



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**PROGRAMA DE MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD**

**Efecto de N-Acetilcisteína sobre Marcadores Biológicos de Estrés Oxidativo
y Función inicial de Injertos Renales Trasplantados
Recuperados de Donantes con Muerte Encefálica.**

TESIS

Que para optar el grado de

MAESTRA EN CIENCIAS

P R E S E N T A

Carla Adelina Escorza Molina

DIRECTOR DE TESIS

Dr. Mario Vilatobá Chapa

Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán

Ciudad Universitaria, CD. MX.

Enero, 2021.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

Índice

| | |
|--|----|
| Introducción | 4 |
| 1.1 Marco de referencia | |
| 1.1 Antecedentes | 5 |
| 1.2 Lesión por isquemia – reperfusión | 6 |
| 1.3 N-acetilcisteína | 7 |
| 1.4 Biomarcadores de lesión renal aguda y estrés oxidativo | 8 |
| 1.4.1 Malondialdehído | 9 |
| 1.4.2 Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos | 9 |
| 1.4.3 Proteína de choque térmico 72 | 9 |
| 1.4.4 Peróxido de hidrógeno urinario | 10 |
| 2. Desarrollo del proyecto | |
| 2.1 Planteamiento del problema | 11 |
| 2.2 Justificación | 11 |
| 2.3 Hipótesis | 11 |
| 2.4 Objetivos | 11 |
| 2.4.1 Objetivo general | 11 |
| 2.4.2 Objetivos secundarios | 12 |
| 3. Metodología | |
| 3.1 Diseño general del estudio | 13 |
| 3.2 Criterios de selección | 13 |
| 3.3 Aleatorización e intervención | 13 |
| 3.4 Variables y desenlaces | 15 |
| 4. Resultados | 18 |
| 5. Tablas y Gráficas | 20 |
| 6. Discusión | 30 |
| Anexo 1 | 33 |
| Anexo 2 | 35 |
| Anexo 3 | 43 |
| Bibliografía | 48 |

Introducción

Es bien sabido que los donantes fallecidos con muerte encefálica y corazón latiendo, presentan una serie de fenómenos hemodinámicos que confieren un riesgo incrementado de daño a todos los tejidos y órganos, los fenómenos que se presentan como resultado de la muerte encefálica conllevan a la necesidad de emplear sustancias vasoactivas a veces en el contexto de hipovolemia, que impacta en la perfusión de todos los grupos celulares especialmente susceptibles. Aunado a esto, los órganos que son extraídos con fines de trasplante son expuestos a la interrupción del flujo sanguíneo y por lo tanto del aporte de oxígeno, que, de restablecerse en un órgano especialmente dañado, puede perpetuar su disfunción.

La enfermedad renal crónica es una disfunción orgánica que se manifiesta de forma sistémica que compromete la calidad y la expectativa de vida de quien la padece. El trasplante renal es, hoy en día, la mejor terapia de sustitución definitiva. Si bien existen cada vez mejores estrategias para la obtención de injertos mejor preservados provenientes de donantes fallecidos, estamos lejos de encontrar el escenario ideal que limite el daño renal potencial al que son sometidos durante todo el proceso de extracción, preservación y reperfusión.

Uno de los eventos que ocurren durante el insulto isquémico, es la depleción de los depósitos intracelulares de cisteína, que es fundamental para la actividad de enzimas que usan radicales libres como sustrato en condiciones de restablecimiento del flujo sanguíneo con normoxia. Conociendo la naturaleza de estos fenómenos, una de las muchas estrategias que se ha explorado es el potencial reductor y protector de lesión tisular de la N-acetilcisteína, sin embargo, los resultados no han sido del todo concluyentes, en parte debido al diseño de los estudios que la incluyen como parte de su intervención.

La hipótesis de este estudio se basó en el fundamento de que al incrementar la disponibilidad de cisteína en las células de los riñones cuyo destino es ser trasplantados, antes de la isquemia definitiva previa a su preservación, deberían tener un mejor desempeño al restablecerse el flujo sanguíneo durante la reperfusión comparados con aquellos sin repleción de estas reservas. Si bien los radicales libres de oxígeno son parte fundamental de la reparación de tejidos dañados, en determinadas situaciones pueden condicionar un daño de lenta o nula recuperación que interfiera en la función inicial de órganos y tejidos, así como en la viabilidad a largo plazo.

1. Marco de Referencia

1.1 Antecedentes

La transición epidemiológica que se experimenta en muchas regiones del planeta, así como, la adopción de estilos de vida poco saludables ha favorecido, entre otros fenómenos, el incremento en la prevalencia de enfermedad renal crónica. En el año 2005 la prevalencia estimada en México fue cercana a 1,200 casos por millón de habitantes, con una proyección de incremento en 20 años del 26.2% al 83% proporcional al grado de marginación regional¹, lo que implica un estimado entre 200 000 y 300 000 enfermos renales según el contexto socioeconómico de la población. En el último comunicado del Centro Nacional de Trasplantes en México, se reportaron en lista de espera para trasplante renal cerca de 18 000 personas para finales de 2019. En este mismo año se llevaron a cabo poco más de 2,900 procedimientos de esta naturaleza, de los cuales 31% fueron de donante fallecido². Aunque el número de trasplantes renales por año ha incrementado, la demanda de pacientes en lista de espera para trasplante renal rebasa con mucho la oferta institucional de terapia de remplazo definitivo³. Los pacientes que son trasplantados pueden duplicar su expectativa de vida⁴. Por ello, la necesidad de mayor captación de potenciales donantes y la optimización de las condiciones hemodinámicas y metabólicas en las que los órganos y tejidos son recuperados se hace notar.

Desde 2002 se han identificado cuatro factores del donante fallecido que predicen un incremento significativo de pérdidas de órganos abdominales sólidos trasplantados en comparación con el grupo de bajo riesgo. Dichos factores incluyen accidente cerebrovascular como causa de muerte, creatinina sérica mayor a 1.5mg/dL, historia de hipertensión y edad mayor a 60 años, o de, 50 a 59 años si se presentan al menos dos de las otras características, por lo que los injertos se consideran órganos marginales, que son especialmente vulnerables al daño por estrés oxidativo en un contexto de isquemia/reperfusión⁵. Las alteraciones sistémicas que se suscitan tras la muerte encefálica han sido ampliamente descritas. Tras establecerse una lesión encefálica grave y catastrófica sobreviene un incremento en la presión intracraneana que se traduce clínicamente en hipertensión arterial sistémica y bradicardia; la primera fase de respuesta fisiológica que precede a la muerte encefálica se caracteriza por liberación no controlada de catecolaminas endógenas y depleción de hormonas hipofisarias circulantes, además de otras hormonas como tiroxina, triyodotironina, glucagón, cortisol y aldosterona. La liberación inicial de catecolaminas se traduce en un incremento de las resistencias vasculares sistémicas, lo que podría causar daño miocárdico, edema pulmonar con alteraciones en la oxigenación e hipoperfusión tisular. La fase inicial es sucedida por pérdida del tono simpático, resultando en vasodilatación sistémica e hipotensión. Adicionalmente, la lesión hipotalámica y pituitaria podría causar desregulación de la temperatura corporal, lo cual contribuye a alteraciones cardiovasculares que comprometen la perfusión a todos los órganos y sistemas⁶, lo que, puede comprometer a los órganos susceptibles de ser trasplantados. El éxito del trasplante renal definido en función de la viabilidad del injerto a corto, mediano y largo plazo depende, entonces, de múltiples factores. Algunos de los mecanismos de falla aguda se han relacionado con el daño potencial por isquemia/reperfusión que está íntimamente ligado a la producción de especies

reactivas de oxígeno⁷.

1.2 Lesión por isquemia-reperfusión

La isquemia renal seguida por reperfusión, ocurren durante la cirugía de recuperación como en el implante del injerto. El trasplante de riñón de donante fallecido se caracteriza por periodos de isquemia fría y tibia, contribuyendo ambas isquemias a diferentes grados de daño tisular que, dependiendo de su magnitud, podría tener efectos a corto y largo plazo en la recuperación de la función. Además, la restauración del flujo sanguíneo resulta en una serie de eventos que pueden exacerbar el daño por isquemia.

Los puntos clave de la lesión por isquemia/reperfusión (LIR) son la formación de especies reactivas de oxígeno, atracción, adhesión, activación y migración de células inmunológicas, como, leucocitos polimorfonucleares y células T al sitio de la lesión, con liberación de citoquinas proinflamatorias, activación del complemento, producción de eicosanoides, que desencadenan disfunción mitocondrial y una combinación de necrosis celular y apoptosis.

La reducción en el aporte de oxígeno que caracteriza al inicio del periodo de isquemia durante el pinzamiento se traduce en una serie de consecuencias metabólicas críticas en los diversos grupos celulares con funciones especializadas en el riñón y resulta en disminución de la producción de adenosina trifosfato (ATP), con acumulación de adenosina difosfato (ADP) y adenosina monofosfato (AMP). Con isquemia prolongada, el AMP es metabolizado a nucleótidos de adenina e hipoxantina, cuya acumulación contribuye a la generación de moléculas reactivas de oxígeno. Los nucleótidos de adenina difunden libremente al exterior de la membrana celular, con lo que la síntesis de ATP durante el restablecimiento del flujo sanguíneo y aporte de oxígeno puede comprometerse significativamente. Durante la reperfusión, la conversión de la hipoxantina acumulada a xantina, genera aniones superóxido y peróxido de hidrógeno, los cuales interactúan para formar una especie altamente reactiva: el anión hidroxilo. Al mismo tiempo, la isquemia induce a la síntesis de óxido nítrico y el óxido nítrico que es generado interactúa con el superóxido para dar lugar a la formación de peroxinitrito que produce lesión celular directa. Los lípidos son las biomoléculas más frecuentemente involucradas en la lesión tisular por estrés oxidativo y se asocia a incremento en la producción de moléculas secundarias que en su mayoría son aldehídos y tienen la habilidad de exacerbar el daño.

De forma colectiva, las especies reactivas de oxígeno causan lesión tubular renal mediante oxidación de proteínas, peroxidación lipídica, daño a ADN, disfunción mitocondrial e inducción de apoptosis.^{8,9}

Los mecanismos intracelulares de defensa involucrados en la regulación del estrés oxidativo incluyen rutas enzimáticas catalizadas por la superóxido dismutasa y el binomio glutatión peroxidasa/glutatión reductasa. La glutatión reductasa cataliza la reducción del glutatión oxidado (GSSG) a glutatión reducido (GSH), que será empleado como sustrato por la glutatión peroxidasa

(GPO) para la reducción del peróxido de hidrógeno y lipoperóxidos.

El glutatión es un tripéptido compuesto por glicina, ácido glutámico y cisteína, constituye el más grande componente endógeno tiol amortiguador involucrado en la remoción de radicales libres de oxígeno. La síntesis de este compuesto se lleva a cabo en dos pasos dependientes de adenosina trifosfato (ATP), la reacción fundamental consiste en la síntesis de gamma-glutamilcisteína a partir de L- glutamato y cisteína por la sintetasa gamma-glutamilcisteína, evento que constituye el paso limitante para la síntesis del glutatión por lo que la disponibilidad de cisteína es generalmente el factor determinante. Un precursor potencialmente importante de cisteína es la n-acetilcisteína, que es un compuesto sintético con la capacidad de difundir al interior de las células donde se hidroliza a L-cisteína y esto, por lo tanto, repleta las reservas de GPO, manteniendo su función en el aclaramiento de especies reactivas de oxígeno¹⁰.

1.3 N-Acetilcisteína

Entre las estrategias farmacológicas para contrarrestar el daño tisular por radicales libres de oxígeno, tanto en estudios animales como, en seres humanos es la terapia con n-acetilcisteína (NAC), cuyo mecanismo antioxidante se ha propuesto como herramienta para reducir la disfunción endotelial, inflamación, fibrosis y como potencial terapia para la prolongación de la función de injertos renales trasplantados.

Ministrada por vía endovenosa, NAC alcanza altas concentraciones. Los efectos adversos reportados asociados a esta ruta de administración se han suscitado durante la primera hora cuando la concentración plasmática es mayor; los más frecuentes son descritos como anafilactoides, e incluyen náusea, vómito, rinorrea, urticaria y prurito, los cuales disminuyen proporcionalmente a la velocidad de infusión.

La NAC se absorbe por completo tras ministración oral, sin embargo, debido al metabolismo en la pared intestinal y al efecto de primer paso, la biodisponibilidad de la acetilcisteína tomada por vía oral es de apenas el 10%, por lo que, para garantizar concentraciones plasmáticas eficaces se prefiere la ministración endovenosa. Su unión a proteínas inicial es del 83%, siendo de aproximadamente 50%, cuatro h después de la administración y disminuye al 20% a las 12 h. Tras su administración, se encuentra en la mayoría de los tejidos, constituyendo a la cisteína como compuesto resultante, que se considera el metabolito activo, el cual es incorporado a las reservas celulares. La vida media de eliminación es de 5.6 a 6.25 h, con un aclaramiento de 0.11 L/h/kg. Alrededor del 30% del aclaramiento corresponde a la vía de eliminación renal sin metabolitos identificables en orina. En seres humanos, la dosis en la que se presentó toxicidad fue 800 mg/m²/día, manifestada por alteraciones gastrointestinales (vómito, náusea, diarrea), principalmente asociadas a la velocidad de administración.

La estructura molecular de NAC le permite atravesar fácilmente las membranas celulares, tras lo cual sufre una desacetilación produciendo L-cisteína que es un aminoácido indispensable para la

síntesis de glutatión (GSH). Además, NAC ejerce una acción antioxidante directa al estar provista de un grupo tiol nucleofílico libre (-SH) capaz de interactuar directamente con los grupos electrofílicos de los radicales oxidantes aunque en menor proporción^{11,12}.

Este fármaco se ha empleado con éxito para tratar el daño hepático resultado de la intoxicación por acetaminofén u otras causas de lesión hepática aguda relacionadas con lesión por estrés oxidativo y se ha demostrado su papel en la reducción de la lesión renal originada por la exposición a medio de contraste^{13,14}.

