



MICRO-RNAs COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO DE CÁNCER RENAL: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

Facultad Ciencias de la Salud

Trabajo de final de grado en Medicina

Curso académico 2021-2022

Autor: María José Mocholí Perez

Tutora: María Muriach Saurí

Agradecimientos

En primer lugar, me gustaría expresar mis agradecimientos a familiares y amigos por acompañarme durante este proceso, por su apoyo y dedicación.

En segundo lugar, agradecer también a mi tutora María, por su paciencia y su guía durante la elaboración del trabajo.

Por último, estoy especialmente agradecida a mi tío Chema, por inculcarme desde bien pequeña los valores de la medicina y enseñarme lo más bonito de esta profesión

Índice

1. HOJA DE AUTORIZACIÓN DEL TUTOR	5
2. ABREVIATURAS	6
3. RESUMEN	7
4. ABSTRACT	8
5. EXTENDED SUMMARY	9
6. INTRODUCCIÓN	12
6.1. Antecedentes	12
6.1.1. Cáncer renal	12
6.1.2. MicroRNAs	16
6.2. Justificación	18
6.3. Objetivos	19
7. METODOLOGÍA	20
7.1. Criterios de elegibilidad de estudios	20
7.2. Fuentes de información	20
7.3. Estrategia de búsqueda	21
7.4. Selección de estudios	22
7.5. Extracción y lista de datos	23
7.6. Riesgo de sesgo en los estudios individuales	23
7.7. Análisis y síntesis	24
8. RESULTADOS	25
8.1. Diagrama de flujo	25
8.2. Características de los estudios	26
8.3. Síntesis de los resultados	34
8.3.1. Factores sociodemográficos y clínicos	34
8.3.2. Objetivos, metodología y desenlaces	36
8.4. Análisis del riesgo de sesgo	44
9. DISCUSIÓN	46
9.1. Limitaciones del estudio	50
9.2. Implicaciones para la práctica clínica	51
10. CONCLUSIONES	52
11. BIBLIOGRAFÍA	53
12. ANEXO	60

Índice de tablas

Tabla 1. Clasificación TNM del Cáncer de Células Renales ⁴⁰	14
Tabla 2. Estadíaaje pTNM del Cáncer de Células Renales ⁴⁰	15
Tabla 3. Criterios de inclusión y exclusión	20
Tabla 4. Características de los estudios	27
Tabla 5. Análisis del riesgo de sesgo	45
Tabla 6. Búsqueda PUBMED.....	62
Tabla 7. Búsqueda SCOPUS y WOS	62
Tabla 8: miRNAs hallados en la revisión sistemática.	63
Tabla 9. Riesgo de sesgos Oto, J et al ²³	66
Tabla 10. Riesgo de sesgos Cochetti, G et al ²⁴	67
Tabla 11. Riesgo de sesgos Song, S et al ²⁵	68
Tabla 12. Riesgo de sesgos Li, G. et al ²⁶	68
Tabla 13. Riesgo de sesgos Mytsyk, Y et al ²⁷	69
Tabla 14. Riesgo de sesgos Fedorko, M et al ²⁸	69
Tabla 15. Riesgo de sesgos Huang, G et al ²⁹	70
Tabla 16. Riesgo de sesgos Liu, S et al ³⁰	71
Tabla 17. Riesgo de sesgos Lou, N et al ³¹	71
Tabla 18. Riesgo de sesgos Wang, C et al ³²	72
Tabla 19. Riesgo de sesgos Zhao, A et al ³³	73
Tabla 20. Riesgo de sesgos Redova, M et al ³⁴	73
Tabla 21. Riesgo de sesgos Xiao, C et al ³⁵	74
Tabla 22. Riesgo de sesgos Zhang, W et al ³⁶	75
Tabla 23. Riesgo de sesgos Iwamoto, H et al ³⁷	75
Tabla 24. Riesgo de sesgos Butz, H et al ³⁸	76
Tabla 25. Preocupación sobre la aplicabilidad de los resultados.....	77

1. HOJA DE AUTORIZACIÓN DEL TUTOR



TRABAJO DE FIN DE GRADO (TFG) - MEDICINA

EL/LA PROFESOR/A TUTOR/A hace constar su **VISTO BUENO** para la Defensa Pública del Trabajo de Fin de Grado y **CERTIFICA** que el/la estudiante lo ha desarrollado a lo largo de 6 créditos ECTS (150 horas)

TÍTULO del TFG: MICRO-RNAs COMO MÉTODO DIAGNÓSTICO DE CÁNCER RENAL: UNA REVISIÓN SISTEMÁTICA

ALUMNO/A: María José Mocholí Pérez

DNI: 23886821X

PROFESOR/A TUTOR/A: María Muriach Saurí

MARIA EDDA | Firmado digitalmente
MURIACH | por MARIA EDDA |
SAURI | MURIACH|SAURI
Fecha: 2022.05.02
12:15:23 +02'00'

Fdo (Tutor/a):

2. ABREVIATURAS

- **ADARs**: Adenosine Deaminases That Act on RNA.
- **ARN/RNA**: Ácido ribonucleico.
- **ARNm**: ARN mensajero
- **CCR/RCC**: Carcinoma de Células Renales.
- **CCRcc**: Carcinoma Renal de células claras.
- **CCRp**: Carcinoma de Células Renales papilar
- **CCRch**: Carcinoma de Células Renales cromóforo.
- **CCRncc**: Cáncer Renal no de células claras.
- **EAU**: European Association of Urology.
- **EVs**: Extracelular Vesicles.
- **Exo-miRNAs**: microRNAs exosomales.
- **IRC**: Insuficiencia Renal Crónica.
- **ISUP**: Sociedad Internacional de Urologos
- **MiRNAs**: MicroRNAs.
- **NGS**: Next-generation Sequencing.
- **OMS**: Organización Mundial de la Salud.
- **Pol**: Polimerasa.
- **Pri-miRNA**: RNA primario.
- **qPCR**: Quantitative Polymerase Chain Reaction (PCR cuantitativa).
- **Qt**: Quimioterapia.
- **Rt**: Radioterapia.
- **RT-qPCR**: Reverse Transcriptase Quantitative Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa con transcriptasa inversa).
- **snRNAs**: Small nuclear RNA.
- **snoRNAs**: Small nucleolar RNAs.
- **TRBP**: Transactivation-responsive RNA Binding Proteins.
- **VHL-HIF**: von Hippel-Lindau-Factor Inducible de Hipoxia.

3. RESUMEN

Introducción: El cáncer de células renales es un tumor maligno de difícil diagnóstico y con alta tasa de recaída y mortalidad. Recientemente, se ha descubierto que existen unas secuencias de ARN no codificante denominadas microRNAs presentes en fluidos biológicos que han revolucionado el diagnóstico de múltiples enfermedades, entre ellas el cáncer renal.

Objetivos: Revisar la evidencia y conocer la utilidad del diagnóstico de carcinoma de células renales a partir del análisis de microRNAs en plasma sanguíneo y orina.

Metodología: La búsqueda se realizó PubMed, Scopus y Web of Science, donde se seleccionaron dieciséis estudios para su análisis. Se elaboró una tabla con la extracción de datos y se evaluó el riesgo de sesgo con la herramienta QUADAS-2.

Resultados: Todos los estudios incluidos mostraron algún microRNA o conjunto de microRNAs con capacidad de diferenciar cáncer de células renales. La mayoría, se centraron en el subtipo de células claras, donde la combinación de miR-15b, miR-122 y miR-1271 fue la que presentó mayor capacidad de diferenciación, con un área bajo la curva de 0,96, sensibilidad del 100% y especificidad del 86%.

Sólo se encontraron dos microRNAs capaces de diferenciar tumores renales benignos, miR-144-3p y miR-15a con un área bajo la curva de 0,82 y 0,955 respectivamente.

MiR-210 fue el microRNA más estudiado y más de la mitad de los participantes con cáncer de células renales presentaron estadios precoces o bajo grado histológico.

Conclusión: Pese a que los microRNAs son biomarcadores prometedores para el diagnóstico, la estadificación y la valoración pronóstica de cáncer de células renales, serían necesarios más estudios que aportaran mayor calidad de la evidencia.

Palabras clave: Cáncer de células renales, microRNAs, orina, plasma sanguíneo, diagnóstico, pronóstico.

4. ABSTRACT

Introduction: Renal cell carcinoma is a malignant tumour that is difficult to diagnose and has a high rate of relapse and mortality. Recently, it has been discovered that non-coding RNA sequences called miRNAs present in biological fluids have revolutionised the diagnosis of multiple diseases, including renal cancer.

Objectives: To review the evidence and to know the usefulness of the diagnosis of renal cell carcinoma from the analysis of microRNAs in blood plasma and urine.

Methods: The search was performed in PubMed, Scopus, and Web of Science, where sixteen studies were selected for analysis. A data extraction table was prepared, and the risk of bias was assessed using the QUADAS-2 tool.

Results: All the included studies showed some microRNA or set of microRNAs with the ability to differentiate renal cell cancer. Most of them focused on the clear cell subtype, where the combination of miR-15b, miR-122 and miR-1271 showed the highest differentiation capacity, with an area under curve of 0.96, sensitivity of 100% and specificity of 86%.

Only two microRNAs were found to be able to differentiate benign kidney tumours, miR-144-3p and miR-15a with an area under curve of 0.82 and 0.955, respectively.

MiR-210 was the most studied microRNA and more than half of the participants with renal cell cancer had early stage or low histological grade.

Conclusions: Although microRNAs are promising biomarkers for the diagnosis, staging and prognostic evaluation of renal cell carcinoma, more studies are needed to provide higher quality evidence.

Keywords: Renal cell carcinoma, microRNAs, urine, blood plasma, diagnosis, prognosis.

5. EXTENDED SUMMARY

Introduction

RCC is a malignant tumour with an increasing incidence. There are numerous known risk factors such as lifestyle, genetic, biological, and environmental factors.

Their histological characteristics have allowed them to be classified into the clear cell subtype, which is the most common, papillary and chromophobe. All of them can be classified according to the TNM system or according to the Fuhrman nuclear grade. RCC has a high relapse and mortality rate and only biopsy has a high diagnostic accuracy, but also carries risks.

MiRNAs, on the other hand, are non-coding RNA sequences present in biological fluids. They are formed in the cell nucleus, mature in the cytoplasm, and are expelled in the form of microvesicles, exosomes or apoptotic vesicles. The gold-standard for diagnosis is RT-qPCR.

MiRNAs can regulate the mRNA involved in the translation of proteins involved in biological processes such as cancer. Their discovery has revolutionised the diagnosis of RCC, as they have become potential diagnostic, prognostic, and treatment tools.

Objectives

To review the evidence and learn about the diagnosis of renal cell carcinoma from the analysis of blood plasma and urine. To understand the role of this method in the diagnosis of early stage RCC, prognosis, and response to treatment.

Methods

From November 2021 to January 2022 the following databases were searched: MEDLINE through the Pubmed portal, Web of Science (WOS) and Scopus. The keywords used in the search were "miRNA", "Kidney Neoplasms" and "diagnosis".

From here we chose the articles that most closely matched our research subject and applied the study eligibility criteria. This excluded those published before

2012, those not published in English or Spanish, non-observational or non-analytical studies and duplicates. Finally, those whose title and abstract most closely matched the study topic were selected, and an article from the grey literature was included. Of those chosen, we excluded some that did not meet our criteria for definitive selection, such as studies conducted in animals or those that based their study on the analysis of miRNAs only in renal tissue.

A table with the main characteristics of the studies: title, author, year, country, sample, intervention measurement, methodology and results. The QUADAS-2 tool was used for the risk of bias analysis.

Results

The sixteen included studies had a similar diagnostic test design to the case-control studies. Although some were organised in several phases, all showed the same target and found some microRNA or set of microRNAs with the ability to differentiate renal cell carcinoma by RT-qPCR.

The mean age was 59,4 years and most studies focused on the clear cell subtype, where the combination of miR-15b, miR-122 and miR-1271 had the highest differentiation capacity, with an AUC of 0,96, sensitivity of 100% and specificity of 86%. MiR-210 was the most extensively studied, and all studies demonstrated its overexpression in plasma and urine of renal cell carcinoma, especially of the clear cell subtype.

Almost all studies had a good sample size and more than half of the participants with renal cell carcinoma had early stage or low histological grade. Only two microRNAs were found to be able to differentiate benign renal tumours, miR-144-3p and miR-15a with an AUC of 0,82 and 0,955, respectively.

Discussion and conclusions

Although all studies had the same design, they organised their samples differently, making it difficult to compare them. Overall, they all had a good sample size, but may have overestimated results, as they used a candidate miRNA based on prior knowledge.

The role of this diagnostic method for the detection of early stages and as a prognostic tool has been reported. However, only three studies included benign

renal tumours in their samples, raising problems of differential diagnosis. The histological subtypes of chromophobe and papillary RCC were little studied, so more studies including larger samples of these two tumours are needed.

All the studies showed some miRNA with discriminatory capacity. The results observed with miR-210, miR-15a and miR-122 were consistent with the literature, making them promising biomarkers. This has not been the case with miR-378 and miR-1233, where there have been inconsistencies between the different studies.

Overall, the quality of the studies was low, and all studies had a high risk of bias in all domains. Although microRNAs are promising biomarkers for the diagnosis, staging and prognostic evaluation of renal cell cancer, more studies are needed to provide higher quality evidence.

6. INTRODUCCIÓN

6.1. Antecedentes

6.1.1. Cáncer renal

Epidemiología

El Carcinoma de Células Renales (CCR) constituye alrededor del 3% de todos los cánceres, con una mayor incidencia en los países occidentales⁴. En las últimas décadas, ha habido un aumento en la incidencia del 2% a nivel mundial, llegando a alcanzar en la Unión Europea 39.100 muertes en 2018 por esta causa⁴; sin que este aumento de la incidencia se justifique por la sobredetección¹⁷.

Existen diferentes factores que influyen en la incidencia y mortalidad del CCR como la exposición ambiental, localización demográfica, edad y sexo¹⁷. Afecta más a hombres (1.5:1 hombres: mujeres), en quienes se presenta en un mayor grado, y a la población mayor¹⁸.

Se caracteriza por presentar una alta tasa de recaída y de mortalidad, llegando a superar el 40%⁵.

Factores de riesgo conocidos del CCR:

Existen diferentes factores de riesgo en la etiología del CCR:

- Estilo de vida: la modificación del estilo de vida es el principal factor de riesgo modificable en el cáncer¹⁹.
 - Ejercicio: la reducción de la capacidad de respuesta del sistema inmune producido por la inactividad física favorece la inflamación crónica y el riesgo desarrollar CCR¹⁹.
 - Tabaquismo: la presencia de carcinógenos en el humo del tabaco²⁰ podría explicar que los fumadores de más de 20 años dupliquen el riesgo de desarrollo de CCR¹⁹.
 - Obesidad: aunque no está clara su fisiopatología, la obesidad contribuye a la inflamación y a la liberación de factores de crecimiento y adipoquinas²⁰, lo que aumenta las probabilidades de padecer cáncer¹⁹.
 - Alcohol: aunque existe asociación entre alcohol y cáncer, la ingesta moderada parece tener un efecto protector en la incidencia de CCR⁴.

- Dieta: se ha evidenciado una relación inversa entre el CCR y el consumo de frutas, verduras (en especial crucíferas) y alimentos ricos en sustancias antioxidantes²⁰.

La EAU (European Association of Urology) recomienda con firmeza las siguientes medidas preventivas para disminuir el riesgo de CCR: aumentar la actividad física, eliminar el tabaquismo y reducir el peso en obesos⁴.

- Comorbilidades

La hipertensión arterial es un factor de riesgo independiente²⁰. Esta condición de forma crónica a nivel renal favorece la hipoxia, formándose especies reactivas de oxígeno que promueven la proliferación de células tumorales y angiogénesis^{19,20}.

Otras enfermedades relacionadas con el aumento del riesgo son la IRC (Insuficiencia Renal Crónica), la Diabetes Mellitus, los cálculos renales en hombres, enfermedades metabólicas relacionadas con el síndrome metabólico y el uso de algunos AINEs (sin incluir la aspirina)²⁰.

- Susceptibilidad genética y factores de interacción con el medio ambiente

Existe un pequeño porcentaje de cáncer hereditario de células renales que ocurre en el contexto del síndrome de von Hippel-Lindau²¹, relacionado con el subtipo histológico de células claras.

Aunque estos casos son excepcionales, sí que se ha demostrado que personas con un pariente de primer grado afectado de CCR tienen dos veces más riesgo de desarrollarlo, lo que podría explicar cierta predisposición genética²¹.

Clasificación histológica:

Se pueden encontrar diferentes subtipos de CCR en función de sus características histopatológicas y genéticas. El carcinoma renal de células claras (CCRcc), representa el 90% de todas las neoplasias malignas renales. Con menos frecuencia, encontramos otros subtipos como el papilar ((CCRp tipo I y II) 6-15%) y el cromóforo ((CCRch) 2-5%)⁵.

El de CCR de células claras se encuentra bien delimitado, sin cápsula y es de color amarillo. A menudo tiene hemorragia y necrosis. La pérdida del

cromosoma 3p y la mutación en el cromosoma 3p25 del gen de von Hippel-Lindau son dos características que empeoran su pronóstico⁵.

El CCR papilar se subdivide en dos tipos: el tipo I y el tipo II. Las características del CCRp tipo I (bien delimitado, pseudocápsula dura y crecimiento exofítico), lo convierten en un carcinoma con bajo potencial maligno. Además, se asocia con mutaciones en la línea germinal MET⁵. Por otro lado, el CCR papilar tipo II, es un grupo heterogéneo de tumores menos común y de mal pronóstico asociados con la activación de la vía NRF2-ARE⁵.

El buen pronóstico del CCR cromóforo se ve reflejado en sus características macroscópicas: masa homogénea, bronceada, pálida y bien delimitada. No puede ser clasificado en el sistema de Fuhrman por su atipia nuclear innata. Su cambio genético típico es la pérdida de cromosomas Y⁵.

Entre otros tumores renales menos comunes encontramos el carcinoma medular renal (<0,5%), el carcinoma relacionado con enfermedad renal en etapa terminal (CCR adquirido asociado a enfermedad quística), el adenoma papilar, los tumores renales hereditarios (5-8%), el angiomiolipoma, el oncocitoma (benigno, 3-7%) y los tumores renales quísticos⁵.

