

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
FACULTAD DE MEDICINA
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

TESIS

**UTILIDAD DIAGNÓSTICA DE LOS BIOMARCADORES URINARIOS NGAL, IL-18 Y
HSP-72 EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL Y DETERIORO DE LA
FUNCIÓN DEL INJERTO.**

QUE PRESENTA EL ALUMNO:

JUAN CARLOS RAMÍREZ SANDOVAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALISTA EN NEFROLOGÍA

TUTOR DE TESIS:

DR. LUIS EDUARDO MORALES BUENROSTRO,

DR. RICARDO CORREA ROTTER.

MÉXICO, D.F.

AGOSTO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Dr. Luis Eduardo Morales Buenrostro

Tutor de Tesis

Adscrito al Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dr. Ricardo Correa-Rotter

Tutor de Tesis

Jefe del Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral
Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Dr. Luis Federico Uscanga Domínguez

Director de Enseñanza

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición “Salvador Zubirán”

ÍNDICE

	Página
Antecedentes.....	4
Planteamiento del problema.....	7
Justificación.....	8
Objetivos.....	8
Pacientes y métodos.....	10
Análisis Estadístico.....	13
Resultados.....	14
Discusión.....	36
Conclusiones.....	41
Bibliografía.....	42

ANTECEDENTES.

I. Marco teórico:

Para un importante porcentaje de los pacientes con insuficiencia renal crónica en fase de sustitución (estadio V de la clasificación KDOQI, National Kidney Foundation), el trasplante constituye la mejor opción para restaurar una vida saludable y productiva.¹ Sin embargo, la sobrevida del injerto renal se encuentra limitada por múltiples factores, entre ellos el riesgo de rechazo inmunológico, enfermedad renal recurrente, infecciones, toxicidad por medicamentos u otras enfermedades subyacentes.² Por esta razón, se vuelve indispensable contar con herramientas factibles, confiables, no invasivas, que permitan obtener un diagnóstico de la causa de deterioro de función renal del injerto sin la necesidad de una biopsia. Los estudios clínicos y paraclínicos utilizados para diagnosticar o monitorizar falla renal aguda, tales como el nitrógeno ureico en sangre y la creatinina sérica, son poco sensibles y poco específicos, resultando en diagnósticos y tratamientos tardíos.³ Adicionalmente, no permiten diferenciar entre causas diferentes de falla renal aguda, tales como toxicidad farmacológica, lesión isquémica, disfunción de carácter inmunológico o incluso obstrucción en algunos casos. Por esta razón, la mayoría de los diagnósticos de disfunción del injerto, una vez demostrada la inespecífica presencia de elevación de azoados, radican en la realización de una biopsia. En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán, durante el 2008, se realizaron 139 biopsias renales de injerto indicadas por datos clínicos de disfunción en 52 pacientes (37%) mientras el

resto se realizaron por protocolo (datos tomados de la base de biopsias del departamento, no publicados).

En el 2004, el consejo de la Sociedad Americana de Nefrología recomendó como una de las prioridades en investigación la estandarización y el descubrimiento de nuevos biomarcadores de falla renal aguda⁴ y en los últimos 7 años se publicaron más de 50 artículos y poco más de 20 biomarcadores en falla renal aguda.⁵ Un biomarcador es cualquier parámetro clínico o bioquímico que puede ser cuantificado y que puede predecir el diagnóstico o el riesgo de una enfermedad.⁶ Los mejores biomarcadores son aquellos obtenidos de forma no invasiva, con un buen rendimiento diagnóstico, fácilmente medibles y que son detectados en fluidos de obtención rápida (por ejemplo orina), ya sea en la cama del paciente o en un contexto ambulatorio.⁷ Desafortunadamente, los estudios de biomarcadores urinarios en la población de pacientes con trasplante renal son escasos, excluyéndose a estos pacientes de la mayoría de los ensayos clínicos.⁸

En pacientes con trasplante renal, los pocos estudios de biomarcadores se han enfocado a la vigilancia y diagnóstico temprano del rechazo inmunológico agudo. Así, se han reportado cuatro biomarcadores en población trasplantada: TIM-3, FOXP3, IL18 y el receptor NKG2D.^{9,10} De estos, solamente FOXP3 e IL18 se han medido en orina y al parecer se ha demostrado la correlación de niveles altos de ambos con rechazo agudo, comparado contra necrosis tubular aguda y grupos control. En el estudio de Aquino Dias, la medición de foxp3 en orina mostró una sensibilidad de 84%, especificidad de 96%, valor predictivo positivo de 89 y valor predictivo negativo de 94%.¹¹

Sin embargo, los biomarcadores más ampliamente utilizados en falla renal aguda, como por ejemplo NGAL, se han informado en pocos estudios. NGAL (Gelatinasa de neutrófilos asociada a lipocalina, de sus siglas en inglés Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) actúa como un factor de crecimiento y diferenciación del epitelio, posiblemente por su habilidad para transportar hierro hacia las células. En falla renal aguda, la expresión de mRNA de NGAL aumenta significativamente en el asa de Henle y los túbulos colectores, de manera tal que los niveles de NGAL se elevan antes que los niveles de creatinina en suero. Son incontables los estudios que demuestran la elevación temprana de NGAL en falla renal aguda.¹²⁻¹⁸ Sin embargo, NGAL aumenta en varios tipos de falla renal aguda tanto inflamatoria como infecciosa y no es específico de una entidad en particular. Ésta puede haber sido una de las razones por las que no se haya medido este biomarcador en población trasplantada, pues se ha demostrado infiltrado inflamatorio tubular en injertos con función renal normal.¹⁹ Sin embargo, recientemente Maliszko demostró que niveles bajos de NGAL correlacionan con niveles de cistatina C y creatinina en pacientes trasplantados con evolución normal²⁰ y Hall demostró que la sensibilidad de NGAL para detectar función retardada del injerto (definido como ingreso a diálisis dentro de la primera semana después del trasplante), cuando se mide en las primeras 6 hrs postrasplante fue de 97%, con especificidad de 26%, valor predictivo positivo de 43% y valor predictivo negativo de 93%.²¹

Existen otros biomarcadores como son las proteínas de choque térmico (HSP, de sus siglas en inglés Heat Shock Protein), las cuales tienen un papel fundamental en los mecanismos de daño y reparación celular²². De estas

moléculas chaperonas, la HSP 72, constituye el prototipo, al cooperar en el transporte y plegamiento de proteínas, previniendo la agregación y resolubilizando de las proteínas dañadas²³ y se ha encontrado elevada en lesiones renales por reperfusión.^{24,25} Recientemente, en el estudio de Barrera-Chimal, se demostró que HSP-72 puede ser un biomarcador para la detección temprana y estratificación de falla renal aguda.²⁶

En conclusión, no existe estudio que realice una correlación clínico patológica con los niveles de los biomarcadores urinarios. Es necesario reconocer si estos biomarcadores, además de correlacionar con el diagnóstico de disfunción renal, son capaces de discriminar entre aquellas lesiones inflamatorias persistentes como un rechazo inmunológico ó infección versus otras como necrosis tubular aguda, recurrencia de la enfermedad de base o toxicidad por medicamentos. Así mismo, es importante conocer como si tendrán capacidad de predecir el grado de daño y su pronóstico, lo cual ayudaría a su manejo y evitaría procedimientos invasivos como la biopsia del injerto.

II. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

¿Existirá una elevación de los biomarcadores urinarios NGAL, IL-18 y HSP-72 en pacientes trasplantados con disfunción del injerto, en comparación de aquellos pacientes con trasplante sin disfunción?

¿Serán útiles los biomarcadores urinarios tales como NGAL, IL-18 y HSP-72 para discriminar los diversos diagnósticos clínicos-patológicos en los pacientes con trasplante renal y disfunción del injerto?

¿Serán capaces de discriminar el grado de daño en entidades específicas como el rechazo inmunológico?

¿Cuál será la capacidad de predicción pronóstica (del desenlace de la falla renal aguda) de estos biomarcadores?

III. JUSTIFICACIÓN

En Estados Unidos de América, el 50% de los pacientes trasplantados sufren de disfunción del injerto por diferentes causas, algunos de ellos con tratamiento específico como el rechazo inmunológico agudo o por toxicidad por medicamentos. Hasta el momento, la biopsia renal es la principal herramienta de diagnóstica capaz de discriminar entre las posibles causas. En nuestro Instituto, del 30 al 50% de las biopsias de injertos renales son efectuadas por disfunción del injerto. Es indispensable valorar el rendimiento diagnóstico de los biomarcadores urinarios en población con trasplante renal con disfunción, su capacidad para discriminar entre las causas, su gravedad así como el pronóstico, ya que de ser útil, se podrían evitar algunas de las biopsias y las complicaciones asociadas a las mismas además de que permitiría una detección temprana de la disfunción con el consecuente tratamiento oportuno y limitación del daño.

IV. HIPÓTESIS

Los biomarcadores urinarios NGAL, IL-18 y HSP-72 tendrán capacidad para discriminar el diagnóstico final de la disfunción del injerto y será útil como indicador pronóstico.

V. OBJETIVOS

V.1 General

Evaluar la utilidad diagnóstica y pronóstica de los biomarcadores urinarios NGAL, IL-18 y HSP-72 en pacientes con trasplante renal y disfunción aguda del

injerto renal, definida como elevación de creatinina sérica, presencia de proteinuria y/o hematuria y/o una disminución del gasto urinario menor a 0.5 mL/kg/hr durante un periodo de 6 horas.

V.2 Específico

- a) Evaluar la utilidad diagnóstica y pronóstica de los biomarcadores urinarios en pacientes trasplantados con disfunción del injerto (elevación de la cifra de creatinina, proteinuria y/o hematuria) para discriminar entre causas prerrenales, inmunológicas u otras.
- b) Comparar los niveles del biomarcador respecto a la gravedad del daño agudo (con especial interés en aquellos con rechazo inmunológico).
- c) Comparar los niveles del biomarcador en los pacientes con disfunción respecto a marcadores de cronicidad como son fibrosis intersticial y atrofia tubular informados en la biopsia.
- d) En pacientes con disfunción aguda del injerto, comparar el comportamiento de los biomarcadores con el pronóstico y respuesta al tratamiento dependiendo del caso.

VI. PACIENTES Y MÉTODOS

VI.1 Diseño del estudio

Estudio de prueba diagnóstica y marcador pronóstico.

VI.2 Población en estudio

Todos los pacientes con trasplante renal y disfunción del injerto o a aquellos sin disfunción sometidos a biopsia por protocolo (al momento cero o al año del trasplante).

VI.3 Grupos de estudios

Para poder valorar la capacidad de los biomarcadores para discriminar etiologías, se incluyó un espectro amplio de pacientes que se agruparon como sigue:

CASOS CON DISFUNCIÓN: 71 casos

- Prerenal, 22 casos.
- Rechazo agudo, 20 casos.
- Toxicidad, 9 casos.
- Obstructiva, 7 casos.
- Necrosis tubular aguda, 4 casos.
- Uso de AINES, 2 casos.
- Vascular, 2 casos.
- Recurrencia de la enfermedad original, 2 casos.
- Fibrosis Intersticial y atrofia tubular (sin daño agudo), 3 casos.

CASOS CONTROL: 11 casos

- Biopsia Cero del donador, 4 casos.

- Biopsia por protocolo al año postrasplante, 7 casos.

VI.4 Lugar de realización:

Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

VI.5 Periodo de Tiempo:

Desde el 26 de abril del 2010 al 1 de mayo del 2011.

VI.6 Tiempo de seguimiento de cada paciente:

Todos los pacientes fueron reclutados desde su ingreso al hospital, ya sea en urgencias en los casos de disfunción o a otra área en caso de biopsia protocolizada. Se les dio seguimiento hasta su egreso para ver el desenlace de su disfunción en los que aplicaba. Adicionalmente, un subgrupo de pacientes fue seguido hasta tres meses después de su egreso para valorar la parte de predicción del pronóstico.

VI.7 Criterios de Inclusión:

Grupo de casos: Pacientes con disfunción del injerto.

1. Ser trasplantado renal y tener una edad igual o mayor a 18 años.
2. Tener una elevación de creatinina sérica mayor de 0.3 mg/dL y/o proteinuria de 0.3 g/día y/o sedimento urinario anormal y/o una disminución del gasto urinario menor a 0.5 mL/kg/hr durante un periodo de 6 horas.
3. Tener evidencia, en base a los registros del seguimiento, que los criterios diagnósticos ocurrieron dentro de un periodo menor a tres meses en el caso de que la creatinina sérica, proteinuria o el sedimento urinario anormal sean los criterios de inclusión.

Grupos controles: Pacientes donadores renales o con trasplante renal sometidos a biopsia del injerto protocolizada (al momento cero o al año de diagnóstico, respectivamente). Contamos con dos grupos controles:

1. El primer grupo control está constituido por donadores renales sanos, que en el momento de la donación del injerto, el mismo es sometido a biopsia renal (Grupo Control tiempo 0).
2. El segundo grupo control está constituido por pacientes con trasplante renal que son sometidos por protocolo a biopsia renal al año de su trasplante.
3. En ambos subgrupos, edad mayor a 18 años.

VI.8 Criterios de exclusión:

Rechazar su inclusión al estudio.

Anuria o incapacidad para la toma de la muestra de orina.

VI.9 Tamaño de la muestra:

Fue una muestra por conveniencia, ya que no existían estudios previos para hacer un cálculo basado en cifras conocidas. Sin embargo, para estudios de prueba diagnóstica esta N es suficiente.