La utilidad de NAC ha sido estudiada y demostrada tanto en estudios experimentales con modelos animales de daño renal por isquemia/reperfusión, como, en ensayos clínicos en pacientes receptores de riñón proveniente de donante fallecido. En el año 2004, Fuller y colaboradores demostraron la influencia de NAC en la función renal de injertos trasplantados en ratas nefrectomizadas provenientes de donantes pretratadas con el fármaco, el hallazgo en resultados de marcadores de daño por estrés oxidativo permitió concluir que NAC promueve la preservación del metabolismo renal y podría mejorar las condiciones de riñones con daño por isquemia/reperfusión¹⁵.

Más tarde, Shimizu y su grupo de trabajo demostró la utilidad de NAC como protector en la caída de tasa de filtrado glomerular, la expresión de marcadores de lipoperoxidación y la reducción en el flujo sanguíneo renal en modelos experimentales de obstrucción ureteral bilateral durante 48 h, con mayor impacto en los sujetos de intervención tratados previo al pinzamiento¹⁶.

Finalmente, el mismo grupo de trabajo, llevó a cabo un ensayo clínico controlado y aleatorizado en el que fueron comparados pacientes postrasplantados de riñones procedentes de donantes fallecidos, a quienes les fue administrada NAC durante los 7 días posteriores a la intervención quirúrgica, contra placebo; los parámetros comparados fueron la producción de especies de ácido tiobarbitúrico como marcador de lipoperoxidación, tasa de filtración glomerular y creatinina sérica durante 90 días postquirúrgicos. La creatinina sérica medida basal tras el periodo de estudio fue de 1.4 ± 0.5 mg/dL en el grupo de intervención mientras que en el grupo no tratado fue de 1.9 ± 0.5 mg/dL ($p < 0.001$); la tasa final de filtración glomerular en el grupo intervenido fue de 59.2 ± 22.7 mL/min vs. 47.9 ± 18.8 mL/min, correspondiendo además con una disminución significativa en la necesidad de terapia sustitutiva renal que se tradujo en menor retardo en la función del injerto en el grupo de pacientes tratados con NAC ($p = 0.012$)¹⁷.

1.4 Biomarcadores de lesión renal aguda y estrés oxidativo

La evaluación de la función renal cuando se instaura una estrategia farmacológica que se asocia a disminución potencial del daño por isquemia/reperfusión es indispensable para medir el impacto de dicha intervención, por lo que, existen herramientas que cobran especial interés en la evaluación posterior al trasplante de riñón de donante fallecido, que, por su naturaleza, implica mayor posibilidad de lesión.

Tanto la lesión renal aguda, como, el retardo en la función del injerto, asociados a isquemia/reperfusión, constituyen eventos que predicen su viabilidad a largo plazo, por lo que la identificación en estadios tempranos de ambos fenómenos es relevante para implementar medidas que contrarresten el daño y eviten su progresión. Se han descrito diversos marcadores biológicos que identifican la lesión renal aguda incluso antes de instalarse el escenario clínico definitivo y confirmatorio, entre estos biomarcadores destacan la lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL, por *Neutrophil gelatinase – associated lipocalin*), proteína de choque térmico isoforma 72 (Hsp72 por sus siglas en inglés) , peróxido de hidrógeno urinario y malondialdehído urinario (MDA)¹⁸⁻²⁰.

1.4.1 Malondialdehído

La peroxidación lipídica es uno de los mecanismos de lesión tisular y resulta en formación de aldehídos, de los cuáles el malondialdehído (MDA) es el mejor estudiado como biomarcador de estrés oxidativo¹⁷. Ha sido estudiado como marcador biológico temprano de lesión renal aguda en pacientes con quemaduras térmicas extensas al elevarse hasta tres veces sobre su valor basal, siendo su mayor utilidad a partir del séptimo día del insulto y hasta el día 21¹⁹.

1.4.2 Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos

La lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos o NGAL por sus siglas en inglés, es una proteína expresada a bajas concentraciones en diversos tejidos humanos y es una de las que muestran mayor velocidad de regulación al alza ante un evento isquémico en modelos animales. NGAL fue inicialmente descubierta en neutrófilos activados, sin embargo, su mayor utilidad ha sido descrita tras ser identificada como biomarcador en lesión renal aguda con la ayuda de microarreglos de proteínas y tecnología genómica. Ya que es un biomarcador temprano de lesión tubular proximal, en diversos estudios su recuperación en suero y orina ha sido capaz de predecir lesión renal en su fase más temprana, 24 a 48 horas antes del incremento de creatinina y con una sensibilidad de 84 a 90%, especificidad de 83% y precisión de 93.3%.

Debido a las características antes mencionadas, se ha empleado también como predictor o marcador temprano del desarrollo de función retardada del injerto en pacientes trasplantados de riñón²¹⁻²⁵.

1.4.3 Proteína de choque térmico 72

Las proteínas de choque térmico (Hsp, por *Heat shock protein*), que son reguladas la alza en respuesta a alteraciones de la homeostasis celular; la Hsp72 es una isoforma de la subfamilia de las Hsp70 que es inducida en células tubulares renales que son proyectadas al espacio urinario durante la lesión renal aguda, siendo una de las proteínas más abundantes, lo que permite su identificación y constituye un predictor temprano de lesión.

Hsp72 se regula al alza en los túbulos renales tras ser sometidos a un insulto isquémico o nefrotóxico. Posterior a un episodio de lesión renal aguda, el segmento S3 del túbulo proximal sufre muerte celular por necrosis y apoptosis, además de desprendimiento de la membrana basal epitelial, por lo que esta molécula puede detectarse en orina después de la isquemia renal, constituyendo un marcador de lesión renal antes de instalarse todo el espectro clínico conocido. Además, se ha demostrado que su concentración es capaz de estratificar diferentes grados de lesión renal²³⁻²⁵.

1.4.4 Peróxido de hidrógeno urinario

El peróxido de hidrógeno es un compuesto generado *in vivo* por la dismutación del radical superóxido, reacción catalizada por la enzima superóxido dismutasa. El peróxido de hidrógeno es producido también por un rango de enzimas oxidasas que incluyen la glucolato y monoamino oxidasas, así como por oxidación de ácidos grasos por efecto de los peroxisomas. En concentraciones críticas tiene efectos citotóxicos, los cuales varían en función del tipo de celular expuesto. Suele ser rápidamente eliminado mediante el efecto de enzimas como catalasas, peroxidasas y sistemas ligados a thioredoxina. Entre las enzimas que mayormente contribuyen a la regulación de su concentración, está la glutatión peroxidasa.

Esta molécula puede detectarse en diversos tejidos y fluidos humanos, incluyendo la orina, por lo que ha sido propuesto como un biomarcador de estrés oxidativo^{26,27}.

2. Desarrollo del proyecto

2.1 Planteamiento del problema

N-acetilcisteína es un fármaco empleado en múltiples escenarios clínicos y que limita la progresión del daño tisular mediado por radicales libres en ciertos tejidos. Sin embargo, no se conoce el efecto de administrar NAC a donantes con muerte encefálica antes del insulto isquémico durante el pinzamiento en la procuración de injertos renales, sobre el daño por isquemia-reperusión evaluado en los receptores de los injertos, mediante la evaluación de la concentración de marcadores de estrés oxidativo y de daño tubular.

2.2 Justificación

La ministración de n-acetilcisteína en donantes con muerte encefálica durante la cirugía de recuperación multiorgánica, previa al pinzamiento vascular definitivo, podría incrementar la reserva de cisteína intracelular antes del insulto isquémico, permitiendo facilitar la función de enzimas que emplean radicales libres como sustratos durante las reacciones llevadas a cabo al momento del restablecimiento del flujo sanguíneo durante la reperusión del órgano en el receptor, lo que, resultaría en limitación del daño por estrés oxidativo y por lo tanto en la mejora de la función renal inicial de los injertos trasplantados, disminución de la incidencia de función retardada del injerto y mayor viabilidad del órgano a largo plazo.

2.3 Hipótesis

Los injertos renales recuperados de donantes con muerte encefálica que reciban NAC por vía endovenosa, exhibirán una concentración media significativamente menor de malondialdehído sérico y de biomarcadores de daño tubular al séptimo día postrasplante, comparados con el grupo que reciba placebo.

2.4 Objetivos

2.4.1 Objetivo General:

Evaluar el efecto de la administración de NAC al donante fallecido previo al pinzamiento vascular durante la cirugía de recuperación de injertos renales sobre el estrés oxidativo, medido por malondialdehído sérico al séptimo día postrasplante.

2.4.2 Objetivos Secundarios:

- Evaluar el efecto de la ministración de NAC o placebo en los riñones trasplantados sobre la concentración urinaria de proteína de choque térmico 72 (Hsp 72), lipocalina asociada a

gelatinasa de neutrófilos (NGAL) y peróxido de hidrógeno a las 6, 12 y 24 horas posteriores a la reperfusión del injerto.

- Estimar la tasa de filtrado glomerular (TFG) a los 7 y a los 90 días pos-trasplante con fórmula CKD-EPI .
- Comparar la incidencia de retardo en la función del injerto entre el grupo placebo y el grupo intervención.
- Comparar la concentración de biomarcadores de lesión renal aguda y estrés oxidativo entre pacientes con función retardada del injerto y aquellos que no presentaron esta condición.

3. Metodología

3.1 Diseño general del estudio

Se trata de un ensayo clínico, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo.

Se llevó a cabo entre marzo de 2014 y julio de 2015 en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNYS). Para su ejecución, el protocolo fue aprobado por el Comité de Investigación de la institución (registro TRA-1415). Los investigadores, receptores de los injertos y los médicos tratantes de los pacientes trasplantados, fueron cegados al tipo de intervención.

3.2 Criterios de selección.

Donantes.

Criterios de inclusión: donantes multiorgánicos con muerte encefálica de quienes la asignación de ambos injertos renales hubiera sido dirigida a la institución sede del estudio durante el tiempo de reclutamiento. *Criterios de exclusión:* certificación de pérdida de vida mediante angiografía cerebral, por el riesgo de nefrotoxicidad relacionada con el medio de contraste empleado para el estudio, trauma cerrado de abdomen con posible lesión mecánica de los injertos, donantes con parada cardíaca presenciada antes de la cirugía de recuperación de órganos y tejidos.

Receptores.

Criterios de inclusión: Los receptores evaluados en el estudio fueron debidamente informados de los procedimientos (*Anexo 1*) y se incluyeron tras firmar la carta de consentimiento bajo información (*Anexo 2*). Participaron los pacientes mayores de 18 años, que recibieran injertos de donantes a quienes se administró NAC o placebo. *Criterios de exclusión:* receptores de injertos renales que fueran a recibir trasplante multivisceral. *Criterios de eliminación:* Se eliminaron del estudio pacientes de quienes no fue posible obtener muestras o que estas fueron dañadas por percances técnicos o ambientales.

3.3 Aleatorización e intervención

Intervención. Se ministró N-acetilcisteína a razón de 30 mg/kg diluida en 250 mL de solución salina 0.9% o placebo consistente en 250 mL de solución salina al 0.9%, según correspondiera, por vía endovenosa durante 10 minutos; la maniobra se realizó al inicio de la cirugía de recuperación multiorgánica con la finalidad de equilibrar la concentración de NAC en el grupo de intervención, lo cual se estimó en alrededor de dos a tres horas, que es el tiempo aproximado en que el equipo quirúrgico tiene acceso a los grandes vasos antes de su pinzamiento.

Las intervenciones farmacológicas para el mantenimiento de los donantes y la reanimación de los receptores se mantuvo a criterio del equipo médico tratante antes y durante la cirugía de extracción.

Tamaño de la muestra. El tamaño de la muestra fue estimado a partir de la comparación entre las mediciones de TBARS entre el grupo placebo y NAC del estudio de Danilovic et al (Transplantation Proceedings (2011); 43: 1443 – 1449), al día 7 postrasplante, con un alfa de 0.05 y poder de 0.90, resultando en 11 individuos por grupo más 20% de pérdidas, que corresponde a 13 sujetos de

estudio por grupo. Debido a que la intervención se realizó en donantes multiorgánicos y de cada donante se extraen dos injertos asignados a un receptor cada uno, el total de receptores incluidos fue de 14 por grupo.

Asignación. El método de asignación de la intervención fue aleatorio. El responsable de la aleatorización fue el investigador principal.

Se asignó la letra A para NAC y B para placebo, se organizaron 4 bloques de 4 intervenciones, garantizando dos letras A y dos letras B en cada bloque; se empleó una tabla de las combinaciones posibles enumeradas a criterio del autor de dicha tabla (Forthofer RN, Biostatistics, 2ª edición) y el orden de las combinaciones se definió mediante una secuencia aleatoria obtenida por Excel (función aleatorio.entre, Microsoft office 2013).

El resultado de la asignación se plasmó en hojas dentro de sobres sellados que fueron abiertos al inicio del procedimiento quirúrgico de extracción multiorgánica por el responsable de la intervención experimental.

Grupos de tratamiento:

Grupo NAC:

Se ministró NAC a una dosis de 30 mg/kg en 250 mL de solución salina al 0.9% durante 10 minutos por vía endovenosa al inicio de la cirugía de recuperación multiorgánica.

Grupo placebo:

Se ministraron 250 mL de solución salina al 0.9% durante 10 minutos por vía endovenosa al inicio de la cirugía de procuración multiorgánica.

Protocolo prequirúrgico, quirúrgico e inmunosupresor. Todos los receptores recibieron terapia de inducción inmunosupresora con timoglobulina a 1.5 mg/kg de peso seco, metilprednisolona 12 mg/kg previa medicación con paracetamol 1 gr y clorfenamina 10 mg. La monitorización hemodinámica y ministración de fármacos anestésicos se realizó conforme al protocolo institucional; la reanimación hídrica tuvo como objetivo alcanzar presión venosa central de 12 H₂O y presión arterial media de al menos 90 mmHg al momento de la reperfusión. Los investigadores no participaron en las decisiones técnico-médicas relacionadas con el desarrollo del trasplante.