Estadaje y clasificación

Tabla 1. Clasificación TNM del Cáncer de Células Renales⁴⁰

T- Tumor primario	
Tx	No se puede evaluar el tumor primario
T0	No hay evidencia de tumor primario
T1	Tumor ≤ 7 cm, limitado al riñón
	T1a ≤ 4 cm
	T1b ≤ 7 cm > 4 cm
T2	Tumor > 7 cm, limitado al riñón
	T2a ≤ 10 cm > 7 cm
	T2b > 10 cm, limitados al riñón
T3	El tumor se extiende a las venas principales o tejidos perinéfricos, pero no a la glándula suprarrenal ipsilateral y no más allá de la fascia de Gerota
	T3a El tumor se extiende hacia la vena renal o sus ramas segmentarias, o invade el sistema pélvico o invade la grasa del seno perirrenal y/o renal, pero no más allá de la fascia de Gerota*

T3b	El tumor se extiende en la vena cava debajo del diafragma
T3c	El tumor se extiende en la vena cava por encima del diafragma o invade la pared de la vena cava
T4	El tumor invade más allá de la fascia de Gerota (incluida la extensión contigua en la glándula suprarrenal ipsilateral)
N- Ganglios linfáticos regionales	
Nx	No se pueden evaluar los ganglios linfáticos regionales
N0	Sin metástasis de ganglios linfáticos regionales
N1	Metástasis en ganglios linfáticos regionales
M- Metástasis a distancia	
M0	Sin metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia

Tabla 2. Estadaje pTNM del Cáncer de Células Renales⁴⁰

Estadaje (pTNM)			
Estadio I	T1	N0	M0
Estadio II	T2	N0	M0
Estadio III	T3	N0	M0
	T1, T2, T3	N1	M0
Estadio IV	T4	Cualquier N	M0
	Cualquier T	Cualquier N	M1

Además del TNM, el CCR tiene una forma de gradación pronóstica en función de los factores histológicos, denominada Grado nuclear de Fuhrman. Esta estudia de forma simultánea el tamaño y forma nuclear y la prominencia nucleolar⁴.

Clínica y Diagnóstico

Respecto a la detección del CCR, un 50% sucede de forma incidental debido a que la mayoría son asintomáticos. Cuando ya se presentan con la triada clásica de dolor en flanco, hematuria visible y masa abdominal palpable, se correlacionan con histología agresiva y enfermedad avanzada⁴.

Para el diagnóstico preciso del CCR, la tomografía computarizada y la resonancia magnética son pruebas válidas que informan sobre diferentes aspectos como la extensión y la afectación tumoral⁴. La TC, es la prueba de elección, quedando relegada la resonancia magnética para alérgicos al contraste y embarazadas sin insuficiencia renal⁴.

Pese a que con ecografía y TC se permite una temprana detección, es difícil la diferenciación entre histologías benignas o malignas⁵ y aunque la biopsia tenga una alta precisión diagnóstica, no está exenta de riesgos⁴. Por ello, en la actualidad se están estudiando nuevos métodos que posibiliten un diagnóstico más preciso y menos incruento, como es el análisis de miRNAs en fluidos como orina y sangre; este último a través de la biopsia líquida, una técnica que permite analizar en sangre ADN, micropartículas derivadas de células, exosomas y células neoplásicas⁵¹.

6.1.2. MicroRNAs

Qué son y cómo se forman

Los microRNAs (miRNAs) son pequeñas secuencias ARN no codificantes con estructura de horquilla encargadas de regular la traducción de proteínas¹.

La molécula de miRNA se forma en el núcleo celular gracias a la RNA Polimerasa II/III, formando el pri-miRNA⁶. A continuación este pri-miRNA es cortado por una enzima RNasa llamada Drosha y genera el precursor miRNA (pre-miRNA)⁶. Ya en el citoplasma, se forma un ARN de doble cadena maduro, que se incorpora a unas proteínas para formar RISC⁶, un complejo silenciador encargado de promover las funciones reguladoras post-transcripcionales¹. De este modo, los microRNAs pueden dirigir el RISC para regular el ARN mensajero complementario a su cadena^{1,7}.

La regulación del ARNm por parte de los miRNAs deriva en la regulación de traducción de proteínas involucradas en procesos biológicos como proliferación, supervivencia celular, inflamación, angiogénesis, estrés oxidativo o respuesta inmune¹.

Nomenclatura

Se ha establecido un sistema uniforme para la nomenclatura de los miRNAs. Estos, son enumerados de forma secuencial como “miR” seguido de un guion y un número en función del orden de descubrimiento (ej., miR-21)¹⁵. Existe un prefijo de tres letras que indica el organismo, como es en el organismo humano hsa (ej. hsa-miR-21)¹⁵. En función de si mir lleva letra mayúscula o minúscula, diferenciaremos entre miRNA maduro (miR-) y el precursor inmaduro (mir-)¹⁵.

Las secuencias idénticas de miRNA maduro que provienen de diferentes secuencias precursoras y locis genómicos son identificadas con un sufijo numérico (hsa-miR-XXX-1)¹. Por el otro lado, las secuencias que son nombradas con un sufijo de letra (hsa-miR-XXXa)¹, son aquellas estrechamente relacionadas que difieren 1 o 2 nucleótidos.

Métodos de detección

Existen diversas técnicas para su detección que responden a las características de los miRNAs (pequeño tamaño, su bajo contenido y alta similitud de secuencia)⁹.

Mientras que el Northern blotting, pese a su poca sensibilidad⁸ es el método más utilizado para detectar miRNAs, son los microarrays la mejor técnica para la detección rápida y realizar múltiples análisis de perfiles de miRNA⁸. No obstante, es la qPCR en tiempo real (RT-qPCR) la técnica gold-standard para la detección de miRNAs por su alta sensibilidad y especificidad de secuencia^{8,9}.

Las nuevas técnicas, basadas en el sistema de amplificación de señales, han mejorado la sensibilidad de los métodos tradicionales y son capaces de detectar bajo contenido de miRNAs en tejidos y células^{8, 14}.

Por otro lado, se ha demostrado que los miRNAs pueden ser liberados por las células a los fluidos biológicos en forma de microvesículas por exocitosis, exosomas o vesículas apoptóticas³⁴. Los exosomas son pequeñas vesículas extracelulares secretadas por las células en la comunicación intracelular de tejidos sanos y patológicos¹⁴. Dentro de los exosomas, los miRNAs, pueden ser liberados por las células¹⁶ para posteriormente transportarse por diferentes fluidos biológicos como sangre, orina, saliva, leche materna y líquido

amniótico^{1,16}. Su composición en forma de bicapa lipídica, les confiere mayor protección y estabilidad^{14,16} y los convierte en prometedores biomarcadores diagnósticos y pronósticos de CCR¹⁴.

Con la finalidad de poder detectar los exosomas en diferentes fluidos biológicos, se han desarrollado nuevas técnicas: la RT-PCR, la PCR digital y la NGS¹⁴, siendo la RT-qPCR el gold-standard para la detección de exo-miRNAs¹⁴.

MiRNAs y oncogénesis

La investigación centrada en los miRNAs ha crecido en estas últimas dos décadas debido a su gran potencial como biomarcadores¹. Se ha demostrado que la alteración en la expresión de estas moléculas puede estar implicada en el desarrollo de patologías como enfermedades metabólicas, fibrosis y cáncer³, y que, a su vez, estas enfermedades también modifican el perfil de miRNAs que se encuentra en biofluidos². También se ha podido evidenciar la participación de los miRNAs en la carcinogénesis, incluidos los procesos de crecimiento celular y control del ciclo celular, apoptosis, invasión y metástasis¹³. De esta manera, se han convertido en valiosas herramientas para explorar diferentes aspectos de una enfermedad como el diagnóstico, progresión, clasificación y tratamiento¹.

6.2. Justificación

Los miRNAs pueden ser una herramienta reveladora, menos invasiva y que proporcione más información de la celularidad tumoral que las técnicas diagnósticas actuales. Aunque estudios previos han ilustrado el papel de estas moléculas en el desarrollo CCR, sus funciones siguen sin estar claras¹³, siendo necesario aumentar la investigación sobre su papel en el diagnóstico y progresión del CCR. Conociendo, además, que pueden ser secretados a los fluidos corporales³, resulta de interés el estudio de los miRNA con el fin de desarrollar estrategias que permitan utilizarlos como dianas terapéuticas o biomarcadores.

6.3. Objetivos

Objetivo principal:

“Revisar la evidencia científica sobre la validez del análisis de los miRNAs presentes en orina y sangre como herramienta diagnóstica del CCR”

Objetivos específicos:

- Conocer el rol de este nuevo método en el diagnóstico de CCR en estadios precoces.
- Valorar si el estudio de los miRNAs en sangre y orina puede aportar información sobre la historia de la enfermedad, pronóstico y respuesta a tratamientos.
- Comparar con los métodos diagnósticos actuales.

7. METODOLOGÍA

Para poder cumplir los objetivos de diseño de este estudio, se ha llevado a cabo una Revisión Sistemática de la literatura y evidencia científica actual sobre los miRNAs y el CCR, siguiendo las recomendaciones establecidas en la declaración PRISMA (2020)³⁹ (Anexo1).

7.1. Criterios de elegibilidad de estudios

Con el fin de realizar la revisión sistemática, se han empleado los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Tabla 3. Criterios de inclusión y exclusión

CRITERIOS DE INCLUSIÓN	CRITERIOS DE EXCLUSIÓN
Estudios en seres humanos.	Estudios en animales.
Artículos en Castellano y en inglés.	Análisis de miRNA solo a partir de biopsia en tejidos.
Ensayos clínicos aleatorizados, Estudios de cohortes y Estudios de casos y controles.	Revisiones sistemáticas y series de casos.
Publicados a partir de 2012	Presencia de tumor sincrónico.
Obtención de miRNAs con RT-qPCR	Haber recibido tratamiento (Rt o Qt).

7.2. Fuentes de información

Se realizó la búsqueda bibliográfica online en las siguientes fuentes de información: MEDLINE a través del portal Pubmed, Web of Science (WOS) y Scopus. Además, también se hizo la búsqueda en literatura gris a través de tesis y referencias bibliográficas de artículos encontrados.

Para acceder a las fuentes de información, en algunos casos fue necesario acceder como institución a través de la Universitat Jaume I.

7.3. Estrategia de búsqueda

Se buscó la palabra cáncer renal en HONselect obteniendo los siguientes términos: Kidney Neoplasms/ Cancer of Kidney / Kidney Cancer / Renal Cancer / Cancer of the Kidney / Neoplasms, Kidney / Renal Neoplasms. A partir de aquí se decidió establecer como palabras clave: “**miRNA**”, “**Kidney Neoplasms**” y “**diagnosis**”.

Se realizaron varias búsquedas, incluidas en el Anexo 2, hasta que se llegó a la más acertada, que es la explicada a continuación.

En PubMed introdujo “Kidney Neoplasms” como término MeSH (*Medical Subject Headings*), y se introdujo como subtítulo la palabra “diagnosis”. A continuación, se introdujo la palabra “miRNA” como término MeSH y se añadió a la búsqueda. Estos dos términos, no fueron fijados como temática principal (Major topic) debido a la escasez de artículos que ofrecía esta búsqueda.

Los términos de búsqueda empleados también fueron introducidos en las bases de datos de **Scopus** y **Web of Science**.

La combinación de términos utilizada en las bases de datos se realizó a través de los operadores booleanos siguientes:

- AND: recoge todos los resultados que incluyen los términos de búsqueda independientemente de su posición relativa y del orden.
- OR: recoge todos los resultados que incluyen al menos uno de los términos de búsqueda.

Además, se utilizaron etiquetas de campo en función de la base de datos utilizada:

➤ **Pubmed:**

- MeSH (Medical Subject Headings): combinación de Títulos de Temas Médicos o descriptores en ciencias de la salud que forman parte del vocabulario controlado elaborado por la National Library of Medicine de Estados Unidos. Proporciona una manera normalizada de recuperar información que puede utilizar diferente terminología para describir el mismo contenido.

- Majr: en la base de datos de Mesh limitar una búsqueda a citas donde ese término es el foco principal del artículo.
- **Scopus:**
 - Title-Abs-Key: el término debe encontrarse en el título, abstract/resumen o haber sido fijada como una palabra clave dentro del estudio.
- **Web of Science:**
 - All Fields: la palabra clave puede estar incluida en cualquier lugar del registro del artículo (título, resumen, fecha, etc.).

7.4. Selección de estudios

Tras la búsqueda, una vez obtenidos todos los estudios se procedió a realizar la selección definitiva. Inicialmente se encontraron 567 artículos. El primer criterio aplicado fue el temporal, donde se seleccionaron los estudios cuyo año de publicación era a partir de 2012 con el objetivo de que fuera una búsqueda actualizada. De los 520 artículos obtenidos, se eliminaron 4 artículos que no estaban escritos en inglés o castellano, pasando a tener 516. A continuación, se eliminaron aquellos estudios que no fueran estudios experimentales u observacionales analíticos (casos y controles). De los 374 artículos cribados, fueron excluidos 63 artículos duplicados obteniendo un total de 311 artículos. Seguidamente, se seleccionaron aquellos cuyo título y abstract se adecuaba más al tema de estudio y se obtuvieron 36 artículos. Al total de artículos obtenidos, se añadió uno obtenido de la literatura gris tras la búsqueda en referencias bibliográficas. De los 37 artículos restantes 21 fueron descartados por:

- Estudios realizados en animales: 3
- Estudios que analizan los miRNAs sólo a partir de la biopsia de tejido renal: 6
- Estudios que especifican las características de la muestra: 4
- Imposibilidad para obtener el artículo original: 5
- Personas de la muestra contienen otras neoplasias malignas n=1
- Muestra resulta insuficiente: 2

7.5. Extracción y lista de datos

Una vez seleccionados los estudios, se procedió a la extracción de datos. Para ello, se elaboró una tabla estandarizada en la que se extrajo la siguiente información:

- **Título.**
- **Autor, año de publicación, país de desarrollo del estudio.**
- **Diseño del estudio.**
- **Descripción de la muestra:** número total de participantes, casos (pacientes con algún tipo de CCR) y controles (sujetos sanos). Dentro de los casos, los diferentes tipos de CCR y el número de muestra, si procede. Sexo, edad, estadiaje clínico e histológico.
- **Medición de la intervención.**
- **Metodología:** Generación de la secuencia para la extracción de miRNAs y grupos de intervención.
- **Resultados:** Descripción de los resultados obtenidos en el estudio, sensibilidad, especificidad y área bajo la curva (AUC).

7.6. Riesgo de sesgo en los estudios individuales

Para evaluar la calidad de los estudios, se utilizó QUADAS-2, un instrumento aplicable a los estudios de precisión diagnóstica. Este consta de cuatro dominios, evaluados cada uno en términos de probabilidad de sesgos: selección de los pacientes, prueba índice, prueba de referencia, flujo y tiempos²². Además, en los primeros tres dominios también se considera la preocupación por su aplicabilidad²². A partir de unas preguntas proporcionadas por la herramienta, se clasificó en riesgo alto, bajo o intermedio.

Con esto, se elaboraron dos tablas: una en la que quedaba incluida la probabilidad de sesgos de cada estudio (Apartado 8.4), cuyo desarrollo se encuentra en el Anexo 4, y otra en la que se evaluaba la aplicabilidad de cada uno de los estudios (Anexo 5).

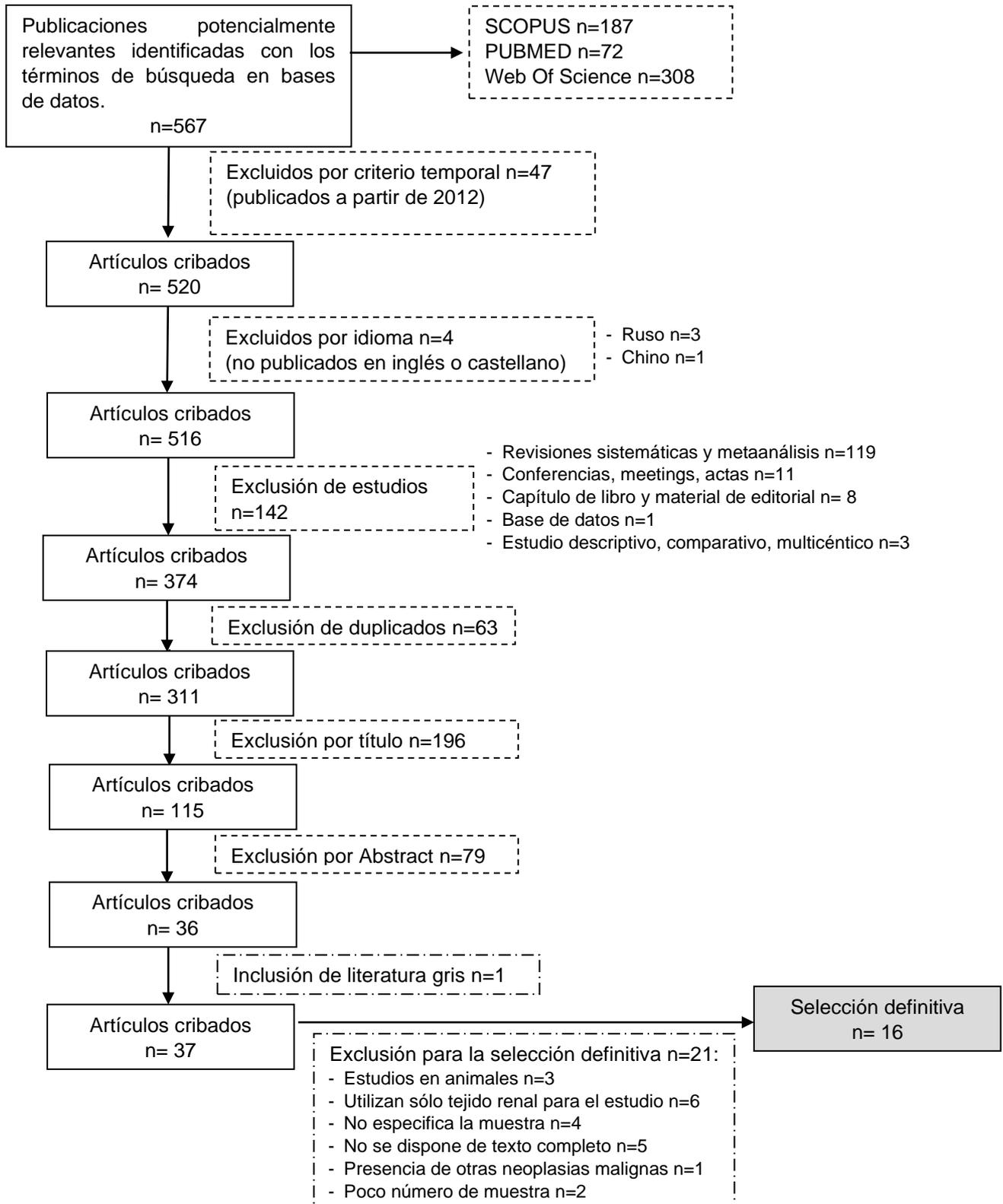
7.7. Análisis y síntesis

Una vez realizada la lectura crítica de los estudios seleccionados, se procedió a realizar un análisis cualitativo de los mismos. El análisis cuantitativo fue descartado debido a la heterogeneidad y la baja calidad de los estudios.

8. RESULTADOS

8.1. Diagrama de flujo

Tras el proceso de selección de estudios descrito en el Apartado 7.4, se elaboró el siguiente diagrama de flujo:



8.2. Características de los estudios

A continuación, se muestra la Tabla 4, donde se exponen los datos recogidos de los 16 estudios a partir de la lista que se enumeró en el Apartado 7.5. Todos ellos fueron sometidos a una lectura crítica y se extrajeron los datos más relevantes.

