



**VNiVERSIDAD  
D SALAMANCA**

**Estrategias frente a la nefrotoxicidad  
de los medios de contraste:  
diagnóstico temprano y prevención terapéutica**

Memoria presentada por María Teresa Hernández Sánchez para optar al  
Grado de Doctor por la Universidad de Salamanca, 2019.

Fdo. María Teresa Hernández Sánchez





VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA

## Programa de Doctorado “Fisiopatología y Farmacología”

LA DRA. DÑA. MARÍA ÁNGELES SERRANO GARCÍA, COORDINADORA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO FISIOPATOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

### CERTIFICA:

Que el presente trabajo, elaborado por la graduada en Farmacia María Teresa Hernández Sánchez para optar al Grado de Doctor, con el título **“Estrategias frente a la nefrotoxicidad de los medios de contraste: diagnóstico temprano y prevención terapéutica”**, ha sido realizado bajo la dirección de las Doctoras Dña. Ana Isabel Morales Martín y Dña. R. Laura Vicente Vicente, dentro del Programa de Doctorado Fisiopatología y Farmacología de la Universidad de Salamanca.

Y para que así conste, expide y firma el presente certificado en Salamanca, a 2 de julio de 2019.

Fdo.: Dra. Dña. María Ángeles Serrano García





VNiVERSiDAD  
D SALAMANCA

**Departamento de Fisiología y Farmacología  
Área de Toxicología**

LA DRA. DÑA. ANA ISABEL MORALES MARTÍN, TITULAR DE TOXICOLOGÍA; Y LA DRA. DÑA. R. LAURA VICENTE VICENTE, AYUDANTE DOCTOR DE TOXICOLOGÍA, AMBAS PERTENECIENTES AL DEPARTAMENTO DE FISIOLOGÍA Y FARMACOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SALAMANCA

**CERTIFICAN:**

Que el presente trabajo, elaborado por la graduada en Farmacia María Teresa Hernández Sánchez para optar al Grado de Doctor, con el título **“Estrategias frente a la nefrotoxicidad de los medios de contraste: diagnóstico temprano y prevención terapéutica”**, ha sido realizado bajo su dirección en el Área de Toxicología del Departamento de Fisiología y Farmacología de la Universidad de Salamanca, y consideran que cumple las condiciones necesarias, por lo que autorizan su presentación con el fin de que pueda ser defendido ante el tribunal correspondiente.

Y para que así conste, expiden y firman el presente certificado en Salamanca, a 2 de julio de 2019.

Fdo.: Dra. Dña. Ana Isabel Morales Martín

Fdo. Dra. Dña. R. Laura Vicente Vicente



Esta Tesis Doctoral ha sido financiada con las siguientes ayudas y proyectos de investigación:

- Ayudas para financiar contratos predoctorales de la Junta de Castilla y León (convocatoria del 2015) cofinanciadas por el Fondo Social Europeo de la Comisión.
- Proyecto de investigación “El diagnóstico precoz como estrategia en la reducción de la incidencia del fracaso renal agudo y mortalidad asociados al reemplazo valvular aórtico por vía percutánea”, financiado por la Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León (código BIO/SA66/15)
- Proyecto de investigación “Mejora del pronóstico en pacientes sometidos a reemplazo valvular aórtico percutáneo mediante la prevención de la nefrotoxicidad de los medios de contraste”, financiado por la Fundación Mutua Madrileña, IX Convocatoria de Ayudas a la Investigación.
- Proyecto de investigación “Eficacia y seguridad de la quercetina para la prevención de la nefrotoxicidad en pacientes sometidos a cateterismo cardiaco”, financiado por la Consejería de Sanidad de la Junta de Castilla y León (código GRS 685/A/11).
- Proyecto de investigación “Marcadores de diagnóstico precoz de nefropatía por contraste en los procedimientos percutáneos cardiovasculares”, financiado por la Fundación Samuel Solorzano (código FS/24-2017).





# *Índices*





<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1-43
1. NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES.....	3
1.1. MEDIOS DE CONTRASTE: ASPECTOS GENERALES .....	3
1.2. DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGIA DE LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES .....	10
1.3. PATOGÉNESIS DE LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES.....	11
1.3.1. Alteración hemodinámica.....	12
1.3.2. Estrés oxidativo.....	16
1.4. FACTORES DE RIESGO.....	20
1.4.1. Enfermedad renal previa .....	20
1.4.2. Diabetes mellitus .....	21
1.4.3. Hipertensión arterial.....	21
1.4.4. Edad .....	22
1.4.5. Hipercolesterolemia.....	22
1.4.6. Factores relacionados con el medio de contraste.....	23
1.4.7. Uso concomitante de otros fármacos.....	23
1.4.8. Reducción del volumen sanguíneo .....	24
1.4.9. Mieloma múltiple.....	24
2. NUEVAS PERSPECTIVAS FRENTE A LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES... 25	
2.1. DIAGNÓSTICO TEMPRANO.....	25
2.1.1. Biomarcadores de daño renal temprano.....	26
2.1.2. Biomarcadores de predisposición adquirida al daño renal .....	31
2.2. TERAPIAS PREVENTIVAS.....	35
2.2.1. Prevención de las alteraciones hemodinámicas.....	35
2.2.2. Prevención del estrés oxidativo.....	38
<b>OBJETIVOS</b> .....	45-47
<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	49-79
A. DIAGNÓSTICO TEMPRANO.....	51
1. MODELO PRECLÍNICO .....	51
1.1. CONSIDERACIONES LEGALES.....	51

1.2.	CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES Y CONDICIONES .....	52
1.3.	DISEÑO EXPERIMENTAL .....	52
1.3.1.	Administración de los tratamientos .....	53
1.3.2.	Recogida de muestras de orina y sangre.....	54
1.3.3.	Sacrificio y recogida de órganos .....	54
1.3.4.	Estado fisiológico de los animales .....	55
1.4.	EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL .....	55
1.4.1.	Creatinina plasmática y urinaria. Aclaramiento de creatinina.....	55
1.4.2.	Urea plasmática .....	56
1.4.3.	Excreción urinaria de proteínas.....	57
1.5.	ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO.....	57
1.6.	CUANTIFICACION DE BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO Y DE PREDISPOSICIÓN .....	58
1.6.1.	Excreción urinaria de N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa.....	58
1.6.2.	Excreción urinaria de lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos, de la molécula de daño renal 1 y de albúmina .....	59
1.6.3.	Excreción urinaria de transferrina, t-gelsolina y de la proteína activadora del gangliósido GM2.....	60
1.7.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS .....	63
2.	ESTUDIO CLÍNICO .....	64
2.1.	CONSIDERACIONES LEGALES .....	64
2.2.	DESCRIPCIÓN GENERAL .....	64
2.3.	PROTOCOLO Y DESARROLLO.....	65
2.3.1.	Reclutamiento de pacientes.....	65
2.3.2.	Recogida de datos .....	65
2.3.3.	Recogida de muestras de sangre y orina.....	66
2.3.4.	Distribución de los pacientes en los grupos de estudio .....	67
2.4.	CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO Y DE PREDISPOSICIÓN .....	67
2.4.1.	Concentración de creatinina urinaria.....	67
2.4.2.	Excreción urinaria de proteínas.....	68
2.4.3.	Excreción urinaria de N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa.....	68
2.4.4.	Excreción urinaria de lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos, de la molécula de daño renal 1 y de albúmina .....	68
2.4.5.	Excreción urinaria de transferrina, t-gelsolina y de la proteína activadora del gangliósido GM2.....	69

2.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	69
2.5.1.	Test de contraste entre los grupos de estudio .....	69
2.5.2.	Evaluación de la capacidad diagnóstica de los marcadores urinarios.....	70
B.	TERAPIA PREVENTIVA.....	72
1.	ENSAYO CLÍNICO .....	72
1.1.	CONSIDERACIONES LEGALES.....	72
1.2.	DESCRIPCIÓN GENERAL.....	73
1.3.	PROTOCOLO Y DESARROLLO .....	73
1.3.1.	Reclutamiento de pacientes .....	73
1.3.2.	Diseño experimental.....	74
1.3.3.	Recogida de datos.....	75
1.3.4.	Recogida de muestras.....	76
1.4.	ESTUDIO DE LA FUNCIÓN RENAL .....	77
1.4.1.	Cálculo de la tasa de filtración glomerular .....	77
1.4.2.	Excreción urinaria de proteínas y de N-acetil-β-D-glucosaminidasa.....	77
1.5.	ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS.....	78
1.5.1.	Test de contraste entre los grupos de estudio .....	78
1.5.2.	Cálculo del riesgo relativo.....	78
1.6.	SEGURIDAD DE LA QUERCETINA .....	79
	<b>RESULTADOS</b> .....	<b>81-129</b>
A.	DIAGNÓSTICO TEMPRANO.....	83
1.	MODELO PRECLÍNICO .....	83
1.1.	ESTADO FISIOLÓGICO DE LOS ANIMALES .....	83
1.2.	FUNCIÓN RENAL.....	84
1.3.	ESTUDIO HISTOLÓGICO .....	87
1.4.	CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO .....	90
1.5.	CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE PREDISPOSICIÓN .....	91
2.	ESTUDIO CLÍNICO.....	93

2.1.	RECLUTAMIENTO DE PACIENTES .....	93
2.2.	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES .....	96
2.2.1.	Variables descriptivas y antropométricas .....	96
2.2.2.	Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos.....	99
2.2.3.	Medio de contraste administrado.....	101
2.2.4.	Estancia hospitalaria.....	104
2.3.	PREDICCIÓN DE LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES MEDIANTE BIOMARCADORES URINARIOS .....	105
2.3.1.	Biomarcadores urinarios de daño renal temprano.....	105
2.3.2.	Biomarcadores urinarios de predisposición.....	108
2.4.	EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS BIOMARCADORES URINARIOS .....	113
B.	TERAPIA PREVENTIVA .....	119
1.	ENSAYO CLÍNICO.....	119
1.1.	RECLUTAMIENTO DE PACIENTES .....	119
1.2.	CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES .....	120
1.2.1.	Variables descriptivas y antropométricas .....	120
1.2.2.	Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos.....	121
1.2.3.	Medio de contraste administrado.....	123
1.2.4.	Estancia hospitalaria.....	124
1.3.	EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL.....	125
1.4.	CÁLCULO DEL RIESGO RELATIVO .....	128
1.5.	SEGURIDAD DE LA QUERCETINA.....	129
	<b><i>DISCUSIÓN</i></b> .....	<b>131-144</b>
	<b><i>CONCLUSIONES</i></b> .....	<b>145-147</b>
	<b><i>BIBLIOGRAFÍA</i></b> .....	<b>149-174</b>
	<b><i>ANEXOS</i></b> .....	<b>175-189</b>
	<b>ANEXO I</b> .....	<b>177</b>
	<b>ANEXO II</b> .....	<b>181</b>
	<b>ANEXO III</b> .....	<b>185</b>

<b>Figura 1.</b> Clasificación de los medios de contraste. ....	4
<b>Figura 2.</b> Estructura básica de los medios de contraste yodados.....	5
<b>Figura 3.</b> Proceso de apoptosis celular desencadenado por los medios de contraste. ....	18
<b>Figura 4.</b> Patogénesis de la nefropatía inducida por contrastes. ....	20
<b>Figura 5.</b> Evolución del daño renal, la tasa de filtración glomerular y la creatinina plasmática. ....	26
<b>Figura 6.</b> Etapas en el desarrollo del daño renal agudo cuando se administran varias dosis de un agente nefrotóxico a dosis subtóxicas. ....	32
<b>Figura 7.</b> Modelo de predisposición al daño renal inducido por Iohexol. ....	53
<b>Figura 8.</b> Esquema representativo de los ELISAs llevados a cabo. ....	60
<b>Figura 9.</b> Esquema representativo de los ELISAs de albúmina y transferrina llevados a cabo. ....	69
<b>Figura 10.</b> Curvas ROC y su capacidad diagnóstica. ....	71
<b>Figura 11.</b> Diseño experimental del ensayo clínico, administración de fármacos y recogida de muestras. ....	75
<b>Figura 12.</b> Evolución del peso corporal de los animales durante el experimento. ....	83
<b>Figura 13.</b> Evolución de la creatinina y urea plasmáticas en los diferentes grupos de estudio a lo largo del experimento. ....	85
<b>Figura 14.</b> Evolución del aclaramiento de creatinina y de la excreción urinaria de proteínas a lo largo del experimento. ....	86
<b>Figura 15.</b> Imágenes representativas de cortes histológicos y posterior tinción con hematoxilina-eosina de la región cortical renal. ....	88
<b>Figura 16.</b> Imágenes representativas de cortes histológicos y posterior tinción con hematoxilina-eosina de la región medular renal. ....	89
<b>Figura 17.</b> Excreción urinaria de los biomarcadores NAG, KIM-1 y NGAL el día basal y el día de predisposición (día 4) ....	90
<b>Figura 18.</b> Excreción urinaria de los biomarcadores albúmina, transferrina y GM2AP el día basal y el día de predisposición (día 4). ....	92
<b>Figura 19.</b> Diagrama de flujo en el que se representan las etapas de inclusión, exclusión y separación por grupos de los pacientes en estudio. ....	93
<b>Figura 20.</b> Creatinina plasmática en ambos grupos de estudio antes de recibir el medio de contraste (Basal), y en el momento en que la creatinina es más alta en los 5 días siguientes a la administración del medio de contraste (Post MC) ....	94
<b>Figura 21.</b> Diagrama de flujo en el que se representa la agrupación de los pacientes en función de su creatinina plasmática basal y el desarrollo o no de nefropatía inducida por contraste. ....	95