VI.10 Variables:

a) Variables principales a medir: Niveles urinarios de NGAL, KIM-1, HSP-72, filtración glomerular estimada por el método MDRD, resultado de la biopsia acorde a la clasificación de Banff, grado de la disfunción renal aguda (AKIN 1: elevación de Cr de 0.3 mg/dL, Cr 1.5 a 2 veces del basal o gasto urinario < a 0.5 mL/Kg/Hr por 6 hrs; AKIN 2: Cr 2 a <3 veces del basal o gasto urinario <0.5 mL/Kg/Hr por 12 hrs; AKIN 3: Cr>3 veces del basal, gasto urinario <0.3 mL/kg/24 hrs o anuria por 12 hrs o Cr>4mg/dL²⁷) y diagnóstico final. El

diagnóstico final fue efectuado por el grupo de investigadores al conjuntar los datos tanto de los estudios clínicos y paraclínicos, biopsia renal, respuesta a tratamiento y evolución en las semanas posteriores a la inclusión del estudio. Para los casos con rechazo inmunológico se consideró que existiera evidencia contundente en la biopsia renal. Para el caso de disfunción del injerto de causa prerrenal se tomó en cuenta que todos los casos tuvieran una respuesta adecuada al reto de líquidos con el regreso a la tasa estimada de filtración glomerular basal.

b) Variables secundarias a medir: Características demográficas, tipo de donador, haplotipos compartidos, tiempo de isquemia, comorbilidades subyacentes, medicamentos, FeNa, creatinina sérica, diagnóstico por ultrasonido.

c) Frecuencia de las mediciones: En el grupo con disfunción del injerto se realizó una toma de orina (muestra cero), antes de la toma de la biopsia. En el grupo de pacientes con función del injerto normal, se realizó un muestreo momentos antes de la biopsia cero (muestra tomada al donador 12 a 24 horas previas al trasplante renal) y en los pacientes con biopsia de protocolo del año, se tomó la muestra al momento de su ingreso a estancia corta.

VI.11 Procedimientos:

Recolectamos una muestra de orina (almacenada en 3 alícuotas de 2 mL), dentro de las 24 horas previas a la toma de la biopsia. Las muestras se guardaron a -80°C. La medición urinaria de NGAL²⁶, IL-18 y HSP-72 se realizó utilizando kits comerciales de ELISA, disponibles de acuerdo a las indicaciones del fabricante: NGAL (human) ELISA kit (BPD-KIT-036 BIOLEGEND, San Diego, California, E.E.U.U.), IL-18 ELISA kit (CTKHC0018

BIOLEGEND, San Diego, California, E.E.U.U.) y HSP70 high sensitivity ELISA (ADI-EKS-715 BIOLEGEND, San Diego, California, E.E.U.U.). Los biomarcadores fueron medidos por personal cegado respecto a la información clínica de los pacientes. La variabilidad de los ensayos para todos los marcadores fue menor al 10%. Todas las mediciones se efectuaron en el laboratorio del departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral del Instituto por una misma persona con amplia experiencia en el manejo de estos reactivos.

VII. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Las variables continuas fueron analizadas por medio de la prueba Z de Kolmogorov Smirnov para conocer su tipo de distribución. Aquellas con distribución normal se reportaron como medias y desviación estándar, mientras que las variables con distribución anormal y las de tiempo se expresaron en mediana con valores mínimo y máximo. Para comparar proporciones utilizamos X^2 . Para comparación de las variables continuas de distribución normal entre 2 grupos usamos T de Student y para 3 o más grupos, utilizamos ANOVA de 1 vía. Para comparar las variables continuas con distribución anormal entre 2 grupos utilizamos U de Mann-Whitney y en caso de 3 o más grupos, usamos H de Kruskal-Wallis.

Para correlación se utilizó la prueba de Pearson o la de Spearman según la distribución de las variables.

Tomando como estándar de oro el diagnóstico final (sustentado en biopsia renal y análisis clínico de la evolución o comportamiento del caso), realizamos curvas ROC con el fin de evaluar la capacidad de cada biomarcador para discriminar la falla prerrenal del resto de causas de falla renal aguda y a los rechazos del resto de etiologías. Para cada biomarcador se describe la sensibilidad, especificidad, valor predictivo positivo, valor predictivo negativo.

Se consideró que existen diferencias estadísticamente significativas cuando el valor de p es ≤ 0.05 .

VIII. RESULTADOS

Se invitó a participar a todos los pacientes con diagnóstico de disfunción del injerto que acudieron a urgencias o a la consulta externa del Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral y/o del Departamento de Trasplantes durante el periodo comprendido entre el 26 de abril del 2010 al 1 de Mayo del 2011. En total se detectaron 109 casos con disfunción, de los cuales solamente 88 casos aceptaron participar y firmar el consentimiento informado (figura 1). Se excluyeron 17 casos (19.3% del total) por dos razones: (1) contar con un diagnóstico “mixto” (combinación de rechazo, toxicidad, nefritis por virus BK y/o prerrenal, entre otros) o (2) por tener un diagnóstico “incierto”, ya fuese por ausencia de estudios, biopsia renal insuficiente o pérdida en el seguimiento. De los 17 casos excluidos, 14 se debió a diagnóstico “mixto” y 3 a incierto. De los 71 casos sometidos a medición de biomarcadores urinarios, se asignó una clasificación etiológica, tal como se describe en la parte de métodos.

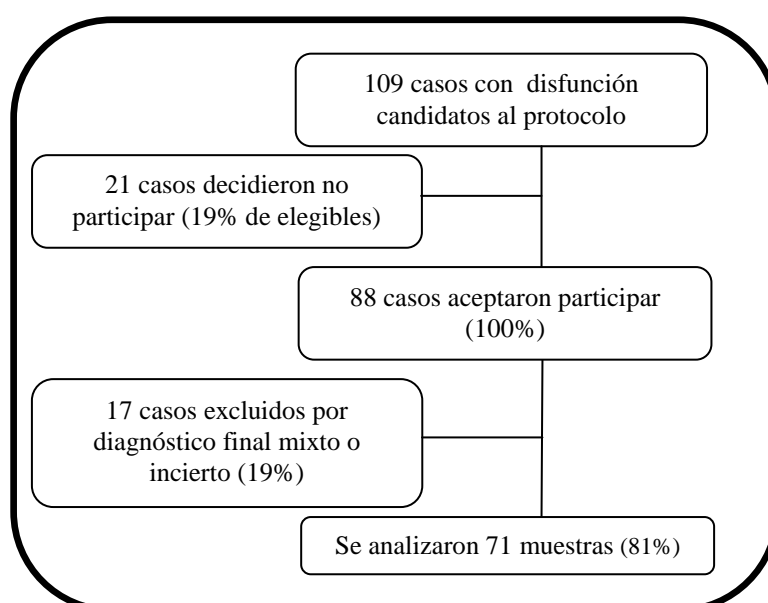


Figura 1. Diagrama de flujo que muestra como se hizo la selección de pacientes con disfunción.

Respecto a los dos grupos controles, se tomaron 16 muestras, 6 al momento “cero”, es decir, muestra urinaria tomada al donador vivo sano 12 a 24 horas previas al trasplante, y 10 a pacientes con trasplante renal sometidos a biopsia de protocolo al año del trasplante. Al momento del análisis, se excluyeron 5 muestras al haberse encontrado anomalías en la biopsia renal (2 del grupo biopsia “cero” por fibrosis intersticial entre 6 a 25% y 3 del grupo biopsia al año de trasplante al encontrarse datos de toxicidad por inhibidores de calcineurina). En total se analizan 11 muestras de controles.

VI.A. COMPARACIÓN DE BIOMARCADORES URINARIOS EN PACIENTES CON DISFUNCIÓN DEL INJERTO Y GRUPOS CONTROL.

En un primer análisis, se dividió a los pacientes en tres grupos: (1) el grupo de pacientes con disfunción del injerto de manera general sin distinguir la etiología de la disfunción, (2) grupo control sano al momento cero (muestra urinaria de pacientes donadores horas previas al trasplante y con biopsia cero normal) y (3) grupo control al año (muestra urinaria de pacientes trasplantados al año con biopsia de protocolo normal).

En la tabla 1 se resume las características basales de cada uno de los grupos. Del total de 71 casos con disfunción del injerto, de acuerdo a la clasificación de lesión renal aguda, el 80% de los casos tuvieron un deterioro leve en la tasa de filtrado glomerular (57 casos fueron AKIN 1). En casi todos los casos, la definición de AKIN se sustentó en base a la elevación de creatinina sérica; solamente en 3 casos se clasificó el grado de disfunción en base a la disminución del gasto urinario mientras se encontraban hospitalizados. Como se aprecia en la tabla 1, la población con disfunción del injerto eran en su mayoría pacientes en la cuarta década de la vida, casi dos terceras partes fueron trasplantes de donador vivo y mujeres, con un índice de masa corporal alrededor de 25 mg/kg^2 y más de la mitad de los casos tienen hipertensión arterial. Del total de los casos de disfunción, 32 (45%) ingresaron al protocolo concomitantemente con una infección asociada; las infecciones más frecuentemente encontradas fueron gastroenteritis infecciosa (17 casos, 53%), infección urinaria (9 casos, 28%) y neumonía (4 casos, 13%). En 26

casos (36%) con disfunción del injerto, los pacientes se encontraban asintomáticos y fueron referidos a estudio al detectarse una elevación de la creatinina sérica en el seguimiento. En 13 casos (18%) se realizó la detección de disfunción del injerto concomitante a otros síntomas no infecciosos (cefalea, intento suicida por depresión, edema, dehiscencia de herida quirúrgica, dolor en el injerto, entre otros).

Sobre la causa original de la enfermedad renal que motivó el desarrollo de enfermedad renal terminal y necesidad de trasplante, 38 casos (53%) fueron no determinados, 7 (10%) con hipoplasia renal, 7 (10%) fueron lupus eritematoso generalizado y 6 (8%) fueron por diabetes mellitus. Respecto al nivel socioeconómico de los pacientes, en el Instituto, el Departamento de Trabajo Social otorga una ponderación económica del 1 al 6 a los pacientes, donde 1 significa extrema pobreza y 6 el nivel más alto de ingresos. De los 71 pacientes, el 46 (65%) eran clasificación 3, 21 (29%) eran 2 y solo 4 (6%) clasificación 1.

Los valores obtenidos de cada biomarcador se comparan con sus grupos controles al final de la tabla 1 y se grafican en la figura 2. Al comparar los niveles urinarios de cada biomarcador entre los grupos control y los pacientes con disfunción, se encontró una diferencia significativa de los tres biomarcadores: NGAL, IL-18 y HSP-72, siendo siempre significativamente más alto en el grupo de pacientes con disfunción renal aguda que en los dos grupos controles. Al realizar una comparación entre el grupo con disfunción contra los grupos controles separado entre biopsia cero y al año, la significancia estadística resulta mayor a 0.05, muy probablemente debido a un efecto en el tamaño de la muestra. En la figura 2b, se muestra el desempeño tanto en

sensibilidad y especificidad de cada biomarcador para diagnosticar deterioro de la función renal por medio de curvas ROC (receiver operating characteristic), sin diferenciar una etiología específica. El área bajo la curva para NGAL, IL-18 y HSP 72 fueron 0.80 (95% CI, 0.67-0.91; P:0.001), 0.68 (95% CI,0.55-0.82,P:0.04) y 0.68 (95% IC, 0.54-0.82, P:0.05) respectivamente. Como se aprecia en las curvas ROC y los puntos de corte señalados, su desempeño tanto en sensibilidad como la especificidad no supera el 80% en la mayoría de los casos.

Al comparar el tiempo de trasplante renal entre el grupo con disfunción y el grupo control, se observó que existe una diferencia significativa en el tiempo de trasplante entre el grupo con disfunción y los grupos controles, pues el grupo con disfunción tiene una mediana de tiempo de trasplante de 5 años. En la tabla 2, se observa un subanálisis del grupo con disfunción que tenía un tiempo entre 0 y 23 meses posterior al trasplante y los grupos control, en donde se aprecia una diferencia estadísticamente significativa con los tres biomarcadores entre ambos grupos, a pesar de limitar el número de casos con disfunción al 40% del total. Se puede inferir, que probablemente el tiempo del trasplante no es un factor en la elevación de los biomarcadores por lo menos durante el primer año posterior al trasplante.

Tabla 1. Características y biomarcador urinario de los pacientes con disfunción y controles.