Tabla 4. Características de los estudios

Título	Autor/ Año /País	Diseño del estudio	Descripción de la muestra	Medición de la intervención	Metodología	Resultados
Identification of miR-20a-5p as Robust Normalizer for Urine microRNA Studies in Renal Cell Carcinoma and a Profile of Dysregulated microRNAs²³	Oto, J et al. 2021, España	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=67 – Etapa de cribado: • CCRcc sometidos a cirugía curativa o citoreductora por tumor unilateral esporádico, metastásico o no metastásico (M0). N=16 \bar{X}_e : 65,5 años. H: 13 E1: 13, E2: 2, E3: 1 • Control: N=16, \bar{X}_e : 68 años. H: 13 – Etapa de validación: • CCR antes de la cirugía (29 CCRcc, 16 CCRp y 6 CCRch). N=51. \bar{X}_e : 63 años. H: 29 E1: 41, E2: 2, E3:6, E4: 2. • Angiomiolipoma renal benigno=13. H:1 • Control: N=32. \bar{X}_e : 62,5 años H: 21	Identificar un perfil de miRNAs con valor diagnóstico y otro para el seguimiento.	En la etapa de cribado, se recogió la orina antes y después de la cirugía (14d) de las personas con CCRcc y los controles sanos. De los 179 miRNAs analizados, se obtuvo señal de 102. Posteriormente se identificaron los miRNAs más desregulados en la etapa de validación.	<u>miR-200a-3p, miR-34-5p y miR-365a-3p</u> : regulación al alza. AUC 0,65 IC 95% (0,51- 0,79; p < 0,043) <u>let-7d-5p y miR-205-5p</u> : regulación al alza en comparación con controles <u>let-7d-5p, miR-152-3p, miR-30c-5p, miR-362-3p y miR-30e-3p</u> : se podrían utilizar para el seguimiento tras cirugía.
Detection of urinary miRNAs for diagnosis of clear cell renal cell carcinoma²⁴	Cochetti, G et al. 2020, Italia	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=31 – Muestras de orina • CCRcc sometidos a nefrectomía: N=17. \bar{X}_e : 63,71 años. H:13 CCI:6 T1: 10, T2:0, T3:7, T4:0 M1:4. F1: 4, F2: 8, F3: 3, F4: 2 Creatinina: 1 Tres muestras no fueron confiables N=14. Comorbilidad alta→CCI 6/4. • Control: N=14. \bar{X}_e : 42-79 años. H:10. CCI: 4 Creatinina: 0,82 Todos mayores de 30 años. Se excluyen: litiasis renal, infecciones urinarias y otras	Desarrollar un método diagnóstico con miRNAs para la detección de CCRcc.	Se obtuvieron 27 miRNAs sobreexpresados y 30 subexpresados a partir del análisis de bases de datos. Para validar lo anterior, se evaluaron 8 miRNAs en tejido de CCRcc y sano adyacentes de 17 pacientes. 3 muestras no fueron confiables. A continuación, se realizó un algoritmo para encontrar el mejor biomarcador y se analizaron los datos obtenidos en la orina de los sujetos.	<u>miR-122</u> : mejor marcador potencial. Sobreexpresión en todos menos 1. AUC 0,82 IC95% (0,66-0,99; p < 0,0042) <u>miR-1271 y miR-15b</u> : sobreexpresados en el 70% de pacientes en orina, sin que miR-1271 presente sobreexpresión tisular. miR-15b: poder de discriminación mucho menor. - miR-1271: AUC 0,79 IC95% (0,61-0,97) - miR-15b: AUC 0,59 IC95% (0,37-0,81) La combinación de estos tres miRNAs junto con tres controles internos permitió establecer parámetros de laboratorio para discriminar CCRcc de sujetos sanos con AUC 0,96. Sensibilidad 100% (IC95%: 75-100%).

			formas neoplásicas.			Especificidad 86% (IC del 95%: 57-98%).
Urinary exosome miR-30c-5p as a biomarker of clear cell renal cell carcinoma that inhibits progression by targeting HSPA5²⁵	Song, S et al. 2019, Shanghai.	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=202 – Muestras de orina antes cirugía: • CCRcc en etapa temprana: N=70. \bar{X}_e : 45-68 años. H: 35. E1: 5, E2a: 51; E2b: 15 T1: 45, T2: 25 N:0; M:0, • Ca de próstata: N=30. • Ca vejiga: N=30 • Tejidos de CCRcc en etapa temprana y tejidos normales adyacentes: N=42 • Control orina: N=30; \bar{X}_e : 48-61 años. H: 15.	Detectar la expresión de miRNAs desregulados en orina de CCRcc e individuos sanos y su función en la progresión.	Se detectaron los miRNAs de los exosomas celulares, cuyo patrón de expresión fue comparado en sujetos con CCRcc y sanos. De 126 especies de miRNAs identificadas, 6 mostraron expresión diferente (5 regulados a la baja 1 al alza). Por medio de RT-qPCR, se analizaron estos miRNAs en orina (de CCRcc y sanos), detectando de manera estable miR-30c-5p y miR-27b-3p (baja) y miR-122-5p (alza). Finalmente, miR-30c-5p único que no se expresó diferencialmente en otros cánceres del sistema urinario.	<u>miR-30c-5p</u> : biomarcador diagnóstico potencial. Regulado a la baja. Su sobreexpresión inhibió la progresión de CCRcc. AUC 0,8192 (IC 0,7388-0,8996, P <.01) sensibilidad 68,57% y especificidad 100%.
Detection of urinary cell-free miR-210 as a potential tool of liquid biopsy for clear cell renal cell carcinoma²⁶	Li, G. et al. 2017, Francia	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=120 – Muestras de orina: • CCRcc: N=75. \bar{X}_e : 64 años. H:54. E1:27, E2: 25, E3: 23. F1: 12, F2: 24, F3: 34, F4: 5. • Controles: N=45. \bar{X}_e : 60 años. H: 25 • Tras resección quirúrgica: N=15	Examinar miR-210 como herramienta potencial en biopsia líquida para detección de CCRcc	Se analizó miR-210 en orina en 3 etapas y se comparó el resultado en 15 pacientes pre y postoperatorios (7d).	<u>miR-210</u> : sobreexpresado en pacientes con carcinoma de CCRcc. Sus niveles disminuyeron significativamente tras cirugía. AUC 0,76 (IC del 95%: 0,67-0,85) sensibilidad 57,8% especificidad 80% No se observaron diferencias significativas entre estadios. En estadio I, se observaron niveles elevados de miR-210 en comparación con los controles. Potencial para detección temprana.
MicroRNA-15a expression measured in urine samples as a potential biomarker of renal cell carcinoma²⁷	Mytsyk, Y et al. 2018, Ucrania	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=82 • CCR: N=52. \bar{X}_e : 60,77 años. H:32 - CCRcc N=22. \bar{X}_e : 60.59 años. H:13 - CCRp N=16. \bar{X}_e : 61.06 años. H: 11 - CCRch N=14. \bar{X}_e : 60.71 años. H: 8 F I y II: 12, F III y IV: 10 T1aN0M0: 13, T1bN0M0: 15, T2aN0M0: 12, T2bN0M0: 5, T3aN0M0: 4, T3aN1M0: 3 • Oncocitoma N=8. • Adenoma papilar N=2 • Angiomiolipoma N=5. • Control: N=15. \bar{X}_e : 53.1 años H:10. Todos sin tratamiento previo con PKB. Se	Evaluar la expresión de miR-15a en orina de pacientes con CCR y evaluar su potencial como biomarcador molecular diagnóstico.	A través de q-PCR se estudió miR-15 en los sujetos de la muestra y se observaron las diferencias entre los diferentes grupos.	<u>miR-15a</u> : no se encontraron diferencias entre los tipos de CCR, pero sí una asociación directa entre el tamaño y el valor de expresión. Buen biomarcador molecular diagnóstico con capacidad de diferenciar benignos y malignos: AUC 0,955 sensibilidad 100% especificidad 98,1% Los tumores con áreas de necrosis presentaron mayor expresión. En tres casos de tumores pequeños (T1aN0M0), los valores de miR-15a estuvieron dentro del rango de valor de los benignos.

			realizó análisis patológico en todos tras cirugía.			Dos angiomiolipomas de mayor tamaño tuvieron el rango dentro de CCR. La concentración en orina de miR-15a disminuyó tras la cirugía.
Detection of let-7 miRNAs in urine supernatant as potential diagnostic approach in non-metastatic clear-cell renal cell carcinoma²⁸	Fedorako, M et al. 2017, República Checa.	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt= 105 <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=69. \bar{X}_e: 66 años. H:50 F1:11, F2:40, F3:13 F4:5 N: 0; M: 0 Controles: N=36. \bar{X}_e: 65 años. H:24. Criterios de exclusión: neoplasia maligna activa distinta del CCR, antecedentes de cualquier neoplasia maligna, infección del tracto urinario, cuerpos extraños en el tracto urinario y urolitiasis.	Evaluar si los miRNAs de la familia let-7 difieren en sus concentraciones urinarias entre los casos de CCR y los controles sanos.	Se estudió la familia de let-7 en orina a través de RT-qPCR y se analizaron las diferencias entre los casos y los controles.	Todos los miRNAs let-7 tuvieron mayor concentración en muestras de orina de CCR en comparación con sanos, siendo let-7a quien poseía una buena capacidad para diferenciar casos y controles con AUC 0,8307, sensibilidad 71% y especificidad 81%.
A Three-microRNA Panel in Serum: Serving as a Potential Diagnostic Biomarker for Renal Cell Carcinoma²⁹	Huang, G et al. 2020, China	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=256 – Etapa de screening: <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=20 Control: N=20 – Etapa de prueba: <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=30. \bar{X}_e: 49,4 años. H: 20 E1: 17, E2: 3, E3:7, E4: 3 F1: 6, F2: 10; F3: 13; F4: 1 Control: N=30. \bar{X}_e: 50,2 años. H: 17 – Etapa de validación: <ul style="list-style-type: none"> CCR N=76. \bar{X}_e: 50,5 años. H: 55 F1: 47, F2: 17, F3: 7, F4: 5 Control: N=80. \bar{X}_e: 49,8 años H: 51 	Buscar biomarcadores adecuados para el diagnóstico de CCR en suero y construir un panel de miRNA con alta sensibilidad y especificidad diagnóstica.	Se escogieron 8 miRNAs en la etapa de screening, que fueron evaluados en la etapa de prueba, donde se seleccionaron 5 candidatos. Estos 5 miRNAs fueron evaluados en la etapa de validación. Finalmente, se realizó un panel diagnóstico con 3 miRNAs	Se sugiere que el panel constituido por <u>miR-224-5p</u> , <u>miR-34b-3p</u> , y <u>miR-182-5p</u> en suero podría servir como marcador no invasivo de CCR. AUC 0,855 (95% CI: 0,797- 0.912) en la etapa de validación. Sin embargo, no se encontraron diferencias significativas entre el panel de miRNA con la localización tumoral, el grado de Fuhrman y el estadio clínico.
Identification of dysregulated serum miR-508-3p and miR-885-5p as potential diagnostic biomarkers of clear cell renal	Liu, S et al. 2019, Shanghai, China	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=140 – Etapa de screening <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=10. Control N=10. – Etapa de validación <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=85. \bar{X}_e ≤ 60: 41; >60: 44. H: 45. E1 y 2: 61, E3 y 4: 24. F1 y 2: 46, F3 y 4: 39. 	Identificar microRNAs en sangre periférica como biomarcadores para la detección de CCRcc.	Se cogieron 4 miRNAs de las bases de datos (GEO y TCGA) y se analizaron en muestras de pacientes donde se seleccionaron dos. Finalmente se analizaron sus funciones biológicas.	Diferencias estadísticamente significativas - <u>miR-508-3p</u> : regulado a la baja en T3-T4, M1, G3-G4 (Fuhrman). - <u>miR-885-5p</u> : regulado al alza en T3-T4, G3-G4 (Fuhrman). Ambos se diferenciaron de los controles con un valor de AUC de 0,90 (IC del 95%: 0,84–0,96)

carcinoma ³⁰			<ul style="list-style-type: none"> Control N=35. $\bar{X}_e \leq 60$: 17; >60: 18. H: 19. 			
miR-144-3p as a novel plasma diagnostic biomarker for clear cell renal cell carcinoma³¹	Lou, N et al. 2017, China	Estudio de pruebas diagnósticas	<p>Nt=276 (plasma)/127(tejido renal)</p> <ul style="list-style-type: none"> Plasma sanguíneo <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=106. \bar{X}_e: 54 años. H: 74. E1: 55, E2: 11, E3: 36, E4: 2 F1: 26, F2: 51, F3: 23, F4: 4 Se pierden 2 participantes. Angiomiolipoma N=28. \bar{X}_e: 46 años. H: 8. CCRncc N=19. \bar{X}_e: 56 años. H: 12. E1: 9, E2: 4, E3: 5, E4: 0 F1: 0, F2: 10, F3: 8, F4: 0 Se pierde 1 participante. Control N=123. \bar{X}_e: 52 años. H: 87. Tejido renal (canceroso y sano adyacente): <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=110. \bar{X}_e: 56 años. H: 79. E1: 53, E2: 13, E3: 5, E4: 0 F1: 0, F2: 10, F3: 8, F4: 0 Se pierde 1 participante. CCRncc N=17. \bar{X}_e: 51 años. H: 8. Se pierden 2 participantes. Microarrays N=5. \bar{X}_e: 57 años. H: 3. T1:5 F1:1, F2:4. 	Identificar un miRNA que actúe como biomarcador plasmático para el diagnóstico de CCR.	Se hizo microarrays de 5 pacientes con CCRcc pre y postoperatorio, siendo el miRNA más regulado al alza miR-144-3p. Se compararon los niveles de miR-144-3p en sangre pre (1d) y postoperatoria (7d) y su expresión en tejido tumoral y adyacente. Finalmente se analizó la correlación de sus niveles a nivel plasmático y tisular.	<p>Diferencias estadísticamente significativas ($P < 0,05$) → miR-144-3p en plasma y tejidos tumorales (CCRcc): regulado al alza en T3-T4 en comparación con sujetos sanos. No se asoció con: sexo, edad, grado de Fuhrman o tamaño. AUC 0,91 (IC del 95%: 0,88–0,95). Sensibilidad del 87,10% y especificidad del 83,02%.</p> <p>AUC 0,82 (IC 95%: 0,74–0,91). Sensibilidad del 75% y especificidad del 71,70% en la discriminación con LMA.</p> <p>Los niveles plasmáticos postoperatorios de miR-144-3p en CCRcc disminuyeron significativamente sin mostrar diferencias estadísticamente significativas entre la nefrectomía parcial y radical. Esto no se mostró en CCRncc.</p> <p>Los niveles plasmáticos se correlacionaron positivamente con los tisulares, por lo que es un biomarcador plasmático novedoso y excelente para el diagnóstico de CCRcc</p>
A panel of five serum miRNAs as a potential diagnostic tool for early-stage renal cell carcinoma³²	Wang, C et al. 2015, China.	Estudio de pruebas diagnósticas	<p>Nt=264</p> <ul style="list-style-type: none"> Etapa de screening <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=25 \bar{X}_e: 51 años. H: 15. E1: 10, E2: 15, E3: 0, E4: 0 Control N=25. \bar{X}_e: 47,2 años. H: 17. Etapa de prueba <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=28 Control N=28 Etapa de validación <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=79 Control N=79 Etapa de prueba + Etapa de validación <ul style="list-style-type: none"> CCRcc N=107. \bar{X}_e: 53,5 años. H: 79. 	Evaluar la relevancia clínica de los miRNAs en suero para la detección precoz de CCR	Se escogieron 20 miRNAs en la etapa de screening que fueron evaluados en la etapa de prueba, donde se seleccionaron 5 candidatos que, al ser evaluados en la etapa de validación, obtuvieron resultados consistentes con la etapa anterior.	<p>El panel de 5 miRNAs (miR-193a-3p, miR-362, miR-572, miR-28-5p y miR-378) tiene una alta sensibilidad y especificidad en la discriminación de pacientes con CCR en etapa temprana (Estadio I y II):</p> <ul style="list-style-type: none"> - miR-193a-3p, miR-362, miR-572: regulados al alza - miR-28-5p y miR-378: regulados a la baja <p>AUC para la combinación de los 5 miRNAs 0,801 (IC del 95%, 0,731–0,871); para discriminar estadio I y estadio I–II 0,797 (IC del 95%, 0,732–0,863). Sensibilidad del 80% y una</p>

			E1: 79, E2: 16, E3: 2, E4: 8 Estadio desconocido: 5. • Control N=107. \bar{X}_e : 53,7 años. H: 69.			especificidad del 71%
Serum miR-210 as a novel biomarker for molecular diagnosis of clear cell renal cell carcinoma³³	Zhao, A et al. 2013, Francia	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt=110 (suero)/ 32 (tejido renal) – Suero: • CCR N= 68. \bar{X}_e : 64 años. H: 46. E1: 20, E2: 11, E3: 37. • Control N=42. \bar{X}_e : 59 años. H: 22. – Tejido renal (canceroso y sano adyacente) N=32. \bar{X}_e : 60 años. H: 22. E1: 7, E2: 6, E3: 10.	Evaluar si miR-210 puede utilizarse como biomarcador para la detección de CCR	Se cuantificó miR-210 en plasma antes de la cirugía y en los controles. De todos los pacientes con CCR, a 10 se les extrajo una muestra de suero en el postoperatorio, 7 días después.	El nivel sérico de miR-210 fue mayor en CCR con AUC de 0,874 (IC 95%: 0,806–0,941), sensibilidad 81% y especificidad 79.4%. No se observaron diferencias en los estadios TNM. El nivel medio de miR-210 se redujo significativamente en las muestras postoperatorias.
Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal cell carcinoma³⁴	Redova, M et al. 2012, República Checa	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt= 62 – Fase de cribado • CCRcc N=15. \bar{X}_e : 62 años. H: 10. E1: 6, E2: 0, E3: 9, E4: 0 F1: 3, F2: 7, F3: 4, F4: 1 • Control N=12. \bar{X}_e : 61 años. H: 10. – Fase de validación • CCR N=90. \bar{X}_e : 66 años. H: 56. E1: 50, E2: 14, E3: 23, E4: 3 F1: 20, F2: 39, F3: 23, F4: 8 - CCRcc N=73 - CCRp N=8 - CCRch N=9 • Control N= 35. \bar{X}_e : 63 años. H: 26.	Identificar una firma de miRNAs para distinguir el suero de pacientes con CCR de controles sanos.	Se escogieron 30 miRNAs de los 667 estudiados en la etapa de screening, de los cuales en 3 se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Estos fueron evaluados en la etapa de validación donde se excluyó 1 miRNA.	- <u>miR-378</u> : regulado al alza en CCR. AUC de 0,71 (IC del 95%, 0,62 a 0,79), sensibilidad del 70%, especificidad del 60%. - <u>miR-451</u> : regulado a la baja en CCR. 0,77 (IC del 95%, 0,69 a 0,84), sensibilidad del 81%, especificidad del 77%. La combinación de ambos permite la identificación del suero de CCR con AUC 0,86, sensibilidad 81%, especificidad 83% Ambos demostraron ser capaces de discriminar CCR en suero, pero su combinación fue aún más potente.
Microna derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for diagnosing renal cell carcinoma³⁵	Xiao, C et al. 2020, China	Estudio de pruebas diagnósticas	Nt= 48 – Etapa de detección • CCR N=5. \bar{X}_e : 60,2 años. H: 3 F1: 0, F2: 4, F3: 1, F4: 0 - CCRcc N=4 - CCRp N=1 • Control N=5 – Etapa de validación • CCR N=22. \bar{X}_e : 56, 1 años. H: 13 F1: 2, F2: 11, F3: 6, F4: 3 - CCRcc N=18	Identificar diferencias en perfiles de expresión de miRNA en exomas de sangre periférica entre pacientes con CCR y sujetos sanos e investigar nuevos	En la etapa de detección, se extrajo el perfil de miRNA exosomal y se escogieron 22 miRNAs. En la etapa de validación, se escogieron 9 de los anteriores y 3 obtuvieron diferencias estadísticamente significativas.	- <u>has-miR-424-3p</u> : regulado al alza, AUC de 0,7727, sensibilidad 75% y especificidad 81,8%. - <u>has-miR-92a-1-5p</u> regulado a la baja AUC 0.8324, sensibilidad 87,5% y especificidad 77,3%. - <u>has-miR-149-3p</u> : AUC 0.7188. Sensibilidad 0,750 Especificidad 0,727 Se necesita una validación adicional utilizando una cohorte más grande para confirmar los resultados de este estudio.

