CXCR3-B, que también se puede

unir a CXCL4 además de CXCL9, CXCL10, y CXCL11. Estos receptores se expresan en la superficie de muchas células, incluidos los linfocitos T, las células NK, algunas células epiteliales y algunas células endoteliales y en las células dendríticas. La unión de quimiocinas CXCR3 induce diversas respuestas celulares, como la activación de la integrina, cambios en el citoesqueleto y la migración quimiotáctica. La interacción del ligando CXCR3 atrae a las células Th1 y promueve la maduración de las células Th1.

Factor de complemento B

El factor de complemento B es una proteína que en humanos es codificada por el gen CFB. Circula en la sangre como un polipéptido de cadena simple. Tras la activación de la vía alternativa, es roto por el factor de complemento D produciendo la cadena no-catalítica Ba y la subunidad catalítica Bb. El factor C3b sobre estas membranas capta factor B formando el complejo C3bB sobre el que actúa el factor D liberando Ba y quedando el complejo C3bBb que tiene actividad convertasa de C3, siendo la subunidad Bb la molécula responsable de la actividad proteolítica. Esa convertasa libera más factor C3b que al formar C3bBb3b retroalimenta el circuito y consigue su amplificación. Esta proteína está implicada en la proliferación de linfocitos B preactivados, mientras que Ba inhibe su proliferación.

FOXP3

Es un factor regulador de la transcripción, también conocido como escurfina, es una proteína implicada en el sistema de respuesta inmunológico. Miembro de la familia de la proteína FOX, FOXP3 parece funcionar como un controlador maestro de la generación y la función de las células T reguladoras naturales.

Granzima B (GrB)

Es una serín-proteasa localizada en los linfocitos T activados responsable de la apoptosis observada en las células diana a partir del ataque de linfocitos T citotóxicos. Está contenida en los gránulos de secreción de estas células junto a otras proteínas, entre las que se encuentra la perforina. Cuando el contenido de los gránulos es expulsado por exocitosis, la perforina actúa como poro hidrofílico en la membrana de las células diana y permite el paso de granzima B al interior del citoplasma. La entrada de granzima B es suficiente y necesaria para la inducción de la apoptosis en las células.

Ligando Fas (FasL o CD95 L)

Es una glicoproteína de superficie celular homotrimérica de tipo II de 40 kDa. Es una citoquina capaz de activar la apoptosis en células que expresan el receptor Fas, que pertenece a la familia génica del factor de necrosis tumoral. Las interacciones Ligando Fas / receptor Fas juegan un papel importante en la regulación del sistema inmunológico y la progresión del cáncer provocando el acoplamiento de la proteína FADD (proteína con región de muerte asociada a Fas) que, a su vez, se une a la caspasa iniciadora procaspasa 8, integrando así al complejo señalizador de la inducción.

OX40

OX40, también conocido como CD134, es un miembro de la superfamilia de receptores TNF (factor de necrosis tumoral) que no se expresa constitutivamente en las células T “naive” en reposo, a diferencia de CD28. Es una molécula co-estimuladora secundaria, que se expresa entre 24-72 horas tras la activación. Su expresión es dependiente de la total activación de las células-T.

OX40L

OX40L es el ligando para CD134 y se expresa en células como DC2 (un subtipo de células dendríticas) permitiendo la amplificación de la diferenciación de las células Th2. OX40L también ha sido designado como CD252 (cluster de diferenciación 252).

Perforina (PRF-1)

Es una proteína monomérica y oligomérica de 555 aa, mediadora de la función de la lisis celular. Esta molécula es producida por los linfocitos NK y linfocitos-T, y es sintetizada por el gen 10, del cromosoma q22.1. Posee ciertas similitudes con las proteínas que forman el CAM (Complejo de Ataque de Membrana) y pertenece, junto a las serin-proteasas pre-apopticas, y granzimas, al grupo de moléculas encargadas de la inmunorregulación del sistema inmunitario.

PI-9

El inhibidor de la proteinasa de la serpina proteinasa 9 (PI9) es una serpina humana de 42 kDa que inactiva la granzima B (GrB) de forma irreversible. Es el único inhibidor natural endógeno conocido de GrB. La PI-9 se expresa en el citoplasma y núcleos de muchos tipos de células, especialmente los linfocitos citotóxicos (células T y NK), las células presentadoras de antígeno (células dendríticas, macrófagos, células B) y

las células en sitios inmunoprivilegiados, tales como la placenta, el testículo, el ovario y el ojo. El concepto actual de la función biológica de PI-9 es la protección de las células citotóxicas o de las células espectadoras en sitios de inflamación originados por GrB mal dirigidas. Además, PI-9 puede inhibir la caspasa 1, que media la inflamación mediante la activación de las citocinas interleucina-1 beta (IL-1) e IL-18. Por lo tanto, PI-9 puede ser considerada como una proteína reguladora de la respuesta inmune citotóxica.

TIM-3

TIM-3 (Dominio de inmunoglobulina de células T y dominio 3 de mucina) es una molécula que se expresa selectivamente en un subgrupo de células Th1 secretoras de IFN pero no en las Th2. Es un regulador negativo de la respuesta de las células T helper 1 (Th1). Regula la tolerancia e inmunidad in vivo de las células Th1. TIM-3 también se expresa por las células inmunes innatas y puede promover una respuesta pro-inflamatoria, lo que indica que TIM-3 tiene un doble papel en la inmunidad.

TLR4

TLR 4 es un receptor tipo Toll. También ha sido designado como CD284 (grupo de diferenciación 284). TLR4 es una proteína con un peso molecular aproximado de 95 kDa, que detecta liposacáridos de bacterias Gram-negativas y por tanto es importante en la activación del sistema inmune innato. Este receptor se expresa más abundantemente en placenta, y en la subpoblación mielomonocítica de los leucocitos.

Vimentina

Es una de las proteínas fibrosas que forman los filamentos intermedios del citoesqueleto intracelular, en particular, de células embrionarias, ciertas células endoteliales, así como en las células sanguíneas. Los monómeros de vimentina se enrollan una con la otra formando una fibra estable, lo cual es crítico para sus labores. Su función principal es la de proveer un ancla para el soporte de los orgánulos intracelulares (por ejemplo, la mitocondria, retículo endoplasmático, etc.). Junto con otros filamentos intermedios mantienen la integridad física de la célula. También participan en algunas uniones intercelulares (desmosomas). La vimentina es también usada como un marcador de ciertos tumores y melanomas.