Seguimiento. Duración del seguimiento individual. Se dió seguimiento a los receptores de riñón durante los primeros 90 días posteriores al implante. La documentación de la información se realizó de la siguiente manera: cada 24 h los primeros 7 días, y posteriormente en los días 15, 30, 60 y 90 a través de la consulta de seguimiento por el Servicio de Nefrología que se lleva a cabo rutinariamente como parte del protocolo de seguimiento de pacientes postrasplantados del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

3.4 Variables y desenlaces

Variable principal:

- Concentración sérica de malondialdehído.

Variables secundarias:

- Concentración urinaria de la proteína de choque térmico 72 (Hps72) .
- Concentración urinaria de peróxido de hidrógeno.
- Concentración urinaria de lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos (NGAL)
- Donante: edad, género, índice de masa corporal (IMC), causa de fallecimiento, comorbilidades, presión arterial media durante el pinzamiento; glucosa, urea, creatinina, electrolitos séricos; promedio del gasto urinario en últimas 6 horas, administración de inotrópico y/o vasopresor, tipo y dosis.
- Injerto: tiempo de isquemia fría, incidentes o accidentes durante la manipulación.
- Receptor: edad, género, IMC, tabaquismo, alcoholismo, anticuerpos reactivos contra panel de linfocitos (PRA), causa de falla renal, tiempo de evolución de falla renal, tiempo desde última sesión de diálisis, diuresis residual, resultados de estudios bioquímicos, comorbilidades, parámetros hemodinámicos transoperatorios, tiempo de isquemia tibia, balance hídrico postoperatorio, sangrado, diuresis, productos hemáticos transfundidos, unidad hospitalaria de destino, tiempo anestésico y tiempo quirúrgico, necesidad de terapia sustitutiva renal postquirúrgica.

Frecuencia e instrumentos de medición.

- Donante: las variables hemodinámicas se midieron al inicio del procedimiento quirúrgico y durante el pinzamiento vascular para la extracción de los injertos.
- Receptor: las variables hemodinámicas se midieron antes de la inducción anestésica, al inicio del procedimiento quirúrgico, al momento de la reperfusión del injerto y se tomó en cuenta la última medición en monitor antes de su egreso de sala de operaciones. La cuantificación del volumen urinario fue registrada de forma horaria durante los primeros 7 días de internamiento. Otros parámetros fueron medidos durante la consulta en los días 15, 30 y 90 posteriores a su egreso.
- La información recolectada se vació en las hojas de recolección de datos diseñadas para los donantes y los receptores (*Anexo 3*).

La obtención de las muestras de orina a las 6, 12 y 24 h de la reperfusión se llevaron a cabo mediante la extracción de orina recién formada a través de la válvula de los equipos de recolección, con técnica estéril. Las muestras se separaron en 5 alícuotas de 3 ml cada una, fueron etiquetadas con

las siglas del receptor, fecha y hora, transportadas en cadena de frío y congeladas inmediatamente a -80° C. La muestra de suero a los 7 días se obtuvo mediante punción venosa con técnica estéril, depositada en un tubo con silicón para la retracción del coágulo y se extrajo el suero con pipetas desechables estériles para su almacenamiento en tubos alicuotas de 3 mL, las muestras fueron etiquetadas con las siglas del receptor, fecha y hora, transportadas en cadena de frío y congeladas inmediatamente a -80° C. Para su análisis en los distintos ensayos, fueron descongeladas a temperatura ambiente según las especificaciones de cada procedimiento. Todas las mediciones de muestras de orina fueron normalizadas con creatinina urinaria.

Detección de Malondialdehído en sangre periférica

El MDA es el producto final de la peroxidación de los ácidos grasos y un marcador de la actividad de los radicales libres. Para su determinación se utilizó el método del ácido tiobarbitúrico, que es un método colorimétrico que comprende una etapa de precipitación proteica durante la cual se pone en contacto este compuesto con el plasma obtenido de la muestra sanguínea para producir una reacción directa con el MDA previamente separada mediante la adición de butanol. El producto de MDA se determinó por colorimetría en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 532 nm.

Detección urinaria de NGAL

Tanto para la cuantificación de NGAL como de Hsp72 fue necesario medir la concentración de creatinina urinaria presente en las muestras para su normalización en el reporte de resultados. La concentración de NGAL en orina fue analizada empleando el kit comercial disponible de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (NGAL ELISA kit BioPorto Diagnostics), siguiendo las instrucciones del fabricante.

Detección urinaria de Hsp72

Las concentraciones de Hsp72 fueron analizadas empleando el kit comercial disponible de ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (kit ADI-EKS 15, Enzo Lifesciences), que consiste en depositar las muestras en un pozo cubierto con anticuerpo monoclonal de ratón, el cual captura la molécula de Hsp72, reacción que desarrolla una respuesta colorimétrica al adicionarse una peroxidasa ligada a un compuesto cromógeno. La densidad óptica de las muestras se leyeron a 450 nm.

Detección de peróxido de hidrógeno urinario (H_2O_2)

Se empleó un estuche comercial Amplex[®] Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit (Invitrogen) de acuerdo a las instrucciones emitidas por el fabricante. Es un método colorimétrico en el cual el 10-acetil-3,7- dihidroxifeboxizano reacciona con el peróxido de hidrógeno contenido en las muestras produciendo un producto de oxidación rojo-fluorescente; que se cuantificó por espectrofotometría a una absorbencia de 560 nm, para una expresión de resultados en unidades de nmol/mL de H_2O_2 .

Análisis estadístico.

Se exploró normalidad de los datos cuantitativos recolectados con la prueba Shapiro-Wilk. En función del resultado, se empleó T de student o U de Mann-Whitney para determinar diferencia entre las medidas de tendencia central de las variables cuantitativas entre los grupos (NAC,y placebo). Se utilizó prueba exacta de Fisher para la comparación de proporciones entre grupos. Se consideró significancia estadística cuando $p < 0.05$.

4. Resultados

Se analizó la información obtenida de los donantes intervenidos y los receptores que recibieron los injertos recuperados de los mismos. En total, fue posible obtener datos de 7 donantes expuestos a N-acetilcisteína y 7 expuestos a placebo. Se recuperaron los datos de 14 receptores que recibieron injertos tratados con placebo; dos receptores de diferentes donantes con NAC fueron eliminados por daño a las muestras obtenidas, por lo que se incluyó en el análisis la información de 12 receptores de riñones a cuyos donantes se administró NAC.

Los resultados cuantitativos cuya distribución fue normal se reportan a continuación como media \pm desviación estándar, mientras que aquellos con distribución no normal se reportan como mediana – rango intercuartilar 25-75. Las proporciones se reportan como porcentajes.

En las tablas 1 y 2 se muestran las características basales de donantes y receptores que fueron expuestos a N-acetilcisteína o placebo, sin reportarse diferencias clínicas o estadísticamente significativas.

No se identificó diferencia con significación estadística en la concentración de MDA sérico al séptimo día postrasplante entre los receptores de injertos expuesto a NAC o placebo (tabla 3).

En el análisis de otros desenlaces (tabla 3), se encontró una menor concentración de creatinina sérica en los receptores de injertos expuestos a placebo al día 7 postrasplante, sin embargo, esto no fue consistente con la diferencia de tasa de filtrado glomerular calculada en el mismo periodo ($p=0.06$).

La incidencia de función retardada del injerto fue de 21% en los receptores de los riñones tratados con placebo y 41% en quienes recibieron riñones expuestos a N-acetilcisteína; sin embargo, esta tendencia no fue estadísticamente significativa. Al analizarse las características de los pacientes que presentaron función retardada del injerto y compararlas con quienes no la desarrollaron (tabla 4), se encontró que el sodio y la creatinina sérica, cuantificados previamente al ingreso del donante a sala de operaciones para la recuperación de los injertos, fueron significativamente mayores en los receptores de los órganos que desarrollaron retardo en la función renal (143 [135-154] vs. 160 [154-163] $p=0.02$; 0.97[0.76-1.05] vs. 2.4 [1.46-3.77] $p=0.004$, respectivamente); además, la tasa de filtrado glomerular de los donantes cuyos receptores presentaron retardo en la función fue menor (140 [98.8-153.1] vs. 60 [39.19-83.3] $p=0.006$).

Se realizó un subanálisis de las características basales y desenlaces medidos y calculados entre los pacientes que presentaron retardo en la función del injerto o función renal inmediata postrasplante para determinar las diferencias entre pacientes con riñones expuestos a NAC o placebo (tablas 6 y 7). Los receptores de los riñones expuestos a NAC, pero que no desarrollaron retardo en la función del injerto, exhibieron un peor perfil bioquímico que sus equivalentes no expuestos a la

intervención; el análisis arrojó que estos injertos fueron procurados de donantes con mayor IMC y puntajes significativamente más elevados de KDPI y KDRI. Los receptores de los riñones que desarrollaron función retardada del injerto y que recibieron injertos tratados con NAC, presentaron menores concentraciones de biomarcadores urinarios de daño tubular que los tratados con placebo.

Las figuras 1 a 3 representan el comportamiento de las concentraciones urinarias medidas de los tres biomarcadores de lesión renal aguda y estrés oxidativo en diferentes momentos post-reperfusión en pacientes que desarrollaron retardo en la función del injerto y son comparados con pacientes cuya función fue inmediata; en estas gráficas es posible constatar la tendencia a una marcada disminución de las concentraciones en pacientes que recibieron injertos expuestos a NAC, particularmente en los que fueron expuestos a mayor insulto isquémico.

5. Tablas y Gráficos

Tabla 1. Características basales de los donantes con muerte encefálica. Comparación entre el grupo placebo y grupo intervención.

| Variable | Placebo (n=7) | NAC (n=7) | p |
|------------------------------|------------------|-------------------|------|
| Género femenino, n (%) | 3 (42.8) | 3 (42.8) | 1.0 |
| Edad, media \pm DE | 31 \pm 13 | 36.85 \pm 16.65 | 0.49 |
| IMC, media \pm DE | 25.2 \pm 3.65 | 28.42 \pm 8.98 | 0.39 |
| CrS, mediana [RIC 25-75] | 0.97 [0.76-1.46] | 1.76 [1.05-2.4] | 0.31 |
| Sodio sérico, media \pm DE | 147 \pm 11.36 | 148 \pm 12.84 | 0.88 |
| DMT2, n (%) | 1 (14.29) | 2 (28.5) | 0.51 |
| HAS, n (%) | 1 (14.29) | 2 (28.5) | 0.51 |
| Obesidad, n (%) | 2(28.57) | 2(28.57) | 1.0 |
| Muerte por EVC, n (%) | 1 (14.29) | 3 (42.86) | 0.23 |
| KDPI, mediana [RIC 25-75] | 22 [7-52] | 45 [24-89] | 0.22 |
| KDRI, mediana [RIC 25-75] | 0.76[0.65-1.01] | 0.95 [0.78-.55] | 0.22 |

NAC=Grupo intervenido con N-acetilcisteína, IMC=índice de masa corporal en kg/m²de superficie corporal, DMT2=Diabetes mellitus tipo 2, CrS= Creatinina sérica, HAS= Hipertensión arterial sistémica, EVC= Enfermedad vascular cerebral, KDPI= *Kidney donor profile index*, KDRI=*Kidney donor risk index*.

Tabla 2. Características basales de los receptores de riñón. Comparación entre el grupo placebo y grupo intervenido con N-acetilcisteína.

| Variable | Placebo (n=14) | NAC (n=12) | p |
|--|-----------------------|-------------------|----------|
| Género femenino, <i>n (%)</i> | 9 (64) | 5 (41) | 0.24 |
| Edad, <i>media ±DE</i> | 36.85±13.79 | 43.91±12.21 | 0.18 |
| Peso kg, <i>media ±DE</i> | 54±13.4 | 61.7±9 | 0.06 |
| IMC, <i>media ±DE</i> | 21.87±4.17 | 23.6±2.5 | 0.2 |
| TSR HD, <i>n (%)</i> | 7 (50) | 7 (58) | 0.67 |
| TSR DPCA, <i>n (%)</i> | 7 (50) | 5 (42) | 0.67 |
| Tiempo de inicio en meses TSR, <i>media ±DE</i> | 76.6±55 | 62±37.22 | 0.49 |
| DMT2, <i>n (%)</i> | 2 (14) | 3 (25) | 0.49 |
| HAS, <i>n (%)</i> | 13 (92) | 9 (75) | 0.2 |
| Obesidad, <i>n (%)</i> | 1 (7) | 0 | 0.34 |
| CrS basal, <i>media ±DE</i> | 11.62±4.29 | 14.31±6.7 | 0.22 |
| TFG mL/min/1.73m ² SC basal, <i>media ±DE</i> | 7.21±4.19 | 6.4±2.72 | 0.57 |

NAC=Grupo intervenido con N-acetilcisteína, IMC=índice de masa corporal en kg/m²de superficie corporal, TSR HD=terapia sustitutiva renal con hemodiálisis, TSR DPCA = Terapia sustitutiva renal con diálisis peritoneal continua ambulatoria, TSR= terapia sustitutiva renal, DMT2=Diabetes mellitus tipo 2, HAS= Hipertensión arterial sistémica, CrS=Creatinina basal, TFG=Tasa de filtrado glomerular calculada con CKD-EPI.