			<ul style="list-style-type: none"> - CCRp N=4 • Control N=16. \bar{X}_e: 51, 8 años. H: 9 Comorbilidades: DM (2), HTA (3), Enfermedad coronaria (3).	<p>marcadores de CCR.</p>		<p>Concluye que has-mi-92a-1-5p, has-miR-149-3p y has-miR-424-3p podrían usarse como biomarcadores prometedores para detectar CCR.</p>
<p>MicroRNAs in Serum Exosomes as Potential Biomarkers in Clear-cell Renal Cell Carcinoma³⁶</p>	<p>Zhang, W et al. 2018, China.</p>	<p>Estudio de pruebas diagnósticas</p>	<p>Nt= 162</p> <ul style="list-style-type: none"> • CCRcc N=82. \bar{X}_e: ≥58 años: 41; ≤57 años: 41. H: 42. E1 y 2: 52, E3: 30, E4: 0 F1 y 2: 62, F3 y 4: 20. • Control N=80. 	<p>Investigar si los miRNAs en exosomas séricos pueden servir como biomarcadores en CCRcc.</p>	<p>Se recogieron muestras de sangre en cada paciente antes de la nefrectomía parcial o radical curativa. Se comparó con el suero de 80 voluntarios sanos y se recogieron muestras de 10 pacientes 7d después de la resección del tumor. Finalmente, se seleccionaron tres miRNAs (miR-15, miR-210 y miR-1233).</p>	<p>- <u>miR-210 y miR-1233</u> exosómico regulado al alza en CCRcc. Niveles menores en muestras postoperatorias que en muestras preoperatorias. No asociación significativa con grado de CCRcc, ni etapas de TNM.</p> <p>No hubo diferencias significativas en miR-15a</p> <p>AUC miR-210 exosomal 0,69 (IC del 95%: 0,61-0,77); sensibilidad 70%; especificidad 62,2%</p> <p>AUC miR-1233 exosómico 0,82 (IC del 95%: 0,75-0,89); sensibilidad 81%; especificidad 76%</p>
<p>Serum miR-210 as a potential biomarker of early clear cell renal cell carcinoma³⁷</p>	<p>Iwamoto, H et al. 2014, Japón</p>	<p>Estudio de pruebas diagnósticas</p>	<p>Nt= 57</p> <ul style="list-style-type: none"> • CCRcc N=34. \bar{X}_e: 66,5 años. H: 26. F1: 9, F2: 24, F3: 1. • Control N=23. \bar{X}_e: 53, 5 años. H: 11. 	<p>Investigar si el miR-210 sérico podría ser un biomarcador útil para el diagnóstico y la progresión del CCRcc.</p>	<p>Se evaluaron los niveles tisulares de miR-210 y se compararon con los tejidos sanos. Seguidamente se evaluaron los niveles séricos de miR-210.</p>	<p>La expresión de <u>miR-210</u> fue mayor en los tejidos tumorales y a nivel sérico en CCRcc. El nivel sérico de miR-210 podría servir como un biomarcador útil para el diagnóstico temprano de CCRcc: AUC 0,77 (IC 95% 0,65-0,89); sensibilidad 65%; especificidad 83%.</p> <p>No hubo asociación significativa entre los niveles séricos de miR-210 y la edad, el sexo, el tamaño del tumor o la existencia de metástasis en el momento del diagnóstico.</p>
<p>Exosomal MicroRNAs Are Diagnostic Biomarkers and Can Mediate Cell-Cell Communication in Renal Cell Carcinoma³⁸</p>	<p>Butz, H et al. 2016, Canadá</p>	<p>Estudio de pruebas diagnósticas</p>	<p>Nt=164</p> <ul style="list-style-type: none"> - Etapa de screening - Etapa de detección • CCRcc N=40. \bar{X}_e: 59 años. H: 20. T1: 5, T1a: 13, T1b: 3, T2: 4, T2a: 1, T2b: 0, T3a: 2, T3b: 1. Desconocido: 1. F1: 5, F2: 13, F1-2: 2, F3: 6, F4: 3, F3-4: 1. Mx: 9, M0: 9, M1: 1. Desconocido: 11. - Etapa de validación • CCRcc N=80 - CCRcc >4cm N=40. \bar{X}_e: 56,6 años. H: 24. 	<p>Determinar si los microRNA urinarios pueden servir como biomarcadores para confirmar el diagnóstico de CCRcc.</p>	<p>De los 754 miRNAs que se compararon en la orina preoperatoria de la etapa de cribado, fueron seleccionados 48. Estos, fueron evaluados en la etapa de detección, donde sólo miR-150-5p se sobreexpresó sin alcanzar la significación estadística y miR-126-3p fue significativamente regulado a la baja. En esta etapa también se identificaron 12 combinaciones de dos miRNA que ofrecieron una mejor discriminación entre ambos grupos. También fueron desarrolladas 8</p>	<p><u>miR-150-5p</u> se sobreexpresó significativamente en CCRcc en comparación con muestras sanas sin alcanzar la significación estadística.</p> <p><u>miR-126-3p</u>: regulado a la baja en CCRcc y con capacidad para distinguir tumores tempranos ≤4cm con significación estadística: AUC (0,65; IC del 95%, 0,5329–0,7645; p = 0,018).</p> <p>Combinaciones de dos miRNAs para diferenciar CCRcc con mayor AUC:</p>

			<p>F1: 3, F2: 14, F3: 11, F4:1. Desconocido: 11. 3 presentaron tumor rabdoide. - CCRcc ≤4cm N=40. \bar{X}_e: 58,4 años. H: 32. F1: 6, F2: 28, F3: 3, F4: 0.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Tumor renal benigno N=24 • Control N=33 		<p>combinaciones de dos miRNAs con la finalidad de distinguir mejor los tumores de masa renal pequeña (≤4cm).</p> <p>En la etapa de validación, se confirmó la subexpresión de miR-126-3p en CCRcc y las combinaciones halladas en la etapa previa.</p> <p>Más tarde se utilizaron 3 orinas pre y postoperatorias evaluando miR-126-3p, 449a, miR-17-5p y miR-21-5p</p> <p>A continuación, se comprobó si las células del CCRcc secretaban los miRNAs exosomales.</p>	<ul style="list-style-type: none"> - <u>miR126-3p y miR 449a</u>: AUC 0,84 (IC del 95%, 0,7620–0,9151; p<0,001). Sensibilidad 83,8 Especificidad 62,5 - <u>miR126-3p y miR-34b-5p</u>: AUC 0,79 (IC del 95%, 0,7013–0,8815; p<0,001) <p>Combinaciones capaces de distinguir sanos de masa renal pequeña ≤4cm con mayor AUC:</p> <ul style="list-style-type: none"> - <u>miR-126-3p y miR-449a</u>: AUC 0,89 (IC del 95%, 0,8110–0,9682; p<0,001). Sensibilidad 75,5 Especificidad 91,7 - <u>miR-150-5p y miR-126-3p</u>: AUC 0,77 (IC del 95%, 0,6616–0,8815; p<0,001). Sensibilidad 72,5 Especificidad 75,9 <p><u>miR-126-3p, 449a, miR-17-5p y miR-21-5p</u>: cambios en orinas pre y postoperatorias</p> <p>Exosomas secretados por células del CCRcc: <u>miR-126-3p, miR-34b-5p, miR-25-3p, miR-21-5p y miR-17-5p.</u></p>
--	--	--	--	--	---	--

\bar{X}_e : Media de edad; H: Hombres; E: Estadio tumoral (TNM); F: Grado de Fuhrman; T: Tumor original primario (TNM); N: Extensión a ganglios (TNM); M: Metástasis (TNM); CCI: Charlson Comorbidity Index; Nt: Número total de muestra; N: muestra; DM: Diabetes Mellitus; HTA: Hipertensión Arterial; NGS: Next-generation sequency; LMA: Angiomiolipoma; AUC: Área Under de Curve (Área Bajo la Curva); CCR: Cáncer ce Células renales; CCRcc: Carcinoma Renal de células claras; CCRp: Carcinoma de Células Renales papilar; CCRch: Carcinoma de Células Renales cromóforo; CCRncc: Cáncer Renal no de células claras.

8.3. Síntesis de los resultados

En la presente revisión sistemática, se han incluido un total de dieciséis estudios, los cuales han presentado un diseño de pruebas diagnósticas similar al de casos y controles. El esfuerzo de todos ellos fue analizar los miRNAs en sangre u orina, desarrollándose muchos de ellos^{23,29,30,32,34,35,38} en varias etapas: de screening, prueba y validación.

A continuación, se describen los resultados del análisis de los elementos estudiados.

8.3.1. Factores sociodemográficos y clínicos

Por tratarse de un criterio de inclusión, la totalidad de los estudios fueron publicados entre 2012 y 2021. La mayoría se desarrollaron en China^{25,29-32,35,36}. El resto se realizaron en España²³, Italia²⁴, Ucrania²⁷, Francia^{26,33}, República Checa^{28,34}, Japón³⁷ y Canadá³⁸.

El tamaño muestral de los estudios ha variado de 31 participantes²⁴ a 276³¹. En todos ellos, la muestra de CCR fue mayor en hombres que en mujeres.

Respecto al número de participantes, cabe destacar que sólo seis artículos presentaron un número similar de participantes en los casos con cáncer renal y en los controles^{24, 29, 31, 32, 36, 37} y que todos los estudios desarrollados en varias fases^{23, 29, 30, 32, 34, 35}, excepto el realizado por Butz, H et al³⁸, presentaron en la etapa de screening el mismo número de participantes en ambos grupos. En el resto de los estudios, las diferencias entre los casos y los controles llegaron a ser de hasta cincuenta y cinco participantes³⁴. En el estudio de Cochetti, G et al²⁴, tres muestras no fueron confiables y en el de Lou, N et al³¹, se perdieron tres casos de CCR. Además, el estudio Butz, H et al³⁸, no presentó el número de participantes en la etapa de screening y en los casos de la etapa de detección.

La media de edad de los participantes con CCR ha sido de 59,4 años. Con excepción de un artículo, cuya diferencia de media de edad entre los casos y los controles fue de 13 años³⁷, el resto presentaron una diferencia muy pequeña de 0,2³² a 7,7 años²⁷. Este parámetro no fue ofrecido en dos

estudios^{24, 25}, cuya edad se presentó en forma de rango. Dos estudios más^{30, 36}, ofrecieron la edad como variable dicotómica, dividiendo la muestra de población en dos.

Tanto el sexo como la edad, no fue aportada en la etapa de screening^{29, 30, 35, 38} y en los controles^{36, 38} de varios estudios. Además, Butz, H et al³⁸ incluyeron un grupo de edad bastante heterogéneo, que iba de los 22 a los 87 años.

Cómo se ha comentado en los antecedentes (Apartado 6.1), el CCR engloba diferentes subtipos histológicos. Esto se ha visto reflejado en la recogida de datos, pues no todos los casos han sido del mismo subtipo de CCR. Menos un artículo³³ que no lo especificó, todos incluyeron el subtipo de células claras (CCRcc). Entre los otros tipos incluidos, hemos encontrado el papilar (CCRp)^{23,27,34,35}, el cromóforo (CCRch)^{23,27,34} y cáncer renal no de células claras (CCRncc)³¹. Respecto a los carcinomas renales benignos, los incluidos han sido el angiomilipoma renal benigno^{23,27,31,38}, el oncocitoma²⁷ y el adenoma papilar²⁷. Además, un estudio también incluyó pacientes con cáncer de próstata y de vejiga²⁵.

La estadificación del CCR fue realizada a partir del sistema pTNM en todos los artículos menos en dos^{28, 35}, que no la presentaron. A excepción del estudio realizado por Zhao, A et al³³, todos los estudios incluidos en la revisión seleccionaron a más de la mitad de los pacientes con CCR en estadios precoces (1 y 2)^{23, 25, 26, 27, 29, 31, 32, 34, 36, 37, 38}.

Wang, C et al³² no conocían el estadio de 5 de sus muestras, mientras que Butz, H et al³⁸ desconocían tanto el estadio tumoral como la gradación histológica de 11 participantes.

La gradación pronóstica en función de los factores histológicos o grado nuclear de Fuhrman fue ofrecida en todos los artículos menos en cuatro de ellos^{23, 25, 32, 33}. A excepción de un estudio²⁶, todos presentaron en más de la mitad de los casos CCR de bajo grado histológico (Fuhrman 1 y 2).

En cuanto al estado general del paciente recogido en tres estudios, se presentó con un índice de Charlson elevado²⁴ o con datos que indicaban comorbilidad

como diabetes mellitus³⁵, hipertensión arterial³⁵, enfermedad coronaria³⁵ u otros tumores (tumor rabdoide)³⁸.

8.3.2. Objetivos, metodología y desenlaces

Encontrar miRNAs con valor diagnóstico para el CCR, ha sido el objetivo de todos los artículos seleccionados. Entre los objetivos secundarios, el más encontrado ha sido estudiar un perfil de miRNAs para el seguimiento^{23, 25, 37}. La extracción de los miRNAs ha sido realizada a partir de la biopsia líquida en sangre^{26, 29, 30, 31, 32, 33, 34, 35, 36, 37} o del análisis de orina^{23, 24, 25, 27, 28, 38}.

En lo que respecta al método de extracción de miRNAs, todos los estudios lo realizaron a través de RT-qPCR.

Como se ha comentado al principio, muchos de los estudios^{23, 29, 30, 32, 34, 35, 38}, se desarrollaron en varias etapas: de screening, prueba y validación. La función de la etapa de screening, en la mayoría de ellos, fue detectar los mejores miRNAs en una muestra pequeña para estudiar en las siguientes dos etapas^{23, 29, 32, 34, 35, 38}. Los estudios que carecían de esto, basaron su estudio en miRNAs extraídos de la literatura previa^{26, 27, 28, 31, 33, 37} o de bases de datos^{24, 30}, con excepción del de Song, S et al²⁵ y Zhang, W et al³⁶, que estudiaron desde cero los miRNAs en toda su muestra.

Como ya se ha comentado, muchos presentaron una etapa de validación, en la que se aumentó el tamaño muestral con la finalidad de estudiar los datos obtenidos en las dos etapas previas. El resto de los estudios obtuvieron métodos de validación de los resultados diferentes, como el estudio MiRNAs en sangre u orina después de la nefrectomía (parcial o total)^{23,26,27,31,33,36,38}. También, con la misma intención, hubo artículos que incluyeron el estudio de parénquima renal patológico³⁷ y sano adyacente^{25,31,33}.

A continuación, se procede a describir el desenlace de cada estudio:

- **Oto, J et al²³; 2021:**

Se desarrolló en dos etapas: de cribado y validación. En la primera, se compararon los miRNAs en orina de 16 sujetos antes y 14 días después de la cirugía. De este modo, se obtuvo señal de 102 miRNAs en CCRcc. A

continuación, estos se analizaron en orina de 51 pacientes con CCR y en 32 controles y se identificaron 3 miRNAs desregulados: miR-200a-3p, miR-34-5p y miR-365a-3p.

Los autores concluyeron que estos tres últimos podrían utilizarse como herramienta diagnóstica potencial de CCR. Además, identificaron dos miRNAs más regulados al alza: let-7d-5p y miR-205-5p. Respecto al seguimiento después de la cirugía, podrían ser utilizados let-7d-5p, miR-152-3p, miR-30c-5p, miR-362-3p y miR-30e-3p.

- **Cochetti, G et al²⁴; 2020:**

A través del análisis de bases de datos, se obtuvieron 27 miRNAs sobreexpresados y 30 subexpresados que fueron estudiados en orina de 17 pacientes con CCRcc y 14 controles. Todos los participantes menores de 30 años fueron excluidos, junto con aquellos que presentaron alguna afectación del aparato renal u otras formas neoplásicas. Cabe destacar que 3 muestras no fueron confiables.

Se validaron los resultados en tejido renal canceroso y sano adyacente de los 14 participantes y se realizó un algoritmo que encontró los mejores biomarcadores: miR-122, miR-1271 y miR-15b, que obtuvieron un AUC de 0,82, 0,79 y 0,59 respectivamente.

El estudio destacó a miR-122 como mejor marcador potencial de CCRcc en orina. La sobreexpresión de miR-1271 y miR-15b fue del 70%, teniendo este último un menor poder de discriminación. Menos miR-1271, todos presentaron sobreexpresión tisular. A pesar de que estos miRNAs podrían servir como marcadores de CCRcc, el estudio concluyó que el mejor poder de discriminación lo obtuvo la combinación de estos tres con un AUC de 0,96, una sensibilidad del 100% y una especificidad del 86%.

- **Song, S et al²⁵; 2019:**

Empleando técnicas como el Western blotting y Bioanalyzer identificaron 126 especies de miRNAs. Seguidamente, su patrón de expresión fue comparado en orina entre 70 pacientes con CCRcc y 30 controles sanos. De este modo, se

encontraron desregulados de forma más estable en CCRcc miR-30c-5p y miR-27b-3p (regulados a la baja), y miR-122-5p (regulado al alza).

Finalmente, estos hallazgos fueron evaluados en función de la expresión de miRNAs en 30 sujetos con cáncer de próstata y 30 sujetos con cáncer de vejiga, obteniendo sólo uno no sobreexpresado en estos últimos: miR-30c-5p.

Por lo tanto, el estudio concluyó que miR-30c-5p podría utilizarse como biomarcador diagnóstico potencial en orina de CCRcc con un AUC de 0,8192.