<b>Figura 22.</b> Creatinina plasmática en ambos grupos de estudio antes de recibir el medio de contraste (Basal), y en el momento en que la creatinina es más alta en los 5 días siguientes a la administración del medio de contraste (Post MC).....	96
<b>Figura 23.</b> Sexo y edad de los pacientes incluidos en el estudio clínico. ....	97
<b>Figura 24.</b> Datos antropométricos de los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. ....	98
<b>Figura 25.</b> Datos sobre el tipo y volumen de medio de contraste administrado a los pacientes en cada grupo de estudio.....	102
<b>Figura 26.</b> Proteinuria en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.....	105
<b>Figura 27.</b> Excreción urinaria de NAG en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. ....	106
<b>Figura 28.</b> Excreción urinaria de KIM-1 en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. ....	107
<b>Figura 29.</b> Excreción urinaria de NGAL en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. ....	107
<b>Figura 30.</b> Excreción urinaria de GM2AP en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. ....	109
<b>Figura 31.</b> Albuminuria en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.....	110
<b>Figura 32.</b> Excreción urinaria de transferrina en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. ....	111
<b>Figura 33.</b> Excreción urinaria de t-gelsolina en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.. ....	112
<b>Figura 34.</b> Curvas ROC de los biomarcadores de predisposición albúmina, transferrina, t-gelsolina y GM2AP en el conjunto total de la población estudiada. ....	114
<b>Figura 35.</b> Curva ROC del biomarcador de predisposición albúmina en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal normal. ....	115
<b>Figura 36.</b> Curvas ROC de los biomarcadores de predisposición albúmina, transferrina, t-gelsolina y GM2AP en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal elevado.....	117
<b>Figura 37.</b> Diagrama de flujo en el que se representan las etapas de inclusión, exclusión y separación por grupos de los pacientes en el ensayo. ....	119
<b>Figura 38.</b> Sexo y edad de los pacientes incluidos en el ensayo clínico. ....	120
<b>Figura 39.</b> Datos antropométricos de los pacientes incluidos en cada grupo del ensayo. ....	121
<b>Figura 40.</b> Datos sobre el tipo y volumen de medio de contraste administrado a los pacientes incluidos en cada grupo del ensayo. ....	124



<b>Figura 41.</b> Tiempo de estancia hospitalaria y porcentaje de fallecidos en cada uno de los grupos del estudio. ....	125
<b>Figura 42.</b> Función renal basal en ambos grupos del ensayo. ....	126
<b>Figura 43.</b> Variación de los parámetros de funcionalidad renal tras la administración del medio de contraste en ambos grupos del ensayo. ....	127
<b>Figura 44.</b> Incidencia de la nefropatía inducida por contraste en ambos grupos del ensayo. ....	128



<b>Tabla 1.</b> Propiedades fisicoquímicas de algunos medios de contraste yodados.....	6
<b>Tabla 2.</b> Definición de la nefropatía inducida por contrastes según los criterios AKIN, KDIGO y RIFLE.....	10
<b>Tabla 3.</b> Relación de anticuerpos primarios utilizados en los western blot, con sus correspondientes anticuerpos secundarios y condiciones de incubación. ....	62
<b>Tabla 4.</b> Datos recogidos a partir de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el estudio clínico.....	66
<b>Tabla 5.</b> Datos recogidos a partir de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el ensayo clínico. ....	76
<b>Tabla 6.</b> Datos relativos a las variables descriptivas y antropométricas de los pacientes incluidos en cada grupo de estudio, tras dividirlos en base a su función renal .....	98
<b>Tabla 7.</b> Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos de los pacientes pertenecientes a cada uno de los grupos de estudio.....	99
<b>Tabla 8.</b> Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos de los pacientes pertenecientes a cada uno de los grupos de estudio tras dividirlos en base a su función renal.....	101
<b>Tabla 9.</b> Datos sobre el tipo y volumen de medio de contraste administrado a los pacientes en cada una de las subpoblaciones estudiadas.....	103
<b>Tabla 10.</b> Tiempo de estancia hospitalaria y porcentaje de fallecidos en cada grupo del estudio.....	104
<b>Tabla 11.</b> Tiempo de estancia hospitalaria y porcentaje de fallecidos en cada una de las subpoblaciones estudiadas.....	104
<b>Tabla 12.</b> Valores de las áreas bajo las curvas ROC y su significación estadística de cada uno de los biomarcadores urinarios, en el conjunto total de la población estudiada.....	113
<b>Tabla 13.</b> Valores de las áreas bajo las curvas ROC y su significación estadística de cada uno de los biomarcadores urinarios, en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal normal. ....	115
<b>Tabla 9.</b> Valores de las áreas bajo las curvas ROC y su significación estadística de cada uno de los biomarcadores urinarios, en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal elevado. ....	116
<b>Tabla 15.</b> Tabla resumen de la capacidad predictiva de la nefropatía inducida por contrastes en cada una de las poblaciones estudiadas.....	118
<b>Tabla 16.</b> Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos de los pacientes pertenecientes a cada uno de los grupos del ensayo. ....	122
<b>Tabla 17.</b> Valores del riesgo relativo de sufrir nefropatía inducida por contrastes de cada factor de riesgo.....	129

**Tabla 18.** Porcentaje de pacientes que presentan cada uno de los efectos adversos preguntados..... 129

- AAS: ácido acetil salicílico
- ABC: área bajo la curva
- AINE: antiinflamatorio no esteroideo
- Apaf-1: factor 1 activador de la proteasa de apoptosis
- ARA: antagonista de los receptores de angiotensina II
- BSA: albúmina sérica bovina
- CAUSA: Complejo Asistencial Universitario de Salamanca
- Cl<sub>cr</sub>: aclaramiento de creatinina
- Crpl: creatinina plasmática
- CrN: creatinina plasmática basal normal
- CrE: creatinina plasmática basal elevada
- d: día
- DRA: daño renal agudo
- EEM: error estándar de la media
- ELISA: ensayo por inmunoabsorción asociado a enzimas
- ERK: quinasas extracelulares reguladas por señales
- FABP: proteínas transportadoras de ácidos grasos
- G<sub>exp</sub>: G de Grubbs experimental
- GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2
- HRP: peroxidasa de rábano picante
- HTA: hipertensión arterial
- IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina
- i.v.: intravenoso
- I: Iohexol
- IL-18: interleuquina-18
- IMC: índice de masa corporal
- JNK: quinasas N-terminales c-Jun
- KIM-1: molécula de daño renal 1
- L-NAME: N $\omega$ -nitro-L-arginina metil éster

## Índice de abreviaturas

---

MAPK: proteínas quinasas activadas por mitógenos

MC: medio de contraste

NAG: N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa

NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos

NIC: nefropatía inducida por contrastes

NO: óxido nítrico

PAF: factor activador de plaquetas

p.o.: vía oral

PGE2: prostaglandina E2

Q: quercetina

ROS: especies reactivas de oxígeno

RR: riesgo relativo

TAC: tomografía axial computarizada

TFG: tasa de filtración glomerular

TMB: 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina

UA: unidades arbitrarias

# *Introducción*







## 1. NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES

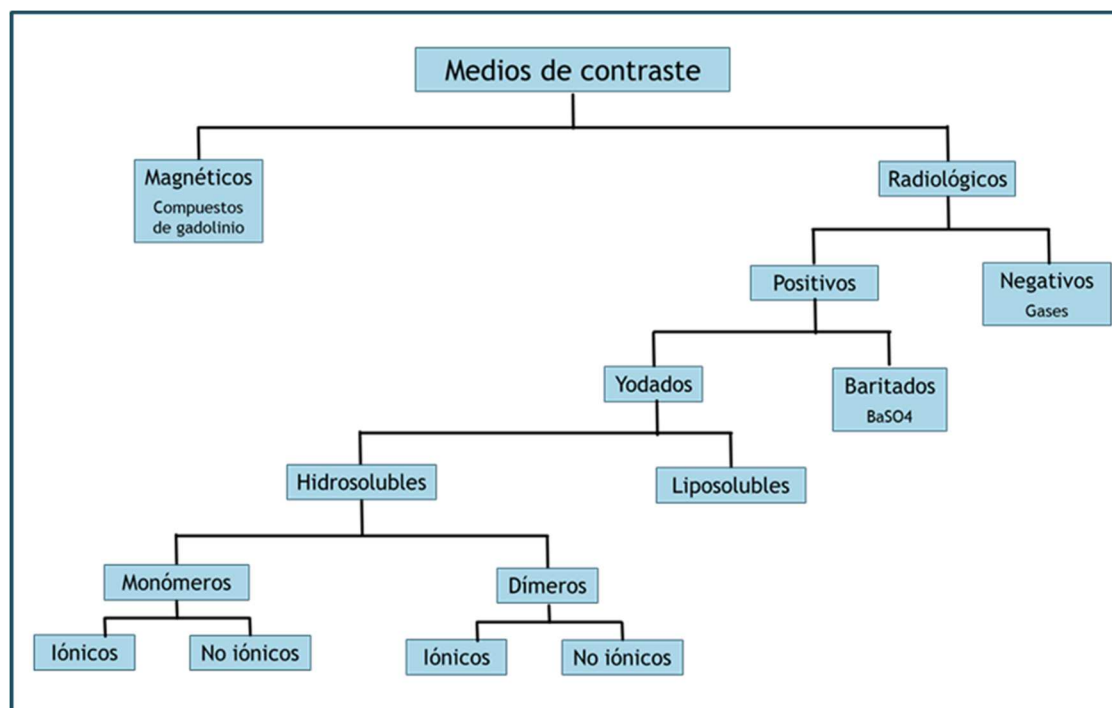
La nefropatía inducida por contrastes (NIC) o daño renal agudo inducido por contrastes es un deterioro iatrogénico de la función renal debido a la administración intravascular de medios de contraste. Es uno de los problemas más importantes ligados al uso de los contrastes yodados y condiciona el uso de los mismos.

### 1.1. MEDIOS DE CONTRASTE: ASPECTOS GENERALES

Los medios de contraste son un grupo de medicamentos utilizados para mejorar la visualización de determinadas estructuras anatómicas y órganos, diferenciar los tejidos patológicos de los sanos y delinear mejor las estructuras vasculares mediante técnicas de imagen. Se pueden distinguir dos tipos de medios de contraste, los magnéticos, que son utilizados en exámenes por resonancia magnética, y los radiológicos, utilizados en exámenes por rayos X o tomografía axial computarizada (TAC). Los magnéticos son compuestos de gadolinio, iones que afectan a las propiedades magnéticas de los tejidos circundantes (Sartori et al., 2013). Los radiológicos, en cambio, permiten la visualización por su capacidad de absorber la radiación con mayor o menor intensidad que los tejidos blandos (Andreucci et al., 2014; Ozkok y Ozkok, 2017).

Con respecto a los medios de contraste radiológicos, en función de su capacidad para absorber la radiación, se pueden distinguir contrastes negativos y positivos. En el caso de los negativos, estos son gases de baja densidad cuya absorbanza es inferior a la de los tejidos adyacentes. Los medios de contraste positivos, en cambio, contienen átomos con un alto número atómico (bario o yodo) y presentan una absorbanza mayor que los tejidos (**Figura 1**). Actualmente, en la práctica clínica se utilizan principalmente el sulfato de bario para el diagnóstico de patologías que afectan al tracto gastrointestinal y los contrastes yodados hidrosolubles para la evaluación del sistema vascular o de los diferentes órganos (Speck, 2018).