Variable	GRUPOS CONTROLES		DISFUNCION RENAL AGUDA	P*
	Bx 0	Bx año	Total con disfunción	
Núm. De casos (% del total con disfunción)	4	7	71 (100%)	
Edad (años) (min-max)	33.7 (19-42)	33 (21-44)	41.6 (18-65)	0.29
Hombres (%)	1 (25%)	5 (71%)	32(45%)	0.000
IMC (kg/m2) (± D.E.)	22.3 (±0.8)	22.5 (±3.5)	24.3 (±4.3)	0.35
Tiempo de trasplante años (±D.E.)	0	1 (±0.1)	5.0 (±5.1)	0.000
Trasplante de donador cadavérico (%)	0	0	23 (32%)	0.000
Comorbilidades: Diabetes Mellitus	0	0	12 (17%)	0.000
HAS	0	3	45 (64%)	0.000
Creatinina sérica basal (±D.E.)	0.75 (±0.18)	1.3 (±0.14)	1.5 (±0.6)	0.008
Filtrado Glomerular estimado basal(±D.E.)	107.7 (±24.5)	72.2 (±1.2)	57 (±22)	0.014
Creatinina sérica al ingreso	N.A.	N.A.	2.5 (±1.5)	0.000
AKIN (% del subgrupo)	N.A.	N.A.		
1			57 (80%)	
2			5 (7%)	
3			9 (13%)	
Infección al ingreso (%)	0	0	32 (45%)	0.000
Prot _u / Cr _u (±D.E.)	0	0	0.3 (±0.8)	0.018
Biopsia renal (% del grupo con biopsia)	4 (100%)	7 (100%)	47 (66%)	0.000
Fibrosis Intersticial <6%	4	7	5	
6-25%			8	
26-50%			17	
>50%			17	
Atrofia tubular <6%	4	7	5	
6-25%			14	
26-50%			12	
>50%			16	
Biomarcadores Urinarios				
NGAL U ng/mL (±D.E.)	32 (±36)	7.2 (±6.5)	95.3 (±99.1)	0.000
IL-18 u pg/mL (±D.E.)	30 (±35)	19 (±21)	125.4 (±232.9)	0.000
HSP-72 u ng/mL (±D.E.)	0.04(±0.02)	0.11(±0.09)	0.45 (±0.91)	0.001

Abreviaturas: Bx 0: muestra urinaria de paciente sano horas previas a la donación con biopsia al momento del trasplante normal; Bx año: muestra urinaria de paciente trasplantado con biopsia al año normal; N.A.: no aplica; D.E.: Desviación estándar. *T de Student para variables continuas o χ^2 para variables categóricas; la comparación es entre el grupo con disfunción vs control, incluyendo Bx0 y Bx año. La filtración glomerular estimada se expresó en mL/min/1.73m²

Tabla 2. Características y biomarcadores urinarios de los pacientes con trasplante renal menor a 2 años con disfunción del injerto y controles.

Variable	CONTROLES		DISFUNCION RENAL AGUDA	P*
	Bx 0	Bx año	Disfunción <2 AÑOS DE TR	
Núm. De casos (% del total con disfunción)	4	7	30 (40%)	0.000
Creatinina basal (±D.E.)	0.75 (±0.18)	1.3 (±0.14)	1.3 (±0.10)	0.85
Filtración Glomerular estimada basal (±D.E.)	107.7(±24.5)	72.2 (±1.2)	62(±4)	0.10
Biomarcadores				
NGAL U ng/mL(±D.E.)	32(±36)	7.2(±6.5)	116.8(±16)	0.006
IL-18 u pg/mL(±D.E.)	30(±35)	19(±21)	164(±23)	0.000
HSP-72 u ng/mL(±D.E.)	0.04(±0.02)	0.11(±0.09)	0.66(±0.08)	0.009

Abreviaturas: Bx 0: muestra urinaria de paciente sano horas previas a la donación con biopsia al momento del trasplante normal; Bx año: muestra urinaria de paciente trasplantado con biopsia al año normal; N.A.: no aplica; D.E.: Desviación estándar. *T de Student para variables continuas o χ^2 para variables categóricas; la comparación es entre el grupo con disfunción vs control, incluyendo Bx0 y Bx año. La filtración glomerular estimada se expresó en mL/min/1.73m²

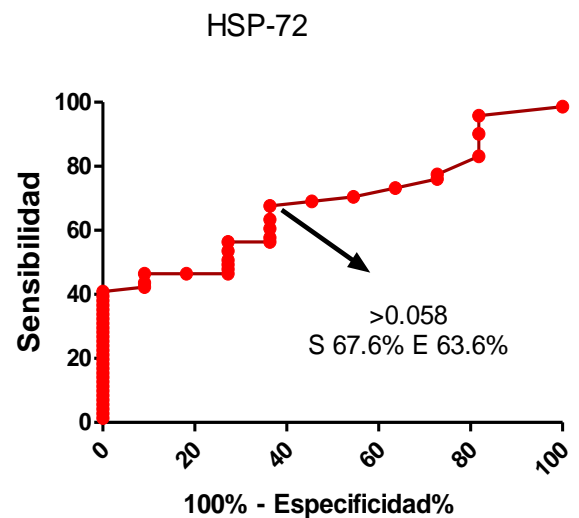
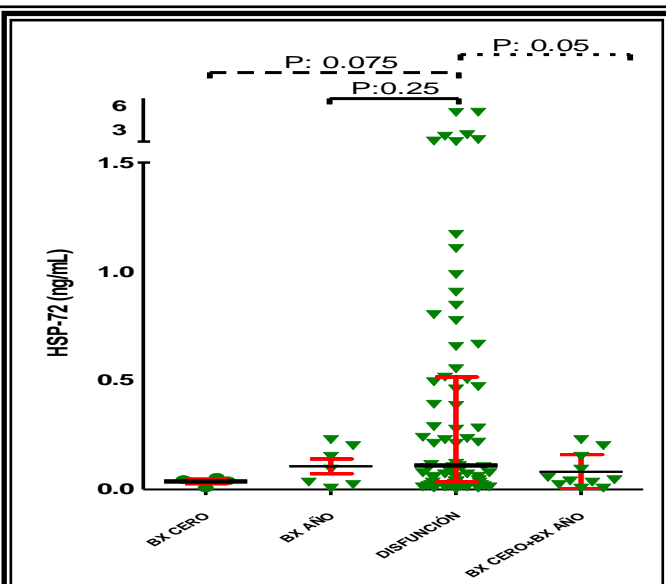
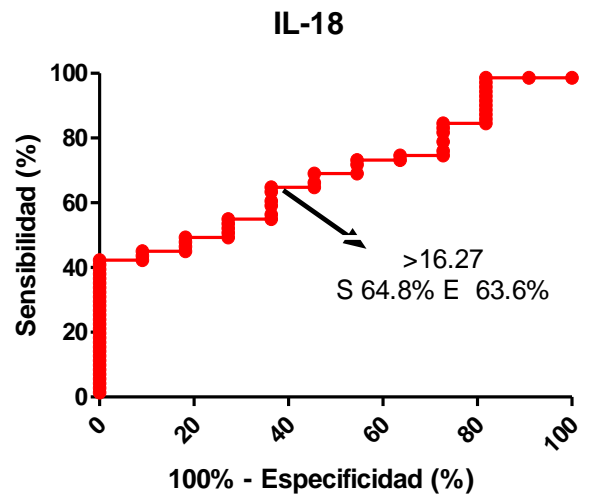
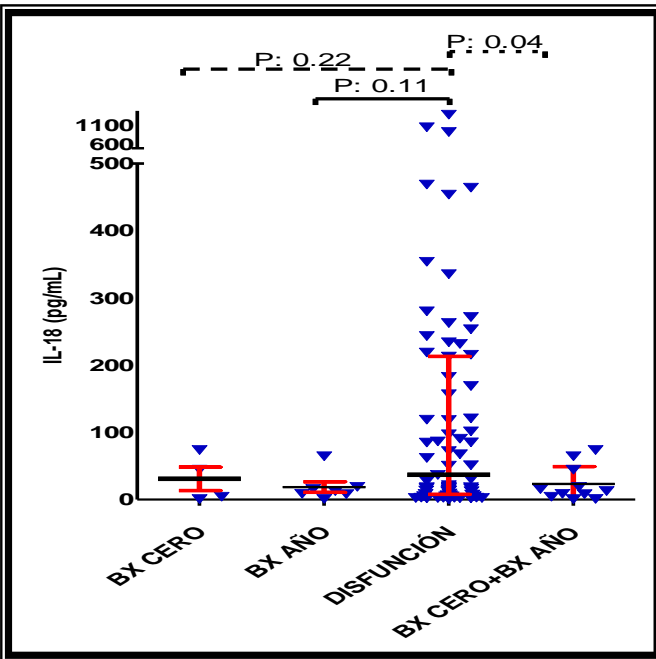
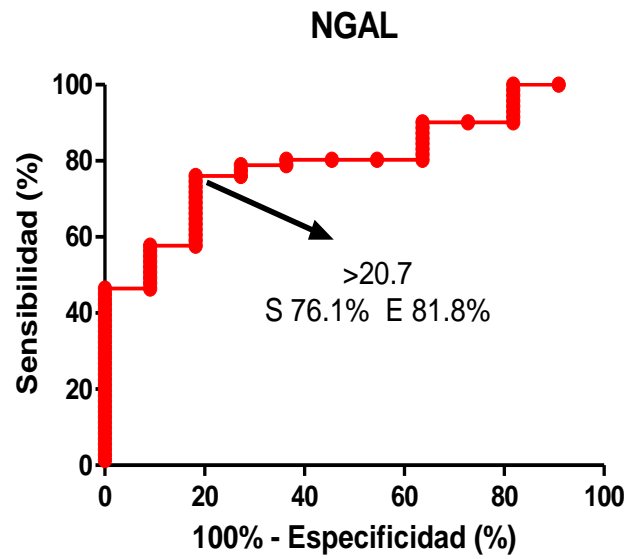
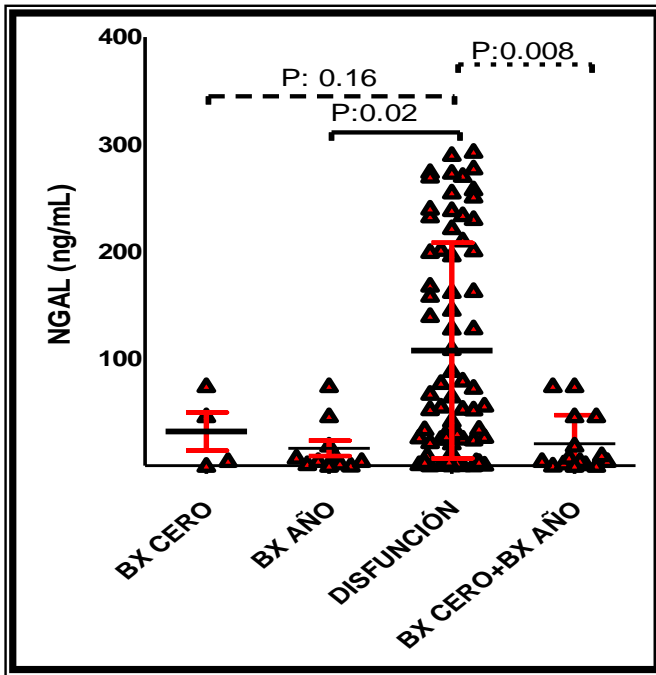


Figura 2a. Biomarcadores urinarios en pacientes con disfunción y controles.

Figura 2 b. Curvas ROC para cada biomarcador y disfunción.

VI.B. BIOMARCADORES URINARIOS EN PACIENTES CON DISFUNCIÓN DEL INJERTO Y SU COMPARACIÓN CON EL GRADO DE DISFUNCIÓN RENAL, PROTEINURIA/CREATINURIA Y FIBROSIS INTERSTICIAL/ATROFIA TUBULAR.

Antes de valorar la utilidad clínica o el desempeño del biomarcador respecto a la etiología específica de la disfunción del injerto, decidimos evaluar si los niveles de los biomarcadores urinarios en pacientes con disfunción correlacionaban en primera instancia con la cantidad de proteinuria (figura 3). Como se observa en las mencionada gráfica, el grado de proteinuria, estimada por índice proteinuria/creatinuria y el grado de disfunción correlacionado con el nivel de creatinina sérica, guardan una muy pobre correlación (NGAL 0.42, IL 18 0,29 y HSP72 0.20).

Por otra parte, en la figura 4 se correlacionaron los marcadores con el grado de disfunción, definido para este fin como la creatinina sérica y corrigiendo el valor del biomarcador estudiado por los valores de creatinina urinaria. (figura 4). Las gráficas muestran una ausencia de correlación entre estos indicadores, en los tres casos.

También se buscó la relación entre los niveles de los biomarcadores urinarios en estudio y el grado de fibrosis intersticial y presencia de atrofia tubular (figura 5). No demuestran diferencias significativas en los niveles de NGAL ni de HSP72 urinarias cuando existía fibrosis intersticial y atrofia tubular menor a 5% respecto a una fibrosis o atrofia mayor. A diferencia de lo anterior, en el caso de IL-18 si se observaron algunas diferencias en los niveles de este biomarcador entre los grupos sin fibrosis y atrofia y aquellos con grados mayores de éstas alteraciones histológicas. No se encontró significancia estadística en los valores de ninguno de los biomarcadores cuando se compararon los casos con fibrosis entre sus diferentes grados (5 a 25%, 26 a 50% y > de 50%). De la misma forma, los coeficientes de correlación existentes entre el grado de fibrosis o atrofia y el nivel de los tres biomarcadores, fueron cercanos a cero.

Figura 3. Niveles de biomarcador urinario corregido para la creatinina urinaria versus proteinuria/creatinuria.