Tabla 3. Comparación de resultados de biomarcadores en receptores con injertos renales recuperados de donantes con muerte encefálica intervenidos con N-acetilcisteína o placebo.

| Variable | Placebo (n=14) | NAC (n=12) | p |
|---|-------------------------|------------------|-------|
| §NGAL ng/dL 6 h, mediana [RIC 25-75] | 1658.9 [705.03-2526.7] | 2459 [1109-3510] | 0.28 |
| §NGAL ng/dL 12 h, mediana [RIC 25-75] | 916.44 [387.5-1766.08] | 1290 [821-2516] | 0.28 |
| §NGAL ng/dL 24 h, mediana [RIC 25-75] | 441.03 [140.89-1155.91] | 766 [441-1381] | 0.28 |
| §Hsp72 ng/dL 6 h, mediana [RIC 25-75] | 0.615 [0.35-2.83] | 0.63 [0.36-0.87] | 0.79 |
| §Hsp72 ng/dL 12 h, mediana [RIC 25-75] | 0.31 [0.13-1.96] | 0.53 [0.38-1.0] | 0.57 |
| §Hsp72 ng/dL 24 h, mediana [RIC 25-75] | 0.88 [0.33-2.46] | 0.55 [0.4-0.9] | 0.41 |
| §H2O2 nmol/mL 6 h, mediana [RIC 25-75] | 3.18 [2.4-15.19] | 3.8 [2-16.5] | 0.83 |
| §H2O2 nmol/mL 12 h, mediana [RIC 25-75] | 2.34 [1.88-15.82] | 3.49 [1.88-7.4] | 0.97 |
| §H2O2 nmol/mL 24 h, mediana [RIC 25-75] | 2.67 [1.54-12.75] | 2.8 [1.8-5.88] | 0.83 |
| MDA nmol/dL 7 días, mediana [RIC 25-75] | 31.75 [17.18-49.88] | 41.62 [22.3-47] | 0.68 |
| CrS 7 días | 1.01 [0.84-2.02] | 1.73 [1.33-3.07] | 0.03* |
| CrS mg/dL 90 días, media ±DE | 1.07±0.35 | 1.5±0.52 | 0.008 |
| TFG ml/min/1.73m ² SC 7 días, media ±DE | 63.09±35.8 | 40.07±19.43 | 0.05 |
| TFG ml/min/1.73m ² SC 90 días, media ±DE | 69.69±23.54 | 53.75±18.26 | 0.06 |
| Función retardada del injerto, n (%) | 3 [21] | 5 [41] | 0.26 |

§Concentraciones normalizadas por creatinina urinaria.

NGAL=concentración urinaria de lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos, Hsp72= concentración urinaria de proteína de choque térmico isoforma 72, H2O2=concentración urinaria de peróxido de hidrógeno, MDA=concentración sérica de malondialdehído al día 7 postrasplante, CrS=creatinina sérica, TFG=Tasa de filtrado glomerular calculada por CKD-EPI

Tabla 4. Comparación de características de pacientes con función inmediata y función retardada del injerto.

| Variable | Función normal (n=18) | Función retardada (n=8) | p |
|--|-----------------------|-------------------------|--------|
| Edad , <i>media ±DE</i> | 41.6±14.8 | 36.75 ±9.01 | 0.4 |
| Género femenino , <i>n (%)</i> | 9 (50) | 5 (62) | 0.55 |
| IMC, <i>media ±DE</i> | 22.6±3.83 | 22.89 ±3.05 | 0.85 |
| Creatinina basal, <i>media ±DE</i> | 11.7±4.42 | 15.31 ±7.39 | 0.13 |
| TSR HD, <i>n (%)</i> | 9 (50) | 5 (62) | 0.55 |
| Tiempo en meses desde TSR, <i>mediana [RIC 25-75]</i> | 48 [30-96] | 66 [48-144] | 0.24 |
| DMT2, <i>n (%)</i> | 4 (22) | 1 (12.5) | 0.56 |
| HAS, <i>n (%)</i> | 16 (88.8) | 6 (75) | 0.36 |
| Edad del donante, <i>media ±DE</i> | 37.5±14.84 | 29 ±13.24 | 0.18 |
| Género femenino del donante, <i>n (%)</i> | 9 (50) | 2 (25) | 0.23 |
| IMC donante, <i>mediana [RIC 25-75]</i> | 24.4[23.04-31.02] | 24.22 [21.27-25.9] | 0.25 |
| Muerte del donante por EVC, <i>n (%)</i> | 7 (38.89) | 1 (12.5) | 0.17 |
| Na donante, <i>mediana [RIC 25-75]</i> | 143 [135-154] | 160 [154-163] | 0.02* |
| Creatinina donante, <i>mediana [RIC 25-75]</i> | 0.97 [0.76-1.05] | 2.4 [1.46-3.77] | 0.004* |
| TFG mL/min/1.73m ² SC donante, <i>mediana [RIC 25-75]</i> | 140 [98.8-153.1] | 60 [39.19-83.3] | 0.006* |
| KDRI, <i>mediana [RIC 25-75]</i> | 0.84 [0.75-1.55] | 0.95 [0.88-1.01] | 0.59 |
| KDPI, <i>mediana [RIC 25-75]</i> | 32 [20-89] | 45 [38-52] | 0.59 |

NAC=Grupo intervenido con N-acetilcisteína, IMC=índice de masa corporal en kg/m²de superficie corporal, TSR HD= terapia sustitutiva renal con hemodiálisis, TSR= terapia sustitutiva renal, DMT2=Diabetes mellitus tipo 2, HAS= Hipertensión arterial sistémica, TFG=Tasa de filtrado glomerular calculada con CKD-EPI, KDPI= *Kidney donor profile index*, KDRI=*Kidney donor risk index*.

Tabla 5. Comparación de características basales entre receptores con injertos renales expuestos a N-acetilcisteína o placebo que presentaron función retardada y función renal inmediata postrasplante

| Variable | Función inmediata | | | Función retardada | | |
|--|-----------------------------|------------------------------|-------|----------------------------|----------------------------|------|
| | Placebo n=11 | NAC n=7 | p | Placebo n=3 | NAC n=5 | p |
| IMC, mediana [RIC 25-75] | 21.93 [17.74- 24.5] | 24 [20.3- 24.23] | 0.68 | 20.9 [16.44- 23.63] | 24.7 [24.2-25] | 0.05 |
| Tiempo TSR meses, mediana [RIC 25-75] | 48 [24- 108] | 48 [48- 60] | 0.78 | 72 [48- 168] | 60 [36- 144] | 0.51 |
| CrS basal, mediana [RIC 25- 75] | 12.91 [7.83- 14.6] | 9.9 [8.97- 16.36] | 0.73 | 10.9 [6.88- 15.96] | 16 [14- 16.6] | 0.17 |
| Edad donante, mediana [RIC 25-75] | 25 [24- 48] | 48 [44- 63] | 0.09 | 19 [19- 52] | 22 [20- 41] | 0.44 |
| IMC donante, mediana [RIC 25-75] | 24.2 [22.9- 29.3] | 34.5 [23.04- 45.97] | 0.05 | 24.22 [24.22- 31.02] | 21.79 [20.76- 25.9] | 0.28 |
| Na donante, mediana [RIC 25-75] | 152 [136- 154] | 143 [135- 164] | 0.89 | 163 [143- 163] | 160 [154- 160] | 0.50 |
| CrS donante, mediana [RIC 25-75] | 0.93 [0.76- 0.98] | 1.05 [0.27- 2.57] | 0.18 | 3.77 [1.46- 3.77] | 1.56[1.56 -2.4] | 0.28 |
| TFG donante, mediana [RIC 25-75] | 151.54 [98.8- 153.51] | 140.31 [33.72- 391.43] | 0.55 | 36.71 [36.71- 79.53] | 80.66 [41.67- 85.94] | 0.09 |
| KDRI, mediana [RIC 25-75] | 0.75 [0.65-0.9] | 1.55 [1.46- 1.82] | 0.004 | 1.01 [1.01- 1.74] | 0.88 [0.88- 0.95] | 0.02 |
| KDPI, mediana [RIC 25-75] | 20 [7-40] | 89 [85- 96] | 0.004 | 52 [52- 95] | 38 [38- 45] | 0.02 |

Tabla 6. Comparación de desenlaces entre receptores con injertos renales expuestos a N-acetilcisteína o placebo que presentaron función retardada y función renal inmediata postrasplante

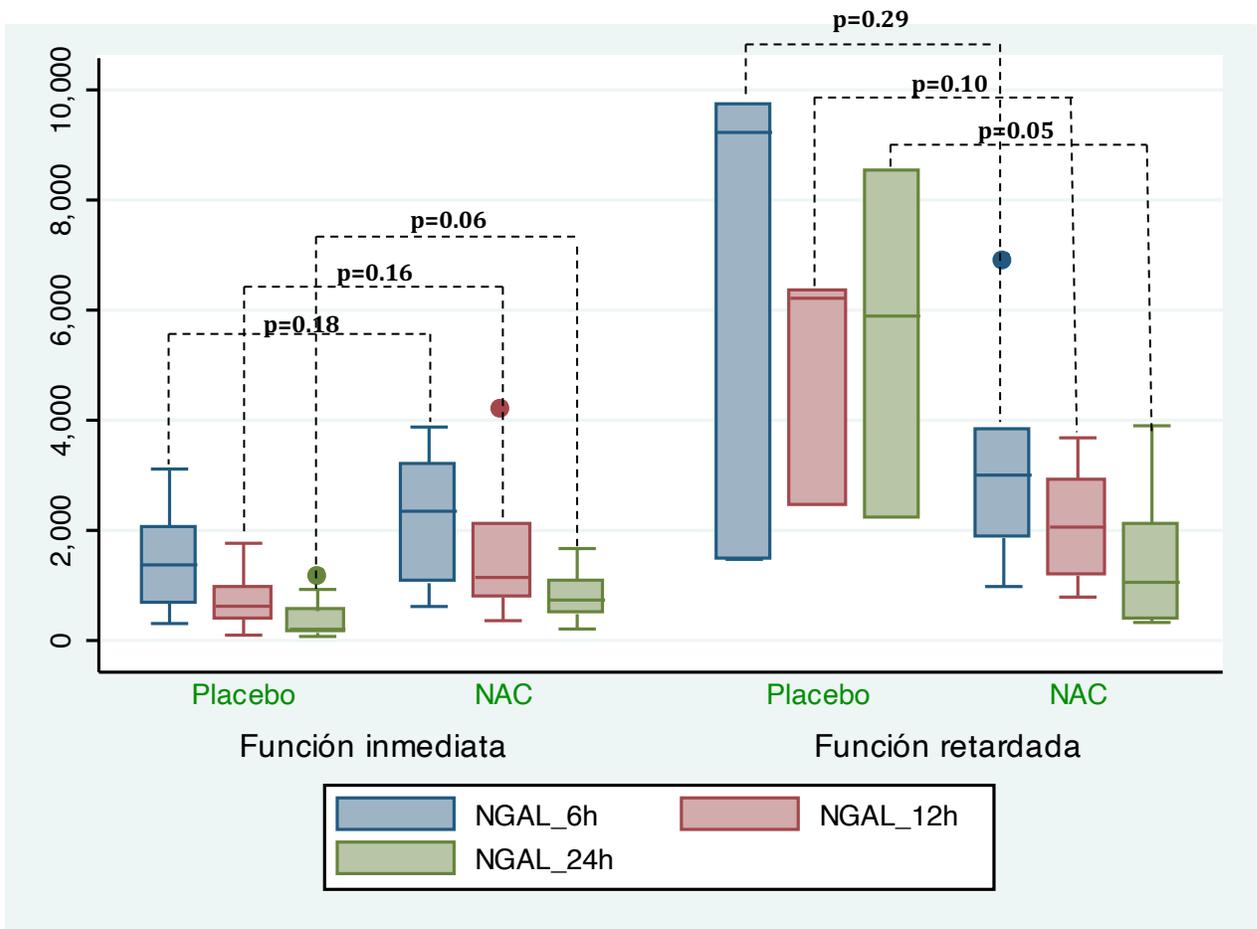
| Variable | | Función inmediata | | | Función retardada | | |
|----------|---|----------------------------|------------------------------|------|------------------------------|------------------------------|------|
| | | Placebo n=11 | NAC n=7 | p | Placebo n=3 | NAC n=5 | p |
| ng/dL | [§] NGAL 6 h, mediana [RIC 25-75] | 1373.2 [677.46-2052.57] | 2347.17 [1040.46-3204.31] | 0.18 | 9227.33 [1473.86-9745.84] | 3003.28 [1860.41-3815.71] | 0.29 |
| | [§] NGAL ng/dL 12 h, mediana [RIC 25-75] | 621.98 [380.25-978] | 1145.35 [782.69-2108.22] | 0.16 | 6215.49 [2441.17-6363.8] | 2059.33 [1177.17-2923.93] | 0.10 |
| | [§] NGAL ng/dL 24 h, mediana [RIC 25-75] | 203.9 [138.59-532.82] | 733.85 [478.4-1094.07] | 0.06 | 5891.75 [2197.71-8500.51] | 1056.8 [404.03-2120.17] | 0.05 |
| | [§] Hsp72 ng/dL 6 h, mediana [RIC 25-75] | 0.6 [0.35-1] | 0.58 [0.15-0.83] | 0.68 | 22.61 [0.27-59.87] | 0.65 [0.61-5.47] | 0.29 |
| | [§] Hsp72 ng/dL 12 h, mediana [RIC 25-75] | 0.27 [0.13-0.83] | 0.99 [0.51-1.12] | 0.04 | 1.96 [1.17-8.9] | 0.39 [0.2-0.52] | 0.02 |
| | [§] Hsp72 ng/dL 24 h, mediana [RIC 25-75] | 0.83 [0.29-3] | 0.58 [0.48-1.34] | 0.75 | 0.94 [0.36-1.26] | 0.34 [0.33-0.62] | 0.10 |
| | [§] H2O2 nmol/mL 6 h, mediana [RIC 25-75] | 2.82 [1.99-3.21] | 3.05 [1.67-9.26] | 0.75 | 93.98 [29.24-340.48] | 14.39 [2.26-60.41] | 0.17 |
| | [§] H2O2 nmol/mL 12 h, mediana [RIC 25-75] | 1.93 [1.44-4.31] | 2.59 [1.94-6.94] | 0.29 | 73.32 [51.87-130.87] | 5.68 [1.83-7.87] | 0.02 |
| | [§] H2O2 nmol/mL 24 h, mediana [RIC 25-75] | 2.22 [1.38-6.59] | 2.15 [1.39-3.76] | 0.96 | 29.74 [27.76-35.75] | 7.96 [2.61-8.44] | 0.02 |
| | MDA nmol/dL 7 días, mediana [RIC 25-75] | 25.27 [16.4-68.4] | 41.62 [41.44-47.01] | 0.33 | 38.23 [24.14-47.01] | 31.31 [9.4-49.48] | 0.72 |
| | CrS 7 días, mediana [RIC 25-75] | 0.93 [0.73-1.18] | 1.53 [1.23-1.87] | 0.01 | 5.22 [3-5.26] | 3.45 [2.7-4.84] | 0.45 |

| | | | | | | |
|---|--------------------|---------------------|-------|---------------------|---------------------|------|
| CrS 90 días, mediana [RIC 25-75] | 0.87[0.83-1.16] | 1.48 [1.16-1.82] | 0.01 | 1.09 [1.04-1.75] | 1.48 [1.36-1.85] | 0.45 |
| TFG mL/min/1.73m ² SC 7 días, mediana [RIC 25-75] | 70.3[53.9-7-87.22] | 43.96 [37.83-52.98] | 0.003 | 10.54 [10.23-18.12] | 19.29 [16.39-35.6] | 0.10 |
| TFG mL/min/1.73m ² SC 90 días, mediana [RIC 25-75] | 73.61[68.14-90.29] | 44.22 [41.04-63.26] | 0.007 | 49.88 [31.46-51.76] | 52.55 [44.98-81.95] | 0.29 |

[§]Concentraciones normalizadas por creatinina urinaria.