• **Li, G et al²⁶; 2017:**

A partir de los conocimientos proporcionados por la literatura, se decidió analizar miR-210 en muestras de orina de 64 pacientes con CCRcc y 45 controles sanos en tres etapas. MiR-210 fue sobreexpresado en CCRcc con un AUC de 0,76, sensibilidad del 57,8% y especificidad del 80%. Además, sus niveles disminuyeron a partir del análisis en orina pre y postoperatoria en 15 pacientes.

Aunque no se observaron diferencias significativas entre estadios, el estudio concluyó que podría ser un biomarcador potencial para la detección temprana debido a su sobreexpresión en estadios iniciales.

• **Mytsyk, Y et al²⁷; 2018:**

Se analizó miR-15a en 52 sujetos con diferentes subtipos de CCR, 15 tumores renales benignos (oncocitoma, adenoma papilar y angiomiolipoma) y 15 controles.

Los resultados del análisis observaron diferencias entre el tamaño y el valor de la expresión del miRNA y una mayor expresión en los tumores con áreas de necrosis. Sin embargo, no se observaron diferencias entre los tipos de CCR y miR-15a no fue capaz de diferenciar CCR estadios muy iniciales (T1a N0 M0) en tres casos ni angiomiolipomas de gran tamaño.

A pesar de esto, el estudio concluyó que miR-15a es un buen biomarcador diagnóstico en orina con capacidad de diferenciar cánceres renales benignos

y malignos con un AUC de 0,955, una sensibilidad del 100% y especificidad del 98,1%. Además, se realizó un análisis patológico en todos tras la cirugía y se observó que disminuyeron los niveles.

• **Fedorko, M et al²⁸; 2017:**

Se estudió la familia de let-7 en orina de 69 sujetos con CCRcc y 36 controles y se analizaron las diferencias, obteniendo una mayor concentración de estos en muestras de orina patológicas. Fue let-7a, quien obtuvo mayor capacidad de diferenciación. Con todo, los autores concluyeron que let-7a era un buen biomarcador en orina de CCRcc y tenía buena capacidad para diferenciar casos y controles con un AUC de 0,8307 y una sensibilidad del 71% y especificidad del 81%.

• **Huang, G et al²⁹; 2020:**

Este estudio se desarrolló en tres etapas. En la etapa de screening, se escogieron 8 miRNAs a partir del análisis en suero de 20 pacientes con CCRcc y 20 controles. Estos 8 miRNAs desregulados, fueron reducidos a 5 candidatos en la etapa de prueba, que aumentó la muestra a 30 enfermos y 30 controles. Finalmente, la muestra fue aumentada en la etapa de validación, con 30 pacientes con CCR y 80 controles, donde se evaluaron los miRNAs obtenidos en la etapa de prueba y se seleccionó un panel diagnóstico de 3 miRNAs: miR-224-5p, miR-34b-3p, y miR-182-5p.

Finalmente, se llegó a la conclusión de que estos 3 miRNAs podrían servir como biomarcador no invasivo en suero de CCR con un AUC de 0,855. No se encontraron diferencias significativas entre el panel de miRNA con la localización tumoral, el grado de Fuhrman y el estadio clínico.

• **Liu, S et al³⁰; 2019:**

A partir de dos bases de datos (GEO y TCGA), se analizaron miRNAs en muestras de sangre periférica de 10 participantes con CCRcc y 10 controles en una primera etapa de screening. Con esto, se escogieron cuatro que fueron estudiados en 85 casos y 35 controles en una segunda etapa de validación. Se observó que miR-508-3p se encontraba regulado a la baja en

estadios avanzados de CCRcc y miR-885-5p regulado al alza; también en estadios avanzados.

Los autores concluyeron que ambos fueron capaces de diferenciar CCRcc de los controles sanos con un AUC de 0,90.

• **Lou, N et al³¹; 2017:**

Inicialmente, se realizaron Microarrays en plasma pre y postoperatorio de 5 pacientes con CCRcc y se observó que miR-144-3p se encontraba regulado al alza. A continuación, se compararon los niveles de miR-144-3p en sangre pre y postoperatoria de 106 pacientes con CCRcc, 19 con CCRncc, 28 pacientes con angiomiolipoma y 123 controles; se perdió 1 participante con CCRncc. También se procedió a analizar la expresión de miR-144-3p en tejido tumoral y adyacente de 110 participantes con CCRcc y 17 controles. En este análisis también se perdieron tres pacientes. Finalmente se analizó la correlación de sus niveles a nivel plasmático y tisular.

Como resultado del análisis, se encontró que miR-144-3p se encontraba regulado al alza en estadios avanzados (T3-T4) de CCRcc con un AUC de 0,91, una sensibilidad del 87,10% y especificidad del 83,02%. No se encontró asociación con el sexo, la edad, el grado histológico de Fuhrman o el tamaño. MiR-144-3p fue también capaz de discriminar tumores renales benignos como el angiomiolipoma con un AUC de 0,82, una sensibilidad del 75% y especificidad del 71,70%. Respecto a sus niveles pre y postoperatorios, disminuyeron significativamente en CCRcc sin mostrar diferencias entre el tipo de cirugía realizada (nefrectomía parcial o radical). Los niveles plasmáticos de miR-144-3p se correlacionaron con los tisulares.

Por lo tanto, el estudio concluyó que miR-144-3p es un biomarcador diagnóstico novedoso de CCRcc en plasma sanguíneo.

• **Wang, C et al³²; 2015:**

Este estudio se realizó en tres etapas. En la primera, fueron escogidos 20 miRNAs a partir del análisis en suero de 25 casos de CCRcc y 25 controles. A continuación, se aumentó la muestra a 28 participantes en ambos grupos y se

seleccionaron 5 candidatos que fueron evaluados en la etapa de validación, donde se obtuvieron resultados consistentes con la etapa de prueba. De esta manera, se creó un panel de 5 miRNAs que presentaron una alta capacidad para discriminar CCRcc de sujetos sanos en etapa temprana (estadios I y II) con un AUC de 0,797 y una alta sensibilidad (80%) y especificidad (71%). El AUC para la discriminación sólo en estadio I fue de 0,801.

Los autores concluyeron que este panel compuesto por miR-193a-3p, miR-362, miR-572, miR-28-5p y miR-378 podría servir como biomarcador diagnóstico de CCRcc en plasma sanguíneo.

• **Zhao, A et al³³; 2013:**

Se cuantificó miR-210 en plasma sanguíneo antes de la cirugía de 68 pacientes con CCR y 42 controles. En 10 de los pacientes, se cuantificó también tras la cirugía.

Con esto, se llegó a la conclusión de que miR-210 podría servir como biomarcador diagnóstico de CCR en suero, presentando niveles séricos elevados en CCR con un AUC de 0,874, una sensibilidad del 81% y especificidad del 79.4%. A pesar de que no se observaron diferencias en los estadios TNM, el nivel medio de miR-210 se redujo significativamente en las muestras postoperatorias.

• **Redova, M et al³⁴; 2012:**

Se trató de un estudio dividido en dos etapas. Inicialmente, se estudiaron 667 miRNAs en 15 personas con CCRcc y 12 controles. A partir de aquí, se escogieron 30, de los cuales sólo 3 mostraron diferencias estadísticamente significativas. Finalmente, en la etapa de validación, formada por 90 casos de CCR y 35 controles, se quedaron con dos: miR-378, que se encontraba regulado al alza en CCR con un AUC de 0,71, una sensibilidad del 70% y especificidad del 77% y miR-451, que se encontraba regulado a la baja con un AUC de 0,77, sensibilidad del 81% y especificidad del 77%.

La capacidad de discriminación de CCR en suero aumentó cuando ambos se combinaron con un AUC de 0,86, una sensibilidad del 81% y especificidad del 83%.

Los autores concluyeron que ambos demostraron ser capaces de discriminar CCR en suero, pero su combinación fue aún más potente.

• **Xiao, C et al³⁵; 2020:**

También se trató de un estudio dividido en varias etapas. En la etapa de detección, se analizó en sangre de 5 pacientes con CCR y 5 controles el perfil de miRNA exosomal y se escogieron 22 miRNAs. Estos, fueron evaluados en 22 enfermos y 16 controles en la etapa de validación. De 9 miRNAs que se escogieron, 3 obtuvieron diferencias estadísticamente significativas: has-miR-424-3p, has-miR-92a-1-5p y has-miR-149-3p.

Has-miR-424-3p se encontró regulado al alza con un AUC de 0,77, una sensibilidad del 81,8% y especificidad del 75% y has-miR-92a-1-5p se encontró regulado a la baja con un AUC de 0.83, especificidad del 87,5% y sensibilidad del 77,3%. En el caso de has-miR-149-3p, tuvo menor poder de discriminación con un AUC, una sensibilidad y especificidad de 0,7.

El estudio concluyó que, aunque se podrían utilizar como biomarcadores prometedores se necesita una validación adicional con una cohorte más grande para confirmar los resultados del estudio.

• **Zhang, W et al³⁶; 2018:**

En primer lugar, se recogieron muestras de sangre antes de la cirugía de 82 pacientes con CCRcc y 80 controles. Se analizaron las diferencias entre ambos grupos y se compararon los resultados con 10 muestras de pacientes postoperatorias. De este modo se obtuvieron dos miRNAs regulados al alza en CCRcc: miR-210 y miR-1233. Además, sus niveles disminuyeron en las muestras postoperatorias. No se encontraron diferencias entre estadios.

Por lo tanto, se llegó a la conclusión de que miR-210 y miR-1233, eran capaces de diferenciar CCRcc con un AUC de 0,69 y 0,82. Su sensibilidad fue del 70 y 81% y su especificidad del 62,2 y 76%.

- **Iwamoto, H et al³⁷; 2014:**

En una muestra compuesta por 34 individuos con CCRcc y 23 controles se evaluaron los niveles tisulares y séricos de miR-210.

La expresión tisular y sérica de miR-210 fue mayor en CCRcc, por lo que se concluyó que el nivel sérico de miR-210 podría servir como un biomarcador útil para el diagnóstico temprano de CCRcc con un AUC de 0,77, una sensibilidad del 65% y especificidad del 83%. No se encontró asociación con la edad, sexo, tamaño tumoral o metástasis.

- **Butz, H et al³⁸; 2016:**

En la etapa de cribado, donde no se ha podido conocer el tamaño muestral, se seleccionaron 48 miRNAs tras el estudio de 754. En la etapa de detección, compuesta por 40 CCRcc, sólo se sobreexpresó miR-150-5p sin alcanzar la significación estadística y miR-126-3p se encontró regulado a la baja. En esta etapa también se identificaron 12 combinaciones de dos miRNA que ofrecían una mejor discriminación y 8 combinaciones de dos miRNAs que distinguían mejor los tumores de masa renal pequeña (≤ 4 cm).

Finalmente, en la etapa de validación se confirmó la subexpresión de miR-126-3p en CCRcc, con capacidad de diferenciar tumores tempranos y un AUC de 0,65, y las combinaciones halladas en la etapa previa. Las que mayor AUC obtuvieron fueron miR-126-3p con miR-449a (AUC 0,84) y miR-126-3p con miR-34b-5p (AUC 0,79). Para distinguir tumores con masa renal pequeña fueron miR-126-3p con miR-449a y miR-150-5p con miR-126-3p con un AUC 0,89 y 0,77.

A continuación, se evaluó miR-126-3p, 449a, miR-17-5p y miR-21-5p en orina pre y postoperatoria y se observaron cambios.

Por último, se comprobó que las células cancerígenas secretaban los miRNAs exosomales, observando miR-126-3p, miR-34b-5p, miR-25-3p, miR-21-5p y miR-17-5p.

Con todo esto, se concluyó que estos miRNAs exosomales podrían servir como biomarcadores urinarios de CCRcc.

El conjunto de miRNAs hallados en los diferentes estudios, se ha adjuntado en el Anexo 3, donde se puede observar cada miRNA hallado con el cáncer al que se asocia su desregulación, dónde se encuentra y sus características. También se ha añadido el AUC de cada uno, ya que nos permite conocer la capacidad de discriminación de cada uno de ellos, la sensibilidad y la especificidad.

8.4. Análisis del riesgo de sesgo

Como se ha comentado en el Apartado 7.6, para el análisis del riesgo de sesgo se utilizó la herramienta QUADAS-2. Los resultados de su aplicación en los estudios se observan en la Tabla 5, que se muestra a continuación. Su desarrollo y la preocupación sobre la aplicabilidad de los estudios se encuentran en el Anexo 4 y el Anexo 5.

Tabla 5. Análisis del riesgo de sesgo

	Probabilidad de sesgos			
	Selección de los individuos	Prueba índice	Prueba de referencia	Flujo y tiempos
Oto, J et al ²³	Incierta	Alta	Incierta	Alta
Cochetti, G et al ²⁴	Alta	Incierta	Incierta	Incierta
Song, S et al ²⁵	Incierta	Incierta	Alta	Baja
Li, G. et al ²⁶	Incierta	Incierta	Incierta	Alta
Mytsyk, Y et al ²⁷	Incierta	Incierta	Incierta	Incierta
Fedorko, M et al ²⁸	Incierta	Incierta	Incierta	Incierta
Huang, G et al ²⁹	Incierta	Alta	Incierta	Alta
Liu, S et al ³⁰	Incierta	Alta	Incierta	Incierta
Lou, N et al ³¹	Alta	Alta	Incierta	Alta
Wang, C et al ³²	Incierta	Incierta	Alta	Alta
Zhao, A et al ³³	Alta	Alta	Incierta	Alta
Redova, M et al ³⁴	Alta	Incierta	Incierta	Incierta
Xiao, C et al ³⁵	Alta	Incierta	Incierta	Incierta
Zhang, W et al ³⁶	Alta	Incierta	Incierta	Incierta
Iwamoto, H et al ³⁷	Alta	Alta	Incierta	Incierta
Butz, H et al ³⁸	Alta	Incierta	Alta	Incierta

9. DISCUSIÓN

El propósito de este estudio ha sido revisar la literatura acerca del diagnóstico de CCR a partir del análisis de miRNAs en orina o sangre.

Todos los estudios incluidos presentaron un diseño de pruebas diagnósticas similar al de casos y controles. No se ha visto un claro predominio de un fluido biológico (siete han sido realizados en orina y nueve en plasma) y el diseño de la muestra ha sido diferente, lo que ha dificultado la comparación entre ellos.

Utilizar un miRNA candidato a estudio a partir de conocimientos proporcionados por la literatura previa, ha sido el método llevado en varios artículos^{27, 28, 29, 30, 31, 33}. Esto podría provocar un rechazo de aquellos biomarcadores más prometedores y una sobreestimación de los resultados. En el lado opuesto, hemos encontrado el estudio de Lou, N et al³¹, que en un inicio analizó todos los perfiles de miRNAs en cinco pacientes con CCRcc pre y postoperatorios a través de los microarrays.

El tamaño muestral de la mayoría de los estudios fue adecuado, con excepción de los realizados por Xiao, C et al³⁵ e Iwamoto, H et al³⁷, que tuvieron un bajo número de participantes. Pese a que la mayoría presentaron un buen tamaño muestral, que favoreció la comparación entre los casos y los controles, los organizados en fases o etapas tuvieron un bajo tamaño muestral en la etapa de cribado^{23, 29, 30, 32, 34, 35}. Aunque finalmente, en todos se encontrara un miRNA con capacidad para diferenciar CCR, el diseño de esta primera etapa podría haber rechazado aquellos miRNAs más prometedores, como sucedía anteriormente.

Más de la mitad de los participantes con CCR presentaron estadios precoces o bajo grado histológico, con excepción de los realizados por Zhao, A et al³³ y Li, G et al²⁶. Aunque miR-15a²⁷ no fue capaz de diferenciar estadios precoces (T1aN0M0), sí que se encontraron muchos miRNAs con capacidad para distinguir tumores tempranos como miR-126-3p³⁸, este último junto con miR-449a³⁸ y miR-150-5p³⁸ con miR-126-3p³⁸ para tumores ≤ 4 cm; miR-210^{26, 37} para estadio I y la combinación de miR-193a-3p, miR-362, miR-572, miR-28-5p y miR-378³² para estadios I y II.

También se encontraron miRNAs que diferenciaron estadios avanzados (T3 - T4, M1) como miR-144-3p³¹, miR-508-3p³⁰ y miR-885-5p³⁰. Hubo miRNAs como miR-1233³⁶ y miR-210^{26, 33, 36, 37} que no asociaron su expresión con la etapa o el grado de CCR.

Varios autores, introdujeron en su estudio el análisis de miRNAs pre y postoperatorio. Entre los miRNAs que disminuyeron sus valores tras la cirugía encontramos: let-7d-5p²³, miR-15a²⁷, miR-30c-5p²³, miR-30e-3p²³, miR-1233³⁶, miR-144-3p³¹, miR-152-3p²³, miR-210^{26, 33, 36} y miR-362-3p²³. Actualmente, el pronóstico del CCR sólo se puede conocer a través de los hallazgos histopatológicos y clínicos. Los hallazgos de esta medida podrían ser significativos en términos de pronóstico, respuesta al tratamiento y seguimiento y podrían suponer un avance en la estratificación del CCR sin tener que recurrir a la biopsia renal.

Sólo tres estudios^{27, 31, 38} incluyeron en sus muestras tumores renales benignos y malignos. La falta de exclusión de patología renal dificulta encontrar resultados estadísticamente significativos, pero también evita una sobreestimación de los resultados, problema que se podría presentar en el resto de los estudios. Los miRNAs encontrados fueron miR-144-3p³¹, que diferenció CCR de angiomiolipomas, y miR-15a²⁷, que no fue capaz de diferenciar angiomiolipomas de gran tamaño.

Pese a tratarse de un factor ampliamente recogido, tanto en la edad como el sexo no se correlacionaron en ningún estudio con el valor de expresión del CCR.

En lo que respecta a la clasificación de CCR, el CCRcc ha sido el subtipo histológico más ampliamente estudiado, pues es el más frecuente. Todas las muestras lo han presentado excepto la del estudio realizado por Zhao, A et al³³, llegando a obtener 16 miRNAs o conjunto de miRNAs que sólo son diagnósticos del CCRcc. Por tanto, podría suponer un problema de cara al diagnóstico de otros subtipos histológicos como el papilar o el cromóforo, pues el resto que se han presentado como biomarcadores en los estudios, se han basado en una muestra muy heterogénea y no han presentado especificidad de algún subtipo histológico.

Gracias a su diseño, el AUC nos ha permitido conocer la capacidad de discriminar CCR de cada miRNA de forma eficiente. De este modo, los miRNAs que han mostrado diferencias estadísticamente significativas en CCR a partir de su estudio en sangre y orina con alto poder discriminatorio han sido: la combinación de miR-15b, miR-122 y miR-1271²⁴ (AUC 0,96; sensibilidad 100%, especificidad 86%) y miR-15a²⁷ en orina (AUC 0,955; sensibilidad 100%, especificidad 98,1%), miR-144-3p³¹ en estadios T3 Y T4 ((AUC 0,911 (IC del 95%: 0,88–0,95); sensibilidad 87,10%; especificidad 83,02%)), miR-508-3p³⁰ y miR-885-5p³⁰ en plasma sanguíneo (AUC 0,90 (IC del 95%: 0,84–0,96)).