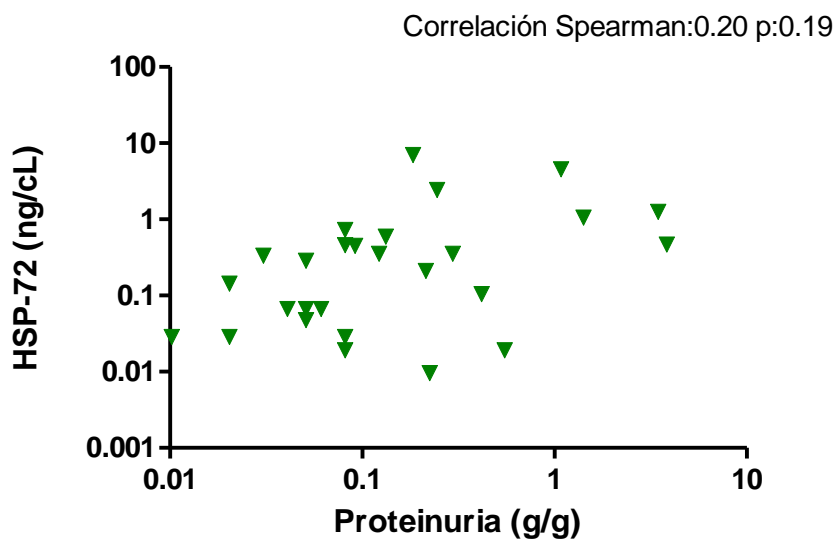
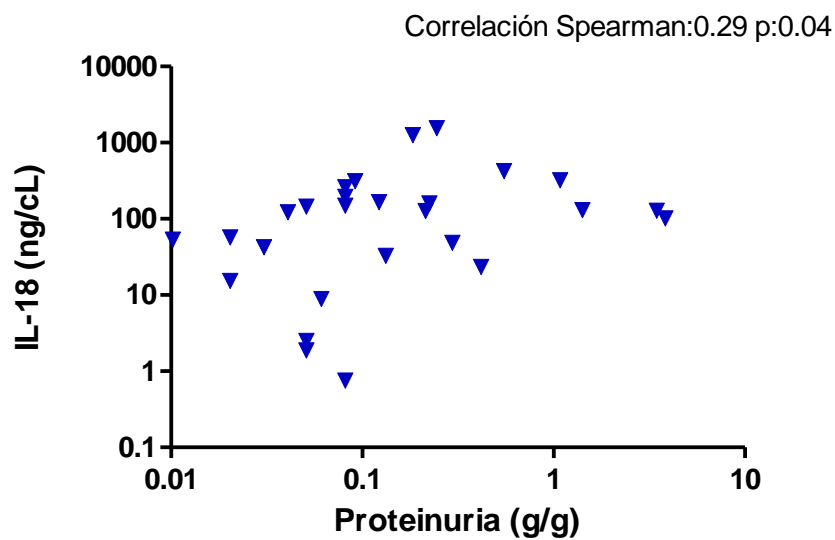
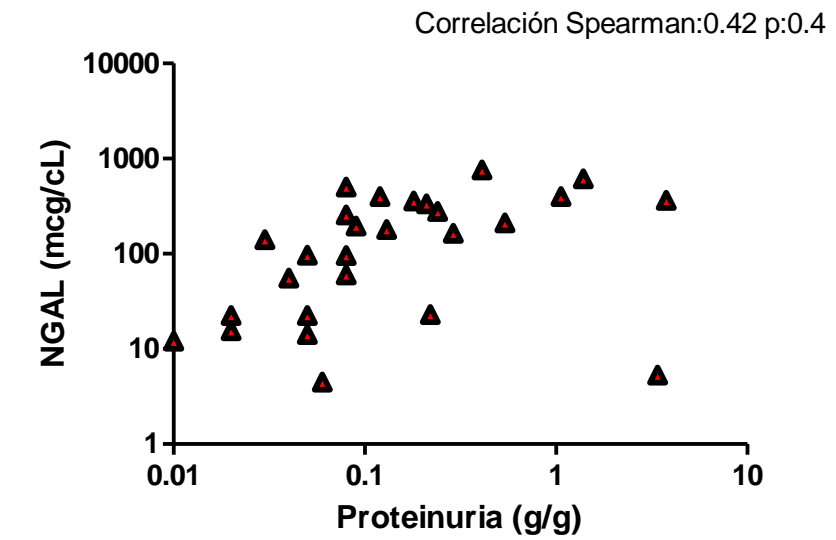


Figura 4. Niveles de biomarcador urinario corregido para la creatinina urinaria versus creatinina sérica.

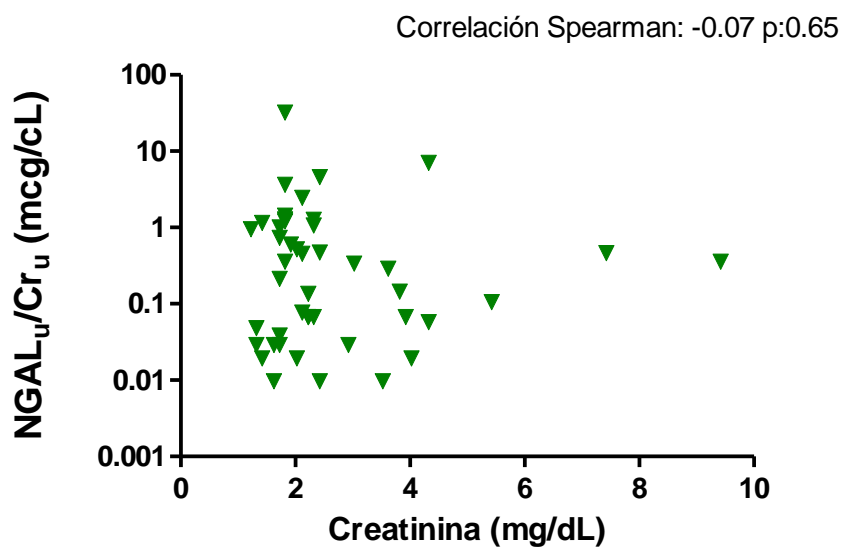
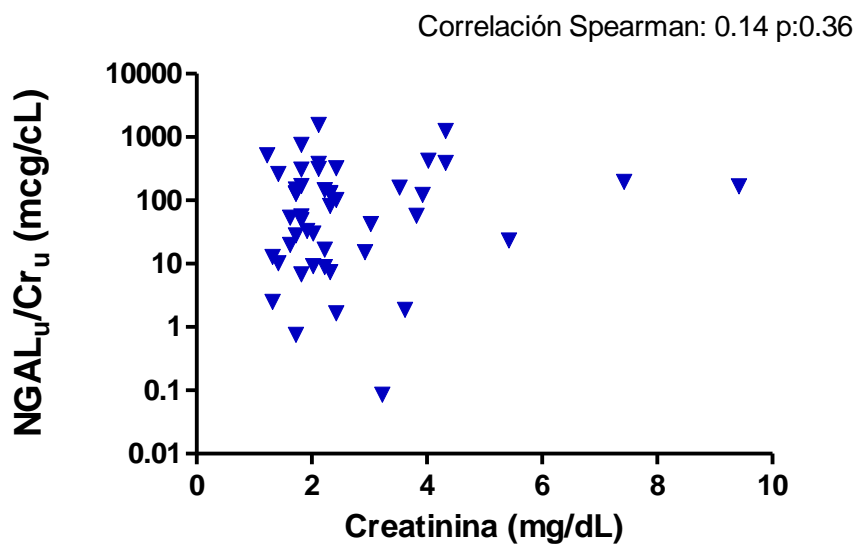
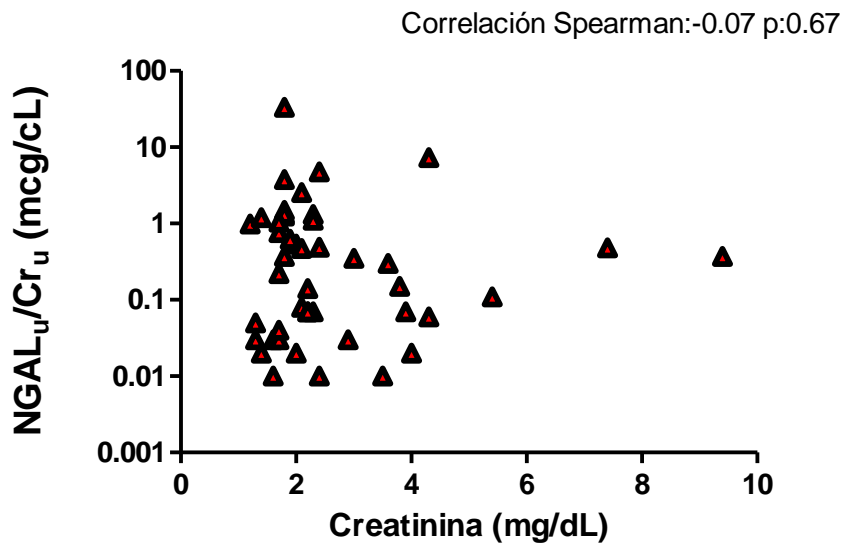
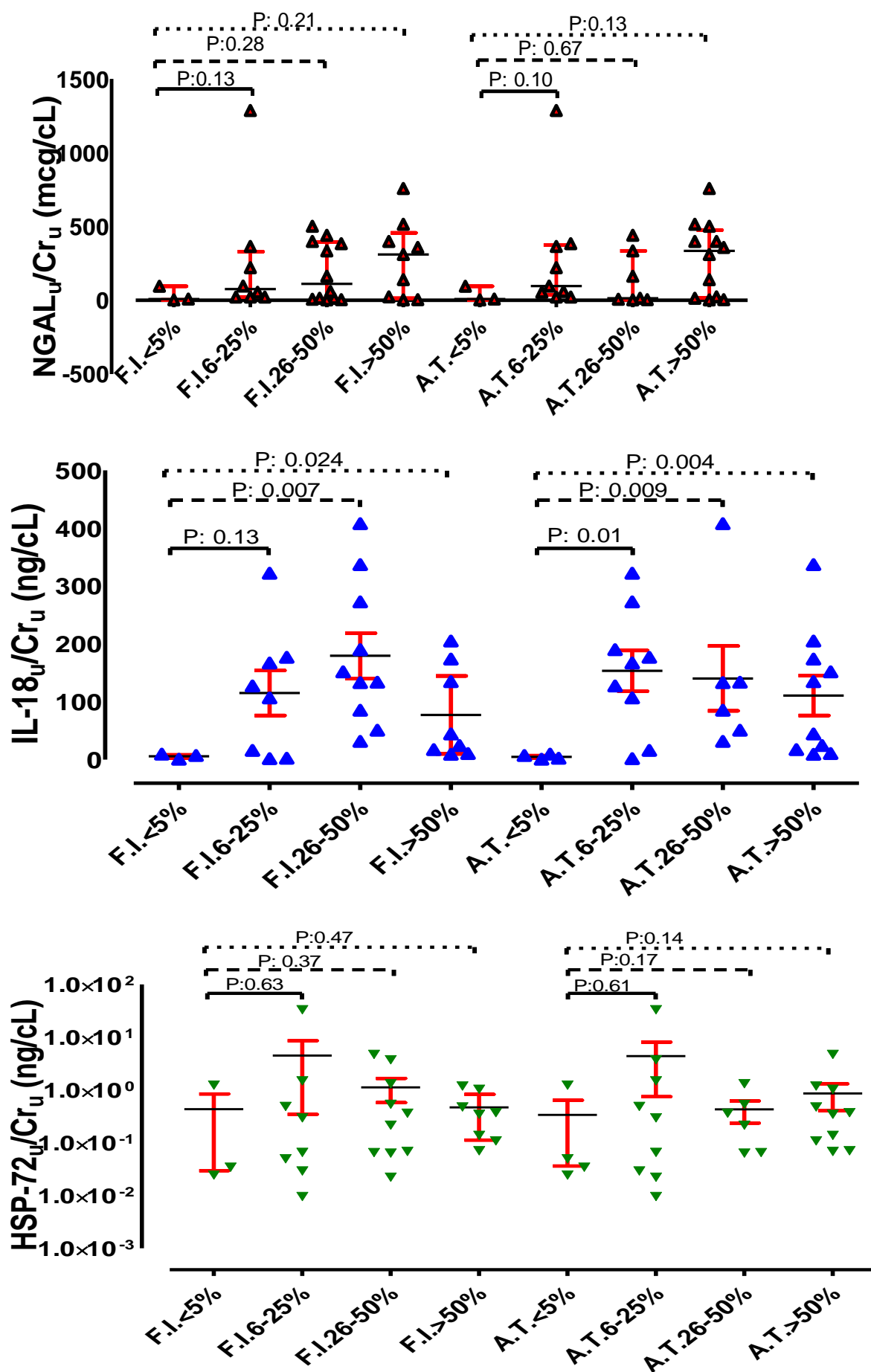


Figura 5. Niveles de biomarcadores respecto a la atrofia y fibrosis intersticial.



VI.C. BIOMARCADORES URINARIOS Y SU CAPACIDAD PARA DISCRIMINAR DISFUNCIÓN DEL INJERTO POR CAUSA PRERRENAL.