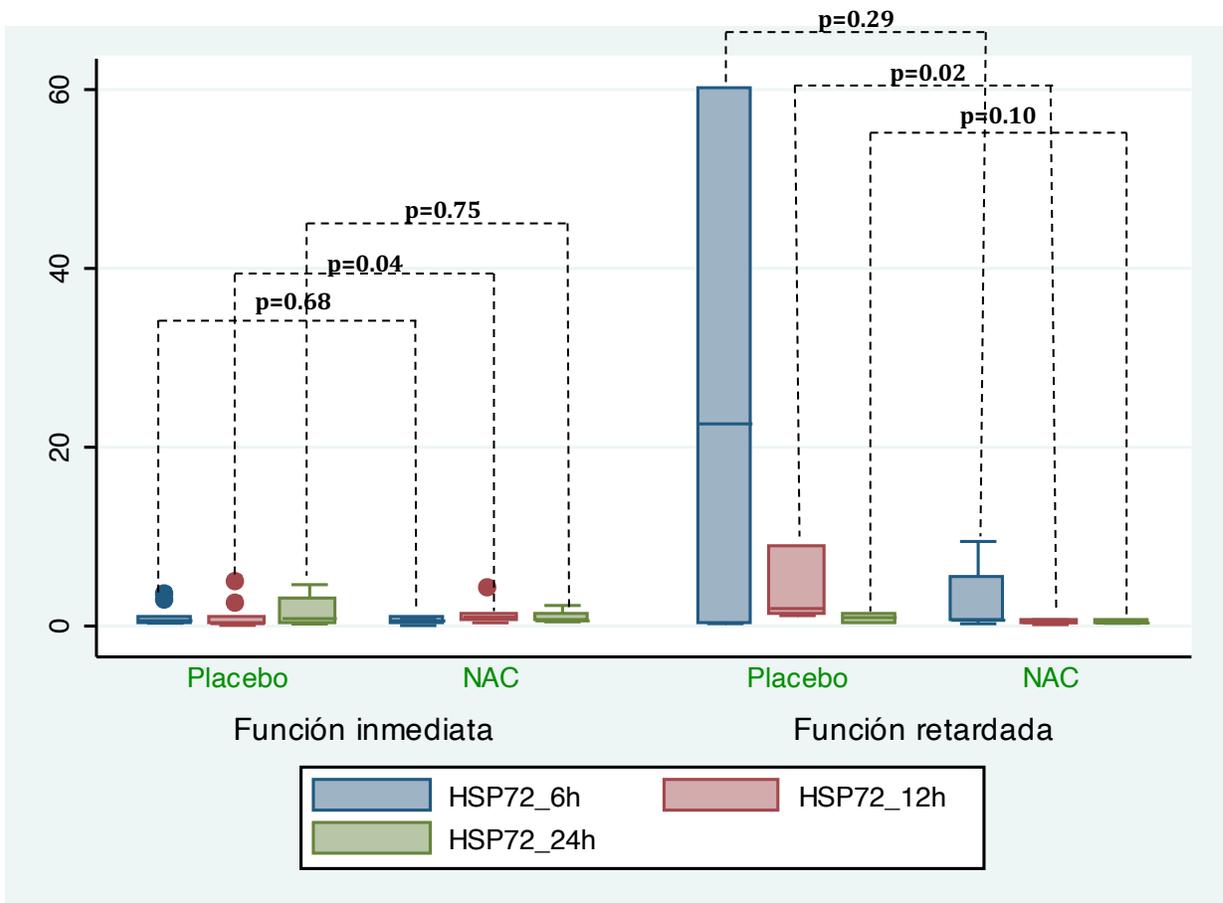
IMC=índice de masa corporal en kg/m²de superficie corporal, TSR HD= Terapia sustitutiva renal con hemodiálisis, NGAL=concentración urinaria de lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos, Hsp72= concentración urinaria de proteína de choque térmico isoforma 72, H2O2=concentración urinaria de peróxido de hidrógeno, MDA=concentración sérica de malondialdehído al día 7 postrasplante, CrS=creatinina sérica, TFG=Tasa de filtrado glomerular calculada por CKD-EPI, KDPI= *Kidney donor profile index*, KDRI=*Kidney donor risk index*.

Figura 1. Concentración urinaria de NGAL* a las 6, 12 y 24 h post reperusión. Comparación entre pacientes que desarrollaron retardo en la función del inerto y quienes mostraron función inmediata.



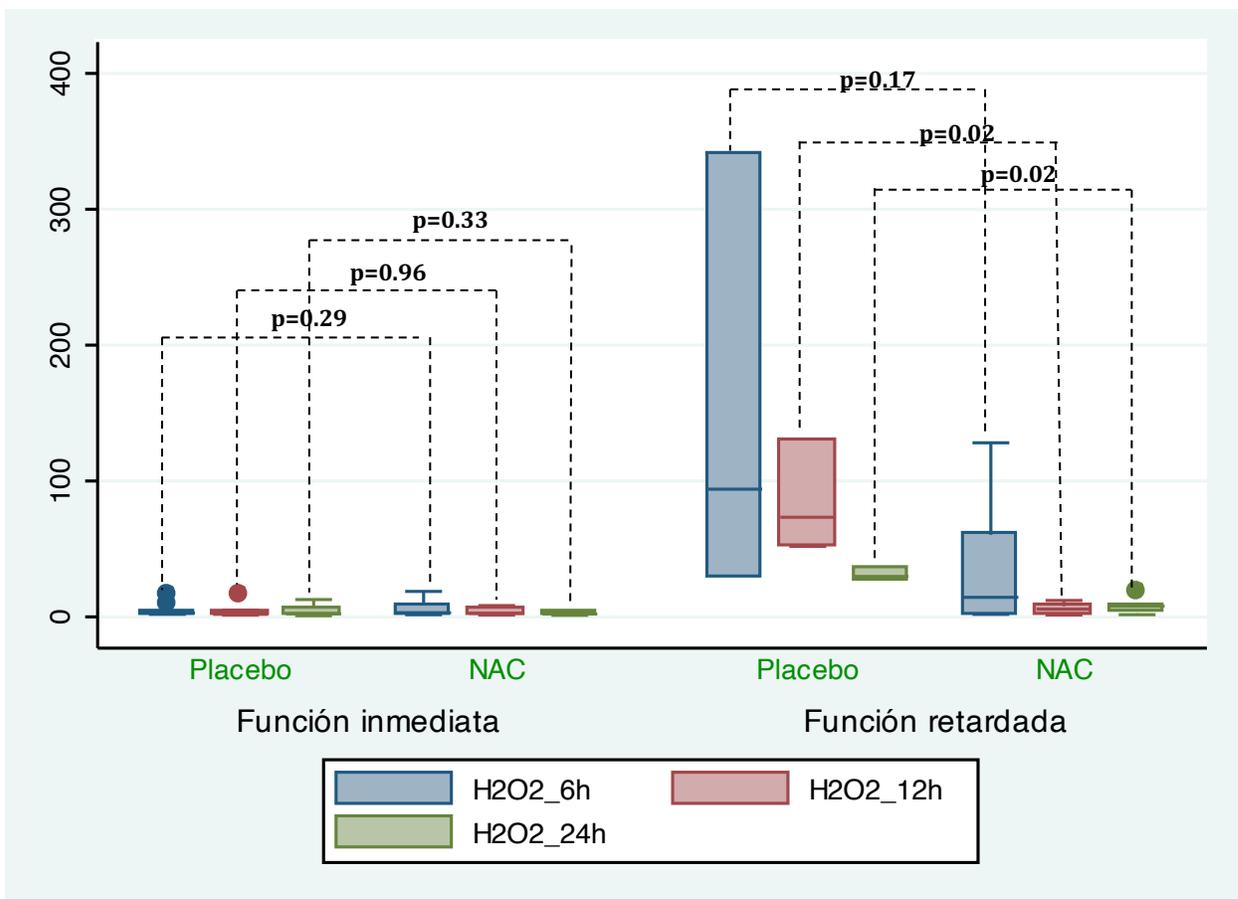
*NGAL=Lipocalina asociada a gelatinasa de neutrófilos, representada en ng/dL, normalizada por creatinina urinaria.

Figura 2. Concentración urinaria de Hsp72* a las 6, 12 y 24 h post reperusión. Comparación entre pacientes que desarrollaron retardo en la función del inerto y quienes mostraron función renal inmediata.



*Hsp72=Proteína de choque térmico 72, representada en ng/dL, normalizada por creatinina urinaria.

Figura 3. Concentración de H₂O₂* urinario a las 6, 12 y 24 h post reperusión. Comparación entre pacientes que desarrollaron retardo en la función del inerto y quienes mostraron función renal inmediata.



*H₂O₂=Peróxido de hidrógeno, representado en nmol/mL, normalizado por creatinina urinaria.

6. Discusión

Al momento de estructurar el presente reporte, no se identificó en la literatura médica disponible un estudio en que se evalúe el impacto de la ministración de NAC en donantes fallecidos, sobre biomarcadores tempranos de lesión renal y estrés oxidativo en los receptores de los injertos renales expuestos a éste fármaco. Si bien el diseño se basó en el trabajo de Danilovic¹⁷, la diferencia fundamental es el momento de ministración de NAC, con la ventaja hipotética de permitir el incremento de la reserva intracelular de cisteína antes del establecimiento de la isquemia fría, con la finalidad de exhibir una mejor maquinaria antioxidante al momento de ser reperfundido. Un trabajo similar al publicado por Danilovic fue desarrollado en 2018 por Modarresi y su equipo de trabajo, empleando la cuantificación de NGAL en orina como instrumento de medición; su trabajo consistió en un ensayo clínico donde 70 receptores de riñón de donante fallecido recibieron 600 mg de NAC o placebo dos veces al día durante los primeros 5 días del postoperatorio y en este esquema lograron documentar una disminución en la concentración de NGAL en orina en el primer día (646 ± 374 vs. 730 ± 423 , $p=0.02$, NAC vs. placebo respectivamente) y el quinto día (443 ± 432 vs. 586 ± 483 , $p<0.001$, NAC vs. placebo respectivamente); además, encontraron tendencia a la disminución en la incidencia de retardo en la función del injerto favoreciendo el uso de NAC, sin resultar estadísticamente significativa (36% vs. 56% en NAC y placebo, $p=0.15$)³¹.

N-acetilcisteína es un fármaco de bajo costo y mínimos efectos adversos, que ha sido evaluado en otros escenarios relacionados con trasplantes de órganos sólidos, mostrando resultados alentadores. En 2013, D'Amico y colaboradores²⁹, demostraron en un ensayo clínico controlado con placebo y cegado, que la infusión de NAC a dosis de 30 mg/kg en donantes fallecidos de quienes se recuperaron hígados con fines de trasplante tuvo un gran impacto en los desenlaces clínicos de los receptores en términos de supervivencia a 3 y 12 meses postrasplante, así como complicaciones postoperatorias de cualquier origen; asimismo, en un subanálisis de receptores de injertos subóptimos, documentaron que la incidencia de falla primaria fue del 15% en injertos expuestos a NAC contra 32% de los no expuestos, sin embargo, esta comparación no alcanzó significación estadística.

En estudios experimentales con modelos animales de trasplante de intestino delgado se pudo demostrar que la ministración de NAC antes del insulto isquémico incrementa la síntesis de óxido nítrico y de ácido hialurónico, por lo que le confiere un efecto protector a tejidos especialmente susceptibles a la lesión por isquemia seguida de perfusión³⁰.

En el presente estudio, el análisis inicial de los resultados demostró que la exposición a NAC no se traduce en una mejor función renal temprana del injerto cuando es medida por marcadores bioquímicos convencionales, resultados muy similares a lo reportado por Orban y colaboradores²⁸, quienes diseñaron un ensayo clínico de un solo ciego en donde ministraron 600 mg de NAC o placebo a 236 potenciales donantes multiorgánicos antes de la confirmación de la pérdida de vida

por angiografía y evaluaron la incidencia de función retardada del injerto entre los receptores de los riñones recuperados de dichos donantes, sin encontrar diferencias clínicas o estadísticamente significativas; es importante hacer notar que la dosificación del fármaco no fue ponderada y sus desenlaces se limitaron a creatinina sérica y requerimiento de terapia de sustitución renal durante la primera semana postrasplante, sin evaluar la función renal con métodos más sensibles.