La capacidad de discriminación ha sido menor para la combinación de miR126-3p y miR-449a³⁸ en masas renales pequeñas (AUC 0,89), la combinación de miR-378 y miR-451³⁴ (AUC 0,86) y la combinación de miR-224-5p, miR-34b-3p, y miR-182-5p²⁹ (AUC 0,855).

Únicamente el estudio de Oto, J et al²³, ha presentado un modelo de miRNAs más deficiente, con un AUC de 0,65 en todos ellos. También, varios estudios han presentado alguno con un AUC bajo como miR-210 en el estudio de Zhang, W et al³⁶ (AUC 0,69), miR-126-3p³⁸ (AUC 0,65) y miR-15b²⁴ (AUC 0,59).

Como se ha podido observar, varios estudios optaron por ofrecer una “batería” de miRNAs en lugar de forma individual, pues su combinación fue más potente^{24, 29, 32, 34, 38}. Esto nos puede guiar a la hora de ofrecer esta prueba diagnóstica, pues la desregulación de varios aumentaría el valor predictivo positivo de la prueba.

Aunque miR-210 ha sido el miRNA más estudiado^{26, 33, 36, 37}, debido a la variabilidad de diseños de los estudios, se ha mostrado sobreexpresado en orina²⁶ y plasma sanguíneo^{33, 36, 37} de personas con CCRcc^{26, 36, 37} y CCR³³ con diferentes valores de AUC, sensibilidad y especificidad.

Los resultados encontrados, coinciden con los de otros estudios no incluidos, donde también lo consideran un biomarcador pronóstico⁴¹, regulado al alza en CCRcc⁴² y con capacidad para diferenciar otros subtipos de CCR como el tubulocístico⁵.

El estudio de He YH, et al⁴³, ya mostró a miR-210 como un supresor tumoral sobreexpresado en CCRcc e implicado en la señal VHL-HIF, cuya mutación favorece la angiogénesis y la progresión tumoral. En lo que respecta también a sus características biológicas, en el estudio de Samaan, S et al⁴⁴, también lo relacionó con la angiogénesis, la regulación del ciclo celular y la supervivencia de las células madre.

Como se ha podido observar, miR-210 es uno de los miRNAs más estudiados en CCR. Toda la literatura consultada referida a este miRNA coincide con su capacidad para mostrarse sobreexpresado en suero de CCRcc, por lo que podría tratarse de un prometedor biomarcador diagnóstico y pronóstico tumoral.

Aunque en la presente revisión no se encontró una combinación de miR-210 con otro miRNA que potenciara su capacidad discriminadora, en el estudio realizado por Fedorko, M et al⁴⁵ sí que se encontró este efecto junto con otro miRNA incluido en esta revisión: miR-378³⁴.

La relación de miR-378 con el CCR no ha quedado clara, pues los resultados obtenidos a partir del análisis descriptivo han sido ambiguos. Mientras que, en el estudio de Redova, M et al³⁴ se encontró que miR-378 estaba regulado al alza en plasma sanguíneo de CCR con AUC de 0,71 (IC del 95%, 0,62 a 0,79), una sensibilidad del 70% y especificidad del 60%, el estudio de Wang, C et al³² lo encontró regulado a la baja. En este último su capacidad de discriminación se encontró dentro de un panel de cinco miRNAs con un AUC 0,801 (IC del 95%, 0,731–0,871).

La sobreexpresión de miR-15a y la disminución de la concentración tras la cirugía hallada en este estudio, también fueron descritas en las publicaciones de Yang L et al⁵ y Von Brandenstein, M et al⁴⁶. No ha sucedido lo mismo con el miR-1233 sérico, donde publicaciones previas habían puesto en duda su capacidad de discriminación⁴⁷ con un AUC de solo 0,588 (IC del 95%: 0,505-0,671). Sin embargo, son más los estudios que apoyan los resultados obtenidos en esta revisión, donde su regulación al alza en plasma tuvo buena capacidad pronóstica⁴¹ y diagnóstica, con una sensibilidad y especificidad del 93,3% y 100%⁴⁸.

Debido a la disparidad de resultados entre los diferentes estudios, miR-378 necesitaría un análisis más completo que permitiera establecer su capacidad diagnóstica y pronóstica.

MiR-122²⁴ sí que podría considerarse un biomarcador urinario de CCRcc, pues los resultados obtenidos sí que coinciden con la literatura consultada, que destaca su acción supresora tumoral a través de la disminución del efecto de KRAS y se confirma su sobreexpresión en el CCRcc⁵. Un AUC de 0,82 (IC95% (0,66 - 0,99; $p < 0,0042$)) confirmó su capacidad de discriminación sin que, como en el estudio de Wotschovsky, Z et al⁴⁹, se confirmara su valía para el seguimiento, mostrándose expresado en la recurrencia de CCRcc tras la nefrectomía radical.

El estudio de Yang L et al⁵, incluyó numerosos miRNAs que actuaban como oncogenes en el CCR y que, por tanto, podrían validar algunos de los resultados obtenidos en la revisión: miR-205-5p, miR-200a-3p, miR-182-5p, miR-25-3p, miR-193a-3p y miR-224. Estos datos resultan atractivos en nuestro estudio y los convierte en interesantes marcadores a estudio en un futuro.

9.1. Limitaciones del estudio

Es de interés comentar los resultados hallados tras la evaluación de la calidad metodológica con el sistema de puntuación QUADAS-2.

De forma generalizada, la calidad de los estudios fue baja. En cuanto a la selección de participantes, el 50%^{24, 31, 33, 34, 35, 36, 37, 38} tuvieron un alto riesgo de sesgo. La prueba índice y de referencia también obtuvieron baja puntuación en todos los estudios, presentando un 38%^{23, 29, 30, 31, 33, 37} y 19%^{25, 32, 38} alto riesgo de sesgo respectivamente. En todos se desconoció si los resultados de la prueba índice fueron interpretados conociendo los resultados de la prueba de referencia y viceversa. Esto nos hace poner en duda los resultados obtenidos y si la interpretación por parte de los investigadores fue la correcta.

En lo que respecta al flujo de pacientes, en sólo cinco^{24, 25, 27, 28, 37} de los dieciséis artículos se evidenció que había existido un periodo de tiempo adecuado entre la toma de muestras y el diagnóstico clínico. Por esta razón, muchos podrían presentar alto riesgo de error en la clasificación de los

pacientes, pues en el periodo de tiempo transcurrido se desconoce si se ha producido una mejoría o empeoramiento de la condición clínica del paciente.

Dos estudios^{24, 31} presentaron pérdida de pacientes. Respecto al sesgo de verificación, en muchos estudios no fue posible conocer cómo habían seleccionado a los controles^{24, 25, 31, 33, 34, 35, 36}. En el resto de los estudios, fue imposible que la prueba de referencia hubiera sido aplicada también en los controles, pues la biopsia renal no está indicada en pacientes con baja sospecha de CCR, por lo que todos presentaron alto riesgo de sesgo.

Con todo esto, sólo un estudio²⁵ obtuvo bajo riesgo de sesgo en flujo y tiempos y el 38%^{23, 26, 29, 31, 32, 33} obtuvieron alto riesgo de sesgo.

Debido a lo prometedor que resulta este nuevo método es inevitable encontrar un posible sesgo de publicación, pues seguramente en las bases de datos sólo han sido publicados los estudios que presentan los hallazgos más positivos correspondientes a esta nueva técnica diagnóstica.

El análisis cuantitativo de los resultados no se puede realizar debido a la heterogeneidad de los estudios seleccionados.

Por último, todos los estudios, incluyeron sólo participantes del país de origen, que pone en duda la validez externa de los resultados. Además, sólo fueron escogidos los publicados en inglés y castellano. Esta restricción pudo excluir estudios redactados en un idioma diferente que fueran relevantes.

9.2. Implicaciones para la práctica clínica

Tanto la orina como el plasma sanguíneo son dos fluidos biológicos fáciles de recolectar en los que se reflejan muchos cambios corporales. Por este motivo, aunque se precisan de mejores estudios, el perfil de miRNAs en orina y suero podría resultar una herramienta sencilla y conveniente para diagnosticar CCR.

Tras el análisis de la calidad de los estudios, los resultados se encuentran muy limitados por su alta probabilidad de sesgos, lo que dificulta su aplicación en la práctica clínica en el momento actual. Además, el diseño de todos los estudios, que es similar al de casos y controles, dificulta la estimación de los valores predictivos (VPP y VPN), pues no tiene en cuenta la prevalencia de la enfermedad⁵⁰.

10. CONCLUSIONES

A partir de la presente revisión se ha podido revisar la evidencia y conocer en qué consiste el diagnóstico de CCR a partir del análisis de miRNAs en orina y sangre. Han sido numerosos los miRNAs candidatos, siendo miR-210 el más estudiado y, por tanto, el que ha presentado mayor evidencia. Sin embargo, el mejor poder de discriminación de CCR lo ha presentado un conjunto de miRNAs en forma de “batería”, por lo que sería de interés un mayor estudio de este campo.

Tras poder conocer en qué consiste este nuevo método diagnóstico, no hay duda de que el análisis de miRNAs en orina o sangre es una herramienta diagnóstica menos incruenta que la biopsia renal. No obstante, ha faltado evaluar algunos aspectos como la recogida y el procesamiento de las muestras.

La capacidad de los miRNAs para detectar estadios precoces de CCR a partir del análisis de sangre y orina, también ha podido ser evaluada. Han sido numerosos los miRNAs encontrados con esta propiedad. Sin embargo, para poder confirmar nuestros resultados serían necesarios más estudios que proporcionaran mayor calidad de la evidencia científica, como ensayos clínicos aleatorizados y estudios multicéntricos.

Pese a que resulta atractivo, este nuevo método no alcanza aún la sensibilidad de la biopsia renal y harían falta más estudios que valoraran esta nueva herramienta diagnóstica en términos de pronóstico, historia de la enfermedad y respuesta a tratamientos.

Por último, aunque en la presente revisión se han podido conocer los beneficios del diagnóstico de CCR a partir del análisis de miRNAs en sangre u orina, la aplicación de esta nueva forma de diagnosticar CCR aún queda lejos de la práctica clínica, lo que impide la comparación con las técnicas implantadas actualmente. Por lo tanto, serían necesarios muchos más estudios que garantizaran su beneficio.

11. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Oltra M. Study of the microRNA expression profile dysregulation by hydrogen peroxide on the retinal pigment epithelium cells: role of miR-205-5p. 2021.
- [2] Oto J, Plana E, Sánchez-González JV, García-Olaverri J, Fernández-Pardo Á, España F, et al. Urinary microRNAs: Looking for a New Tool in Diagnosis, Prognosis, and Monitoring of Renal Cancer. *Curr Urol Rep* [Internet]. 2020 Feb 1 [cited 2021 Nov 29];21(2). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32166474/>
- [3] Miguel V, Rey C, Aceña JL, Maqueda F, Fernández-Hernando C, Rodríguez-Puyol D, et al. El sistema pHLIP como vehículo de microRNA en el riñón. *Nefrología* [Internet]. 2020 Sep 1 [cited 2021 Oct 27];40(5):491–8. Available from: <https://www.revistanefrologia.com/es-el-sistema-phlip-como-vehiculo-articulo-S0211699520300849>
- [4] Renal Cell Carcinoma - INTRODUCTION - Uroweb [Internet]. [cited 2022 Apr 1]. Available from: <https://uroweb.org/guidelines/renal-cell-carcinoma>
- [5] Yang L, Zou X, Zou J, Zhang G. A Review of Recent Research on the Role of MicroRNAs in Renal Cancer. *Med Sci Monit* [Internet]. 2021 May 8 [cited 2021 Dec 18];27:e930639-1. Available from: </pmc/articles/PMC8114846/>
- [6] Tran N, Hutvagner G. Biogenesis and the regulation of the maturation of miRNAs. *Essays Biochem* [Internet]. 2013 [cited 2021 Dec 18];54(1):17–28. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23829524/>
- [7] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell* [Internet]. 2004 Jan 23 [cited 2021 Dec 18];116(2):281–97. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14744438/>
- [8] Ye J, Xu M, Tian X, Cai S, Zeng S. Research advances in the detection of miRNA. *J Pharm Anal*. 2019 Aug 1;9(4):217–26.
- [9] Cheng Y, Dong L, Zhang J, Zhao Y, Li Z. Recent advances in microRNA detection. *Analyst* [Internet]. 2018 Apr 16 [cited 2021 Dec 21];143(8):1758–74. Available from: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlehtml/2018/an/c7an02001e>

- [10] Levi F, Ferlay J, Galeone C, Lucchini F, Negri E, Boyle P, et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU Int* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2021 Dec 24];101(8):949–58. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1464-410X.2008.07451.x>
- [11] Chow WH, Dong LM, Devesa SS. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2010 May [cited 2021 Dec 24];7(5):245–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20448658/>
- [12] Gupta K, Miller JD, Li JZ, Russell MW, Charbonneau C. Epidemiologic and socioeconomic burden of metastatic renal cell carcinoma (mRCC): a literature review. *Cancer Treat Rev* [Internet]. 2008 May [cited 2021 Dec 24];34(3):193–205. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18313224/>
- [13] Yang L, Zou X, Zou J, Zhang G. A Review of Recent Research on the Role of MicroRNAs in Renal Cancer. *Med Sci Monit* [Internet]. 2021 May 8 [cited 2021 Dec 18];27:e930639-1. Available from: </pmc/articles/PMC8114846/>
- [14] Yang L, Zou X, Zou J, Zhang G. A Review of Recent Research on the Role of MicroRNAs in Renal Cancer. *Med Sci Monit* [Internet]. 2021 May 8 [cited 2021 Dec 18];27:e930639-1. Available from: </pmc/articles/PMC8114846/>
- [15] Bhaskaran M, Mohan M. MicroRNAs: history, biogenesis, and their evolving role in animal development and disease. *Vet Pathol* [Internet]. 2014 Jul 1 [cited 2021 Dec 27];51(4):759–74. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24045890/>
- [16] Cinque A, Vago R, Trevisani F. Circulating RNA in Kidney Cancer: What We Know and What We Still Suppose. *Genes (Basel)* [Internet]. 2021 Jun 1 [cited 2021 Dec 29];12(6). Available from: </pmc/articles/PMC8227397/>
- [17] Levi F, Ferlay J, Galeone C, Lucchini F, Negri E, Boyle P, et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU Int* [Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2021 Dec 24];101(8):949–58. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1464-410X.2008.07451.x>
- [18] Levi F, Ferlay J, Galeone C, Lucchini F, Negri E, Boyle P, et al. The changing pattern of kidney cancer incidence and mortality in Europe. *BJU Int*

[Internet]. 2008 Apr 1 [cited 2021 Dec 24];101(8):949–58. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/j.1464-410X.2008.07451.x>

[19] Al-Bayati O, Hasan A, Pruthi D, Kaushik D, Liss MA. Systematic review of modifiable risk factors for kidney cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2019 Jun 1;37(6):359–71.

[20] Al-Bayati O, Hasan A, Pruthi D, Kaushik D, Liss MA. Systematic review of modifiable risk factors for kidney cancer. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2019 Jun 1;37(6):359–71.

[21] Chow WH, Dong LM, Devesa SS. Epidemiology and risk factors for kidney cancer. *Nat Rev Urol* [Internet]. 2010 May [cited 2021 Dec 24];7(5):245–57. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20448658/>

[22] Ciapponi A. QUADAS-2: instrumento para la evaluación de la calidad de estudios de precisión diagnóstica QUADAS-2: an instrument for the evaluation of the quality of diagnostic precision studies. [cited 2022 Apr 1]; Available from: <http://www.bris.ac.uk/quadas>

[23] Oto J, Herranz R, Plana E, Sánchez-González JV, Pérez-Ardavín J, Hervás D, et al. Identification of mir-20a-5p as robust normalizer for urine microrna studies in renal cell carcinoma and a profile of dysregulated micrnas. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2021 Aug 1 [cited 2022 Feb 9];22(15). Available from: </pmc/articles/PMC8347250/>

[24] Cochetti G, Cari L, Nocentini G, Maulà V, Suvieri C, Cagnani R, et al. Detection of urinary miRNAs for diagnosis of clear cell renal cell carcinoma. *Sci Rep* [Internet]. 2020 Dec 1 [cited 2022 Jan 29];10(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33277569/>

[25] Song S, Long M, Yu G, Cheng Y, Yang Q, Liu J, et al. Urinary exosome miR-30c-5p as a biomarker of clear cell renal cell carcinoma that inhibits progression by targeting HSPA5. *J Cell Mol Med*. 2019 Oct 1;23(10):6755–65.

[26] Li G, Zhao A, Péoch M, Cottier M, Mottet N. Detection of urinary cell-free miR-210 as a potential tool of liquid biopsy for clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol Semin Orig Investig*. 2017 May 1;35(5):294–9.

- [27] Mytsyk Y, Dosenko V, Borys Y, Kucher A, Gazdikova K, Busselberg D, et al. MicroRNA-15a expression measured in urine samples as a potential biomarker of renal cell carcinoma. *Int Urol Nephrol* [Internet]. 2018 May 1 [cited 2022 Jan 29]; 50(5):851–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29549624/>
- [28] Fedorko M, Juracek J, Stanik M, Svoboda M, Poprach A, Buchler T, et al. Detection of let-7 miRNAs in urine supernatant as potential diagnostic approach in non-metastatic clear-cell renal cell carcinoma. *Biochem Medica* [Internet]. 2017 [cited 2022 May 3];27(2):411. Available from: [/pmc/articles/PMC5493171/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32556603/)
- [29] Huang G, Li X, Chen Z, Wang J, Zhang C, Chen X, et al. A Three-microRNA Panel in Serum: Serving as a Potential Diagnostic Biomarker for Renal Cell Carcinoma. *Pathol Oncol Res* [Internet]. 2020 Oct 1 [cited 2022 Jan 29];26(4):2425–34. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32556891/>
- [30] Liu S, Deng X, Zhang J. Identification of dysregulated serum miR-508-3p and miR-885-5p as potential diagnostic biomarkers of clear cell renal carcinoma. *Mol Med Rep* [Internet]. 2019 [cited 2022 Jan 29];20(6):5075–83. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/31661117/>
- [31] Lou N, Ruan AM, Qiu B, Bao L, Xu YC, Zhao Y, et al. miR-144-3p as a novel plasma diagnostic biomarker for clear cell renal cell carcinoma. *Urol Oncol* [Internet]. 2017 Jan 1 [cited 2022 Jan 29];35(1):36.e7-36.e14. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27633984/>
- [32] Wang C, Hu J, Lu M, Gu H, Zhou X, Chen X, et al. A panel of five serum miRNAs as a potential diagnostic tool for early-stage renal cell carcinoma. *Sci Rep* [Internet]. 2015 Jan 5 [cited 2022 Jan 29];5. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25556603/>
- [33] Zhao A, Li G, Péoc'h M, Genin C, Gigante M. Serum miR-210 as a novel biomarker for molecular diagnosis of clear cell renal cell carcinoma. *Exp Mol Pathol* [Internet]. 2013 Feb [cited 2022 Jan 29];94(1):115–20. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23064048/>
- [34] Redova M, Poprach A, Nekvindova J, Iliev R, Radova L, Lakomy R, et al. Circulating miR-378 and miR-451 in serum are potential biomarkers for renal

cell carcinoma. *J Transl Med* [Internet]. 2012 Mar 22 [cited 2022 Jan 29];10(1). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22440013/>

[35] Xiao CT, Lai WJ, Zhu WA, Wang H. MicroRNA derived from circulating exosomes as noninvasive biomarkers for diagnosing renal cell carcinoma. *Onco Targets Ther*. 2020; 13:10765–74.