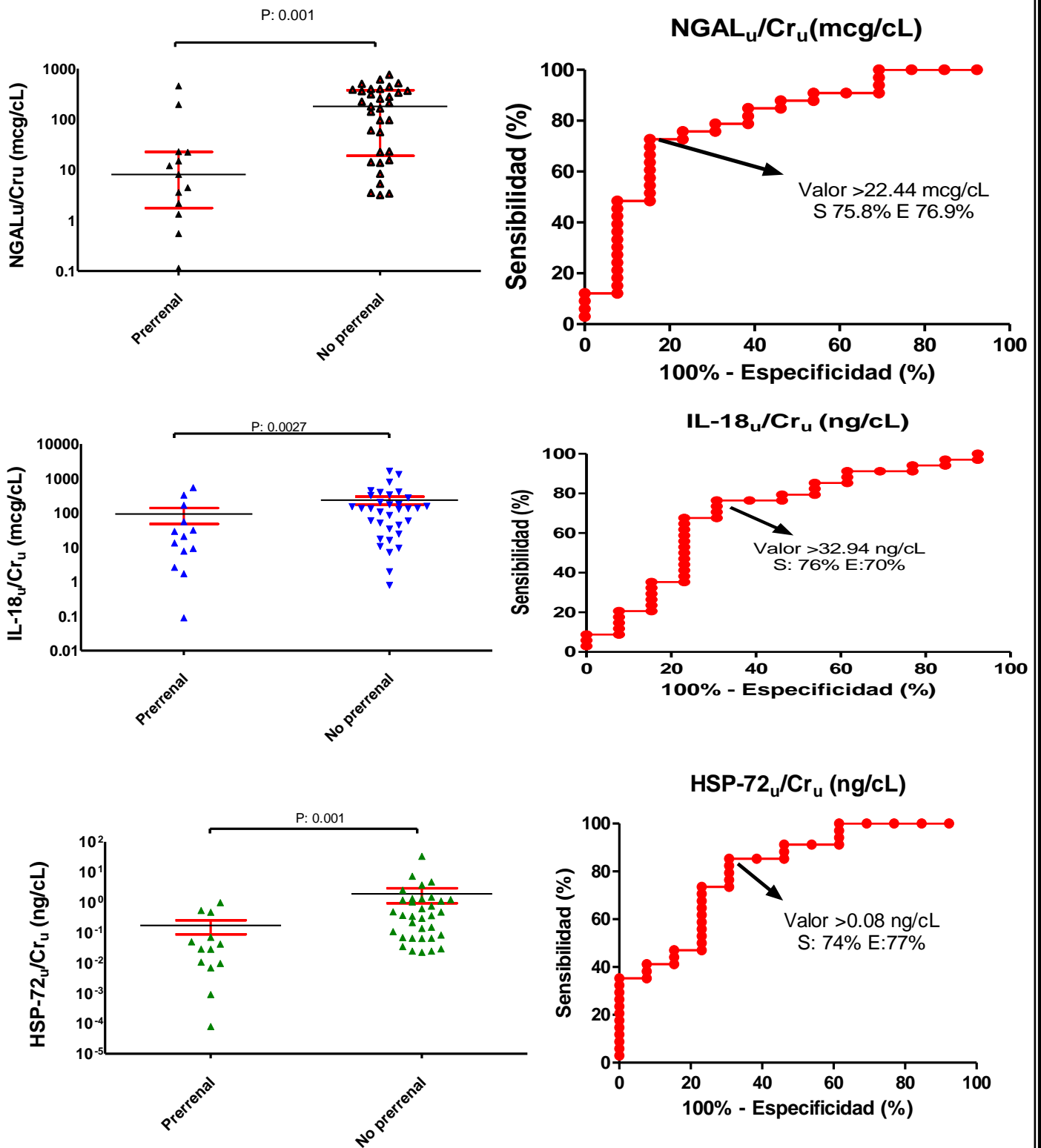
Con la finalidad de explorar la utilidad de los biomarcadores urinarios para discriminar entre un daño prerrenal y la presencia de daño renal estructural, se dividió al grupo de casos (n=71) en dos subgrupos: aquellos con falla prerrenal (n=22) definido lo anterior como retorno a valores basales o normalización de los valores de creatinina sérica en comparación con un subgrupo de daño estructural de otro origen (No prerrenal) (n=49), que no mostraron éste comportamiento de mejoría. En la tabla 3, se comparan las características basales de éstos dos subgrupos. Entre las características diferentes entre éstos dos grupos, es significativa en el grupo prerrenal una mayor presencia de diabetes mellitus, una tasa de filtrado glomerular estimado mayor, menores niveles de proteinuria, una mayor cantidad de infecciones concomitantes y una mejor recuperación a los 3 meses después del evento de disfunción, características esperables en un grupo con disfunción del injerto cuya causa es prerrenal. Al comparar los niveles totales y corregidos por creatinina urinaria de los tres biomarcadores urinarios en ambos grupos (prerrenal y no prerrenal), se observó un valor significativamente mayor en todos los casos en el grupo de afección no prerrenal, exceptuando los niveles totales urinarios de IL-18. En la figura 6 se establecen las curvas ROC respecto a cada biomarcador y su capacidad para discriminar disfunción de causa prerrenal. El área bajo la curva para NGALu/Cru, IL-18u/Cru y HSP 72u/Cru fueron 0.80 (95% CI,0.65-0.95;P:0.001), 0.71 (95% CI,0.53-0.89,P:0.02) y 0.81 (95% IC, 0.66-0.95, P:0.001). Unos niveles de NGALu/Cru mayores de 22.4 mcg/cL tuvieron una sensibilidad de 75.8% y una especificidad de 76.9% para predecir disfunción del injerto de causa prerrenal; en el caso de IL-18u/Cru, una cifra mayor 32.9 ng/cL, tuvo una sensibilidad de 76% y especificidad del 70%; para HSP-72u/Cru, un valor mayor a 0.08 ng/cL, la sensibilidad fue de 74% y la especificidad de 77%.

Tabla 3. Comparación del biomarcador entre disfunción del injerto por causa prerrenal y otras de disfunción del injerto (no prerrenal).

Variable	DISFUNCIÓN		
	Prerrenal (22)	No prerrenal (49)	P
Núm. De casos (% del total con disfunción)	22 (30.9%)	49 (69%)	
Edad (años) (min-max)	40.9 (18-62)	37.6 (18-65)	0.30
Hombres (%)	12 (55%)	20 (±40.8%)	0.28
IMC (kg/m ²) (±D.E.)	24.7 (±4.4)	23.8 (±4.1)	0.40
Tiempo de trasplante en años (±D.E.)	5.3 (±5.0)	5.2 (±5.0)	0.79
Trasplante de donador cadavérico (%)	10 (45%)	12 (25%)	0.12
Comorbilidades:			
Diabetes Mellitus	7 (32%)	5 (10%)	0.03
Hipertensión Arterial	12 (55%)	33 (67%)	0.30
Creatinina sérica basal mg/dL (±D.E.)	1.3 (0.4)	1.5 (±0.6)	0.02
Filtración Glomerular Estimada Basal(±D.E.)	68.5 (±28.4)	51.8 (±22.7)	0.015
Creatinina sérica al ingreso mg/dL (± D.E.)	2.0 (±0.68)	2.8 (± 1.5)	0.02
AKIN (% del subgrupo)			
1	19 (86%)	38 (78%)	0.39
2	2 (9%)	3 (6%)	0.65
3	1 (4%)	8 (16%)	0.65
Leucocitos séricos*103mm	9.5 (±5)	8.4(±3.9)	0.35
Infección al ingreso (% del subgrupo)	18 (82%)	14 (29%)	0.000
Na sérico (±D.E.)	133 (±4.5)	135.8 (±3.9)	0.48
K sérico (±D.E.)	4.6 (±0.6)	4.5 (±0.7)	0.80
CO ₂ sérico (±D.E.)	19 (±4.7)	19 (±3.5)	0.77
P sérico (±D.E.)	3.3 (±1.2)	3.8 (±1.1)	0.19
Examen general de orina: Dens. Urinaria	1.020 (±0.009)	1.011 (±0.010)	0.14
Prot _u / Cr _u	0.03 (±0.1)	0.36 (±0.75)	0.04
Sedimento _u (No total)			
Cilindros granulosos	1(escasos)	4 (8%)	0.71
Eritrocituria dismórficos	0	2 (4%)	
Leucocituria	0	2 (4%)	
FeNa	0.7 (±1.0)	1.7 (±2.0)	0.03
Ultrasonido renal (% del subgrupo)			
Dilatación	3 (14%)	15 (31%)	0.17
Hipoperfusión	4 (18%)	18 (37%)	0.68
Biopsia renal: total (% del subgrupo)	5 (23%)	42 (86%)	0.000
Fibrosis Intersticial			
<6%	1	4	0.47
6-25%	2	6	0.43
26-50%	1	16	0.42
>50%	1	16	0.68
Atrofia tubular			
<6%	2	3	0.24
6-25%	1	13	0.61
26-50%	1	11	0.76
>50%	1	15	0.48
Creatinina sérica al egreso mg/dL (± D.E.)	1.3 (±0.4)	2.5 (±0.4)	0.009
Biomarcadores Urinarios			
NGAL U ng/mL (± D.E.)	71 (±85)	124.2 (±100.1)	0.028
NGAL u/CrU mcg/cL (± D.E.)	57 (±131)	251.2 (±255.8)	0.002
IL-18 u pg/mL (± D.E.)	129 (±241)	146.9 (±246.5)	0.70
IL-18 u/CrU ng/cl (± D.E.)	91.9 (±165)	234.6 (±320.9)	0.055
HSP-72 u ng/mL (± D.E.)	0.24 (±0.35)	0.62(±0.97)	0.035
HSP-72u/Cru ng/cL (± D.E.)	0.17 (±0.30)	1.93 (±4.97)	0.087

Abreviaturas: D.E.: Desviación estándar, Prot_u/ Cr_u:relación proteinuria/creatinuria. *T de Student para variables continuas o χ^2 para variables categóricas; la comparación es entre grupo con disfunción vs sin disfunción. La tasa de filtrado basal se expresó en mL/min/1.73m²

Figura 6. Comparación del biomarcador entre disfunción del injerto por causa prerrenal versus no prerrenal.



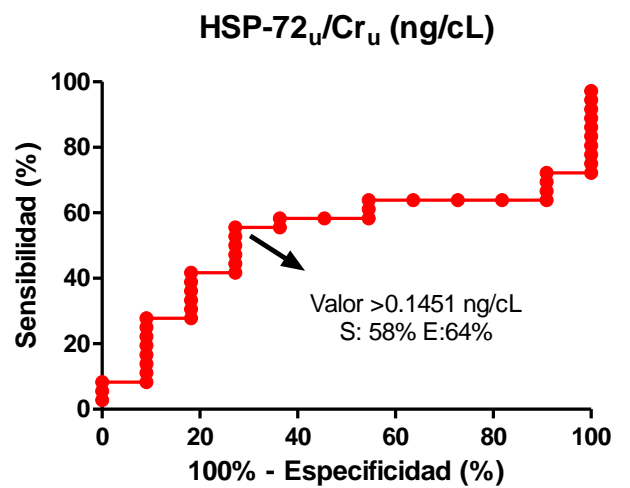
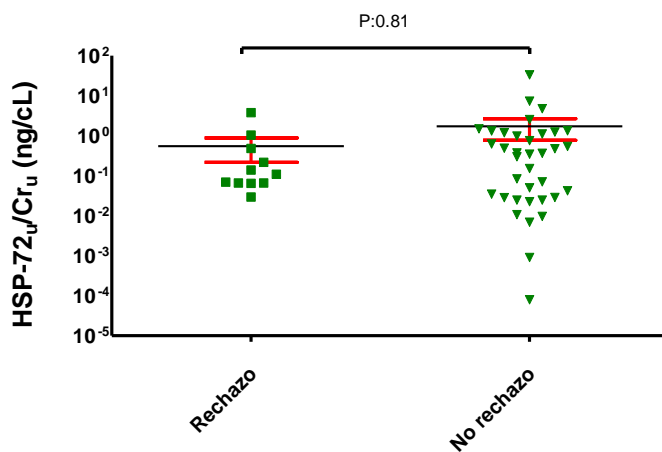
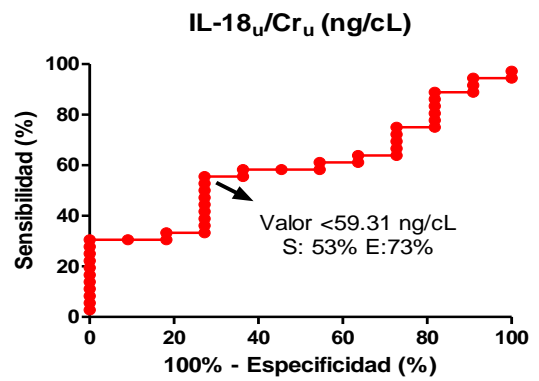
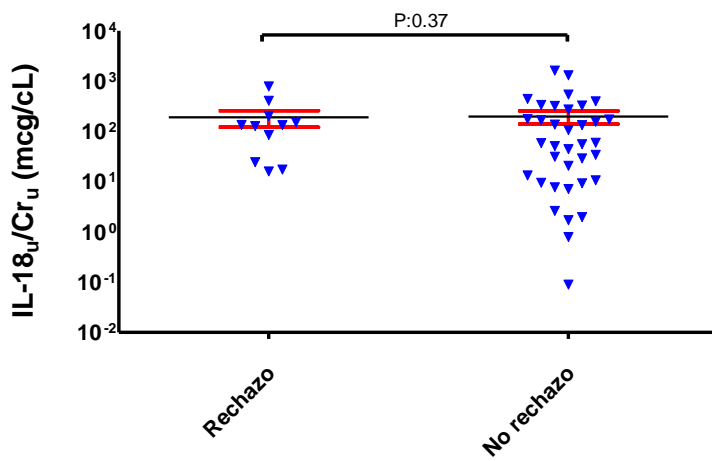
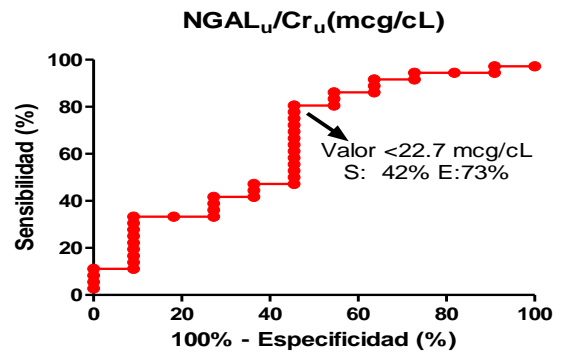
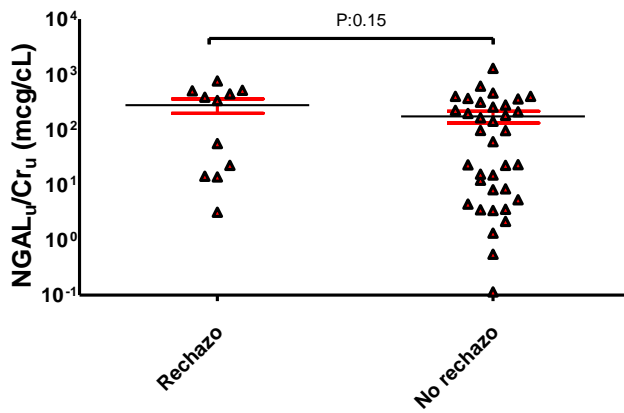
VI.D. BIOMARCADORES URINARIOS Y SU CAPACIDAD PARA DISCRIMINAR DISFUNCIÓN DEL INJERTO CAUSADA POR RECHAZO INMUNOLÓGICO.