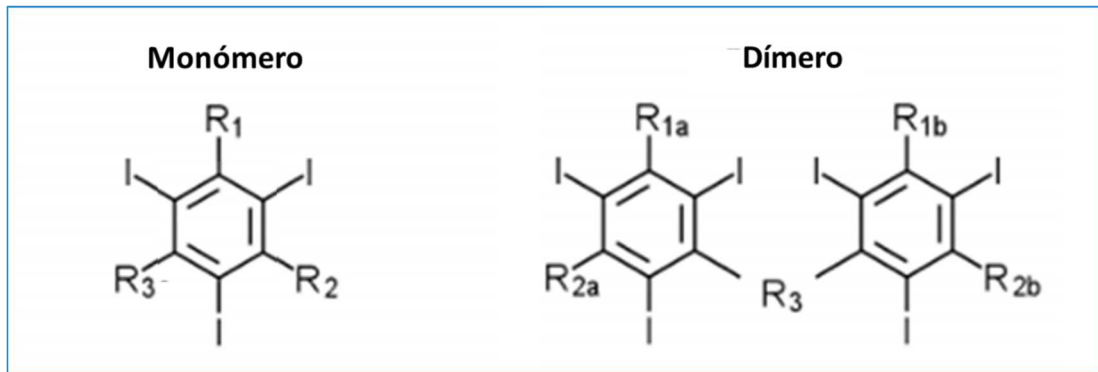
Estos últimos, los contrastes yodados hidrosolubles, son los causantes de la NIC, objeto de estudio de esta Tesis Doctoral, y a los cuales nos referiremos en el resto del documento.



**Figura 1.** Clasificación de los medios de contraste.

Los contrastes yodados más comúnmente utilizados tienen como estructura básica el 2,4,6-triyodo benceno. En función del número de anillos bencénicos que conformen su estructura, se pueden clasificar en monómeros (un anillo) o dímeros (dos anillos) (**Figura 2**). Los radicales o cadenas laterales que se sitúan en las otras tres posiciones determinarán las propiedades fisicoquímicas y farmacocinéticas del compuesto (Geenen et al., 2013). Influirán, por ejemplo, en su modo de disociarse en iones al disolverse en agua, lo que determinará que el compuesto sea iónico o no iónico (Thomsen et al., 2014). Los compuestos iónicos son sales que, en contacto con una solución acuosa como es el caso del plasma, se disocian en un anión, el cual contiene el yodo, y un catión, que suele ser meglumina o sodio. Las cargas que se producen son potencialmente dañinas, pudiendo afectar a la actividad eléctrica del corazón o del cerebro, o bien interactuar con péptidos o membranas celulares. Por ese motivo, en la actualidad se calcula que, aproximadamente el 90 % de los medios de contraste

utilizados son no iónicos, es decir, no se disocian en agua (Costa, 2004; Lusic y Grinstaff, 2013).



**Figura 2.** Estructura básica de los medios de contraste yodados. El anillo de benceno es sustituido en las posiciones 2, 4 y 6 con átomos de yodo. En el caso de los dímeros, la unión de los dos anillos se hace a través de un radical en la posición 3.

Otro aspecto que afecta a la aparición de efectos adversos de los contrastes yodados es la osmolalidad, medida que se refiere al número de partículas osmóticamente activas por cada kilogramo de agua. Esta suele confundirse con la osmolaridad (número de partículas osmóticamente activas por cada litro de solución), aunque en el caso del plasma o la orina ambas medidas son comparables (Ramírez Ribelles et al., 2014). El término que se utiliza principalmente para referirse a los medios de contraste es la osmolaridad.

Los primeros contrastes yodados que surgieron fueron los monómeros iónicos, con una osmolaridad de entre 1200 y 2400 mOsm/L agua, denominándose por ello hiperosmolares, ya que la osmolaridad del plasma humano es de 280 mOsm/L agua. Este tipo de contrastes presentaban muchos inconvenientes, ya que, debido a su alta osmolaridad, los pacientes podían sufrir daño endotelial, alteración de la barrera hematoencefálica o dolor durante la administración (Lusic y Grinstaff, 2013; Speck, 2018). Posteriormente surgieron los contrastes de baja osmolaridad, con una osmolaridad 2-3 veces inferior a los hiperosmolares, en su mayoría compuestos no iónicos monoméricos. Estos agentes supusieron una gran mejora, aunque la osmolaridad aún seguía siendo muy superior a la del plasma (Tumlin et al., 2006). Por ello, en un nuevo avance aparecieron diversos compuestos cuya osmolaridad era igual a la del plasma, aunque actualmente el único que se encuentra comercializado

es el Iodixanol, agente no iónico dimérico (Costa, 2004). Esto puede ser debido a que, a pesar de las ventajas que presenta la disminución de la osmolaridad, en contrapartida este hecho afecta a la viscosidad, que se ve incrementada. La viscosidad se define como la resistencia de un líquido a fluir y determina la velocidad de infusión, necesiéndose periodos más largos de administración cuanto mayor sea la viscosidad y afectando a la microcirculación (Geenen et al., 2013; Speck, 2018). En la **Tabla 1** se recogen las propiedades de algunos de los medios de contraste actualmente comercializados.

Medio de contraste	Estructura	Carga	Osmolaridad (mOsm/L agua)	Viscosidad (mPa·s)
<b>Amidotrizoato</b>	Monómero	Iónico	1550	4
<b>Iopamidol</b>	Monómero	No iónico	650	4,5
<b>Ioversol</b>	Monómero	No iónico	661	5,5
<b>Iohexol</b>	Monómero	No iónico	668	5,7
<b>Iopromida</b>	Monómero	No iónico	585	4,5
<b>Iodixanol</b>	Dímero	No iónico	290	11,8

**Tabla 1.** Propiedades fisicoquímicas de algunos medios de contraste yodados. Los valores están referidos a una concentración de 300 mg de yodo/mL y una temperatura de 37 °C. Adaptado de Speck, 2018.

### PROPIEDADES FARMACOCINÉTICAS

Tras la administración intravascular de los medios de contraste yodados, estos se distribuyen al espacio extracelular, por lo que disminuye rápidamente su concentración plasmática (Geenen et al., 2013). La unión a proteínas plasmáticas de estos compuestos es muy baja, inferior al 3 %, salvo en los compuestos utilizados para la realización de colangiografías, como el Iotroxato de meglumina, en que la unión a las proteínas es superior al 90 %, lo que favorece la eliminación por bilis (Speck, 2018). Los contrastes no son metabolizados, y se eliminan mayoritariamente por vía renal mediante filtración glomerular (Lorusso et al., 2001; Waaler et al., 1987), aunque un pequeño porcentaje puede eliminarse por vía fecal (Svaland et al., 1992). La semivida de eliminación es de aproximadamente 2 horas, por lo que, en pacientes cuya función renal es normal, a las 24 horas ha sido eliminado todo el agente. En

cambio, si existe alteración renal, el tiempo de eliminación puede aumentar hasta las 40 horas o más. Este tiempo depende también de las propiedades fisicoquímicas del medio de contraste. Así, los de baja osmolaridad se excretan más rápidamente, probablemente debido a que presentan una menor viscosidad (Lenhard et al., 2012).

### EFFECTOS ADVERSOS

Los medios de contraste yodados son los fármacos de administración intravascular más utilizados y los que más se emplean en radiología de diagnóstico (Namasivayam et al., 2006; Pérez y Barceló, 2007). Además, su uso ha aumentado durante las últimas décadas debido al incremento en las prescripciones diagnósticas como el TAC o los cateterismos cardiacos y vasculares. Así, en Estados Unidos el número de TAC pasó de 3 millones a principios de los años 80 a 67 millones en el año 2006, y se estima que en la mitad de ellos se usan este tipo de compuestos. En ese mismo año, el número de cateterismos cardiacos y vasculares con fines diagnósticos o intervencionistas fue de unos 8 millones (Mettler et al., 2009). Debido a esta tendencia, es importante el conocimiento de las posibles reacciones adversas y su manejo.

Los efectos adversos son los mismos para todos los medios de contraste independientemente de su osmolaridad, aunque varía la incidencia de los mismos. Así, en el caso de los medios de contraste cuya osmolaridad es alta, la incidencia es de entre el 5-12 %, mientras que en los de baja osmolaridad la incidencia se sitúa en el 1-3 %. (Singh y Daftary, 2008). La causa de la mayoría de las reacciones adversas es multifactorial, y su severidad se considera leve o moderada (Costa, 2004).

Las reacciones adversas podrían clasificarse como reacciones adversas generales y reacciones adversas renales.

### Reacciones adversas generales

#### Reacciones de hipersensibilidad

Las reacciones de hipersensibilidad se clasifican en agudas, las cuales ocurren durante la primera hora tras la administración del medio de contraste, y retardadas, que pueden aparecer hasta una semana después.

- Reacciones adversas agudas: la incidencia varía en función de la gravedad, siendo de hasta un 15 % si son leves y disminuyendo hasta un 0,2 % en el caso de las severas (Namasivayam et al., 2006). Además, estas reacciones son más comunes con los contrastes yodados iónicos que con los no iónicos, y si hay factores de riesgo como haber sufrido previamente una reacción de este tipo o presentar un historial de asma, alergias o atopia. Los síntomas que suelen aparecer son, dolor en el lugar de inyección, erupción cutánea, prurito, náuseas y vómitos. En los casos más severos además aparece disnea, broncoespasmo o edema laríngeo. El mecanismo por el que se producen estos síntomas se describe como pseudoalérgico, pues no todos están causados por inmunoglobulina E, e implican la liberación principalmente de histamina, pero también de otros mediadores como serotonina o prostaglandinas (Pasternak y Williamson, 2012; Speck, 2018).
- Reacciones adversas retardadas: la incidencia de este tipo de reacciones varía entre el 1-23 %, siendo más comunes que las agudas. Los síntomas que se describen con mayor frecuencia son erupción cutánea, prurito e hinchazón de la piel, que pueden estar acompañadas de dolor de cabeza, trastornos gastrointestinales y síntomas de tipo gripal (Andreucci et al., 2014c; Stacul, 2006). Los síntomas cutáneos pueden ser tratados con corticosteroides. La aparición del Síndrome de Stevens-Johnson, afección grave de la piel y las mucosas en que la epidermis se separa de la dermis, es muy rara, aunque se han registrado algunos casos en personas con otros factores de riesgo (Laffitte et al., 2004; Savill et al., 1988). Se cree que el

mecanismo implicado en estas reacciones esta mediado por células T, correspondiente con hipersensibilidad de tipo IV.

### Disfunción tiroidea

Los contrastes yodados pueden inducir tanto hipo como hipertiroidismo, debido a los iones de yodo libres y biológicamente activos que contiene la preparación. De manera general, tras la exposición a una alta cantidad de yoduro se produce el efecto Wolf-Chaikoff, consistente en una disminución de la síntesis de hormona tiroidea. Tras varios días este efecto deja de ser efectivo, lo que se conoce como “escape”, y se reanuda la función normal de síntesis. Si este “escape” falla se producirá hipotiroidismo y si lo que falla es el efecto Wolf-Chaikoff, se produce hipertiroidismo inducido por yodo, lo cual se conoce como fenómeno Joe-Basedow (Lee et al., 2015). Este fenómeno raramente aparece como consecuencia de la administración de un medio de contraste, salvo en aquellos pacientes con factores de riesgo como puede ser la enfermedad de Graves o el bocio. También se ha visto una mayor frecuencia de aparición de hipertiroidismo en personas ancianas (Thomsen et al., 2004).

### Extravasación

La incidencia de este fenómeno es inferior al 1 % (Heshmatzadeh Behzadi et al., 2018), y la mayoría de los casos son leves, cursando con dolor, hinchazón y eritema, que son autolimitados y cuyo tratamiento se basa en aplicar frío. Si el volumen extravasado es alto, las consecuencias pueden ser más graves, tales como necrosis tisular o síndrome compartimental, que podrían necesitar cirugía plástica (Nicola et al., 2016).

### Reacciones adversas renales

La NIC es el principal efecto adverso originado tras la administración de los medios de contraste yodados. Sus consecuencias a corto y largo plazo pueden ser muy relevantes, por lo que se dedicará un apartado específico a su explicación.

### 1.2.DEFINICIÓN Y EPIDEMIOLOGIA DE LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES

La Sociedad Europea de Radiología Urogenital define la NIC como un aumento en la creatinina plasmática  $\geq 0,5$  mg/dL ( $44,2$   $\mu\text{mol/L}$ ), o un incremento  $\geq 25$  % respecto a la creatinina basal a las 48-72 horas tras la exposición al contraste, cuando otras explicaciones para el deterioro renal han sido descartadas (Mehran y Nikolsky, 2006). Esta creatinina alcanza su valor máximo a los 3-5 días y regresa a niveles basales pasadas 1-3 semanas (Chalikias et al., 2016). Esta es la definición más aceptada en la clínica, aunque existen guías o ensayos clínicos que establecen otras ligeramente distintas (**Tabla 2**).