Una de las aportaciones del presente trabajo, es que se midieron desenlaces bioquímicos que han demostrado tener mayor sensibilidad y especificidad para la detección temprana de lesión renal y estrés oxidativo, aún antes de evidenciarse el daño por los métodos convencionales. Al hacer la comparación entre el grupo de injertos expuestos a NAC y los no expuestos, no se identificaron diferencias en las concentraciones de biomarcadores. En una evaluación inicial de los resultados, los receptores de riñones expuestos a la intervención mostraron mayor concentración de creatinina al séptimo día. Sin embargo, es de considerarse que los donantes intervenidos con NAC presentaban mayor concentración sérica de sodio previo al pinzamiento, mayor concentración de creatinina y peor tasa de filtrado glomerular, a pesar de la aleatorización de la intervención.

La proporción de receptores que presentaron retardo en la función del injerto fue de 30%, sin diferencia estadísticamente significativa entre los grupos, aunque con tendencia a mostrarse mayor en receptores de injertos tratados con NAC. En 2019, Melih y colaboradores reportaron una incidencia de 43% en su centro, e identificaron que en un análisis univariado los factores que se relacionan a este acontecimiento son edad del donante, creatinina previa a la extracción, tiempo de estancia en la unidad de cuidados intensivos y tiempo de isquemia fría. En nuestra población, el tiempo promedio de isquemia fría fue 1274 ± 282 min y de isquemia tibia 46 ± 10.54 min, sin mostrar diferencias entre los grupos de pacientes incluidos en el estudio, y por lo tanto no hubo correlación con la presentación de retardo en la función; sin embargo, al realizar un análisis univariable, donantes con creatinina >1.5 mg/dL y tasa de filtrado glomerular <60 mL/min/1.73 m SC resultaron en un OR de 15 (IC 1.98-113.55, $p=0.00$) y 8 (IC 1.06-60.32, $p=.044$), respectivamente, para el desarrollo de función retardada del injerto, por lo que se pudo hacer evidente que el grupo intervenido presentaba francas desventajas para la comparación de desenlaces, aún cuando otras características como edad, IMC, comorbilidades y causa de fallecimiento fueron comparables y equivalentes. Estos hallazgos podrían estar relacionados a una pobre reanimación del donante y/o posible daño isquémico previo al cese del flujo durante la extracción.

Ya que la mayor ventaja hipotética del empleo de NAC es en las poblaciones de tejidos con mayor reto isquémico potencial, se realizó un subanálisis de los datos para evaluar el comportamiento de los biomarcadores en pacientes que desarrollaron retardo en la función del injerto. En esta subpoblación, el tratamiento con NAC se asoció a una importante disminución de la concentración urinaria de marcadores de lesión renal y estrés oxidativo que se cuantificaron en las primeras 6, 12 y 24 h postrasplante.

Cabe hacer mención que los pacientes que presentaron retardo en la función y no recibieron injertos expuestos a NAC, exhibieron concentraciones urinarias de NGAL que rebasaron los 2000 ng/mg de creatinina en todas las muestras recuperadas, lo cual es congruente con los hallazgos

reportados por Parikh²⁰, quien demostró que una concentración urinaria de NGAL de 2000 ng/mg de creatinina, fue capaz de identificar a pacientes trasplantados de riñón que desarrollaron retardo en la función del injerto con una sensibilidad del 80% y especificidad de 93%. En este mismo grupo de pacientes, la concentración de Hsp72 en orina fue significativamente mayor a las 12 h postreperfusión, situación que no fue posible reproducir en otras mediciones debido al número de observaciones. En el estudio realizado por Morales-Buenrostro y cols²³ en pacientes críticamente enfermos, se determinó que una concentración de 1 ng/mL de Hsp72 tuvo una sensibilidad de 100% y especificidad de 83.3% para la detección de lesión renal aguda, lo cual fue consistente con los resultados de este estudio.

En relación al efecto de NAC sobre el estrés oxidativo de los pacientes trasplantados y/o los injertos, en el análisis inicial no pudo demostrarse diferencia en la concentración de H₂O₂ urinario; sin embargo, al realizar el sub-análisis en pacientes que presentaron función retardada, hubo diferencia estadísticamente significativa a las 12 y 24 h postreperfusión, a pesar de la limitación en el número de observaciones, favoreciendo a los receptores de injertos expuestos a NAC, lo que podría sugerir un efecto protector de N-acetilcisteína sobre los tejidos con mayor insulto isquémico. La evaluación de la peroxidación lipídica al séptimo día postrasplante no resultó en diferencia alguna, independientemente de la evolución de los receptores y los injertos. En 2011, Danilovic¹⁷ publicó los resultados de un ensayo clínico, controlado por placebo, en donde 38 pacientes trasplantados de riñón de donante fallecido recibieron NAC 1200 mg en dos tomas al día durante los primeros 7 días postrasplante y comparó la concentración de MDA en suero al séptimo día con receptores pareados que recibieron placebo. Al día 7, la concentración de MDA fue mayor en receptores que recibieron placebo (5.4±1.8 vs. 3.2±1.3, p<0.001; placebo vs. NAC respectivamente), además la concentración de creatinina a los 90 y 365 días postrasplante fue menor en quienes recibieron NAC. La diferencia fundamental a la que puede atribuirse el comportamiento de las poblaciones radica en la estrategia de intervención.

Derivado de los resultados de este trabajo, podría sugerirse que el efecto de NAC es potencialmente benéfico al infundirse en donantes cuyas condiciones se relacionan a alto riesgo de pobre función inicial de los injertos, como creatinina y sodio elevados en suero antes del pinzamiento y tasa de filtrado glomerular baja.

Las limitaciones de este estudio se relacionan fundamentalmente al número de observaciones obtenidas debido a la eliminación de sujetos intervenidos y que el cálculo de tamaño de muestra fue diseñado para la obtención de un desenlace distinto. Esto podría limitar la evaluación de algunas de las tendencias observadas. Además, no se realizó estratificación de los donantes en óptimos o subóptimos para la asignación de la intervención, lo que pudo contribuir a una tendencia no esperada de características que modificaran la observación de los desenlaces. En manejo de las muestras, no se consideró la manipulación especial de muestras hematúricas o con sedimentos, lo que pudo modificar los resultados obtenidos. No se evaluaron desenlaces a un plazo mayor para definir sobrevida del injerto en relación a la intervención y se dejaron de lado variables fundamentales como control del dolor, que pudieran influir en el incremento del estrés

oxidativo postrasplante. Debido a la heterogeneidad de las poblaciones comparadas, los resultados invitan a ser tomados con cautela, sin dejar de lado la posibilidad de plantear hipótesis para contrastar con muestras más robustas.

Anexo 1 Hoja informativa

HOJA INFORMATIVA

ESTUDIO:

Efecto de N-Acetilcisteína sobre Marcadores Biológicos de Estrés Oxidativo y Función inicial de Injertos Renales Trasplantados Recuperados de Donantes con Muerte Encefálica.

**Departamento de Trasplantes / Departamento de Anestesiología
INSITITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN.**

Usted parece insuficiencia renal crónica terminal, lo que significa que las funciones que sus riñones deberían desempeñar, no se están llevando a cabo. Estas funciones incluyen la filtración de líquidos y sustancias de desecho de su sangre que son producto de la desintegración de la comida y la actividad muscular normal, así como funciones de regulación de agua de su organismo, eliminación de medicamentos y toxinas de su cuerpo, regulación de la presión sanguínea y producción de glóbulos rojos entre otras. Esta situación lo convierte en candidato a recibir algún tratamiento como diálisis peritoneal o hemodiálisis, que permita sustituir de forma temporal la función de filtración que sus riñones ya no pueden realizar. El trasplante renal, es hasta hoy, el tratamiento definitivo que permite recuperar en un gran porcentaje el resto de funciones que sus riñones ya no podían desempeñar por encontrarse enfermos, mejorando su calidad de vida y permitiendo que pueda reinsertarse a su comunidad.

El trasplante renal de donante fallecido, es un procedimiento mediante el cual, a un ser humano que desafortunadamente a sufrido daño irreparable en su cerebro, pero cuyo corazón continua latiendo por mecanismos residuales de su sistema nervioso, se recuperan órganos que se mantienen viables y que pueden ser trasplantados en alguien que los necesita, como es su caso. Una vez que se ha otorgado el consentimiento para la recuperación de los órganos para ser trasplantados, se realizan maniobras por el equipo médico, principalmente farmacológicas, que permiten que los órganos se mantengan en condiciones apropiadas. Estas maniobras basadas en medicamentos tienen como finalidad que los riñones y otros órganos que sean trasplantados sufran lo menos posible la interrupción del aporte de sangre al momento de retirarse del donante, y el daño por oxidación que se genera cuando es instalado en quien lo recibe al momento de volver a proporcionarle sangre oxigenada, lo cual se denomina *daño por isquemia reperfusión*. El *daño por isquemia/reperfusión* puede no tener impacto en la función del riñón trasplantado pero también podría desencadenar una serie de

reacciones que impidan su adecuado funcionamiento una vez instalado el injerto. En todo el mundo, investigadores están buscando estrategias que permitan minimizar este daño, existen cientos de propuestas de sustancias que potencialmente podrían detener el daño por estrés oxidativo, sin embargo, no hay estudios concluyentes.

La cisteína es un aminoácido que se encuentra normalmente en el organismo de muchos seres vivos, incluyendo a los seres humanos. En la industria farmacéutica se ha empleado como medicamento para fluidificar secreciones en las vías respiratorias por tener efecto mucolítico, sobre todo en niños; por su efecto para minimizar el daño por estrés oxidativo, se ha utilizado exitosamente en algunos escenarios como en el daño hepático por fármacos, específicamente, en los casos de daño por acetaminofén. Recientemente, se ha investigado su papel cuando es administrado en receptores de órganos (pulmón, riñón e hígado), con resultados alentadores, disminuyendo la falla de los injertos, mejorando la supervivencia de los mismos y de los pacientes que los reciben.

La n-acetilcisteína, es muy similar a la cisteína, solo que fue modificada para que llegue a los tejidos antes de que se degrade, y así pueda ejercer su efecto. Es un fármaco seguro, del cual no se han reportado reacciones secundarias fatales y solo una persona de cada diez mil, ha llegado a presentar reacción alérgica. Es importante mencionar que en este estudio, el medicamento se administrará al donante, y por la rapidez en que el fármaco se convierte en parte de los componentes normales de las células, prácticamente quien recibe el órgano ya no tiene contacto con esta sustancia.

El estudio al cual le invitamos a participar tiene como objetivo medir el beneficio de administrar este medicamento en los donantes, antes de que se establezca la interrupción del flujo sanguíneo hacia los órganos, para así permitir que cuando la sangre vuelva a irrigar al riñón, el *daño por isquemia/reperfusión* sea minimizado. La manera en que puede medirse el efecto del medicamento es a través del aislamiento de moléculas que se producen durante todo el proceso, y que se encuentran en su sangre y en la orina que producirá su nuevo riñón. Si decide participar, su contribución será mediante muestras de orina que serán obtenidas de la bolsa que le colocarán durante el procedimiento quirúrgico para medir la cantidad de orina que produzca su riñón, y una muestra de sangre que será tomada junto con las que rutinariamente deben obtenerse en su internamiento. El estudio durará 90 días, y su seguimiento continuará por la consulta a los 15, 30, 60 y 90 días de trasplantarse, que son las citas a las que habitualmente debe acudir para su vigilancia, por lo que no deberá trasladarse más de lo necesario.

Los datos que sean tomados de su expediente clínico serán utilizados para tener un conocimiento más completo de su caso, y de ninguna manera serán empleados con otro fin, por lo que le garantizamos absoluta confidencialidad.

En caso de que usted decidiera retirarse del estudio, únicamente debe comunicarlo por la vía que prefiera, y puede hacerlo sin ninguna repercusión a su manejo como paciente del departamento de Trasplantes ni del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán.

Si tiene alguna duda o inquietud sobre el estudio, puede llamar al teléfono 5487 0900 en la extensión 2149, con la Dra. Carla Escorza, quien es la responsable del proyecto, o al teléfono celular 55 5523261141 a cualquier hora, cualquier día de la semana. Si tiene alguna duda o

inquietud con respecto de su participación en el estudio o consideraciones éticas, puede comunicarse con el Dr. Carlos A. Aguilar Salinas al teléfono 5487 0900, extensión 6101
Gracias por su disposición. ø

Anexo 2 Formato de consentimiento informado

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA PARTICIPAR EN EL PROYECTO:

Efecto de N-Acetilcisteína sobre Marcadores Biológicos de Estrés Oxidativo y Función inicial de Injertos Renales Trasplantados Recuperados de Donantes con Muerte Encefálica.

Investigador principal: Dr. I. Aczel Sánchez Cedillo

Dirección del investigador: Vasco de Quiroga No. 15, Col. Sección XVI; México, D.F.

Teléfono de contacto del investigador (incluyendo uno para emergencias): 5487 0900, ext 4118; celular (emergencias) 044 55 5523 261141.

Investigadores participantes: Dr. Mario Vilatobá Chapa, Dr. José André Madrigal Bustamante, Lic Enf. José Luis López Jiménez, Dra. Carla A. Escorza Molina.

Versión del consentimiento informado y fecha de su preparación: Versión 1, noviembre 2013.

INTRODUCCIÓN:

Por favor, tome todo el tiempo que sea necesario para leer este documento, pregunte al investigador sobre cualquier duda que tenga.

Este consentimiento informado cumple con los lineamientos establecidos en el Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la salud, la Declaración de Helsinki y a las Buenas Prácticas Clínicas emitidas por la Comisión Nacional de Bioética.

Para decidir si participa o no en este estudio, usted debe tener el conocimiento suficiente acerca de los riesgos y beneficios con el fin tomar una decisión informada. Este formato de consentimiento informado le dará información detallada acerca del estudio de investigación que podrá comentar con su médico tratante o con algún miembro del equipo de investigadores. Al final se le pedirá que forme parte del proyecto y de ser así, bajo ninguna presión o intimidación, se le invitará a firmar este consentimiento informado.