En la tabla 4 se muestra la comparación entre los casos de pacientes con rechazo inmunológico y el resto con disfunción debida a otra causa. Como se aprecia en la tabla, el grupo con rechazo inmunológico se caracteriza por tener una edad menor, una menor frecuencia de diabetes mellitus, una función renal previa al evento de disfunción significativamente inferior, un mayor grado de disfunción (AKIN 3 en 25% de los casos) y una menor tasa de recuperación de la función renal al concluir el seguimiento a los tres meses. Todos los pacientes de este grupo se encontraban bajo tratamiento con prednisona, inhibidor de calcineurina (Ciclosporina o Tacrolimus) y antiproliferativo (Mofetil Micofenolato o Azatioprina). En la figura 7, se muestran las curvas ROC de cada biomarcador para discriminar rechazo inmunológico. El área bajo la curva para NGAL, IL-18 y HSP 72 fueron 0.65 (95% CI,0.45-0.84;P:0.15), 0.59 (95% CI,0.42-0.76,P:0.37) y 0.52 (95% IC, 0.35-0.67, P:0.80) respectivamente. El desempeño de los tres marcadores, tanto en sensibilidad y especificidad, siempre fue menor al 75% en ambos parámetros.

Tabla 4. Comparación del biomarcador entre disfunción del injerto por causa de rechazo inmunológico y otras de disfunción del injerto.

Variable	DISFUNCIÓN		
	Rechazo	No Rechazo	P
Núm. De casos (% del total con disfunción)	20 (28.1%)	51 (71.8%)	
Edad (años) (min-max)	34.4 (19-65)	40.2 (18-65)	0.053
Hombres (%)	8 (40%)	24 (47%)	0.59
IMC (kg/m2) (±D.E.)	24 (±3.9)	24.1 (±5.5)	0.95
Tiempo de trasplante años (±D.E.)	5.1 (±4.0)	5.1 (±5.6)	0.97
Trasplante de donador cadavérico (%)	4 (20%)	19 (38%)	0.16
Comorbilidades: Diabetes Mellitus	1 (5%)	11 (22%)	0.094
HAS	13 (65%)	32 (41%)	0.86
Creatinina sérica basal (±D.E.)	1.7 (±0.6)	1.4(±0.5)	0.65
Filtración Glomerular Estimada	47 (±15.7)	60.7 (±25.3)	0.008
Creatinina sérica al ingreso	3.0 (±1.8)	2.3 (±1.3)	0.17
AKIN (% del subgrupo)			
1	14 (70%)	43 (84%)	0.17
2	1 (5%)	4 (8%)	0.67
3	5 (25%)	4 (8%)	0.05
Causa de rechazo inmunológico			
Rechazo humoral	7 (35%)		
Rechazo celular	9 (45%)		
Rechazo celular y humoral	4 (20%)		
Infección al ingreso (% del subgrupo)	1 (5%)	31 (61%)	0.000
Na sérico (±D.E.)	137 (±3.0)	135.3 (±19.6)	0.17
K sérico (±D.E.)	4.5 (±0.8)	4.5 (±0.9)	0.58
CO ₂ sérico (±D.E.)	19 (±2.1)	19 (±4.3)	0.75
P sérico (±D.E.)	3.7 (±0.9)	3.5 (±1.2)	0.03
Examen general de orina: Dens. Urinaria	1.009 (±0.006)	1.016(±0.014)	0.47
Prot _u / Cr _u	0.04 (±0.1)	0.33(±0.8)	0.09
Sedimento _u (No total) Cilindros granulosos	0	5(10%)	0.43
Eritrocituria dismórfica	1	1(2%)	
FeNa	1.1 (±0.7)	1.3(±1.8)	0.37
Ultrasonido renal (% del subgrupo)			
Dilatación	4 (20%)	14(27%)	0.62
Hipoperfusión	7 (35%)	15(29%)	0.33
Biopsia renal: total (% del subgrupo)	20 (100%)	27 (53%)	0.23
Fibrosis Intersticial <6%	1	4	0.28
6-25%	4	4	0.45
26-50%	9	8	0.28
>50%	6	11	0.76
Atrofia tubular <6%	0	5	0.042
6-25%	6	9	0.98
26-50%	7	5	0.20
>50%	7	9	0.91
Creatinina sérica final mg/dL (± D.E.)	3.15 (± 2.8)	1.7(± 2.0)	0.093
Filtración Glomerular estimada ((± D.E.)	29.3 (± 16.2)	50.6(± 19.2)	0.002
Biomarcadores Urinarios			
NGAL U ng/mL (± D.E.)	131 (±99)	98.5 (±100.8)	0.23
NGAL u/CrU mcg/cL (± D.E.)	277 (±266)	173.3 (±249.5)	0.27
IL-18 u pg/mL (± D.E.)	136 (±155)	143.1(±273.6)	0.90
IL-18 u/CrU ng/cL (± D.E.)	190.4 (±228)	197 (±343.8)	0.94
HSP-72 u ng/mL (± D.E.)	0.34 (±0.57)	0.57 (±1.08)	0.25
HSP-72u/Cru ng/cL (± D.E.)	0.55 (±1.11)	1.71 (±5.5)	0.25

Figura 7. Comparación del biomarcador entre disfunción del injerto por causa rechazo inmunológico versus otras.



VI.E. BIOMARCADORES URINARIOS Y SU CAPACIDAD PARA DISCRIMINAR DISFUNCIÓN DEL INJERTO POR OTRAS CAUSAS.

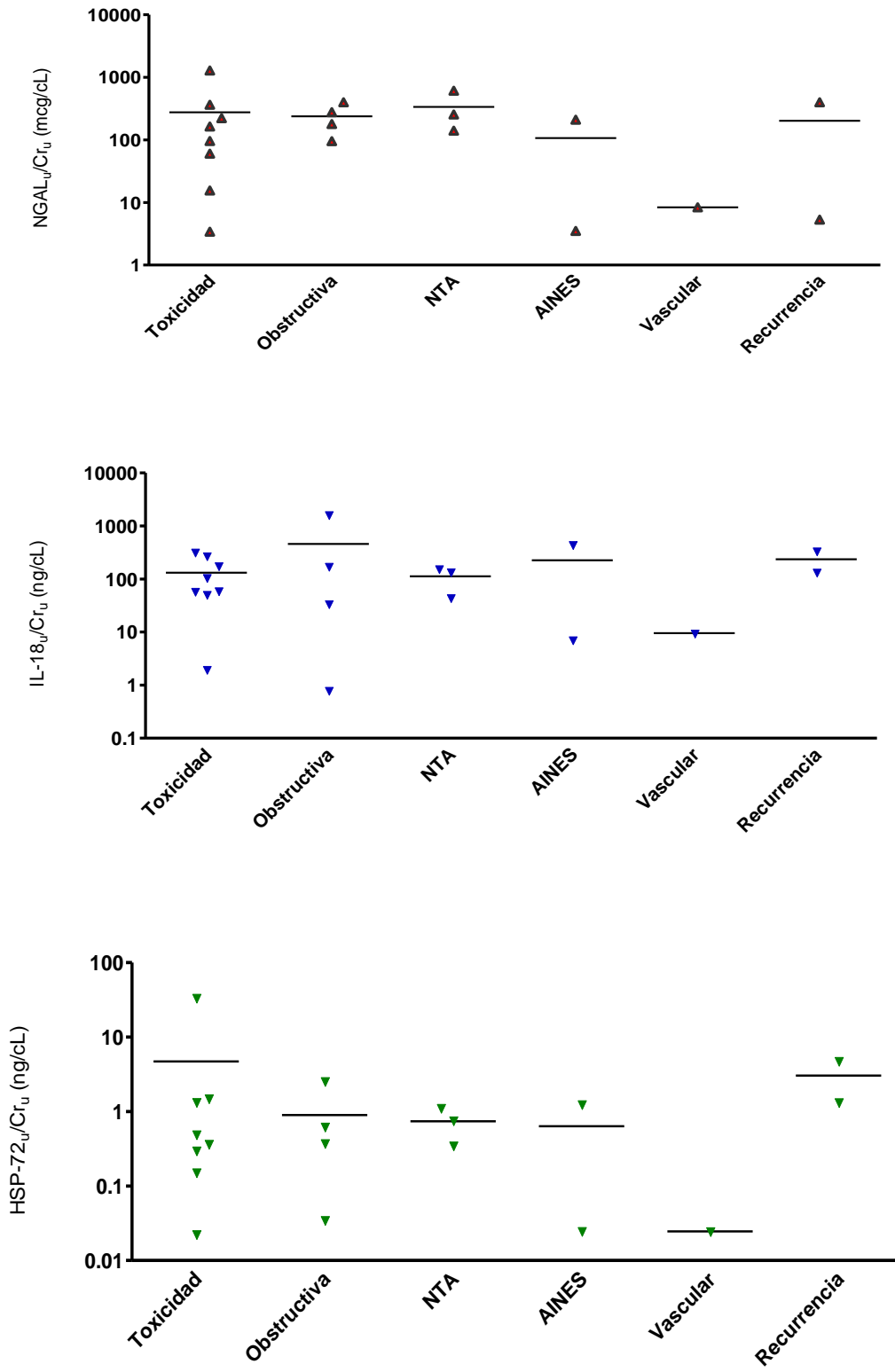
Del total de 71 casos analizados, 29 casos tuvieron etiologías diversas. Sus características se muestran en la tabla 5. Destacan 9 casos de toxicidad por inhibidores de calcineurina, 8 de ellos con hallazgos histopatológicos confirmatorios. El caso restante fue asignado a este rubro al encontrarse niveles de inhibidor muy elevados y disfunción renal, la cual desapareció al disminuir la dosis. Entre otros diagnósticos, también destacan 7 casos de disfunción del injerto por nefropatía obstructiva, de los cuales en solo 4 se encontró dilatación en el estudio ultrasonográfico. En tres de los casos restantes, se realizó el diagnóstico por biopsia. En la figura 8 se muestran graficados los tres biomarcadores respecto al grupo de disfunción. No se encontraron diferencias significativas entre los niveles de los biomarcador y los grupos.

Tabla 5. Comparación del biomarcador entre disfunción del injerto por causas varias.