Criterio	Definición
<b>AKIN</b>	$\uparrow \text{Cr}_{\text{pl}} \geq 0,3$ mg/dL o $\geq 50$ % u oliguria
<b>KDIGO</b>	$\uparrow \text{Cr}_{\text{pl}} \geq 0,3$ mg/dL o 1,5-1,9 veces basal u oliguria
<b>RIFLE</b>	$\uparrow \text{Cr}_{\text{pl}} > 0,5$ mg/dL o $\downarrow \text{TFG} > 25$ % u oliguria

**Tabla 2.** Definición de la nefropatía inducida por contrastes según los criterios AKIN (Acute Kidney Injury Network), KDIGO (Kidney Disease Improving Global Outcomes) y RIFLE (Risk–Injury–Failure–Loss–Endstage renal disease).

*Cr<sub>pl</sub>: creatinina plasmática, TFG: tasa de filtración glomerular.*

*Adaptado de Chalikias et al., 2016.*

La NIC es la tercera causa de daño renal agudo (DRA) adquirido en los hospitales, siendo aproximadamente un 11 % del total de los casos, por detrás de la alteración de la perfusión renal y del uso de medicamentos nefrotóxicos (Nash et al., 2002). De esos casos, la mitad de ellos se producen en pacientes sometidos a cateterismo cardiaco o intervenciones coronarias percutáneas, por ejemplo, angioplastias (Azzalini et al., 2016). Tras un procedimiento de este tipo, la incidencia de la NIC varía entre un 3 %, en pacientes con una función renal basal normal, y un 40 % en pacientes que sufren insuficiencia renal crónica (Ozkok y Ozkok, 2017). Los pacientes que desarrollan NIC tienen una peor evolución clínica y presentan una mayor frecuencia de efectos adversos, prolongándose el tiempo de estancia hospitalaria o incluso siendo necesario el ingreso en unidades de cuidados intensivos. La proporción



de pacientes en los que es necesaria diálisis es baja (inferior al 1 %), pero tiene un gran impacto en el pronóstico, con altas tasas de mortalidad tanto hospitalaria como durante el primer año tras haber sufrido la NIC (McCullough, 2008a).

Además de las consecuencias médicas, también los gastos económicos derivados son reseñables. El mayor tiempo de estancia hospitalaria de los pacientes que desarrollan NIC hace que se incremente el gasto sanitario en unos 12.000 euros en comparación con los pacientes que no desarrollan NIC. Si además durante la estancia es necesaria terapia de remplazo renal, ese presupuesto aumenta en 15.000 euros (Aubry et al., 2016). Corroborando estos datos, el estudio de Subramanian et al. (2007) concluyó que si el tiempo que requerían diálisis se alargaba, el coste de ese procedimiento era de 72.189 dólares al año.

A pesar de que la incidencia ha disminuido en los últimos años, pasando de aproximadamente el 15 % de los pacientes al 7 % (McCullough, 2008b), el número absoluto de pacientes que padecen NIC no se ha reducido. Esto es así debido al aumento en el número de procedimientos intervencionistas en los que se administran contrastes yodados, tanto en modalidades no cardíacas como en las cardíacas, tales como la angiografía vascular o la implantación transcatóter de válvula aórtica respectivamente. Así, el número de pacientes expuestos a medios de contraste ha incrementado significativamente, y por tanto, el número en riesgo de NIC (Rear et al., 2016).

### 1.3. PATOGÉNESIS DE LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES

Los medios de contraste yodados originan daño renal por varias rutas. Los mecanismos causantes incluyen una alteración de la hemodinámica renal debido a un desbalance entre mediadores vasoconstrictores y vasodilatadores; originándose como consecuencia isquemia renal. Además, también se encuentra implicado el estrés oxidativo, que afecta a la viabilidad celular y agrava la situación de hipoxia. Todos estos mecanismos actúan de manera simultánea, aunque alguno puede cobrar mayor importancia dependiendo del medio de contraste utilizado.

### 1.3.1. Alteración hemodinámica

La administración de los medios de contraste origina una respuesta hemodinámica bifásica. Los primeros estudios, llevados a cabo en modelos caninos, mostraron que tras la infusión del contraste, inicialmente se producía una vasodilatación, y como consecuencia, un aumento en el flujo sanguíneo renal. Posteriormente se producía un descenso prolongado del flujo, de hasta 3 horas, debido a la vasoconstricción de la vasculatura renal (Tumlin et al., 2006). En humanos se ha visto que el flujo renal se reduce hasta en un 50 % y ese efecto se prolonga durante 4 horas (Wong et al., 2012). Esta respuesta bifásica es única para el riñón, pues en el resto de órganos los medios de contraste inducen únicamente vasodilatación (Berg, 2000).

La disminución en el flujo renal no es uniforme, afectando principalmente a la médula renal. Los vasos que proveen de sangre a la médula renal derivan de la arteriola eferente, y al llegar a la unión corticomedular surge una red de capilares peritubulares denominados *vasa recta* descendente. Estos vasos están formados por células endoteliales y tienen la característica de estar rodeados por pericitos, células musculares que controlan el flujo sanguíneo mediante la contracción del vaso (Pallone et al., 2003). Se ha demostrado que el Iodixanol es capaz de disminuir el diámetro de la *vasa recta* descendente alrededor de un 50 % respecto a su valor inicial, que es de 12–18  $\mu\text{m}$ , tanto en ratas como en humanos (Sendeski et al., 2012). Teniendo en cuenta que el diámetro de los eritrocitos es de 8  $\mu\text{m}$ , dicha constricción podría detener el flujo sanguíneo hacia la médula (Sendeski et al., 2009a), lo cual provocaría una hipoxia renal, pudiendo disminuir el aporte de oxígeno un 50-67 % (Heyman et al., 2008). A este efecto contribuyen las propiedades fisicoquímicas de los medios de contraste. Así, a medida que el medio de contraste se va desplazando a través de la médula se concentra cada vez más, incrementando por tanto la viscosidad y disminuyendo el flujo tanto tubular como sanguíneo, y como consecuencia el aporte de oxígeno (Seeliger et al., 2012). Otros estudios corroboran esta teoría, al haberse comprobado la reducción de la velocidad de los glóbulos rojos y el aumento de la agregación de los mismos en la *vasa recta* descendente (Liss et al., 1996). Por tanto, la viscosidad del contraste influirá de manera significativa en la hipoxia medular, siendo mayor cuanto más viscosidad presente el medio de contraste

(Persson et al., 2005). Aunque la médula tiene mayor susceptibilidad a la hipoperfusión, en la corteza renal también se puede ver reducción del flujo sanguíneo tras administrar un contraste yodado (Sendeski et al., 2012).

La vasoconstricción se produce como consecuencia de la activación de mecanismos vasoconstrictores y la supresión de mecanismos vasodilatadores (Caiazza et al., 2014). Entre las sustancias vasoconstrictoras que aumentan su actividad se encuentran la angiotensina II, la endotelina o la adenosina; y entre las sustancias vasodilatadoras cuya actividad disminuye se encuentran el óxido nítrico (NO) y las prostaglandinas (Goldenberg, 2005).

### Mediadores de la vasoconstricción

#### Endotelina

La endotelina es un péptido endógeno con actividad vasoconstrictora que ejerce sus efectos, entre otras, en la vasculatura renal. En estudios con animales se ha observado que, durante y tras la administración de un medio de contraste, los niveles tanto plasmáticos como urinarios de endotelina aumentan. Esto se evidenció en un estudio preclínico, en el que diversos contrastes yodados provocaron un aumento de esta sustancia en el plasma pasados solo 15 minutos tras su administración. Este aumento no se correlacionó con las propiedades fisicoquímicas del medio de contraste, pues se administraron contrastes con osmolaridades variadas, no habiendo diferencias. Además, el manitol, cuya carga osmótica es elevada, no provocó cambios en el nivel de endotelina (Heyman et al., 1992).

Los efectos de la endotelina dependen de a qué receptor se una. Se han identificado dos receptores de endotelina que median sus efectos vasculares, ET<sub>A</sub> y ET<sub>B</sub>. Se ha postulado que, los receptores ET<sub>A</sub>, localizados principalmente en las células musculares vasculares, son responsables de los efectos vasoconstrictores, mientras que los receptores ET<sub>B</sub>, localizados en el endotelio vascular, median los efectos vasodilatadores transitorios de endotelina a través de la liberación de NO (Seo et al., 1994). Existen estudios en los que, tras la administración de bloqueadores selectivos del receptor ET<sub>A</sub>, se prevenía la disfunción renal originada por los medios de

contraste (Bird et al., 1996; Pollock et al., 1997). Por tanto, el efecto negativo sobre la vasculatura renal de endotelina estaría mediado por el receptor  $ET_A$  y, bloqueando ese receptor, la endotelina podría ser beneficiosa a través de los efectos mediados por  $ET_B$ . De hecho, en otros casos en que eran bloqueados ambos receptores no se observaba efecto beneficioso, o incluso el efecto era perjudicial (Wang et al., 2000).

### Angiotensina II

La vasculatura renal está expuesta a niveles variables de angiotensina II en función de la actividad del sistema renina-angiotensina. Este sistema puede activarse como consecuencia de la hipoxia renal o del aumento de sodio en el túbulo distal, debido a la carga osmótica originada por el medio de contraste. Se ha visto que el Iodixanol aumenta la respuesta vasoconstrictora a la angiotensina II (Sendeski et al., 2009), y que ese efecto es más acusado si los niveles de NO están disminuidos (Sendeski et al., 2012). Además, la angiotensina II promueve la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS, de las siglas en inglés reactive oxygen species), contribuyendo al efecto negativo de los medios de contraste (Sachse y Wolf, 2007).

### Adenosina

La adenosina, un nucleósido procedente de la hidrólisis del ATP, regula numerosas funciones fisiológicas, tales como la contractilidad cardíaca, el tono muscular, la liberación de neurotransmisores o la función renal. La formación de adenosina se activa en condiciones de hipoxia (Vallon et al., 2006). La adenosina se une, con una afinidad variable, a cuatro subtipos de receptores,  $A_1$ ,  $A_{2\alpha}$ ,  $A_{2\beta}$  y  $A_3$ . En el riñón, la función vascular modulada por adenosina esta mediada principalmente a través de los receptores  $A_1$  y  $A_{2\alpha}$  (Pflueger et al., 2000). La adenosina causa vasoconstricción en la arteriola aferente renal mediante la estimulación de los receptores  $A_1$ , lo cual ha sido comprobado tras observar que en arteriolas de ratones que carecían de receptores  $A_1$  no se producía ese efecto. Tras la interacción de la adenosina con su receptor se produce un aumento del calcio intracelular, que inicia los efectos (Hansen

et al., 2003). Los receptores  $A_{2\alpha}$ , por el contrario, producen vasodilatación (Tang et al., 1999). Así, podría decirse que la adenosina tiene un papel en la homeostasis renal en situaciones de hipoxia (Brezis y Rosen, 1995; Pflueger et al., 2000).

### Mediadores de la vasodilatación

#### Óxido nítrico

El NO se produce en las células endoteliales vasculares a partir de la arginina, mediante la acción de la NO sintasa. Presenta un potente efecto vasodilatador y su liberación está estimulada por acetilcolina, bradiquinina, endotelina, angiotensina II y situaciones de hipoxia (Wong et al., 2012). El NO reduce la reabsorción de sodio en los túbulos renales, por lo que disminuye el consumo de oxígeno y palia la hipoxia, y además produce un aumento del flujo en la médula renal (Cowley et al., 2003).

En condiciones normales, las células endoteliales de la *vasa recta* descendente producen NO. Cuando se administra un medio de contraste, la cantidad de NO disminuye, así como la sensibilidad de las células al mismo, no ejerciendo por tanto su efecto vasodilatador (Murphy et al., 1998). Además, se ha comprobado que la administración de manera simultánea al medio de contraste del inhibidor de la NO sintasa  $N\omega$ -nitro-L-arginina metil éster (L-NAME) empeora la perfusión renal (Sendeski et al., 2009). Asimismo, una disminución en la cantidad de NO exagera la vasoconstricción originada por la angiotensina II.