[36] Zhang W, Ni M, Su Y, Wang H, Zhu S, Zhao A, et al. MicroRNAs in Serum Exosomes as Potential Biomarkers in Clear-cell Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol Focus*. 2018 Apr 1;4(3):412–9.

[37] Iwamoto H, Kanda Y, Sejima T, Osaki M, Okada F, Takenaka A. Serum miR-210 as a potential biomarker of early clear cell renal cell carcinoma. *Int J Oncol*. 2014 Jan;44(1):53–8.

[38] Butz H, Nofech-Mozes R, Ding Q, Khella HWZ, Szabó PM, Jewett M, et al. Exosomal MicroRNAs Are Diagnostic Biomarkers and Can Mediate Cell-Cell Communication in Renal Cell Carcinoma. *Eur Urol Focus*. 2016 Jun 1;2(2):210–8.

[39] Yepes-Nuñez JJ, Urrútia G, Romero-García M, Alonso-Fernández S. Declaración PRISMA 2020: una guía actualizada para la publicación de revisiones sistemáticas. *Rev Española Cardiol*. 2021 Sep 1;74(9):790–9.

[40] Swami U, Nussenzeig RH, Haaland B, Agarwal N. Revisiting AJCC TNM staging for renal cell carcinoma: quest for improvement. *Ann Transl Med* [Internet]. 2019 Mar [cited 2022 Mar 28];7(Suppl 1):S18–S18. Available from: </pmc/articles/PMC6462602/>

[41] Dias F, Teixeira AL, Ferreira M, Adem B, Bastos N, Vieira J, et al. Plasmatic miR-210, miR-221 and miR-1233 profile: potential liquid biopsies candidates for renal cell carcinoma. *Oncotarget* [Internet]. 2017 [cited 2022 Apr 12];8(61):103315. Available from: </pmc/articles/PMC5732730/>

[42] Petrozza V, Pastore AL, Palleschi G, Tito C, Porta N, Ricci S, et al. Secreted miR-210-3p as non-invasive biomarker in clear cell renal cell carcinoma. *Oncotarget* [Internet]. 2017 [cited 2022 Apr 12];8(41):69551. Available from: </pmc/articles/PMC5642499/>

- [43] He YH, Chen C, Shi Z. The biological roles and clinical implications of microRNAs in clear cell renal cell carcinoma. *J Cell Physiol* [Internet]. 2018 Jun 1 [cited 2022 Apr 12];233(6):4458–65. Available from: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/jcp.26347>
- [44] Samaan S, Khella HWZ, Girgis A, Scorilas A, Lianidou E, Gabril M, et al. miR-210 Is a Prognostic Marker in Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *J Mol Diagnostics*. 2015 Mar 1;17(2):136–44.
- [45] Fedorko M, Stanik M, Iliev R, Redova-Lojova M, Machackova T, Svoboda M, et al. Combination of MiR-378 and MiR-210 Serum Levels Enables Sensitive Detection of Renal Cell Carcinoma. *Int J Mol Sci* [Internet]. 2015 [cited 2022 Apr 12];16(10):23382–9. Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26426010/>
- [46] Von Brandenstein M, Pandarakalam JJ, Kroon L, Loeser H, Herden J, Braun G, et al. MicroRNA 15a, Inversely Correlated to PKC α , Is a Potential Marker to Differentiate between Benign and Malignant Renal Tumors in Biopsy and Urine Samples. *Am J Pathol* [Internet]. 2012 May 1 [cited 2022 Apr 12];180(5):1787–97. Available from: <http://ajp.amjpathol.org/article/S0002944012001496/fulltext>
- [47] Wulfken LM, Moritz R, Ohlmann C, Holdenrieder S, Jung V, Becker F, et al. MicroRNAs in Renal Cell Carcinoma: Diagnostic Implications of Serum miR-1233 Levels. *PLoS One* [Internet]. 2011 Sep 30 [cited 2022 Apr 12];6(9). Available from: </pmc/articles/PMC3184173/>
- [48] Yadav S, Khandelwal M, Seth A, Saini AK, Dogra PN, Sharma A. Serum microRNA Expression Profiling: Potential Diagnostic Implications of a Panel of Serum microRNAs for Clear Cell Renal Cell Cancer. *Urology* [Internet]. 2017 Jun 1 [cited 2022 Apr 12]; 104:64–9. Available from: <http://www.goldjournal.net/article/S0090429517302649/fulltext>
- [49] Wotschovsky Z, Gummlich L, Liep J, Stephan C, Kilic E, Jung K, et al. Integrated microRNA and mRNA Signature Associated with the Transition from the Locally Confined to the Metastasized Clear Cell Renal Cell Carcinoma Exemplified by miR-146-5p. *PLoS One* [Internet]. 2016 Feb 1 [cited 2022 Apr 12];11(2). Available from: </pmc/articles/PMC4747468/>

[50] Argimon JM, Jimenez J. Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica. 4a. Elsevier; 2013. 522 p.

[51] Liquid Biopsy - MeSH - NCBI [Internet]. [cited 2022 May 3]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=liquid+biopsy>

12. ANEXO

Anexo 1: Declaración PRISMA 2020³⁹

Lista de verificación PRISMA 2020

Sección/tema	Ítem n.º	Ítem de la lista de verificación	Localización del ítem en la publicación
TÍTULO			
Título	1	Identifique la publicación como una revisión sistemática.	
RESUMEN			
Resumen estructurado	2	Vea la lista de verificación para resúmenes estructurados de la declaración PRISMA 2020 (tabla 2).	
INTRODUCCIÓN			
Justificación	3	Describa la justificación de la revisión en el contexto del conocimiento existente.	
Objetivos	4	Proporcione una declaración explícita de los objetivos o las preguntas que aborda la revisión.	
MÉTODOS			
Criterios de elegibilidad	5	Especifique los criterios de inclusión y exclusión de la revisión y cómo se agruparon los estudios para la síntesis.	
Fuentes de información	6	Especifique todas las bases de datos, registros, sitios web, organizaciones, listas de referencias y otros recursos de búsqueda o consulta para identificar los estudios. Especifique la fecha en la que cada recurso se buscó o consultó por última vez.	
Estrategia de búsqueda	7	Presente las estrategias de búsqueda completas de todas las bases de datos, registros y sitios web, incluyendo cualquier filtro y los límites utilizados.	
Proceso de selección de los estudios	8	Especifique los métodos utilizados para decidir si un estudio cumple con los criterios de inclusión de la revisión, incluyendo cuántos autores de la revisión cribaron cada registro y cada publicación recuperada, si trabajaron de manera independiente y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.	
Proceso de extracción de los datos	9	Indique los métodos utilizados para extraer los datos de los informes o publicaciones, incluyendo cuántos revisores recopilaron datos de cada publicación, si trabajaron de manera independiente, los procesos para obtener o confirmar los datos por parte de los investigadores del estudio y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.	
Lista de los datos	10a	Enumere y defina todos los desenlaces para los que se buscaron los datos. Especifique si se buscaron todos los resultados compatibles con cada dominio del desenlace (por ejemplo, para todas las escalas de medida, puntos temporales, análisis) y, de no ser así, los métodos utilizados para decidir los resultados que se debían recoger.	
	10b	Enumere y defina todas las demás variables para las que se buscaron datos (por ejemplo, características de los participantes y de la intervención, fuentes de financiación). Describa todos los supuestos formulados sobre cualquier información ausente (<i>missing</i>) o incierta.	
Evaluación del riesgo de sesgo de los estudios individuales	11	Especifique los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo de los estudios incluidos, incluyendo detalles de las herramientas utilizadas, cuántos autores de la revisión evaluaron cada estudio y si trabajaron de manera independiente y, si procede, los detalles de las herramientas de automatización utilizadas en el proceso.	
Medidas del efecto	12	Especifique, para cada desenlace, las medidas del efecto (por ejemplo, razón de riesgos, diferencia de medias) utilizadas en la síntesis o presentación de los resultados.	
Métodos de síntesis	13a	Describa el proceso utilizado para decidir qué estudios eran elegibles para cada síntesis (por ejemplo, tabulando las características de los estudios de intervención y comparándolas con los grupos previstos para cada síntesis (ítem n.º 5)).	
	13b	Describa cualquier método requerido para preparar los datos para su presentación o síntesis, tales como el manejo de los datos perdidos en los estadísticos de resumen o las conversiones de datos.	
	13c	Describa los métodos utilizados para tabular o presentar visualmente los resultados de los estudios individuales y su síntesis.	
	13d	Describa los métodos utilizados para sintetizar los resultados y justifique sus elecciones. Si se ha realizado un metanálisis, describa los modelos, los métodos para identificar la presencia y el alcance de la heterogeneidad estadística, y los programas informáticos utilizados.	
	13e	Describa los métodos utilizados para explorar las posibles causas de heterogeneidad entre los resultados de los estudios (por ejemplo, análisis de subgrupos, metarregresión).	
	13f	Describa los análisis de sensibilidad que se hayan realizado para evaluar la robustez de los resultados de la síntesis.	

Tabla 1 (Continuación)
Lista de verificación PRISMA 2020

Sección/tema	Ítem n.º	Ítem de la lista de verificación	Localización del ítem en la publicación
Evaluación del sesgo en la publicación	14	Describa los métodos utilizados para evaluar el riesgo de sesgo debido a resultados faltantes en una síntesis (derivados de los sesgos en las publicaciones).	
Evaluación de la certeza de la evidencia	15	Describa los métodos utilizados para evaluar la certeza (o confianza) en el cuerpo de la evidencia para cada desenlace.	
RESULTADOS			
Selección de los estudios	16a	Describa los resultados de los procesos de búsqueda y selección, desde el número de registros identificados en la búsqueda hasta el número de estudios incluidos en la revisión, idealmente utilizando un diagrama de flujo (ver figura 1).	
	16b	Cite los estudios que aparentemente cumplían con los criterios de inclusión, pero que fueron excluidos, y explique por qué fueron excluidos.	
Características de los estudios	17	Cite cada estudio incluido y presente sus características.	
Riesgo de sesgo de los estudios individuales	18	Presente las evaluaciones del riesgo de sesgo para cada uno de los estudios incluidos.	
Resultados de los estudios individuales	19	Presente, para todos los desenlaces y para cada estudio: a) los estadísticos de resumen para cada grupo (si procede) y b) la estimación del efecto y su precisión (por ejemplo, intervalo de credibilidad o de confianza), idealmente utilizando tablas estructuradas o gráficos.	
Resultados de la síntesis	20a	Para cada síntesis, resume brevemente las características y el riesgo de sesgo entre los estudios contribuyentes.	
	20b	Presente los resultados de todas las síntesis estadísticas realizadas. Si se ha realizado un metanálisis, presente para cada uno de ellos el estimador de resumen y su precisión (por ejemplo, intervalo de credibilidad o de confianza) y las medidas de heterogeneidad estadística. Si se comparan grupos, describa la dirección del efecto.	
	20c	Presente los resultados de todas las investigaciones sobre las posibles causas de heterogeneidad entre los resultados de los estudios.	
	20d	Presente los resultados de todos los análisis de sensibilidad realizados para evaluar la robustez de los resultados sintetizados.	
Sesgos en la publicación	21	Presente las evaluaciones del riesgo de sesgo debido a resultados faltantes (derivados de los sesgos de en las publicaciones) para cada síntesis evaluada.	
Certeza de la evidencia	22	Presente las evaluaciones de la certeza (o confianza) en el cuerpo de la evidencia para cada desenlace evaluado.	
DISCUSIÓN			
Discusión	23a	Proporcione una interpretación general de los resultados en el contexto de otras evidencias.	
	23b	Argumente las limitaciones de la evidencia incluida en la revisión.	
	23c	Argumente las limitaciones de los procesos de revisión utilizados.	
	23d	Argumente las implicaciones de los resultados para la práctica, las políticas y las futuras investigaciones.	
OTRA INFORMACIÓN			
Registro y protocolo	24a	Proporcione la información del registro de la revisión, incluyendo el nombre y el número de registro, o declare que la revisión no ha sido registrada.	
	24b	Indique dónde se puede acceder al protocolo, o declare que no se ha redactado ningún protocolo.	
	24c	Describa y explique cualquier enmienda a la información proporcionada en el registro o en el protocolo.	
Financiación	25	Describa las fuentes de apoyo financiero o no financiero para la revisión y el papel de los financiadores o patrocinadores en la revisión.	
Conflicto de intereses	26	Declare los conflictos de intereses de los autores de la revisión.	
Disponibilidad de datos, códigos y otros materiales	27	Especifique qué elementos de los que se indican a continuación están disponibles al público y dónde se pueden encontrar: plantillas de formularios de extracción de datos, datos extraídos de los estudios incluidos, datos utilizados para todos los análisis, código de análisis, cualquier otro material utilizado en la revisión.	

Anexo 2: Búsquedas realizadas en las fuentes de información

Tabla 6. Búsqueda PUBMED

BÚSQUEDA PUBMED	DESCRIPCIÓN DE TÉRMINOS UTILIZADOS	RESULTADOS
B1	MicroRNAs and kidney cancer	1441
B2	"Kidney Neoplasms"[Mesh] AND "MicroRNAs"[Mesh]	918
B3	"MicroRNAs"[Majr] AND "Kidney Neoplasms"[Majr]	763
B4	(("Kidney Neoplasms"[Mesh] AND "MicroRNAs"[Mesh]) AND "Diagnosis"[Mesh])	328
B5	"MicroRNAs"[Mesh] AND ("Kidney Neoplasms/diagnosis"[Mesh])	72
B6	"Kidney Neoplasms"[Mesh] AND "Liquid Biopsy"[Mesh]	19
B7	"MicroRNAs/adverse effects"[Majr] OR "MicroRNAs/immunology"[Majr] OR "MicroRNAs/therapeutic use"[Majr] OR "MicroRNAs/urine"[Majr]) AND ("Kidney Neoplasms/diagnosis"[Majr] OR "Kidney Neoplasms/microbiology"[Majr] OR "Kidney Neoplasms/therapy"[Majr] OR "Kidney Neoplasms/urine"[Majr])	8

Tabla 7. Búsqueda SCOPUS y WOS

BÚSQUEDA SCOPUS	DESCRIPCIÓN DE TÉRMINOS UTILIZADOS	RESULTADOS
B1	TITLE-ABS-KEY (MicroRNAs AND kidney AND cancer)	755
B2	TITLE-ABS-KEY (diagnosis AND kidney AND cancer AND mirnas)	187
BÚSQUEDA WOS	DESCRIPCIÓN DE TÉRMINOS UTILIZADOS	RESULTADOS
B1	Kidney cancer (Topic) and diagnosis (Topic) and miRNA (Topic)	308

Anexo 3: Síntesis de miRNAs hallados en los estudios.

Tabla 8: miRNAs hallados en la revisión sistemática.

mi-RNA	Diagnóstico	Lugar de extracción	Cambios	Curva ROC
has-miR-92a-1-5p ³⁵	CCR	Plasma sanguíneo	Regulado a la baja	AUC 0,8324 Sensibilidad 87,5% Especificidad 77,3%.
has-miR-149-3p ³⁵	CCR	Plasma sanguíneo	Regulado al alza.	AUC 0,7188 Sensibilidad 0,750 Especificidad 0,727
has-miR-424-3p ³⁵	CCR	Plasma sanguíneo	Regulado al alza	AUC de 0,7727 Sensibilidad 75% Especificidad 81,8%
let-7a ²⁸	CCRcc	Orina	Aumento de concentración.	AUC 0,8307 Sensibilidad 71% Especificidad 81%
let-7d-5p ²³	CCR	Orina	Regulación al alza. Se podría utilizar para el seguimiento tras cirugía.	
miR-15a ²⁷	CCR	Orina	A mayor tamaño del tumor y áreas de necrosis, mayor expresión. No capacidad para diferenciar entre subtipos de CCR. Su concentración disminuye tras cirugía. Capacidad para diferenciar tumores benignos y malignos. En tres casos T1aN0M0, los valores dentro del rango de valor de los benignos. Dos angiomiolipomas de mayor tamaño tuvieron el rango dentro de CCR.	AUC 0,955 Sensibilidad 100% Especificidad 98,1%
miR-15b ²⁴	CCRcc	Orina	Sobreexpresado	AUC 0,59 IC95% (0,37-0,81)
miR-17-5p ³⁸ miR-21-5p ³⁸ miR-25-3p ³⁸	CCRcc	Orina	Secretado por las células en forma de exosoma.	
miR-30c-5p ^{23, 25}	CCR	Orina	Se podría utilizar para el seguimiento tras cirugía ²³ . Regulado a la baja ²⁵ .	AUC 0,8192 (IC 0,7388-0,8996, P <,01) Sensibilidad 68,57% Especificidad 100% ²⁵ .
miR-30e-	CCR	Orina	Se podría utilizar para el seguimiento tras cirugía.	

3p ²³				
miR-34-5p ²³ miR-34b-5p ³⁸	CCR ²³	Orina	Regulado al alza ²³ Secretado por las células en forma de exosoma ³⁸	AUC 0,65 IC 95% (0,51-0,79; p < 0,043) ²³
miR-122 ²⁴	CCRcc	Orina	Sobreexpresión tanto urinaria como tisular.	AUC 0,82 IC95% (0,66-0,99; p < 0,0042)
miR-1233 ³⁶	CCRcc	Plasma sanguíneo	Regulado al alza. Niveles menores en muestras postoperatorias. No asociación significativa con grado de CCRcc, ni etapas de TNM.	AUC 0,82 (IC del 95%: 0,75-0,89). Sensibilidad 81%. Especificidad 76%.
miR-126-3p ³⁸	CCRcc	Orina	Regulado a la baja y con capacidad para distinguir tumores tempranos ≤4cm. Secretado por las células en forma de exosoma.	AUC (0,65; IC del 95%, 0,5329–0,7645; p = 0,018)
miR-144-3p ³¹	CCRcc	Plasma sanguíneo	1. En plasma y tejidos tumorales regulado al alza en T3-T4. No se asoció con: sexo, edad, grado de Fuhrman o tamaño. 2. Discriminación con LMA. Sus niveles plasmáticos disminuyen tras la nefrectomía parcial y radical sin mostrar diferencias entre el tipo de intervención.	1. AUC 0,91 (IC del 95%: 0,88–0,95). Sensibilidad 87,10%. Especificidad 83,02%. 2. AUC 0,82 (IC 95%: 0,74–0,91) Sensibilidad 75%. Especificidad 71,70%.
miR-152-3p ²³	CCR	Orina	Se podría utilizar para el seguimiento tras cirugía.	
miR-200a-3p ²³	CCR	Orina	Regulado al alza.	AUC 0,65 IC 95% (0,51-0,79; p < 0,043)
miR-205-5p ²³	CCR	Orina	Regulado al alza.	
miR-210 ^{26, 33, 36, 37}	CCRcc ^{26, 36, 37} CCR ³³	Orina ²⁶ Plasma sanguíneo ^{33, 36, 37}	Sobreexpresado sin diferencias significativas entre estadios ^{26, 33, 36, 37} , pero con potencial para detección temprana (estadio I) ^{26, 37} . Sus niveles disminuyeron significativamente tras cirugía ^{26, 33, 36} . Expresión mayor en los tejidos tumorales. No asociación con edad, el sexo, el tamaño del tumor o la existencia de metástasis en el momento del diagnóstico ³⁷ .	AUC 0,76 (IC del 95%: 0,67-0,85) Sensibilidad 57,8% Especificidad 80% ²⁶ AUC de 0,874 (IC 95%: 0,806–0,941), Sensibilidad 81% Especificidad 79,4% ³³ . AUC 0,69 (IC del 95%: 0,61-0,77). Sensibilidad 70%.