INVITACION A PARTICIPAR Y DESCRIPCIÓN DEL PROYECTO

Estimado Sr.(a)_____

El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición le invitan a participar en este estudio de investigación que tiene como objetivo medir el efecto del empleo de un medicamento en la función del riñón que recibirá con fines de trasplante.

La duración del estudio es de 90 días posteriores a que le sea trasplantado su riñón.

El número aproximado de participantes será de 26 pacientes trasplantados.

Usted fue invitado al estudio debido a que ha completado el protocolo pretrasplante en este instituto y se encuentra en lista de espera para recibir el riñón de un donante de forma altruista quien ha fallecido y en quien se realizan de manera habitual intervenciones en su manejo para optimizar las condiciones en que los órganos serán trasplantados.

PROCEDIMIENTOS DEL ESTUDIO

El tratamiento que será evaluado es la administración de N-acetilcisteína (NAC) previo a la procuración que será comparado con solución sin medicamento.

Su probabilidad para ser asignado a uno de los grupos antes mencionado es del 50%

Su participación en el estudio consiste en otorgar muestras de sangre y orina para medir moléculas que muestran la función de su riñón, así como en permitir acceso a los datos de su expediente clínico que serán utilizados con el único fin de analizar la evolución de su trasplante.

Los procedimientos del estudio incluyen: 1. la administración de NAC, que es el medicamento motivo de evaluación, o placebo que es una solución que no contiene la sustancia activa, como una más de todas las intervenciones farmacológicas que se realizan de manera rutinaria en el donante de los órganos antes de la obtención de los mismos; 2. La obtención de muestras de orina directamente del contenedor al que desemboca la sonda urinaria que le será colocada durante el procedimiento quirúrgico; esta se realizará a las 24 horas después de haberse realizado el trasplante; al séptimo día se obtendrá una muestra de 10 mL de sangre junto con el resto de la batería de estudios que se realizarán en el hospital como parte de su atención y seguimiento.

Las responsabilidades de los participantes incluyen informar cualquier duda o inquietud con respecto a la información aquí proporcionada, así como cualquier eventualidad que surja durante su hospitalización o seguimiento.

RIESGOS E INCONVENIENTES

El Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud, señala que la obtención de muestras biológicas representa un riesgo mínimo dentro de la investigación. Los riesgos de la toma de muestra sanguínea son: posibilidad de sangrado ligero o moretón en el sitio de la punción, mareo o sensación de desmayo y raramente puede producirse punción arterial. El personal que extraerá la muestra sanguínea está entrenado para ello, lo que minimizará los riesgos de complicaciones.

No existe riesgo de ningún tipo en la obtención de la muestra de orina.

Los datos acerca de su identidad y su información médica no serán revelados en ningún momento como lo estipula la ley, por tanto, en la recolección de datos clínicos usted no enfrenta riesgos mayores a los relativos a la protección de la confidencialidad la cual será protegida mediante la codificación de las muestras y de su información.

El medicamento que será administrado se encuentra actualmente soportado por estudios de seguridad en grandes poblaciones en seres humanos y con rara ocurrencia de efectos adversos (menos de una persona por cada 10,000 a quienes se administra). Ya que el medicamento es administrado al donante de su riñón, al momento de ser trasplantado la cantidad de fármaco que usted recibirá es prácticamente nula.

BENEFICIOS POTENCIALES

Este estudio no está diseñado para beneficiarle directamente. Sin embargo, debido a la evidencia documentada en estudios previos, existe la probabilidad de que el medicamento mejore la función de su riñón. Además, gracias a su participación altruista, su comunidad se puede beneficiar significativamente al encontrar métodos útiles y a bajo costo para mejorar la función de los riñones trasplantados que provengan de donantes fallecidos.

CONSIDERACIONES ECONÓMICAS

No se cobrará ninguna tarifa por participar en el estudio ni se le hará pago alguno.

COMPENSACION

En el caso de documentarse alguna reacción adversa desfavorable como resultado de su participación en este estudio, nosotros le proporcionaremos el tratamiento inmediato y lo referiremos, en caso de ameritarlo, al especialista médico que requiera. No contamos con presupuesto para financiar compensaciones por lesiones. El Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán no brinda ningún tipo adicional de compensación para cubrir el daño.

ALTERNATIVAS A SU PARTICIPACIÓN:

Su participación es voluntaria. Sin embargo, usted puede elegir no participar en el estudio.

POSIBLES PRODUCTOS COMERCIALES DERIVABLES DEL ESTUDIO:

No hay posibles productos comerciales derivables del estudio.

ACCIONES A SEGUIR DESPUÉS DEL TÉRMINO DEL ESTUDIO:

Usted puede solicitar los resultados de sus exámenes clínicos y de las conclusiones del estudio a la Dra. Carla Escorza del INCMNSZ (tel 5487 0900, ext 2148). La investigación

es un proceso largo y complejo. El obtener los resultados finales del proyecto puede tomar varios meses.

PARTICIPACIÓN Y RETIRO DEL ESTUDIO:

Su participación es VOLUNTARIA. Si usted decide no participar, no se afectará su relación con el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) o su derecho para recibir atención médica o cualquier servicio al que tenga derecho. Si decide participar, tiene la libertad para retirar su consentimiento e interrumpir su participación en cualquier momento sin perjudicar su atención en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ). Se le informará a tiempo si nueva información es obtenida que pueda afectar su decisión para continuar en el estudio.

El investigador del estudio puede excluirlo del estudio si la información obtenida a partir de sus muestras de sangre u orina no son confiables por razones atribuidas a errores técnicos.

El estudio puede ser terminado en forma prematura si la información preliminar obtenida sugiere algún riesgo potencial para los participantes.

El procedimiento que será necesario si usted termina su participación en el estudio es informar de manera verbal o escrita su decisión al equipo investigador.

CONFIDENCIALIDAD Y MANEJO DE SU INFORMACIÓN

Su nombre no será usado en ninguno de los estudios. Las muestras biológicas obtenidas no contendrán ninguna información personal y se codificará con un número de serie para evitar cualquier posibilidad de identificación. Por disposición legal las muestras biológicas, incluyendo la sangre, son catalogadas como residuos peligrosos biológico-infecciosos y por esta razón durante el curso de la investigación su muestra no podrá serle devuelta. Es posible que sus muestras biológicas, así como su información médica y/o genética puedan ser usadas para otros proyectos de investigación análogos relacionados con la enfermedad en estudio. No podrán ser usados para estudios de investigación que no estén relacionados con condiciones distintas a las estudiadas en este proyecto. Sus muestras podrán ser almacenadas por los investigadores hasta por cinco años.

Los códigos que identifican su muestra estarán solo disponibles a los investigadores titulares, quienes están obligados por Ley a no divulgar su identidad. Estos códigos serán guardados en un archivero con llave. Solo los investigadores tendrán acceso. Existe la posibilidad de que su privacidad sea afectada como resultado de su participación en el estudio. Su confidencialidad será protegida como lo marca la ley. Será mantenida asignando códigos a su información. El código es un número de identificación que no

incluye datos personales. Ninguna información sobre su persona será compartida con otros sin su autorización, excepto:

- Si es necesario para proteger sus derechos y bienestar (por ejemplo, si ha sufrido una lesión y requiere tratamiento de emergencia); o Es solicitado por la ley.

Monitores o auditores del estudio podrán tener acceso a la información de los participantes.

Si usted decide retirarse del estudio, podrá solicitar el retiro y destrucción de su material biológico y de su información. Todas las hojas de recolección de datos serán guardadas con las mismas medidas de confidencialidad, y solo los investigadores titulares tendrán acceso a los datos que tienen su nombre.

La Comisión de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición aprobaron la realización de éste estudio. Dicho comité es quien revisa, aprueban y supervisa los estudios de investigación en humanos en el Instituto. En el futuro, si identificamos información que consideremos importante para su salud, consultaremos con la Comisión de ética que supervisan este estudio para que decidamos la mejor forma de darle esta información a usted y a su médico. Además, le solicitamos que nos autorice recontactarlo, en caso de ser necesario, para solicitarle información que podría ser relevante para el desarrollo de este proyecto.

Los datos científicos obtenidos como parte de este estudio podrían ser utilizados en publicaciones o presentaciones médicas. Su nombre y otra información personal serán eliminados antes de usar los datos.

Si usted lo solicita su médico de cabecera será informado sobre su participación en el estudio

IDENTIFICACIÓN DE LOS INVESTIGADORES:

Si usted tiene preguntas sobre el estudio o piensa que ha sufrido un daño relacionado al estudio, por favor póngase en contacto con la Dra. Carla Escorza en el INCMNSZ (teléfono: 5487 0900 ext 2149).

Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el coordinador del Comité de Éticas en Investigación del INCMNSZ (Dr. Carlos A. Aguilar Salinas. Teléfono: 54870900 ext. 6101).

DECLARACIÓN DEL CONSENTIMIENTO INFORMADO

He leído con cuidado este consentimiento informado, he hecho todas las preguntas que he tenido y todas han sido respondidas satisfactoriamente. Para poder participar en el estudio, estoy de acuerdo con todos los siguientes puntos:

Estoy de acuerdo en participar en el estudio descrito anteriormente. Los objetivos generales, particulares del reclutamiento y los posibles daños e inconvenientes me han

sido explicados a mi entera satisfacción.

Estoy de acuerdo en donar de forma voluntaria mis muestras biológicas de sangre y orina para ser utilizadas en éste estudio. Así mismo, mi información médica y biológica podrá ser utilizada con los mismos fines.

Estoy de acuerdo, en caso de ser necesario, que se me contacte en el futuro si el proyecto requiere coleccionar información adicional o si encuentran información relevante para mi salud.

Mi firma también indica que he recibido un duplicado de este consentimiento informado.

Por favor responda las siguientes preguntas

| | SÍ (marque por favor) | NO (marque por favor) |
|---|--|--|
| a. ¿Ha leído y entendido la forma de consentimiento informado, en su lenguaje materno? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| b. ¿Ha tenido la oportunidad de hacer preguntas y de discutir este estudio? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| c. ¿Ha recibido usted respuestas satisfactorias a todas sus preguntas? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| d. ¿Ha recibido suficiente información acerca del estudio y ha tenido el tiempo suficiente para tomar la decisión? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| e. ¿Entiende usted que su participación es voluntaria y que es libre de suspender su participación en este estudio en cualquier momento sin tener que justificar su decisión y sin que esto afecte su atención médica o sin la pérdida de los beneficios a los que de otra forma tenga derecho? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| f. ¿Entiende los posibles riesgos, algunos de los cuales son aún desconocidos, de participar en este estudio? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| g. ¿Entiende que puede no recibir algún beneficio directo de participar en este estudio? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| h. ¿Ha discutido usted otras opciones de tratamiento con el médico participante en el estudio y entiende usted que otras opciones de tratamiento están a su disposición? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| i. ¿Entiende que no está renunciando a ninguno de sus derechos legales a los que es acreedor de otra forma como sujeto en un estudio de investigación? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |
| j. ¿Entiende que el médico participante en el estudio puede retirarlo del mismo sin su consentimiento, ya sea debido a que Usted no siguió los requerimientos del estudio o si el médico participante en el estudio considera que médicamente su retiro es en su mejor interés? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

- | | SÍ
(marque por favor) | NO
(marque por favor) |
|---|--|--|
| k. ¿Entiende que usted recibirá un original firmado y fechado de esta Forma de Consentimiento, para sus registros personales? | <input type="checkbox"/> | <input type="checkbox"/> |

Declaración del paciente: Yo,

_____ declaro que es mi decisión participar en el estudio. Mi participación es voluntaria. He sido informado que puedo negarme a participar o terminar mi participación en cualquier momento del estudio sin que sufra penalidad alguna o pérdida de beneficios. Si suspendo mi participación, recibiré el tratamiento médico habitual al que tengo derecho en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición, Salvador Zubirán (INCMNSZ) y no sufriré perjuicio en mi atención médica o en futuros estudios de investigación. Yo puedo solicitar información adicional acerca de los riesgos o beneficios potenciales derivados de mi participación en el estudio. Puedo obtener los resultados de mis exámenes clínicos si los solicito. Si usted tiene preguntas sobre el estudio, puede ponerse en contacto con la Dra. Carla Escorza al teléfono 5487 0900 ext. 2149. Si usted tiene preguntas acerca de sus derechos como participante en el estudio, puede hablar con el coordinador del Comité de Ética en Investigación del INCMNSZ (Dr. Carlos A. Aguilar Salinas. Teléfono: 54870900 ext. 6101). Debo informar a los investigadores de cualquier cambio en mi estado de salud (por ejemplo, uso de nuevos medicamentos, cambios en el consumo de tabaco) o en la ciudad donde resido, tan pronto como sea posible. He leído y entendido toda la información que me han dado sobre mi participación en el estudio. He tenido la oportunidad para discutirlo y hacer preguntas. Todas las preguntas han sido respondidas a mi satisfacción. He entendido que recibiré una copia firmada de este consentimiento informado.

| | | |
|-------------------------|------------------------|-------|
| _____ | _____ | _____ |
| Nombre del Participante | Firma del Participante | Fecha |

Coloque su huella digital si no sabe escribir

Nombre del representante legal Firma del representante legal Fecha
(si aplica)

Nombre del Investigador Firma del Investigador Fecha
que explicó el documento

Nombre del Testigo 1 Firma del Testigo 1 Fecha
Relación con el
participante: _____