#### Prostaglandinas

Las prostaglandinas se sintetizan en altas cantidades en la nefrona por acción de la ciclooxigenasa. Las prostaglandinas que tienen mayor influencia sobre el riñón son la prostaglandina E2 (PGE2) y la prostaciclina, donde regulan la hemodinámica y el transporte tubular. Existen 4 receptores para la PGE2 en el riñón. Los receptores EP1 y EP3 principalmente provocan vasoconstricción e inhibición de la reabsorción de sodio, mientras que los receptores EP2 y EP4 provocan vasodilatación y disminución de la reabsorción de agua. Además, el receptor EP2 amortigua los efectos

vasoconstrictores de, entre otros, la angiotensina II (Kim, 2008). Diversos autores han estudiado la influencia de las prostaglandinas en la patogénesis de la NIC. Así, Myers et al. (2006) comprobaron que los medios de contraste provocaban una disminución de la PGE<sub>2</sub>. Otros autores han observado que la administración de indometacina, un fármaco inhibidor de la ciclooxigenasa potenciaba el daño renal de los medios de contraste, confirmando la influencia de las prostaglandinas en la patogénesis de la NIC (Agmon et al., 1994).

### 1.3.2. Estrés oxidativo

Se define como estrés oxidativo al desequilibrio entre la producción de ROS y la de sustancias antioxidantes. Las ROS se producen en condiciones fisiológicas, y en concreto en la médula renal participan en la señalización celular, en la regulación de la microcirculación y en el transporte tubular. Las ROS más comunes son el anión superóxido ( $O_2^-$ ) y el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ), las cuales son muy reactivas; y el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ).

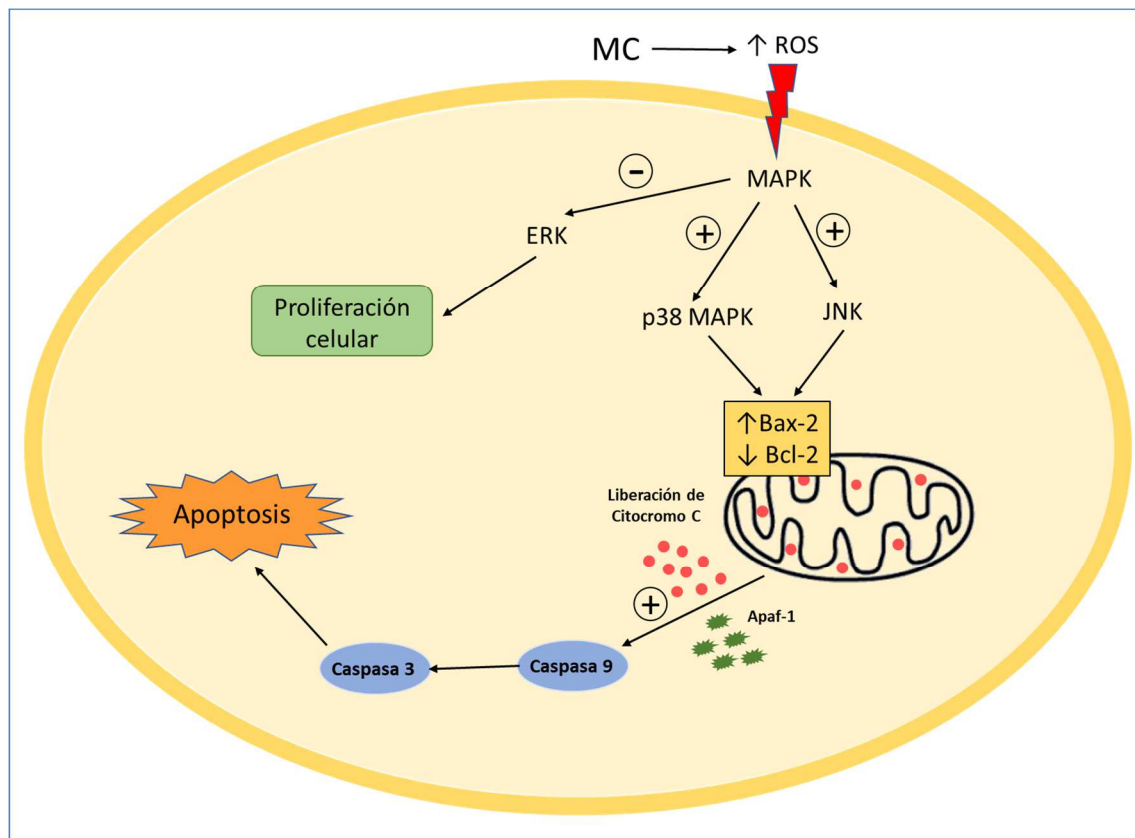
La hipoxia medular que se origina debido a la afectación del flujo causada por el aumento de la viscosidad sanguínea y del transporte tubular, origina la formación de ROS (Geenen et al., 2013), lo cual intensifica aún más esta circunstancia. Además, las ROS participan en la vasoconstricción desencadenada por la endotelina y mediada por los receptores  $ET_A$  y  $ET_B$ , sobre todo el  $O_2^-$  y en menor medida el  $H_2O_2$  (Just et al., 2008); y también en la originada por angiotensina II. Las ROS también están relacionadas con la adenosina, pues el catabolismo de este producto origina inosina y posteriormente hipoxantina, la cual, mediante la acción de la hipoxantina oxidasa, genera xantina y  $H_2O_2$ . Este último, junto con otras ROS, provocan la disminución de la concentración de NO y como consecuencia de su efecto vasodilatador (Wong et al., 2012). Además, el  $O_2^-$  reacciona con el NO, formándose peroxinitrito, el cual es aún más tóxico. De hecho, la administración en cultivos celulares de tempol, un mimético de la superóxido dismutasa, enzima que degrada el  $O_2^-$ , evitó la vasoconstricción causada por el Iodixanol (Sendeski et al., 2009). Esto confirma el importante papel del  $O_2^-$  en el daño renal.

Además, ese aumento de ROS tiene otros efectos, entre los que se encuentra el daño de células endoteliales, mesangiales y tubulares (Peer et al., 2003). Debido a la toxicidad sobre las células endoteliales se produce un deterioro funcional, el cual afecta a la síntesis de NO (Sendeski et al., 2012). También se produce un aumento de adenosina, debido a la desfosforilación de AMP y ADP, consecuencia indirecta de la disfunción mitocondrial (Hardiek et al., 2001; Wong et al., 2012). El daño originado puede incluso provocar la apoptosis celular.

De manera general, la apoptosis puede tener lugar por dos vías, la extrínseca y la intrínseca, dependiendo de cuál sea el origen de la señal que provoca la muerte celular (Sancho-Martínez et al., 2015). La vía extrínseca se activa tras la unión de distintos ligandos, por ejemplo, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) o FasL, a receptores transmembrana de muerte que inducen la cascada de apoptosis, que finalmente lleva a la activación de las caspasas 8 y 10 que conducirán a la muerte celular (Riedl y Shi, 2004). La vía intrínseca, en cambio, es activada en respuesta a daños en el ADN u otras circunstancias de estrés intra o extracelular (Naziroğlu et al., 2013). Las distintas cascadas que se activan convergen en la mitocondria para activar un mecanismo común, el cual como aspecto más significativo provoca la liberación del citocromo c desde la mitocondria. El citocromo c se une al factor 1 activador de la proteasa de apoptosis (apaf-1) para activar la caspasa 9, la cual activará a su vez otras caspasas que desencadenarán la apoptosis (Sancho-Martínez et al., 2015).

Los estudios llevados a cabo hasta el momento sugieren que los medios de contraste originan apoptosis a través de la activación de la vía intrínseca. Se ha observado que algunos medios de contraste alteran el balance entre las proteínas estimuladoras de la apoptosis (Bax-2) y las inhibidoras (familia Bcl-2). Dicho desbalance origina la liberación del citocromo c y la activación de las caspasas 9 y 3, pertenecientes a la vía intrínseca. Por el contrario, las caspasas 8 y 10, pertenecientes a la vía extrínseca, no se activan (Romano et al., 2008; Valero, 2011). El estímulo por el que los contrastes parecen inducir la apoptosis es la formación ROS.

Además, diversos estudios han demostrado que las ROS activan quinasas de estrés como las MAPK (de las siglas en inglés mitogen-activated protein kinases, o proteínas quinasas activadas por mitógenos). En las células de los mamíferos hay tres subgrupos de MAPK: las quinasas extracelulares reguladas por señales (ERK), las quinasas N-terminales c-Jun (JNK), y las p38 MAPK. La primera vía está relacionada con un aumento de la proliferación celular, mientras que las otras dos se relacionan con apoptosis (Son et al., 2013). Los medios de contraste activan tanto la vía de JNK como la de p38 como consecuencia del aumento de ROS (Lee et al., 2010; Quintavalle et al., 2011), y además inactivan la vía ERK1/2, lo cual tiene consecuencias en la proliferación y supervivencia celular (Andreucci et al., 2006). La activación de JNK y de p38 no solo provoca la apoptosis celular, sino que también está implicada en el aumento de la citocina proinflamatoria IL-8, y por tanto las células son más propensas a la inflamación (Andreucci et al., 2014b). El proceso de apoptosis que tiene lugar se recoge en la **Figura 3**.



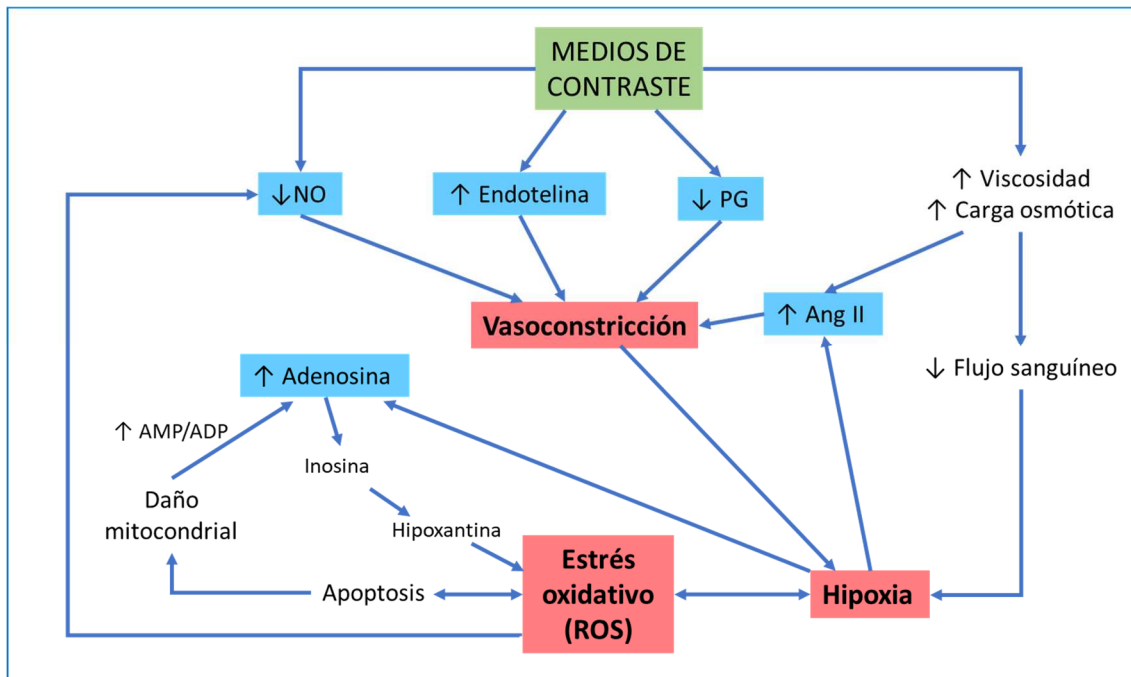
**Figura 3.** Proceso de apoptosis celular desencadenado por los medios de contraste. MC: medio de contraste; ROS: especies reactivas de oxígeno; MAPK: proteínas quinasas activadas por mitógenos; ERK: quinasas extracelulares reguladas por señales; JNK: quinasas N-terminales c-Jun; Apaf-1: factor 1 activador de la proteasa de apoptosis.



Los efectos apoptóticos son más acusados cuanto mayor sea la osmolaridad, pero no son debidos en su totalidad a la carga osmótica, pues la viabilidad celular es menor en células tratadas con medio de contraste que en aquellas tratadas con soluciones de manitol de osmolaridad equivalente a los medios de contraste utilizados (Haller y Hizoh, 2004). La viscosidad también influye en la citotoxicidad de los medios de contraste. Así, el uso de aquellos cuya viscosidad es alta provoca un aumento en la viscosidad del fluido tubular y por tanto de la resistencia al flujo en los túbulos renales (Persson et al., 2005). Como consecuencia, el contraste permanece durante más tiempo en los túbulos renales, lo que prolonga el contacto con las células tubulares (Seeliger et al., 2012).