Variable	DISFUNCIÓN DEL INJERTO						
Diagnóstico (Número de casos)	Toxicidad(9)	Obstructiva(7)	NTA (4)	AINES (2)	Vascular (2)	Recurrencia(2)	F.I. y A.T.(3)
Núm. De casos (% del total)	9 (12.7%)	7 (9.8%)	3 (4.2%)	2 (2.8%)	2 (2.8%)	2 (2.8%)	3 (5.6%)
Edad (años) (min-max)	38.1 (18-44)	41.7 (19-52)	42.7 (20-51)	40.5 (36-41)	30.5 (29-36)	49.5 (49-51)	37.8 (20-40)
Hombres (%)	3 (50%)	1 (14%)	2 (67%)	1 (50%)	2 (100%)	1 (50%)	2 (50%)
IMC (kg/m2) (±D.E.)	21.5 (±1.6)	25.2 (±4.6)	19.9(±7.2)	24.4(±0.2)	27.5(±4.2)	26.7(±7.7)	25.1(±1.6)
Tiempo de trasplante (±D.E.)	2.4(±3.4)	3.3(±5.5)	6.5(±9.3)	16.7(±8.8)	2.6(±3.3)	7.1(±6.2)	6.4(±4.9)
Trasplante de donador cadavérico(%)	3(33%)	4 (57%)	1 (33%)	0 (0%)	0 (0%)	0 (0%)	1 (25%)
Comorbilidades:							
DM	1 (11%)	1 (16.7%)	0	2	0	0	0
HAS	6 (67%)	4 (57%)	3	1	2	2	2
Creatinina sérica basal (±D.E.)	1.3 (0.3)	1.2 (0.4)	1.5 0.4)	1.8(0.6)	1.4 (0.4)	1.7 (0.1)	1.9 (1.3)
Filtración Glomerular estimada	56(±12.4)	57.7(±19)	56.8(±25.4)	41.6(±23.5)	66(±18.9)	41.6(±12)	54.2(±30)
Creatinina sérica al ingreso AKIN (% del subgrupo)	2.2(±0.9)	3.1(±3.1)	2.34(±0.63)	2.9(±1.5)	2.3(±0.5)	2.4(±0.1)	2.4(±1.3)
1	7 (78%)	6 (86%)	3	1	2	2	3
2	2 (22%)	0	0	0	0	0	0
3	0	1 (14%)	0	1	0	0	1
Infección al ingreso (%)	5 (55%)	1 (14%)	3 (100%)	0 (0%)	1 (50%)	0 (0%)	3 (75%)
K _s (±D.E.)	4.1 (±0.4)	5.4 (±0.6)	4.0 (±0.75)	5.2 (±1.1)	4.7(±0.3)	5 (±0.4)	4.5 (±1.0)
CO ₂ S (±D.E.)	18 (±2.7)	18 (±3.1)	17 (±3.1)	22 (±1.4)	18 (±1.4)	19.5(±0.7)	21 (±5.9)
EGO: Dens. Urinaria	1.013 (±0.010)	1.011 (±0.004)	1.018 (±0.007)	1.006 (±0.004)	1.006 (±0.001)	1.013	1.007 (±0.004)
Prot _u / Cr _u (±D.E.)	0.5(±1.3)	0.14(±0.7)	0.5 (±0.8)	0.3 (±0.4)	0	2.2(±1.6)	0.1 (±0.1)
Sedimento_u (No total)							
Cilindros granulosos	1	0	3	0	0	0	0
F _e Na (±D.E.)	0.6 (±0.5)	2.7(±4.2)	1.4 (±1.3)	2.3 (±1.6)	0.9 (±0.2)	2.1 (±0.1)	3.2 (±2.8)
US renal (% del subgrupo)							
Dilatación	3 (33%)	4 (57%)	1 (33%)	1 (50%)	0	0	2 (50%)
Hipoperfusión	3 (33%)	4 (57%)	1 (33%)	0	2 (100%)	1 (50%)	0
Biopsia renal: total (% del subgrupo)	8 (89%)	4 (57%)	1 (33%)	1 (50%)	2 (100%)	2 (100%)	4 (100%)
Fibrosis Intersticial							
<6%	0	1	0	1	1	0	0
6-25%	0	1	0	0	1	0	0
26-50%	4	1	0	0	0	2	0
>50%	4	1	1	0	0	0	4
Atrofia tubular							
<6%	0	1	0	1	1	0	0
6-25%	5	1	0	0	1	0	0
26-50%	2	1	0	0	0	1	0
>50%	1	1	1	0	0	1	4
Creatinina sérica final (±D.E.)	1.5 (±0.3)	1.6 (±2.9)	1.6 (±0.3)	2.1 (±0.3)	1.1 (±0.4)	2.1 (±0.3)	2.2 (±1.03)
TFG final (±D.E.)	48 (±9)	28(±21)	42 (±4)	32 (±5)	47 (±12)	33 (±14)	36 (±17)
NGAL U ng/mL(±D.E.)	131 (±113)	125(±111)	236.1 (±67)	55.6(±77)	29(±35)	103(±138)	83.0(±119)
NGALu/CrU mcg/cL(±D.E.)	276 (±425)	238 (±131)	336 (±246)	107 (±147)	8.39	202(±278)	231(±182)
IL-18 u pg/mL(±D.E.)	93(±118)	256(±515)	82(±18)	117(±162)	9.3(±6)	144(±36)	261(±453)
IL-18 u/CrU ng/cL(±D.E.)	131(±115)	459(±782)	112(±60)	226(±309)	9.56	236(±144)	574(±670)
HSP-72 u ng/mL(±D.E.)	1.04(±1.61)	0.43(±0.79)	0.55(±0.10)	0.24(±0.32)	0.06	1.78(±0.86)	1.40(±2.57)
HSP-72u/Cru ng/cL(±D.E.)	4.7(±11.64)	0.90(±1.13)	0.74(±0.38)	0.64(±0.86)	0.02	3.04(±2.43)	2.9(±3.9)

Abreviaturas: Toxicidad: toxicidad por inhibidores de calcineurina; NTA: necrosis tubular aguda; Vascular: disfunción del injerto por compromiso vascular, 1 caso con estenosis vascular y otro con fístula intrarrenal; F.I. y A.T.: Fibrosis intersticial y atrofia vascular sin etiología específica; Fibrosis Interst.:fibrosis intersticial; Atrofia tub.: Atrofia tubular, TFG: tasa de filtrado glomerular, expresado en mL/min/1.73m². *:% del total de casos.

Figura 8. Comparación del biomarcador entre disfunción del injerto por causas diversas.



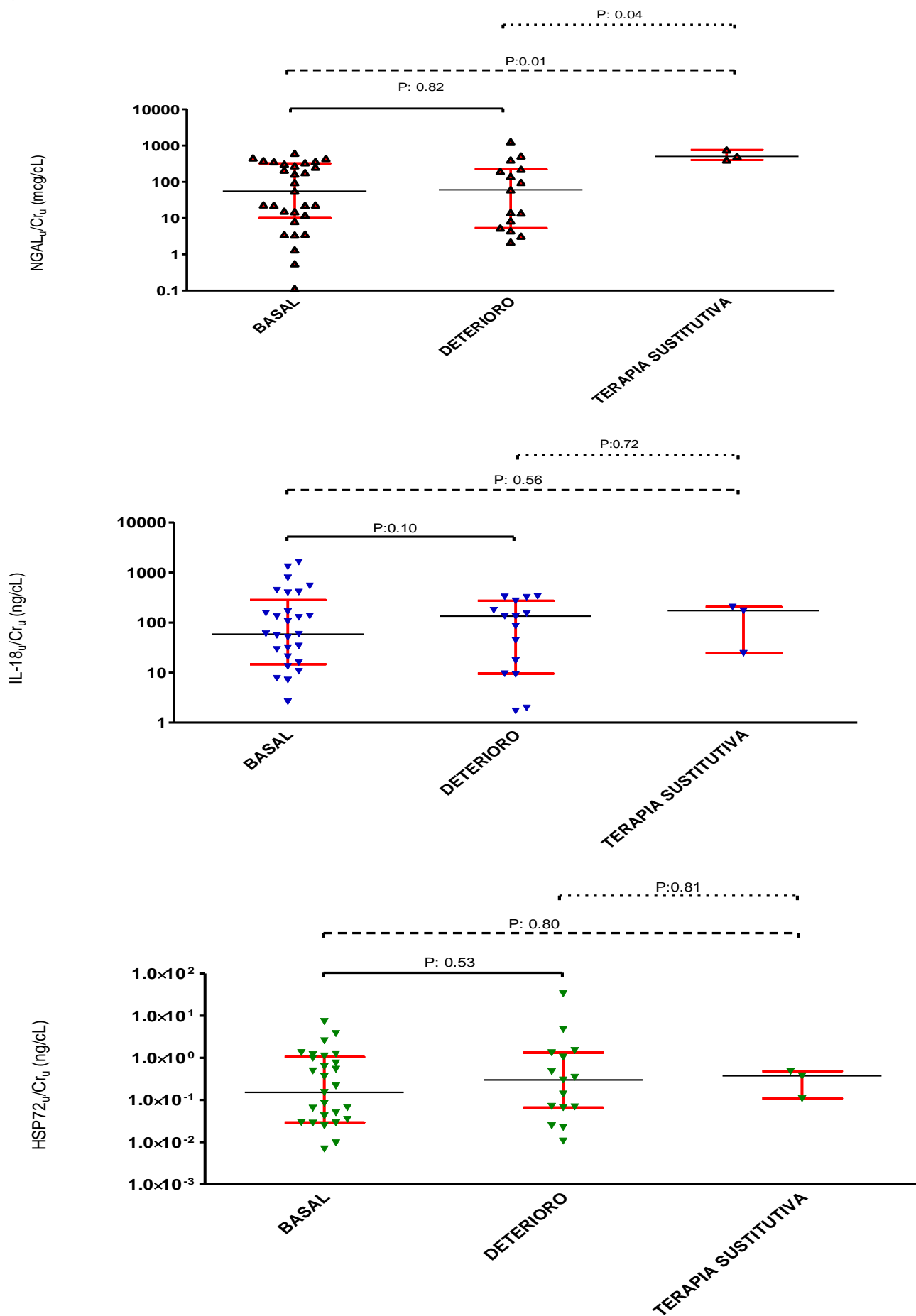
En la figura se aprecian los valores de cada biomarcador respecto a la etiología con sus medias. Ninguna de las diferencias resultó significativa. NTA: Necrosis Tubular Aguda. AINES: Disfunción atribuida al uso de antiinflamatorios no esteroideos.

VI.E. BIOMARCADORES URINARIOS Y PRONÓSTICO.

En la figura 9, se muestra la relación entre los niveles de biomarcador y desenlace del evento de disfunción a los tres meses, sin considerar la etiología. Para NGALu/Cru, a pesar de una muestra pequeña, se mostró una diferencia estadísticamente significativa (P: 0.04) entre los pacientes que hicieron disfunción y terminaron en terapia sustitutiva respecto a los que regresaron a su basal o tuvieron un deterioro en su tasa de filtrado glomerular estimado sin haber requerido terapia sustitutiva a los tres meses. En el caso de IL-18, se encontró significancia estadística únicamente entre los pacientes que requirieron terapia sustitutiva y los que regresaron a su función renal basal al final del seguimiento. Respecto a HSP-72, no se observó ninguna diferencia entre los tres grupos.

Se analizaron subgrupos de etiologías específicas de disfunción y su correlación con los biomarcadores. En el caso de disfunción del injerto de causa prerrenal, los valores de NGAL, NGALu/Cru, IL-18 Y HSP-72 no tuvieron una correlación con el desenlace. De los 22 casos secundarios a causa prerrenal, 18 (82%) regresaron a su función basal previa a los 3 meses. En grupo de rechazo inmunológico, se observó el mismo comportamiento observado en el grupo total de pacientes con disfunción, existiendo una diferencia estadísticamente significativa en los niveles de los tres biomarcadores entre aquellos pacientes que regresaron a su función renal basal y aquellos que a los tres meses se encontraban en terapia sustitutiva.

Figura 9. Desenlace a los tres meses y niveles de biomarcadores.



IX. DISCUSIÓN

En este estudio de prueba diagnóstica, encontramos que si bien los valores absolutos y corregidos por creatinina urinaria de los biomarcadores NGAL, IL-18 y HSP-72 se encuentra elevados en pacientes trasplantados con disfunción del injerto, su medición tiene una utilidad discreta para diferenciar las causas de la disfunción. Estos biomarcadores se han utilizado principalmente para predecir y detectar de manera muy temprana disfunción renal después de cirugía cardíaca²⁹, para predecir función retardada después del trasplante^{30, 31} o sobrevida del injerto a largo plazo³². Este es el primer estudio que mide dichos biomarcadores en un contexto clínico de pacientes trasplantados con disfunción del injerto y su utilidad para diferenciar el diagnóstico, partiendo de la premisa que toda detección y tratamiento temprano de disfunción del injerto tendrá un efecto positivo en la sobrevida del trasplante.

El contexto clínico del paciente trasplantado con disfunción aguda en la mayoría de las veces es complejo, como se refleja en la cifra de pacientes excluidos del protocolo, que alcanzó hasta casi una quinta parte. El deterioro de la función renal puede ser de muy diversos orígenes y con frecuencia es multifactorial y difícil de tratar o modificar, como lo representan estos casos, en donde se mezcla rechazo inmunológico, toxicidad por inhibidores de calcineurina o nefritis por virus BK o aquellos en los que coexisten factores hemodinámicos y factores inmunológicos.