Dirección: _____

Nombre del Testigo 2 Firma del Testigo 2 Fecha

Dirección: _____

Relación que guarda con el participante: _____

Lugar y Fecha: _____

Anexo 3 Hojas de recolección de datos de donantes y receptores

Proyecto TRA14-15

Hoja de recolección de datos

DONANTE #

| | | | | | |
|------------------------------------|----------------|----------------------------|----------------------------|--------------------------|---------------------|
| FECHA: | | HOSPITAL: | | | |
| FICHA DE IDENTIFICACIÓN | | | | | |
| | | | | | |
| APELLIDO | PATERNO | APELLIDO MATERNO | | NOMBRE(S) | |
| (años) | | F <input type="checkbox"/> | M <input type="checkbox"/> | IMC | (m ² SC) |
| EDAD | | GÉNERO | PESO | Kg | TALLA (mts) |
| | | | | | |
| CAUSA DE FALLECIMIENTO: | | | | | |
| 1. ENFERMEDAD CEREBROVASCULAR | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 2. TRAUMATISMO CRANEOENCEFÁLICO | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 3. INTOXICACIÓN | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 4. DAÑO CEREBRAL ANÓXICO-ISQUÉMICO | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 5. OTRO | | | | <input type="checkbox"/> | |
| COMORBILIDADES | | | | | |
| 0. NINGUNA | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 1. DIABETES MELLITUS | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 2. HIPERTENSIÓN ARTERIAL | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 3. DISLIPIDEMIA | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 4. SOBREPESO/OBESIDAD | | | | <input type="checkbox"/> | |

| | |
|---|--|
| 5. SEPSIS | <input type="checkbox"/> |
| 6. OTRA (ESPECIFICAR) | <input type="checkbox"/> |
| ¿REQUIRIÓ FÁRMACOS VASOACTIVOS EN LAS ÚLTIMAS 12 HORAS? SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> ¿CUÁL? | |
| 1. NOREPINEFRINA <input type="checkbox"/> | 2. ADRENALINA <input type="checkbox"/> |
| 3. DOPAMINA <input type="checkbox"/> | 4. DOBUTAMINA <input type="checkbox"/> |
| 5. VASOPRESINA <input type="checkbox"/> | 6. NITROPRUSIATO/NTG <input type="checkbox"/> |
| 7. OTRO <input type="checkbox"/> | |
| Observaciones: | |
| ¿REQUIRIÓ VASOPRESOR AL MOMENTO DEL PINZAMIENTO? SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> | |
| ESTUDIOS BIOQUÍMICOS (ÚLTIMOS DOCUMENTADOS): | |
| GLUCOSA | BUN |
| CREATININA | NA |
| K | CL |
| CO2 | |
| BT | BD |
| BI | ALB |
| AST | ALT |
| FA | |
| DIURESIS HORARIA: | |
| 1. UNA HORA PREVIA AL PINZAMIENTO: | |
| 2. DOS HORAS PREVIAS AL PINZAMIENTO: | |
| 2. SEIS HORAS PREVIAS AL PINZAMIENTO: | |
| 3. DOCE HORAS PREVIAS AL PINZAMIENTO: | |
| ¿REQUIRIÓ RCP EN LAS ÚLTIMAS 12 HORAS? SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> | |
| Depuración por MDRD: | ml/min |
| ¿Procuración de otros órganos? | SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> |
| ¿Por qué? | |
| OBSERVACIONES: | |

Proyecto TRA14-15

Hoja de recolección de datos

RECEPTOR #

DONANTE #

| | | |
|---|---|--|
| FECHA: | | |
| FICHA DE IDENTIFICACIÓN | | REGISTRO: |
| | | |
| APELLIDO PATERNO | APELLIDO MATERNO | NOMBRE(S) |
| EDAD (años) | SEXO F <input type="checkbox"/> M <input type="checkbox"/> | PESO Kg TALLA mts IMC |
| TABAQUISMO SÍ <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> | | TIEMPO EVOLUCIÓN IRC (meses) |
| | | |
| CAUSA DE FALLA RENAL: | | |
| 1. DIABETES MELLITUS | | <input type="checkbox"/> |
| 2. HIPERTENSIÓN ARTERIAL | | <input type="checkbox"/> |
| 3. LEG | | <input type="checkbox"/> |
| 4. ERPA | | <input type="checkbox"/> |
| 5. IDIOPÁTICA | | <input type="checkbox"/> |
| 6. OTRA (ESPECIFICAR) | | <input type="checkbox"/> |
| COMORBILIDADES | | |
| 1. DIABETES MELLITUS | | <input type="checkbox"/> |
| 2. HIPERTENSIÓN ARTERIAL | | <input type="checkbox"/> |
| 3. LEG | | <input type="checkbox"/> |
| 4. DISLIPIDEMIA | | <input type="checkbox"/> |
| 5. CARDIOPATÍA ISQUÉMICA | | <input type="checkbox"/> |
| 6. SOBREPESO/OBESIDAD | | <input type="checkbox"/> |
| 7. OTRA (ESPECIFICAR) | | <input type="checkbox"/> |

| | | | | | | | |
|--|-----|---|-------------------------------|---|------------|--|---------------------|
| VOLUMEN URINARIO RESIDUAL: | | | | | | | (ml/24hrs) |
| TERAPIA SUSTITUTIVA RENAL: | | | | | | | |
| 0.NINGUNA | | | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 1.DPCA | | | | | | <input type="checkbox"/> | |
| 2.HD | | | | | | <input type="checkbox"/> | |
| ÚLTIMA SESIÓN HACE: | | | | | | | (HRS) |
| ESTUDIOS BIOQUÍMICOS (PREVIOS AL PROCEDIMIENTO): | | | | | | | |
| GLUCOSA | | BUN | | | CREATININA | | |
| Na | K | Cl | CO2 | | Ca | P | Mg |
| BT | BD | BI | ALB | AST | ALT | FA | |
| Hb | Hto | Leu | Neu | | | | |
| EVOLUCIÓN TRANSOPERATORIA | | | | | | | |
| INMUNOSUPRESIÓN: | | | | | | | |
| Hora de pinzamiento: | | | Hora reperfusión: | | | | |
| TIEMPO ISQUEMIA FRÍA: | | | TIEMPO ISQUEMIA TIBIA: | | | | |
| ¿REQUIRIÓ FÁRMACOS VASOACTIVOS EN EL TRANSOPERATORIO? | | | | | | SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> | , ¿CUÁL? |
| 1.NOREPINEFRINA <input type="checkbox"/> | | 2. ADRENALINA <input type="checkbox"/> | | 3. DOPAMINA <input type="checkbox"/> | | | |
| 4.DOBUTAMINA <input type="checkbox"/> | | 5. VASOPRESINA <input type="checkbox"/> | | 6. NITROPRUSIATO/NTG <input type="checkbox"/> | | | |
| 7.EFEDRINA <input type="checkbox"/> | | 8.OTRO <input type="checkbox"/> | | | | | |
| TIEMPO DE ESTANCIA HOSPITALARIA: | | | | | | | |
| CREATININA SÉRICA: | | (0): | (7): | (15): | (30): | (60): | (90): |

| | | | | | | |
|---|---------|---------|---------|--|-------|-------|
| BUN: | (0): | (7): | (15): | (30): | (60): | (90): |
| ALBÚMINA: | (0): | (7): | (15): | (30): | (60): | (90): |
| BIOMARCADORES URINARIOS: | | | | | | |
| NGAL | (6HR) : | (12HR): | (24HR): | | | |
| HSP72 (6HR) : | (12HR): | (24HR): | | | | |
| H2O2 | (6HR) : | (12HR): | (24HR): | | | |
| MALONDIALDEHIDO SÉRICO (7° DÍA): | | | | | | |
| TFG: | (0): | (7): | (15): | (30): | (60): | (90): |
| TERAPIA SUSTITUTIVA RENAL A LOS 90 DÍAS: | | | | SI <input type="checkbox"/> NO <input type="checkbox"/> | | |

BIBLIOGRAFÍA

1. **Franco-Marina F, et al.** (2011) Una estimación indirecta de las desigualdades actuales y futuras en la frecuencia de la enfermedad renal crónica terminal en México *Salud Publica Mex* 53 suppl 4:S506-S515.
2. Fuente: <http://www.cenatra.salud.gob.mx>. (JUL/2012)
3. **Durán-Arenas L, et al.** (2011) Costos directos de la hemodiálisis en unidades públicas y privadas. *Salud Publica Mex* 53 suppl 4:S516-S524.
4. **Esquivel Molina CG, et al.** (2009) Calidad de vida y depresión en pacientes con insuficiencia renal crónica terminal en hemodiálisis. *Med Int Mex* 25(6):443-449.
5. **Ojo A, et al** (2001) Survival in Recipients of Marginal Cadaveric Donor Kidneys Compared with Other Recipients and Wait-Listed Transplant Candidates. *J Am Soc Nephrol* 12: 589–597
6. **Nakagawa K, Tang J.** (2011) Physiologic response of human brain death and the use of vasopressin for successful organ transplantation. *J Clin Anesth* 23: 145 - 148
7. **Novitzky D, et al.**(1987) Hemodynamic and metabolic responses to hormonal therapy in brain – dead potential organ donors. *Transplantation* 43 (6): 852 – 854
8. **Arumugam TV, Okun E, Tang S.**(2009) Toll-like receptors in ischemia-reperfusion injury. *SHOCK* 32 (1); 4 – 16.
9. **Jegatheeswaran S, Siriwardena AK.**(2011) Experimental and clinical evidence for modification of hepatic ischaemia–reperfusion injury by N-acetylcysteine during major liver surgery. *HPB* 13: 71–78
10. **Zafarullah M, Li WQ, Sylvester J, et al.** (2005) Molecular mechanisms of N-acetylcysteine actions. *Cell. Mol Life Sci* 60: 6–20.
11. **Prescott L.**(2005) Oral or intravenous n-acetylcysteine for acetaminophen poisoning? *Ann Emerg Med* 45:409-413
12. **Atkuri K, Mantovani JJ, Herzenberg LA.** (2007) N-acetylcysteine – a safe antidote for cysteine/glutathione deficiency. *Curr Opin Pharmacol* 7:355–359
13. **Fixl AN, Woods RM, Dervay K.** (2017) Intravenous N-Acetylcysteine for Acetaminophen Toxicity. *AACN Adv Crit Care* 28(4):305–310.
14. **Wang N, Qian P, Kumar S, Yan TD, Phan K.** (2016) The effect of N-acetylcysteine on the incidence of contrast-induced kidney injury: A systematic review and trial sequential analysis. *Int J Cardiol* 209:319–327.
15. **Fuller F., Serkova N., Nieman C, et al.** (2004) Influence of donor pretreatment with N-acetylcysteine on ischemia/reperfusion injury in rat kidney grafts. *J Urol* 171: 1296 – 1300
16. **Shimizu M., Danilovic A., Andrade L., et al.** (2008) N-acetylcysteine protects against renal injury following bilateral ureteral obstruction. *Nephrol Dial Transplant* 23: 3067 – 3073
17. **Danilovic A, Lucon AM, Srougi M, et al.**(2011) Protective effect of N-acetylcysteine on early outcomes of deceased renal transplantation. *Transplantation Proceedings* 43: 1443 – 1449
18. **Vanmassenhove J, Vanholder R, Nagler E, et al.** (2013) Urinary and serum biomarkers for the diagnosis of acute kidney injury: an in-depth review of the literature. *Nephrol Dial Transplant.* 28(2):254-73.

19. **Saabry A, El-Din AB, El-Hadidy AM, et al.** (2009) Markers of Tubular and Glomerular Injury in Predicting Acute Renal Injury Outcome in Thermal Burn Patients: A Prospective Study. *Renal Failure*, 31:6, 457-463,
20. **Parikh CR, Jani A, Mishra J, et al.** (2006) Urine NGAL and IL-18 are predictive biomarkers for delayed graft function following kidney transplantation. *Am J Transplant* 6: 1639 – 1645.
21. **Shoaib M. (2019).** Early Diagnosis Of Acute Kidney Injury By Urinary Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin In Adult Critically Ill Patients. *J Ayub Med Coll Abbottabad* 31(1):12-15.
22. **Li YM, Li Y, Yan L, et al.**(2019) Comparison of urine and blood NGAL for early prediction of delayed graft function in adult kidney transplant recipients: a meta-analysis of observational studies. *BMC Nephrol.* 20(1):291
23. **Morales-Buenrostro LE, Salas-Nolasco O, Barrera-Chimal J, et al.** (2014) Hsp72 Is a Novel Biomarker to Predict Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients. *PLoS ONE* 9(10): e109407.
24. **Barrera-Chimal J, Bobadilla N.** (2012) Are reported biomarkers helpful for early and accurate diagnosis of acute kidney injury? *Biomarkers* 17(5): 385 – 393.
25. **Ortega-Trejo JA, Pérez-Villalva R, Barrera-Chimal J, et al.**(2015) Heat shock protein 72 (Hsp72) specific induction and temporal stability in urine samples as a reliable biomarker of acute kidney injury (AKI). *Biomarkers* 20 (6-7):453-9
26. **Halliwell B, Clement MV, Long LH.** (2000) Hydrogen peroxide in the human body. *FEBS Lett.* 486(1):10-3
27. **Halliwell B, Long LH, Yee TP, et al.** (2004) Establishing biomarkers of oxidative stress: the measurement of hydrogen peroxide in human urine. *Curr Med Chem.* 11 (9):1085-92
28. **Orban JC, Quintard H, Cassuto E, et al.** (2015) Effect of N-Acetylcysteine Pretreatment of Deceased Organ Donors on Renal Allograft Function: A Randomized Controlled Trial. *Transplantation* 99: 746–753
29. **D’Amico F, Vitale A, Piovan D, et al.** (2013) Use of N-Acetylcysteine During Liver Procurement: A Prospective Randomized Controlled Study. *Liver Transpl* 19 (2): 135 – 144
30. **Kostopanagiotou G, Avgerinos ED, Markidou E, et al.** (2011) Protective effect of NAC preconditioning against ischemia-reperfusion injury in piglet small bowel transplantation: effects on plasma TNF, IL-8, hyaluronic acid, and NO. *J Surg Res.* 15;168(2):301-5
31. **Modarresi A, Nafar M, Sahraei Z, et al.** (2018) N-acetylcysteine decreases urinary level of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in deceased-donor renal transplant recipients: a randomized clinical trial. *Biomarkers* 23(6):589-596