Otro hallazgo tras la exposición a medios de contraste tanto *in vitro* como *in vivo* es la aparición de vacuolas en las células epiteliales tubulares (Andersen et al., 1994). Estas vacuolas están formadas por lisosomas y el contraste yodado que ha sido captado por la célula mediante pinocitosis (Powell et al., 1995). A pesar de que la presencia de estas vacuolas es un signo de NIC, si no se dan otras comorbilidades, no progresará a necrosis de las células tubulares. Sin embargo, si se dan otros factores de riesgo podría haber necrosis, con cierta relevancia clínica (Kiss y Hamar, 2016). La vacuolización no se correlaciona con la osmolaridad, la viscosidad o la hidrofilia del medio de contraste (Hardiek et al., 2001).

Por tanto, a pesar de las diferentes sustancias y mecanismos mencionados anteriormente con implicación en la patogénesis de la NIC, el mecanismo subyacente de todos ellos parece ser el estrés oxidativo. La hipoxia generada inicialmente activa la formación de ROS que a su vez activa un ciclo de disfunción endotelial y vascular y de mecanismos reparadores que consumen oxígeno, que intensificarán aún más la hipoxia (Heyman et al., 2010). Un esquema de la patogénesis de la NIC está recogido en la **Figura 4**.



**Figura 4.** Patogénesis de la nefropatía inducida por contrastes.

NO: óxido nítrico; PG: prostaglandinas; Ang II: angiotensina II; ROS: especies reactivas de oxígeno

### 1.4. FACTORES DE RIESGO

Los factores de riesgo más importantes relacionados con el paciente son la presencia de enfermedad renal y la diabetes mellitus. El padecer hipertensión arterial (HTA), dislipidemia, mieloma múltiple, tener edad avanzada o el uso concomitante de otros fármacos también influyen.

#### 1.4.1. Enfermedad renal previa

Independientemente de la causa, la disfunción renal es el factor de riesgo más importante para la NIC. Cuanto mayor sea el valor basal de creatinina plasmática, mayor es el riesgo de padecer NIC, siendo la incidencia en pacientes con enfermedad renal crónica de entre el 14,8 y el 55 % (Andreucci et al., 2014c).

Otras condiciones renales como la hipoperfusión renal o la presencia de un único riñón se han propuesto como factor de riesgo, aunque las investigaciones hasta el momento no son concluyentes.

### 1.4.2. Diabetes mellitus

En los pacientes diabéticos el riesgo de padecer NIC es el doble que en aquellos pacientes que no sufren diabetes, independientemente de su función renal basal (Andreucci et al., 2014c). La mayor incidencia de NIC en pacientes diabéticos se ha atribuido a varias causas. Así, en los pacientes diabéticos la vasoconstricción renal mediada por los receptores A<sub>1</sub> de adenosina es unas 30 veces superior. Además, la mayor sensibilidad del riñón a la vasoconstricción inducida por adenosina esta mediada por una disminución del NO (Pflueger et al., 2000).

Otro hecho importante es que los pacientes diabéticos tienen una mayor concentración de la enzima convertidora de endotelina, encargada de la síntesis de la misma. Esto hace que haya mayor cantidad de este mediador y por lo tanto afecte a la hemodinámica renal y al transporte tubular (Khamaisi et al., 2008). Estos mecanismos son comunes a algunos de los que se encuentran detrás de la patogénesis de la NIC, por lo que es comprensible que los pacientes diabéticos presenten mayor susceptibilidad a padecerla.

Si al hecho de padecer diabetes se le suma tener disminuida la función renal, el riesgo es incluso mayor. De esta manera, el 56 % de los pacientes diabéticos que también presentan insuficiencia renal, desarrollan NIC con progresión a fallo renal irreversible (Gleeson y Bulugahapitiya, 2004).

### 1.4.3. Hipertensión arterial

La HTA es un factor precipitante de la NIC en pacientes sometidos a intervenciones coronarias (McCullough et al., 2006), pudiendo suponer un incremento del riesgo de más de 4 veces respecto a pacientes sin HTA (Conen et al., 2006).

Los mecanismos por los que se produce esta patología son numerosos, destacando entre ellos la alteración del sistema renina-angiotensina, que tiene como consecuencia la sobreproducción de angiotensina II, la disminución de mediadores vasodilatadores, como el NO o la prostaciclina, y el aumento de ROS (Hall et al., 2012; Oparil et al., 2003). Todos ellos son mecanismos comunes a los que se postulan como

etiopatogénicos de la NIC lo cual justificaría el que se produzca una mayor incidencia de NIC en pacientes hipertensos.

### 1.4.4. Edad

Las razones por las que el riesgo de NIC es superior en personas de edad avanzada están probablemente relacionadas con los cambios en la función renal y en los vasos que se producen al envejecer.

Con la edad, en muchos individuos disminuye la tasa de filtración glomerular (TFG) y el flujo sanguíneo renal, a pesar de que no se aprecien cambios en la creatinina plasmática. Esto es debido a la pérdida de masa renal, lo que produce una disminución en el número de glomérulos y cambia su aspecto morfológico (Weinstein y Anderson, 2010).

Además de los cambios morfológicos, también cambia la actividad o la respuesta ante mediadores vasoactivos. Se incrementa la sensibilidad a estímulos vasoconstrictores y disminuye la capacidad vasodilatadora. Uno de los cambios más destacados es la disminución del NO, lo cual puede deberse a un menor aporte de arginina, precursor del NO, o a una mayor degradación de la NO sintasa, encargada de la síntesis (Weinstein y Anderson, 2010; Zhou et al., 2008).

Además de estos cambios atribuibles a la edad, estos pacientes presentan una mayor incidencia de otras comorbilidades como son la diabetes mellitus o la HTA, lo cual contribuye al riesgo a padecer NIC.

### 1.4.5. Hipercolesterolemia

Los niveles altos de colesterol alteran la vasorrelajación dependiente del endotelio. En estudios llevados a cabo en animales de experimentación se ha observado que, la administración de un medio de contraste en ratas alimentadas con una dieta con alto contenido en colesterol durante un largo periodo de tiempo provocaba un aumento en la creatinina plasmática, lo cual no sucedía con las ratas alimentadas con una dieta

normal. Además, la producción de NO en las ratas con una dieta rica en colesterol era menor (Andrade et al., 1998; Yang et al., 2012). En humanos también se ha demostrado que la hipercolesterolemia provoca una disfunción endotelial que afecta a la acción de la vasodilatación dependiente de NO (Creager et al., 1990).

#### **1.4.6. Factores relacionados con el medio de contraste**

El volumen de contraste es el principal factor de riesgo modificable de la NIC, existiendo una correlación directa. Si además existen otros factores de riesgo, o se administran varias dosis en un corto periodo de tiempo, la NIC puede aparecer incluso con volúmenes de medio de contraste relativamente bajos, llegando en algunos casos a requerir diálisis (Mehran y Nikolsky, 2006).

Las angiografías coronarias son uno de los procedimientos en los que se necesitan mayores volúmenes de medio de contraste. Los pacientes en los que se realiza este tipo de estudio, que en su mayoría presentan otras comorbilidades, son los que más frecuentemente padecen NIC (Andreucci et al., 2014b).

Como ya se ha visto anteriormente, la osmolaridad y la viscosidad del medio de contraste pueden influir en la incidencia de la NIC. Los contrastes de alta osmolaridad provocan una incidencia mayor de NIC que los de baja osmolaridad, entre el 5-12 %, frente al 1-3 %, respectivamente. Por ello, especialmente en los pacientes que ya tienen daño renal, es recomendable el uso de contrastes de baja osmolaridad (Andreucci et al., 2014a). Sin embargo, el Iodixanol, el medio de contraste con menor osmolaridad, presenta una alta viscosidad, razón por la que quizá no se han encontrado grandes diferencias respecto a las ventajas de usar Iodixanol o medios de contraste de baja osmolaridad (Persson et al., 2005).

#### **1.4.7. Uso concomitante de otros fármacos**

Algunos fármacos con potenciales efectos tóxicos sobre el riñón hacen que este sea más vulnerable a la nefrotoxicidad de los medios de contraste. Entre estos fármacos

se encuentran los antibióticos aminoglucósidos, el cisplatino o la ciclosporina A; así como aquellos que inhiben el efecto vasodilatador local de las prostaglandinas, como es el caso de los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) (Gleeson y Bulugahapitiya, 2004). Siempre que sea posible se aconseja la discontinuación del tratamiento con estos fármacos antes de la administración del medio de contraste, aunque en algunos casos, como con los inmunosupresores tacrólimus y ciclosporina A, esto no es posible (Erley, 2006). Con los aminoglucósidos la situación es parecida, por lo que se recomienda usar la menor dosis posible y monitorizar los niveles de antibiótico (Andreucci et al., 2014c).

### **1.4.8.Reducción del volumen sanguíneo**

La reducción del volumen intravascular, la hipotensión prolongada y la deshidratación contribuyen a la disminución de la perfusión renal, lo que potencia el daño isquémico que causan los medios de contraste. Algunas de las circunstancias clínicas en las que se da esta situación son, por ejemplo, la insuficiencia cardiaca o la combinación de varios tratamientos hipertensivos, como podría ser inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECAs) y diuréticos (Gleeson y Bulugahapitiya, 2004).

### **1.4.9.Mieloma múltiple**

La primera vez que fue descrita la NIC fue en un paciente con mieloma múltiple al que se le realizaba una pielografía. Los pacientes con mieloma múltiple tiene un riesgo alto de daño renal, debido a la producción excesiva de cadenas ligeras libres de inmunoglobulinas, proteínas que en el riñón originan citotoxicidad (Hutchison et al., 2012). La administración concomitante de un contraste radiológico provocaría una nefropatía obstructiva por la precipitación del medio de contraste y las proteínas. Sin embargo, si no existen otros factores de riesgo, la incidencia de NIC en pacientes con mieloma múltiple es baja (Gleeson y Bulugahapitiya, 2004).

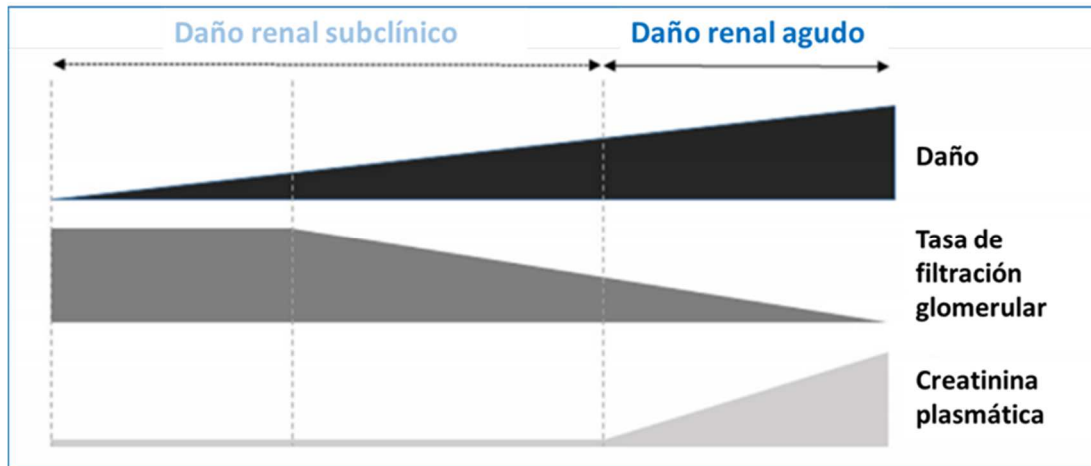
---

## 2. NUEVAS PERSPECTIVAS FRENTE A LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES

### 2.1. DIAGNÓSTICO TEMPRANO

En clínica, el diagnóstico de la NIC se basa únicamente en la medida de los niveles plasmáticos de creatinina, que comienzan a aumentar a las 24-48 horas tras la administración del medio de contraste, alcanzan su máximo valor entre el tercer y el quinto día y finalmente regresan a valores normales en las dos semanas posteriores (Chalikias et al., 2016).