				<p>Especificidad 62,2%³⁶</p> <p>AUC 0,77 (IC 95% 0,65-0,89).</p> <p>Sensibilidad 65%.</p> <p>Especificidad 83%³⁷.</p>
miR-362-3p ²³	CCR	Orina	Se podría utilizar para el seguimiento tras cirugía.	
miR-365a-3p ²³	CCR	Orina	Regulado al alza.	AUC 0,65 IC 95% (0,51-0,79; p < 0,043)
miR-378 ³⁴	CCR	Plasma sanguíneo	Regulado al alza.	AUC de 0,71 (IC del 95%, 0,62 a 0,79), Sensibilidad 70%. Especificidad 60%.
miR-451 ³⁴	CCR	Plasma sanguíneo	Regulado a la baja.	0,77 (IC del 95%, 0,69 a 0,84) Sensibilidad 81%. Especificidad del 77%.
miR-508-3p ³⁰	CCRcc	Plasma sanguíneo	Regulado a la baja en estadios avanzados (T3-T4, M1, F3-F4).	AUC de 0,90 (IC del 95%: 0,84–0,96)
miR-885-5p ³⁰	CCRcc	Plasma sanguíneo	Regulado al alza en estadios avanzados (T3-T4, M1, F3-F4).	AUC de 0,90 (IC del 95%: 0,84–0,96)
miR-1271 ²⁴	CCRcc	Orina	Sobreexpresado en orina sin sobreexpresión tisular.	AUC 0,79 IC95% (0,61-0,97)
miR-378 y miR-451 ³⁴	CCR	Plasma sanguíneo	Ambos demostraron ser capaces de discriminar CCR en suero, pero su combinación fue aún más potente.	AUC 0,86 Sensibilidad 81%. Especificidad 83%.
miR126-3p y miR 449a ³⁸	CCRcc	Orina	<ol style="list-style-type: none"> Diferenciar CCRcc. Distinguir masa renal pequeña $\leq 4\text{cm}$ 	<ol style="list-style-type: none"> AUC 0,84 (IC del 95%, 0,7620–0,9151; p<0,001). Sensibilidad 83,8%. Especificidad 62,5%. AUC 0,89 (IC del 95%, 0,8110–0,9682; p<0,001). Sensibilidad 75,5%. Especificidad 91,7%.
miR126-3p y miR-34b-	CCRcc	Orina		AUC 0,79 (IC del 95%, 0,7013–0,8815; p<0,001)

5p ³⁸				
miR-150-5p y miR-126-3p ³⁸	CCRcc	Orina	Distinguir masa renal pequeña ≤4cm	AUC 0,77 (IC del 95%, 0,6616–0,8815; p<0,001). Sensibilidad 72,5%. Especificidad 75,9%.
miR-15b miR-122 y miR-1271 ²⁴	CCRcc	Orina	La combinación de estos tres miRNAs junto con tres controles internos permitió establecer parámetros de laboratorio para discriminar CCRcc de sujetos sanos.	AUC 0,96. Sensibilidad 100% (IC95%: 75-100%). Especificidad 86% (IC del 95%: 57-98%).
miR-224-5p, miR-34b-3p, y miR-182-5p ²⁹	CCR	Plasma sanguíneo	Se sugiere que el panel constituido en suero podría servir como marcador no invasivo de CCR	AUC 0,855 (95% CI: 0,797- 0.912)
miR-193a-3p, miR-362, miR-572, miR-28-5p y miR-378 ³²	CCRcc	Plasma sanguíneo	Alta sensibilidad y especificidad en la discriminación etapa temprana (Estadio I y II): - miR-193a-3p, miR-362, miR-572: regulados al alza - miR-28-5p y miR-378: regulados a la baja	AUC para la combinación 0,801 (IC del 95%, 0,731–0,871). AUC para discriminar estadio I y estadio I–II 0,797 (IC del 95%, 0,732–0,863). Sensibilidad 80%. Especificidad del 71%.

Anexo 4: desarrollo de la herramienta QUADAS-2 para la evaluación del riesgo de sesgo.

Tabla 9. Riesgo de sesgos Oto, J et al ²³

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO

PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	NO El intervalo de tiempo desde recogida de pacientes con CCR y la realización de estudio fue de cinco años, sin que índice que han recibido tratamiento o no durante este periodo de tiempo.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO No fue aplicada en todos la misma prueba de referencia: los casos fueron diagnosticados histológicamente y los controles por ecografía.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 10. Riesgo de sesgos Cochetti, G et al ²⁴

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO Los pacientes presentaron una alta comorbilidad alta, con un índice de Charlson elevado.
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	NO
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman y por estadios en función del TNM.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	SI
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	¿? Se desconoce cómo han clasificado a los controles
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	NO Se produjo una pérdida de 3 pacientes. Además, 1 control fue diagnosticado de Linfoma de Hodgkin al año de la recogida de muestra de orina.

Tabla 11. Riesgo de sesgos Song, S et al ²⁵

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI A pesar de que se incluyeron pacientes con cáncer de próstata y de vejiga, fue con la intención de detectar un miRNA que no se expresara en otros tumores del sistema urinario.
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿Condición?	¿? No aporta cómo fueron diagnosticados los pacientes y no aporta la gradación histológica de Fuhrman. Aunque aporte la estadificación TNM, en caso de haberse realizado por TAC, este no es capaz de diferenciar con seguridad histologías benignas o malignas.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	SI
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	¿?
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 12. Riesgo de sesgos Li, G. et al ²⁶

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO
PRUEBA DE	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman y por estadios en función del TNM.

	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	¿? Se desconoce el intervalo entre el que se clasificaron los pacientes y se realizó el análisis en orina.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	NO En todos se realizó el análisis de orina, pero solo en 15 se validó antes y después de la cirugía.

Tabla 13. Riesgo de sesgos Mytsyk, Y et al ²⁷

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI A pesar de que se incluyeron pacientes con tumores benignos como angiomiolipoma, adenoma papilar y oncocitoma fue con la intención de detectar un miRNA que no se expresara en otros tumores del sistema urinario.
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	SI Se estudió sólo miR-15a porque ya se conocían datos de estudios previos donde estaba desregulado.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Los casos sospechosos de CCR fueron confirmados y clasificados histológicamente
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	SI El intervalo de tiempo del estudio fue razonable.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO Los controles fueron diagnosticados con exámenes clínicos como análisis de sangre y orina y ecografía renal.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI Se analizó miR-15a en orina y en toda la muestra tras la cirugía.

Tabla 14. Riesgo de sesgos Fedorko, M et al ²⁸

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO

	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI Especifica de forma clara los criterios de exclusión
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	SI Se estudió la familia de let-7 porque se conocía que estaba desregulado en CCR en estudios previos.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman y por estadios en función del TNM.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	SI Intervalo de tiempo razonable, de aproximadamente un año.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO Los controles fueron pacientes tratados quirúrgicamente por condiciones urológicas benignas.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 15. Riesgo de sesgos Huang, G et al ²⁹

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI Se excluyeron todos los pacientes que tuvieran cáncer o alguna enfermedad que interfiriera en los resultados, además de los que habían recibido tratamiento antes del diagnóstico.
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	SI Para el estudio se cogieron 30 miRNAs de la literatura, donde ya se conocían que estaban desregulados.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman y por estadios en función del TNM.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	NO Hubo un intervalo de 3 años entre que se cogieron los pacientes y se analizaron los resultados.

	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO Los controles se escogieron por no presentar ninguna enfermedad ni historia de cáncer.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 16. Riesgo de sesgos Liu, S et al ³⁰

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	SI Se cogieron 4 miRNAs consistentemente desregulados en las bases de datos.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman y por estadios en función del TNM. Análisis histopatológico.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	¿? Se desconoce el criterio temporal.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO Los controles fueron escogidos a partir de un examen físico de rutina.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 17. Riesgo de sesgos Lou, N et al ³¹

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	¿? No se especificaron los criterios de inclusión y exclusión, como si estaban recibiendo tratamiento o si tenían otras enfermedades del tracto urinario.
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio

	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	SI Se estudió miR-144-3p, con el conocimiento previo que estaba desregulado (al alza) en CCR.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman y por estadios en función del TNM.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	¿?
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	¿? Se desconoce cómo fueron clasificados los controles
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	NO Se perdieron pacientes durante el estudio. Además, sólo a unos pocos pacientes se les realizó el análisis en plasma sanguíneo; y a otro grupo antes y después de la cirugía.

Tabla 18. Riesgo de sesgos Wang, C et al ³²

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	SI Fueron excluidos los pacientes con otros tipos de cáncer o infecciones agudas. Ninguno recibió quimioterapia o radioterapia preoperatoria
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO No se especificó un umbral: en la etapa de screening se evaluaron todos los miRNAs y se identificaron los que estaban regulados al alza y a la baja.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	¿? Todos fueron clasificados en función de los criterios de la OMS por patólogos (TNM). Se desconoce si se ha realizado biopsia.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	NO Se incluyeron pacientes diagnosticados de CCR entre 2008 y 2013, lo que supone que los diagnosticados en 2008, presentaron un intervalo de tiempo de 5 años desde que se realizó la prueba de referencia hasta que se realizó la prueba índice.

	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO No especifica cómo fueron diagnosticados los casos, sólo cómo se hizo la clasificación operatoria para evaluar la N del TNM. Sin embargo, en todos no se conocía el estadio, por lo que no en todos se llevó a cabo la prueba de referencia. En los controles, se pasó un chequeo de salud con historia clínica, analítica, ultrasonografía y exámenes físicos.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 19. Riesgo de sesgos Zhao, A et al ³³

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	¿? El estudio no especifica cuáles fueron los criterios de inclusión/exclusión de pacientes
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	SI Se estudió miR-210 sabiendo que en otros estudios ya se encontraba desregulado.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿Condición?	SI Todos fueron clasificados según la gradación histológica.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	¿?
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	¿? No especifica qué prueba fue utilizada para diagnosticar los casos y los controles.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	NO En todos los pacientes se analizaron los miRNAs en plasma antes de la cirugía, pero sólo en 10 después de la cirugía.

Tabla 20. Riesgo de sesgos Redova, M et al ³⁴

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	¿? No se especificaron los criterios de inclusión y de exclusión

PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Todos los sujetos presentaron clasificación por estadios TNM y gradación histológica (Fuhrman).
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	NO Se incluyeron pacientes diagnosticados entre 2003 y 2008.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	¿? No especifica cómo se diagnosticaron los controles.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 21. Riesgo de sesgos Xiao, C et al ³⁵

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	NO Se especificaron los criterios de exclusión, sin embargo, algunos participantes del grupo control se complicaron con diabetes, hipertensión y enfermedad coronaria.
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Se realizó la clasificación con la gradación histológica de Fuhrman y por estadios en función del TNM.
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	¿? Se desconoce el criterio temporal
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	¿? No especifica cómo se diagnosticaron los controles.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 22. Riesgo de sesgos Zhang, W et al ³⁶

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	¿? No especifica los criterios de inclusión/exclusión de pacientes.
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Todos los sujetos presentaron clasificación por estadios TNM y gradación histológica (Fuhrman).
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	¿?
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	¿?
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	NO En todos los pacientes se analizó el plasma antes de la nefrectomía, pero sólo en 10 después de la cirugía.

Tabla 23. Riesgo de sesgos Iwamoto, H et al ³⁷

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	¿? No especifica los criterios de inclusión/exclusión de pacientes
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	SI Se estudió miR-210 sabiendo que en otros estudios ya se encontraba desregulado.
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	SI Todos los sujetos presentaron clasificación por estadios TNM y gradación histológica (Fuhrman).
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio

FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	SI Hubo dos años de diferencia entre la prueba de referencia y la prueba índice.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO Los controles no fueron clasificados como tales con alguna prueba de referencia, sino por la ausencia de historia de cáncer.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Tabla 24. Riesgo de sesgos Butz, H et al ³⁸

SELECCIÓN DE PACIENTES	¿Se inscribió una muestra consecutiva o aleatoria de pacientes?	NO
	¿Se evitó un diseño de casos y controles?	NO
	¿Evitó el estudio las exclusiones inapropiadas?	NO No especifica los criterios de inclusión/exclusión de pacientes
PRUEBA ÍNDICE	¿Se interpretaron los resultados de la prueba índice sin conocimiento de los resultados de la norma de referencia?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
	Si se utilizó un umbral, ¿se especificó previamente?	NO
PRUEBA DE REFERENCIA	¿Es probable que el estándar de referencia clasifique correctamente el objetivo? ¿condición?	¿? Se desconoce si en todos fue llevada a cabo la gradación histológica (Fuhrman).
	¿Se interpretaron los resultados estándar de referencia sin conocer los resultados de la prueba índice?	¿? No aparece ningún dato acerca de esto en el estudio
FLUJO Y TIEMPOS	¿Hubo un intervalo apropiado entre la prueba índice y la prueba de referencia?	¿? Se desconoce el intervalo de tiempo entre la prueba índice y la prueba de referencia.
	¿Fue aplicada en todos los individuos la misma prueba de referencia?	NO No se presentó la gradación histológica Fuhrman en todos los pacientes.
	¿Fueron incluidos todos los pacientes en el análisis?	SI

Anexo 5: desarrollo de la herramienta QUADAS-2 para la evaluación sobre la preocupación sobre la aplicabilidad de los resultados.

Tabla 25. Preocupación sobre la aplicabilidad de los resultados

	Preocupación sobre la aplicabilidad de los resultados		
	Selección de los individuos	Prueba índice	Prueba de referencia
Oto, J et al ²³	Incierta	Baja	Baja
Cochetti, G et al ²⁴	Alta	Baja	Baja
Song, S et al ²⁵	Incierta	Baja	Incierta
Li, G. et al ²⁶	Incierta	Baja	Baja
Mytsyk, Y et al ²⁷	Alta	Baja	Baja
Fedorko, M et al ²⁸	Baja	Baja	Baja
Huang, G et al ²⁹	Baja	Baja	Baja
Liu, S et al ³⁰	Baja	Baja	Baja
Lou, N et al ³¹	Incierta	Baja	Baja
Wang, C et al ³²	Baja	Baja	Incierta
Zhao, A et al ³³	Baja	Baja	Incierta
Redova, M et al ³⁴	Incierta	Baja	Baja
Xiao, C et al ³⁵	Alta	Baja	Baja
Zhang, W et al ³⁶	Baja	Baja	Baja
Iwamoto, H et al ³⁷	Alta	Baja	Baja
Butz, H et al ³⁸	Alta	Baja	Incierta

La aplicabilidad de la prueba índice fue baja en todos los estudios, pues la cuantificación de miRNAs de todos los estudios fue realizada por RT-qPCR, una prueba universal con alta sensibilidad y especificidad de secuencia. La aplicabilidad de la prueba de referencia fue buena, pues en la mayoría de los casos, analizaron histológicamente los tumores. Aquellos estudios en los que es incierta, ha sido debido a que se desconoce cuál es la prueba de referencia que utilizaron para clasificar a los casos de CCR. Respecto a la selección de individuos, se especifica a continuación:

- Anexo 5.1 (Oto, J et al ²³): La muestra fue buena con la mayoría de los pacientes en estadios precoces. Sin embargo, la muestra de pacientes con angiomiolipoma renal benigno fue muy pequeña.
- Anexo 5.2 (Cochetti, G et al ²⁴): Presentó una muestra poco adecuada por su bajo número de participantes.
- Anexo 5.3 (Song, S et al ²⁵): Existen dudas acerca de la aplicabilidad, aunque incluyó pacientes con otros tumores del tracto urinario, la muestra fue muy pequeña. Sí que incluyó CCR en etapas tempranas.
- Anexo 5.4 (Li, G. et al ²⁶): Los casos y los controles no presentaron diferencias significativas, pero no aportaron características de los pacientes como las comorbilidades.
- Anexo 5.5 (Mytsyk, Y et al ²⁷): Las muestras fueron poco comparables, donde incluyeron sólo 67 casos con varios subtipos de tumores y 15 controles.
- Anexo 5.6 (Fedorko, M et al ²⁸): Las muestras fueron comparables. No incluyó otros tumores.
- Anexo 5.7 (Huang, G et al ²⁹): La muestra fue adecuada.
- Anexo 5.8 (Liu, S et al ³⁰): Presentó a muchos pacientes en estadios tempranos.
- Anexo 5.9 (Lou, N et al ³¹): Las muestras de pacientes con CCRncc y con tumores renales benignos fue muy pequeña. Sin embargo, la muestra de CCRcc y de controles fue adecuada con muy pocos pacientes en estadio avanzado y emparejados por edad y sexo
- Anexo 5.10 (Wang, C et al ³²): El tamaño muestral fue adecuado. Los casos y los controles presentaron una edad y sexo similar.
- Anexo 5.11 (Zhao, A et al ³³): El tamaño muestral fue adecuado. Los casos y los controles presentaron una edad y sexo similar.
- Anexo 5.12 (Redova, M et al ³⁴): Aunque la muestra de CCR fue grande, incluye varios tipos de CCR, donde el subtipo papilar y cromóforo presentaron un número muy pequeño de participantes.
- Anexo 5.13 (Xiao, C et al ³⁵): El estudio presentó un número muy pequeño de participantes y dos tipos de CCR: papilar y de células claras.
- Anexo 5.14 (Zhang, W et al ³⁶): El tamaño muestral fue adecuado. Los casos y los controles presentaron una edad y sexo similar.

- Anexo 5.15 (Iwamoto, H et al ³⁷): Poco número de participantes. Los controles no fueron clasificados como tales con alguna prueba de referencia, sino por la ausencia de historia de cáncer.
- Anexo 5.16 (Butz, H et al ³⁸): Aunque presentó un buen número de participantes, el rango de la muestra de edad de la etapa de validación varió bastante (22-87 años). No fueron descritos los datos de la muestra de controles, por lo que no se sabe si está emparejada por edad y sexo.