Una de las razones por las cuales se ha excluido a la población trasplantada de los ensayos clínicos con biomarcadores tiene que ver con la teoría del *“bosque incendiándose”*, o en otras palabras, asumir que los valores de biomarcadores tubulares se van a encontrar elevados de manera sostenida a consecuencia de

una inflamación constante a nivel de células tubulares viables, una característica atribuida al infiltrado inflamatorio intersticial observado comúnmente en pacientes con trasplante renal ³³. Contrario a esto, en algunos reportes aislados con medición de NGAL urinaria, se ha descrito que los valores del biomarcador son normales en trasplante con tubulitis subclínica.³⁴ Como se describe en el estudio, nosotros encontramos que los niveles de biomarcadores en pacientes con un año de trasplantados y sin patología aguda alguna (subgrupo de controles trasplantados al año), son similares a los pacientes sanos donadores sin anomalías en la biopsia renal al momento de donación (subgrupo de donadores con biopsia al tiempo 0) y cuando se compara con trasplantados que tienen el mismo tiempo de evolución y con disfunción del injerto, el biomarcador resulta considerablemente elevado. Probablemente sea cierto que en algunas enfermedades la célula tubular continuamente está expuesta a estímulos nocivos, pero creemos que este modelo no debiera aplicar a población con trasplante renal. El estudio nos demuestra, que un trasplante renal normoevolutivo no tiene una secreción aumentada de biomarcadores (no hay “*incendio*”), por lo menos durante los primeros 23 meses después del evento quirúrgico, razón por la que la medición del biomarcador pudiera ser útil cuando resulta elevada, pues correlaciona con la presencia de disfunción. Existe consistencia con otros reportes en otras poblaciones (lupus eritematoso, insuficiencia cardíaca, nefrotoxicidad), donde valores de NGAL mayores a 50 ng/mL fueron predictores y diagnóstico para el falla renal aguda.³³

Otro de los paradigmas existentes en la literatura con respecto a los biomarcadores en población trasplantada, sobre todo NGAL, es la relacionada con el grado de disfunción renal. A mayor disfunción, mayor nivel urinario del biomarcador. Esto se refleja así en el trabajo de Mitsnefes ³⁵ donde existía una

correlación aceptable entre los niveles de NGAL y cistatina C en niños con tasa de filtrado glomerular estimada mayor a 60 mL/min/1.73m² y con los trabajos de Brunner ³⁶, en donde se encuentra una correlación entre el grado de proteinurias mayores a 3 gramos día y los niveles del biomarcador. Como se muestra en los resultados, al parecer el comportamiento del biomarcador es diferente, cuando se trata de pacientes con filtración glomerular estimada menor o cercana a 60mL/min/1.73m² o cuando los niveles de proteinuria son menores de 3 g/g Cr_u. A pesar del número limitado de la muestra, resulta evidente que la elevación de los tres biomarcadores no depende del grado de proteinuria o del grado de disfunción al momento del diagnóstico. Pacientes sin proteinuria significativa en el índice pueden expresar una cantidad muy elevada de biomarcador. Tampoco el grado de fibrosis o atrofia tubular existentes en la biopsia modifica los niveles del biomarcador, como se explicó en los resultados. A este respecto, es interesante recalcar un hecho: en ausencia de fibrosis, es decir, menos del 5%, no se eleva considerablemente ninguno de los tres biomarcadores, hecho que apoyaría que un trasplante con una evolución normal, no debiera elevar ningún biomarcador. Al contrario, cuando ocurre la fibrosis, la magnitud de este evento no correlaciona con los niveles del biomarcador, sino que debe haber otros factores que modifiquen su expresión y probablemente estén más relacionados a la causa de la fibrosis y no a la fibrosis en sí. La fibrosis intersticial-atrofia tubular y la elevación de los biomarcadores urinarios aquí explorados son fenómenos concomitantes, pero es poco probable que sean causales, pues no existe una correlación entre las magnitudes de los dos eventos.

Asumiendo esta dos premisas, (1) la disfunción eleva los biomarcadores y no el trasplante por sí sólo y (2) esta elevación no depende de la cantidad de proteinuria ni del grado de disfunción o fibrosis-atrofia, el siguiente paso era conocer si existía

un “perfil” de elevación de biomarcadores que fuera útil para identificar en una sola medición la causa de la disfunción, sin necesidad de biopsia u otros estudios paraclínicos.

Los resultados de las curvas ROC para cada uno de los biomarcadores muestran un desempeño aceptable para diagnosticar una causa prerrenal. Sin embargo, es muy importante considerar que la población a la que le fue asignada este diagnóstico, se trataba de aquella en donde los datos clínicos clásicos para disfunción prerrenal se encontraban presentes: generalmente infectados, un grado de disfunción leve a moderado, fracciones excretadas de sodio menores al 1% y una evolución clínica adecuada. ¿Cuál es la causa de la elevación menor de los tres biomarcadores cuándo la causa es prerrenal? La razón más probable es la ausencia de daño tubular estructural o que la gravedad del daño tubular en este grupo fue tan leve, que las elevaciones de los niveles urinarios de los biomarcadores fueron considerablemente menores cuando se comparan con otras causas de disfunción, sobre todo con los que recibieron el diagnóstico de necrosis tubular aguda, que podría considerarse el espectro más grave de una disfunción hemodinámicamente mediada que en un inicio fue prerrenal.

Es claro que los tres biomarcadores no tienen ningún papel en predecir el diagnóstico de un rechazo inmunológico, pues no existieron diferencias entre el grupo con rechazo y el de disfunción por otras causas. Contrario a lo publicado Schaub ³⁸, el grado de tubulitis o disfunción no correlacionó con la magnitud de la elevación de los biomarcadores en pacientes trasplantados.

Es difícil valorar el comportamiento de los biomarcadores en otras causas de disfunción debido al tamaño de la muestra. Aunque pudiera haber alguna tendencia entre aquellos con atrofia y fibrosis tubular y los niveles de HSP-72 o en

los pacientes con necrosis tubular aguda y NGAL, el número limitado de casos impide hacer una apreciación confiable.

Aunque el estudio no fue diseñado para pronóstico, es muy interesante el desenlace y los niveles de biomarcadores, sobre todo en NGAL, pues los niveles de este biomarcador mostraron diferencias significativas entre los grupos que regresaron a su basal, deterioraron moderadamente o deterioraron hasta requerir terapia sustitutiva, algo que está en concordancia con lo informado en varios estudios ya citados.

Recientemente Waikar³⁷, señaló los inconvenientes de normalizar los niveles de biomarcadores en base a la creatinina urinaria, dado que el comportamiento en la secreción tubular de la creatinina puede ser totalmente diferente a otras moléculas tubulares como NGAL. Sin embargo, en el estudio, el análisis de los pacientes con disfunción, no hubo diferencias entre la utilización de los niveles urinarios totales del biomarcador o la corrección para con la creatinina urinaria.

El estudio tiene varias debilidades, entre las más importantes se encuentra el tamaño de la muestra y la falta de definiciones estandarizadas para definir cada grupo etiológico. Aunque todos los casos con rechazo tienen biopsia y una estandarización para el diagnóstico, otras entidades no tienen criterios de clasificación claros en la literatura. Es interesante utilizar un mismo diseño y utilizar otras moléculas en estudio, como granzima B, para ver si su comportamiento pudiera predecir rechazo inmunológico.

¿Podría ser aconsejable utilizar alguno de los tres biomarcadores en un contexto clínico de consulta o urgencias? Por lo menos, al momento del diagnóstico en pacientes trasplantados, todo indica que los nuevos biomarcadores urinarios no enriquecen la información que nos ofrecen nuestros biomarcadores “tradicionales” (parámetros clínicos, creatinina, examen general de orina, fracción

excretada de sodio, biopsia renal). Al final, parece ser que estas nuevas herramientas no son superiores a un abordaje clínico adecuado y ordenado.

X. CONCLUSIONES

La disfunción del injerto eleva los niveles de biomarcadores NGAL, IL-18 Y HSP-72 de manera significativa en comparación con controles sanos o pacientes con trasplante recientes. Sin embargo, su capacidad para discriminar la causa de la disfunción es limitada, teniendo un rendimiento más aceptable en aquellas de causa prerrenal, donde el área bajo la curva para $NGAL_u/Cr_u$, $IL-18_u/Cr_u$ y $HSP\ 72_u/Cr_u$ fueron 0.80 (95% CI,0.65-0.95;P:0.001), 0.71 (95% CI,0.53-0.89,P:0.02) y 0.81 (95% IC, 0.66-0.95, P:0.001). La medición de NGAL elevada al momento del diagnóstico de disfunción, tiene una mayor probabilidad de culminar con pérdida del injerto a los tres meses.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- ¹Danovitch, GM. Handbook of Kidney Transplantation. Lippincott Williams & Wilkins. 4ta Ed. EEUU. p1.
- ²Honore PM, Joannes-Boyau O, Boer W. The early biomarker of acute kidney injury: in search of the Holy Grail. *Intensive Care Med* 2007; 33: 1866-8.
- ³Ferguson MA, Vaidya VS, Bonventre JV. Biomarkers of nephrotoxic acute kidney injury. *Toxicology* 2008; 245: 182-93.
- ⁴American Society of Nephrology. American Society of Nephrology Renal Research Report. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1886-903.
- ⁵Parikh CR, Garg AX. Testing New Biomarkers for Acute Kidney Injury: Association, Prediction, and Intervention *Am J Kidney Dis* 2009; 54: 987-9
- ⁶Gutman S, Kessler LG. The US Food and Drug Administration perspective on cancer biomarker development. *Nat Rev Cancer* 2006; 6: 565-71.
- ⁷Han WK, Bonventre JV. Biologic markers for the early detection of acute kidney injury. *Curr Opin Crit Care* 2004; 10: 476-82.
- ⁸Bonventre JV. Diagnosis of acute kidney injury: from classic parameters to new biomarkers. *Contrib Nephrol* 2007; 156: 213-9.
- ⁹Renesto PG, Ponciano VC, Cenedeze MA, Saraiva Câmara NO, Pacheco-Silva A. High expression of Tim-3 mRNA in urinary cells from kidney transplant recipients with acute rejection. *Am J Transplant* 2007; 7: 1661-5.
- ¹⁰Manfro RC, Aquino-Dias EC, Joelsons G, Nogare AL, Carpio VN, Gonçalves LF. Noninvasive Tim-3 messenger RNA evaluation in renal transplant recipients with graft dysfunction. *Transplantation* 2008; 86: 1869-74.

- ¹¹Aquino-Dias EC, Joelsons G, da Silva DM, et al. Non-invasive diagnosis of acute rejection in kidney transplants with delayed graft function. *Kidney Int* 2008; 73: 877-84.
- ¹²Borregaard N, Sehested M, Nielsen BS, Sengeløv H, Kjeldsen L. Biosynthesis of granule proteins in normal human bone marrow cells. Gelatinase is a marker of terminal neutrophil differentiation. *Blood* 1995; 85: 812-7.
- ¹³Mishra J, Ma Q, Prada A, et al. Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 2534-43.
- ¹⁴Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Barasch J, Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel early urinary biomarker for cisplatin nephrotoxicity. *Am J Nephrol* 2004; 24: 307-15.
- ¹⁵Wagener G, Jan M, Kim M, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006; 105: 485-91.
- ¹⁶Cowland JB, Borregaard N. Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 1997; 45: 17-23.
- ¹⁷Cowland JB. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin is up-regulated in human epithelial cells by IL-1 beta, but not by TNF-alpha. *J Immunol* 2003; 171: 6630-9.
- ¹⁸Mitsnefes MM, Kathman TS, Mishra J, et al. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007; 22: 101-8.
- ¹⁹Wagener G, Jan M, Kim M, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 2006; 105: 485-91.

- ²⁰Malyszko J, Malyszko JS, Mysliwiec M. Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin correlates with kidney function in renal allograft recipients. *Clin Transplant* 2009; 23: 681-6.
- ²¹Hall IE, Yarlagadda SG, Coca SG, et al. IL-18 and urinary NGAL predict dialysis and graft recovery after kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21: 189-97.
- ²² Riordan M, Sreedharan R, Kashgarian M, Siegel NJ. Modulation of renal cell injury by heat shock proteins: lessons learned from the immature kidney. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2006 Mar;2(3):149-56.
- ²³Aufricht C. Heat-shock protein 72: molecular supertool? *Pediatr Nephrol* 2005; 20: 707-13.
- ²⁴ Fekete A, Vannay A, Vér A, et al. Sex differences in heat shock protein 72 expression and localization in rats following renal ischemia-reperfusion injury. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291: F806-11.
- ²⁵Healy DA, Daly PJ, Docherty NG, Murphy M, Fitzpatrick JM, Watson RW. Heat shock-induced protection of renal proximal tubular epithelial cells from cold storage and rewarming injury. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 805-12.
- ²⁶ Barrera-Chimal J, Pérez-Villalva R, Cortés-González C, Ojeda-Cervantes M, Gamba G, Morales-Buenrostro LE, Bobadilla NA. Hsp72 is an early and sensitive biomarker to detect acute kidney injury. *EMBO Mol Med*. 2011 Jan;3(1):5-20.
- ²⁷Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care* 2007; 11:R31.
- ²⁸ Han WK, Bailly V, Abichandani R, Thadhani R, Bonventre JV. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): A novel biomarker for human renal proximal tubule injury. *Kidney Int* 2002; 62: 237–244.

- ²⁹ Wagener G, Jan M, Kim M, et al. Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology*.2006;105:485-491.
- ³⁰ Parikh CR, Jani A, Mishra J, et al. Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2006;6:1639-1645.
- ³¹ Ronco C. N-GAL: diagnosing AKI as soon as possible. *Crit Care*. 2007;11:173-174.
- ³² Ferdau L., Stephan J.L., Wim van Oeveren, et al. Albuminuria, Proteinuria, and Novel Urine Biomarkers as Predictors of Long-term Allograft Outcomes in Kidney Transplant Recipients. *Am J Kidney Dis*. 2011; 57(5):733-743.
- ³³ Mori K, Nakao K: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin as the real-time indicator of active kidney damage.*Kidney Int* 71:967-970, 2007
- ³⁴ Schaub S, Mayr M, Honger G, et al: Detection of subclinical tubular injury after renal transplantation: Comparison of urine protein analysis with allograft histopathology. *Transplantation* 2007; 84:104-112,.
- ³⁵Mitsnefes MM, Kathman TS, Mishra J, et al: Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in children with chronic kidney disease. *Pediatr Nephrol* 2007; 22:101-108.
- ³⁶Brunner HI, Mueller M, Rutherford C, et al: Urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a biomarker of nephritis in childhood-onset systemic lupus erythematosus. *Arthritis Rheum* 2007; 54:2577-2584.
- ³⁷Waikar S, Sabbiseti V, Bonventre J, Normalization of urinary biomarkers to creatinine during changes in glomerular filtration rate. *Kidney Int*. 2010 September ; 78(5): 486–494.

³⁸ Schaub S, Mayr M, Honger G, et al: Detection of subclinical tubular injury after renal transplantation: Comparison of urine protein analysis with allograft histopathology. *Transplantation* 84:104-112, 2007.