La creatinina es un compuesto con un peso molecular de 113 Da derivado del metabolismo de la creatina en el músculo esquelético y de la ingesta de carne en la dieta. Se libera al plasma de manera relativamente constante y posteriormente se filtra en el glomérulo, tras lo cual no es ni reabsorbida ni metabolizada por el riñón (Bagshaw y Bellomo, 2007). Debido a este mecanismo, cuando disminuye la filtración glomerular, este compuesto aumenta en la sangre, por lo que los niveles plasmáticos de creatinina se utilizan para la estimación de la TFG (Stevens et al., 2006). Sin embargo, a pesar de la aparente utilidad para la valoración de la función renal, la medición de la creatinina plasmática presenta ciertas limitaciones. Así, los niveles de creatinina parecen no mostrar un aumento significativo hasta que la función renal ya ha disminuido en un 50 % (Bagshaw y Bellomo, 2007), debido a mecanismos de compensación para evitar su acumulación, como el aumento de su secreción tubular, o el de la capacidad de filtración de las nefronas que no están dañadas (**Figura 5**). Es por eso que las definiciones actuales del DRA consideran que un aumento de tan solo 0,3 mg/dL de creatina plasmática ya supone una reducción de más del 50 % de la TFG, cambios que ya afectan a la mortalidad (Bonventre et al., 2010).



**Figura 5.** Evolución del daño renal, la tasa de filtración glomerular y la creatinina plasmática.

*Adaptado de Sancho-Martínez et al. (2015).*

Otro factor a tener en cuenta es que los niveles de creatinina sérica que presenta cada individuo pueden variar en función de la edad, el sexo, el estado nutricional o la masa muscular. También en ciertas situaciones patológicas como son la rabdomiólisis o la cetoacidosis se modifican los niveles (Bagshaw y Bellomo, 2007). Por último, ante una disminución abrupta de la TFG como consecuencia de un daño agudo, el aumento en los niveles de creatinina plasmática se observa pasadas 24-48 horas, lo cual retrasa tanto el diagnóstico como la intervención correspondiente (Waikar y Bonventre, 2009).

Por ello, dadas las limitaciones que presenta la creatinina en el diagnóstico del daño renal, se hace cada vez más necesaria la utilización de biomarcadores que permitan un diagnóstico temprano y que, de ser posible, den información sobre el lugar de la lesión y sean capaces de monitorizar la progresión del daño.

### 2.1.1. Biomarcadores de daño renal temprano

En los últimos años se han identificado diversos biomarcadores que presentan mejores características que la creatinina plasmática con respecto al diagnóstico del daño renal, y que han sido validados en diferentes escenarios clínicos, a los que se les ha denominado biomarcadores de daño renal temprano (Sirota et al., 2011).



Los biomarcadores de daño renal temprano que más se han usado en el contexto de la NIC, tanto en estudios preclínicos como clínicos se describen a continuación.

### Lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos

La lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos (NGAL) es una proteína de 25 kDa perteneciente a la superfamilia de las lipocalinas que expresan las células del sistema inmune, los hepatocitos y las células epiteliales de los túbulos renales (Malyszko, 2010). Fue identificada como potencial marcador urinario de daño renal en el año 2003 y desde entonces se ha estudiado en modelos animales, en los que se ha comprobado un aumento temprano de su transcripción como consecuencia de un daño isquémico, especialmente en las células del túbulo proximal (Sirota et al., 2011). Una de las limitaciones de este marcador es que sus niveles en orina aumentan como consecuencia de infecciones del tracto urinario o sepsis, lo cual puede limitar su especificidad (Bonventre et al., 2010).

Numerosos estudios, tanto preclínicos como clínicos, han estudiado la utilidad de este marcador para el diagnóstico del daño renal producido por los medios de contraste. Así, en estudios realizados en ratas se ha observado un aumento de NGAL en plasma y riñón tan solo 2 horas después de la administración del medio de contraste, mientras que la creatinina plasmática aumentaba pasadas 48 horas (Li et al., 2016). Resultados similares han sido obtenidos en el ámbito clínico. En un estudio realizado con pacientes pediátricos sometidos a cateterismo cardiaco, tanto la NGAL plasmática como urinaria aumentaron pasadas dos horas de la administración del contraste, y fue útil como marcador temprano de la NIC (Hirsch et al., 2007). En pacientes adultos también se ha visto este resultado (Ling et al., 2008). Por tanto, la NGAL sería un biomarcador urinario temprano y sensible, útil para diagnosticar de manera precoz el daño causado por los medios de contraste.

### N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa

La N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa (NAG) es una enzima lisosomal situada principalmente en los túbulos renales. Se ha observado un aumento de NAG como

consecuencia de la exposición a fármacos nefrotóxicos, incluyendo los medios de contraste, tóxicos ambientales o isquemia tubular (Han et al., 2008). Las ventajas que presenta este marcador son que, pequeñas alteraciones en las células epiteliales de los túbulos proximales provocan un aumento de NAG en orina; y que la cuantificación es simple y reproducible. Sin embargo, tiene algunos inconvenientes, como que es inhibida por la urea endógena así como por algunos nefrotóxicos o metales pesados; o que en situaciones como la artritis reumatoide o el hipertiroidismo los niveles urinarios de NAG aumentan sin que haya daño renal (Vaidya et al., 2008).

Respecto a la utilidad de este marcador en el diagnóstico temprano del daño renal producido por los medios de contraste, en estudios preclínicos se ha observado un aumento de la excreción de NAG en ratas que recibían diferentes medios de contraste con propiedades fisicoquímicas distintas (Soejima et al., 2003). Por su parte, estudios en pacientes también han observado ese aumento tras recibir un medio de contraste, anticipándose al aumento de creatinina sérica (Ren et al., 2011).

### Molécula de daño renal 1

La molécula de daño renal 1 (KIM-1) es una proteína transmembrana tipo I, con un dominio de inmunoglobulina y mucina, cuyo peso molecular es aproximadamente 70 kDa, descrita por primera vez en el año 1998. Se expresa en muy baja cantidad en el tejido renal sano, pero tras un daño en el riñón su cantidad aumenta de manera muy considerable (Sirota et al., 2011). Está implicada en la adhesión, crecimiento y diferenciación celular (Malyszko, 2010), y confiere a las células epiteliales renales fenotipo fagocítico, pudiendo eliminar las células muertas originadas como consecuencia de la isquemia (Bonventre, 2009). KIM-1 ha demostrado ser útil en el diagnóstico del daño renal originado como consecuencia de la administración de diversos fármacos, como el cisplatino, la vancomicina o la ciclosporina; y de metales pesados como el mercurio, el cromo o el cadmio (Bonventre, 2009; Zhou et al., 2008).

La utilidad de este marcador para el diagnóstico del daño renal originado por los medios de contraste no ha sido muy estudiada en el ámbito de la clínica. Se ha visto que los niveles urinarios de KIM-1 tras la implantación de un stent, intervención para

la cual es necesaria la administración de un medio de contraste, reflejan de manera más temprana que la creatinina plasmática los cambios en la función renal (Liao et al., 2019). El estudio de Torregrosa et al. (2015) también comprobó la capacidad de este marcador para diagnosticar el daño renal causado por los medios de contraste en pacientes a los que se les realizaba una angiografía.

### Interleuquina-18

La interleuquina-18 (IL-18) es una citoquina proinflamatoria cuya síntesis se induce en el túbulo proximal y se puede detectar en la orina tras un daño renal agudo. Los estados inflamatorios que provocan la liberación de esta y otras citoquinas pueden ser tanto la consecuencia del daño renal, como una causa del aumento del riesgo de padecer daño (Bagshaw y Bellomo, 2007). La IL-18 está implicada en diversas enfermedades inflamatorias, como son la artritis, la esclerosis múltiple, la hepatitis, la psoriasis o el lupus eritematoso (Vaidya et al., 2008). Además de su papel en la respuesta inmune, esta citoquina también media en la producción del daño isquémico en el corazón, el cerebro y el riñón (Sirota et al., 2011). En este último, sus niveles también pueden aumentar como consecuencia de una nefritis inflamatoria o de los efectos nefrotóxicos del cisplatino. (Vaidya et al., 2008).

Los estudios acerca de la utilidad de este marcador en relación a la NIC son controvertidos. Algunos autores han observado una posible utilidad de la IL-18 como marcador temprano (Duan et al., 2013; He et al., 2014). Sin embargo, el estudio de Bulent Gul et al. (2008) no encontró diferencias estadísticas en el nivel de IL-18 entre los pacientes que desarrollaron NIC y los que no.

### Cistatina C

La cistatina C, cuyo peso molecular es 13 kDa, es un inhibidor de la cisteína proteasa que es sintetizada por todas las células nucleadas. Se filtra libremente en el glomérulo, es completamente reabsorbida por el túbulo proximal y no sufre procesos de secreción (Soni et al., 2009). A diferencia de la creatinina, con la que comparte estas características, los niveles de cistatina C se ven menos influenciados por

variables no renales como la edad, el sexo, o la masa muscular, por lo que parece ser más adecuada para la estimación de la TFG y para detectar cambios leves en la función renal (Azzalini et al., 2016). Sin embargo, no se utiliza con este fin debido a que los niveles de cistatina C parecen estar influenciados por la función tiroidea, el uso de terapia inmunosupresora o la presencia de inflamación sistémica (Bagshaw y Bellomo, 2007).

Pese a no sufrir secreción ni reabsorción en el riñón, es metabolizada prácticamente en su totalidad por las células del túbulo proximal, por lo que su presencia en orina es prácticamente indetectable. En consecuencia, niveles elevados de cistatina C en orina son indicativos de disfunción tubular (Bagshaw y Bellomo, 2007; Vaidya et al., 2008).

En el contexto de la NIC, se han llevado a cabo numerosos estudios para evaluar la utilidad de la cistatina C en la detección precoz de la misma. Tanto en pacientes no diabéticos con un nivel plasmático basal de creatinina normal (Bachorzewska-Gajewska et al., 2008), como en pacientes con diversos grados de daño renal (Briguori et al., 2010; Rickli et al., 2004), el nivel de cistatina C en plasma aumentaba pasadas 8 horas desde la administración del medio de contraste.

### Proteínas transportadoras de ácidos grasos

Las proteínas transportadoras de ácidos grasos (FABP) son pequeñas proteínas citoplasmáticas (15 kDa) que se expresan abundantemente en todos los tejidos que sufren metabolismo de ácidos grasos. Se han identificado dos tipos de FABP en el riñón, las de tipo hepático en el túbulo proximal y las de tipo cardíaco en el túbulo distal (Vaidya et al., 2008). Las de tipo hepático son reabsorbidas en el túbulo proximal y se localizan en el citoplasma de las células tubulares proximales, en el hígado y en el intestino (Cruz et al., 2010). El daño tubular hace que estas proteínas se liberen en la orina y de ahí su utilidad como marcador de daño renal. Sin embargo, sus niveles también aumentan en situaciones de daño hepático, lo que limita la especificidad de este marcador (Bonventre et al., 2010). Aun así, se ha visto un aumento urinario de FABP de tipo hepático en pacientes que sufrían NIC, tras solo 4 horas desde la administración del medio de contraste, antes de que aumentase la

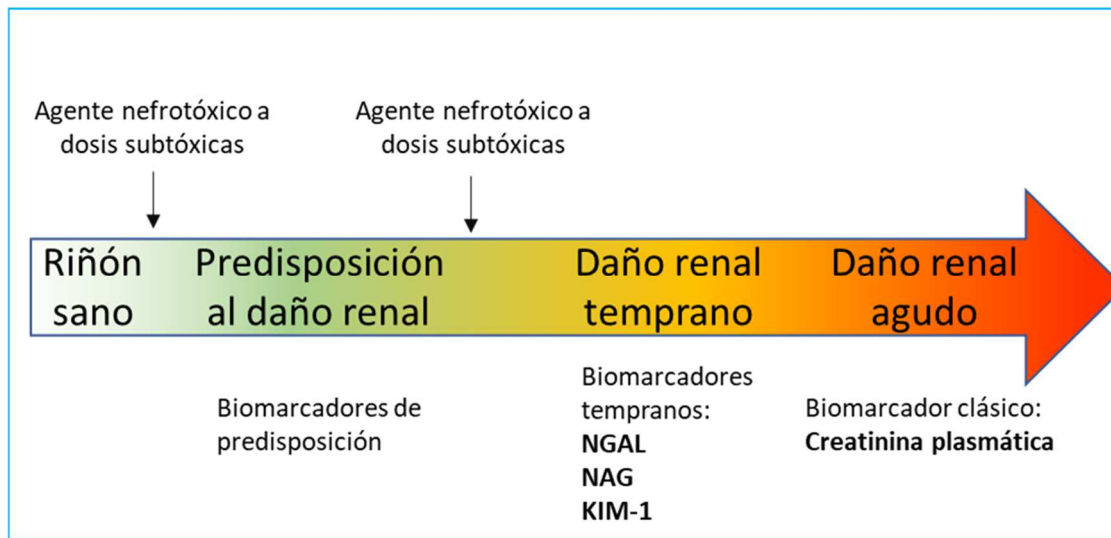
creatinina plasmática (Bachórzewska-Gajewska et al., 2009; Nakamura et al., 2006). Las de tipo cardiaco también se detectan en orina como consecuencia de un daño renal isquémico, pero su utilidad en la predicción del DRA no ha sido muy estudiada (Damman et al., 2012).

### 2.1.2. Biomarcadores de predisposición adquirida al daño renal

Los marcadores anteriormente descritos proporcionan grandes ventajas con respecto al diagnóstico y tratamiento precoz del daño renal, pues se adelantan a la creatinina plasmática en la detección del daño. Sin embargo, es posible la intervención de manera aún más temprana. En nuestro grupo de investigación se ha desarrollado en los últimos años un concepto innovador. Se ha demostrado que la exposición a diferentes sustancias nefrotóxicas, tanto fármacos como contaminantes ambientales, a dosis que no son tóxicas para el riñón, lo sensibilizan a la acción de un nuevo nefrotóxico, administrado también a dosis subtóxicas. A esta condición se la ha denominado predisposición adquirida al DRA, y se define como el estado de sensibilización en el que se encuentra un paciente para sufrir un DRA si se ve expuesto a una sustancia nefrotóxica a dosis que en un individuo sano no causarían ningún daño. Esta situación no es posible detectarla con los marcadores de función renal existentes en la clínica. La importancia de esta situación reside en que, individuos aparentemente no afectados por los efectos adversos de un tratamiento o la exposición a determinadas sustancias podrían estar, sin saberlo, más expuestos a desarrollar un DRA. Nuestro grupo ha llevado a cabo diversos modelos animales en los que se ha reproducido esta condición tras la exposición a fármacos como la gentamicina (Quiros et al., 2010) o el cisplatino (Vicente-Vicente et al., 2015); o a contaminantes ambientales como el uranio (Vicente-Vicente et al., 2013).

Asociados a esta condición se han identificado biomarcadores urinarios cuya presencia fue indicativa del riesgo a padecer un DRA cuando se administraba un compuesto potencialmente nefrotóxico, a dosis subtóxicas (**Figura 6**). Así, en el modelo de predisposición por cisplatino se han identificado la transferrina, la fumarilacetoacetasa o la albúmina (Vicente-Vicente et al., 2015); y la proteína

activadora del gangliósido GM2 (GM2AP) y la t-gelsolina en el modelo de predisposición por gentamicina (Quiros et al., 2017, 2010).



**Figura 6.** Etapas en el desarrollo del daño renal agudo cuando se administran varias dosis de un agente nefrotóxico a dosis subtóxicas.

NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos; NAG: N-acetil-b-D-glucosaminidasa; KIM-1: molécula de daño renal 1.

A continuación, aparecen detallados los biomarcadores de predisposición mencionados.

### Fumarilacetoacetasa

La fumarilacetoacetasa, también denominada como fumarilacetoacetato hidrolasa, es una enzima que participa en la última etapa de la degradación del aminoácido tirosina (Cassiman et al., 2009). La deficiencia de esta enzima está asociada con la enfermedad hereditaria tirosinemia de tipo I, cuya incidencia es de 1 caso por cada 100.000 nacidos. Las principales manifestaciones que se producen como consecuencia de la acumulación de metabolitos tóxicos son hepáticas, entre las que se incluyen hepatomegalia, cirrosis o ictericia, aunque también se pueden producir manifestaciones renales como acidosis tubular (Grompe, 2001).

En animales, se ha postulado que la aparición de fumarilacetoacetasa en orina es el resultado de una alteración en la filtración glomerular o en los mecanismos de reabsorción tubular. Este hecho ha sido puesto de manifiesto por nuestro grupo de

investigación tras la administración de cisplatino a dosis subtóxicas (Vicente-Vicente et al., 2015).

### Albúmina

La albúmina es una proteína no glicosilada con carga negativa, con capacidad de unirse a ligandos y transportarlos, además de poseer propiedades antioxidantes y enzimáticas. Con un peso molecular de 66 kDa, representa la mitad de las proteínas presentes en sangre circulante (Quinlan et al., 2005). Es sintetizada por el hígado, y es responsable de mantener la diferencia de presión oncótica entre el plasma y el espacio intersticial, además de influir en la integridad de la microvasculatura y en la respuesta inflamatoria. En condiciones normales, cierta cantidad de esta proteína puede ser filtrada a través del glomérulo, pero después es reabsorbida en los túbulos renales, por lo que la cantidad que se excreta en orina es muy baja (Gekle, 2005).

El aumento de la excreción urinaria de albúmina se ha documentado en casos en los que la barrera de filtración glomerular está afectada, así como en la nefropatía diabética, constituyendo por ello una manera de detectar el daño renal de forma temprana (Gekle, 2005).

En animales de experimentación que recibían dosis subtóxicas de cisplatino (Vicente-Vicente et al., 2015) o expuestos de manera crónica a dosis subtóxicas de nitrato de uranilo, un nefrotóxico experimental (Vicente-Vicente et al., 2013), se ha observado un aumento de la excreción urinaria de albúmina, pudiendo ser indicativo de una predisposición oculta al daño renal.

### Transferrina

La transferrina es una glicoproteína de un peso molecular aproximado de 80 kDa que está presente en la sangre, la linfa y otros fluidos biológicos. Su función principal es regular los niveles de hierro en los fluidos, pues se une al  $\text{Fe}^{3+}$  transportándolo desde los sitios de absorción hasta los de almacenamiento y utilización, en donde es

captado, junto con la transferrina, por endocitosis a través de receptor específico de transferrina (Li y Qian, 2002).

La cantidad de transferrina en orina en condiciones normales es baja, sin embargo, en el síndrome de Fanconi, caracterizado por disfunción de los túbulos proximales, los niveles aumentan notablemente. Este hecho indica que, al menos hasta un cierto punto, la transferrina es filtrada por el glomérulo y posteriormente reabsorbida por los túbulos (Zhang et al., 2007).

Al igual que con la albúmina, se ha visto un incremento en la excreción urinaria de este marcador en animales de experimentación predispuestos al daño renal tras la exposición a dosis subnefrotóxicas de cisplatino (Vicente-Vicente et al., 2015).

### t-Gelsolina

La gelsolina es una proteína de 82-84 kDa que actúa sobre los filamentos de actina, controlando su polimerización, y participa en procesos como la motilidad celular o la fagocitosis (Silacci et al., 2004). También está relacionada con ciertas situaciones patológicas como la amiloidosis, el cáncer o la inflamación (Spinardi y Witke, 2007). Además, durante la apoptosis y mediante la acción de la caspasa 3, la gelsolina se escinde en dos fragmentos, uno de ellos de 43 kDa denominado t-gelsolina (Ferreira et al., 2011).

En ratas de laboratorio a las que se les administraban dosis subtóxicas del antibiótico gentamicina se ha observado un aumento la excreción urinaria de t-gelsolina en aquellas en las que posteriormente se desencadenaba un daño renal (Quiros et al., 2017).

### Proteína activadora del gangliósido GM2

La proteína GM2AP es una pequeña proteína, de unos 20 kDa, resistente a la acción de las proteasas, que normalmente está localizada en los lisosomas (Rigat et al., 1999). Su función es actuar como cofactor de la enzima lisosomal  $\beta$ -hexosaminidasa A en la hidrólisis del gangliósido GM2, además de unirse y colaborar en el transporte de



numerosos lípidos, incluida la fosfatidilcolina, el más común en los organismos eucariotas (Higashi et al., 2010). La deficiencia congénita de la proteína GM2AP origina una variante de gangliosidosis, una enfermedad neurodegenerativa severa cuya esperanza de vida no llega a los 5 años. En ella los gangliósidos se acumulan en las células neuronales (Higashi et al., 2010; Rigat et al., 1999). También es capaz de unirse e inhibir el factor activador de plaquetas (PAF), un fosfolípido que participa en la cascada de señalización de la inflamación (Rigat et al., 2009).

En estudios con animales llevados a cabo por nuestro grupo de investigación, se ha puesto de manifiesto un incremento en la excreción de GM2AP en ratas expuestas a dosis subtóxicas de gentamicina, constatando su utilidad como marcador de predisposición. Este incremento se ha relacionado con alteraciones en el manejo tubular de esta proteína (Quiros et al., 2010).

## 2.2.TERAPIAS PREVENTIVAS

En base a los mecanismos implicados en la patogénesis de la NIC, numerosas estrategias han sido estudiadas con la finalidad de prevenir su aparición.

### 2.2.1.Prevenición de las alteraciones hemodinámicas

La alteración de la hemodinámica renal está implicada de manera directa con la nefrotoxicidad de los medios de contraste. Por ello, diversos compuestos dirigidos a paliar los efectos de los mediadores vasoconstrictores, o promover la vasodilatación de la vasculatura renal se han estudiado como medida profiláctica.

#### Hidratación

Actualmente la suplementación con fluidos es la principal estrategia para la prevención de la NIC, siendo segura, efectiva y de bajo coste. La base teórica define que la expansión de volumen inhibe el sistema renina-angiotensina-aldosterona y disminuye la liberación de vasoconstrictores y la producción de ROS. También reduce

el efecto tóxico directo de los medios de contraste en las células tubulares al disminuir la viscosidad de los mismos en los túbulos renales (Azzalini et al., 2016) y el tiempo que permanecen en ellos como consecuencia del aumento de la diuresis (Andreucci et al., 2014c). Son escasos los estudios en los que se evalúa la utilidad de la hidratación de manera directa, debido al riesgo que supondría para los pacientes. Su efecto beneficioso ha sido comprobado al observar, en los primeros artículos en que se describe la aparición de NIC, que los pacientes estaban deshidratados (Stacul et al., 2006). Además, en otros estudios se evidenció que, en los pacientes que estaban adecuadamente hidratados, la incidencia de la NIC era mucho menor (Eisenberg et al., 1981; Louis et al., 1996).

Existen numerosas diferencias en cuanto al tipo de fluido, la vía de administración o la duración de la suplementación. Con respecto al tipo de fluido, la hidratación puede hacerse con fluido isotónico (suero salino al 0,9 %), hipotónico (suero salino al 0,45 % suplementado con glucosa al 5 %) o con bicarbonato sódico (Mueller, 2006). En la comparación de la hidratación con fluido isotónico o hipotónico, parece ser más efectiva la hidratación con suero isotónico (Mueller et al., 2002). La hidratación con bicarbonato sódico está basada en el efecto alcalinizante del mismo. Valores de pH bajos aceleran la apoptosis como consecuencia de la formación de ROS, por ello, la administración de bicarbonato mitigaría este efecto al aumentar el pH. Además, el bicarbonato capta el peroxinitrito generado a partir del NO (Burgess y Walker, 2014). En cuanto a la comparación entre cloruro sódico y bicarbonato sódico, diversos metaanálisis han sido llevados a cabo a fin de dilucidar cuál es mejor, sin embargo, los resultados no son concluyentes. Algunos de ellos apuntan a que la hidratación con bicarbonato sódico es superior en cuanto a la prevención de la NIC (Jang et al., 2012; Navaneethan et al., 2009), mientras otros concluyen que se obtienen mejores resultados con la hidratación con cloruro sódico (Zapata-Chica et al., 2015; Zoungas et al., 2009).

La vía de administración más comúnmente usada es la intravenosa. Hasta hace unos años, los pacientes que iban a ser sometidos a cirugías cardíacas tenían restringida la ingesta por vía oral, incluyendo la de líquidos, debido al riesgo de vómitos y náuseas originado por los contrastes y para facilitar la intubación si fuera necesaria. Esa

perspectiva ha cambiado y actualmente se permite la ingesta oral, por lo que la suplementación con líquidos puede realizarse por esta vía (Mueller, 2006). De hecho, si no existen otras contraindicaciones, se recomienda la ingesta de líquidos tanto antes como después de la administración del medio de contraste (Thomsen, 2003).

Los regímenes de hidratación aplicados son variables. Si se realiza por vía intravenosa, siempre que sea posible, la mejor estrategia es la administración durante 12 horas previas a la administración del contraste y entre 12 y 24 posteriores, a una velocidad aproximada de 1 mL/kg de peso por hora. Si debido a la urgencia del procedimiento no es posible, se puede administrar un bolus de 300 mL durante el procedimiento, aunque la efectividad es menor (Bader et al., 2004; Krasuski et al., 2003).

En la práctica clínica, la hidratación se aplica de manera rutinaria y es el método frente al cual se comparan el resto de las estrategias preventivas. De hecho, muchas veces la hidratación se aplica en combinación con otros compuestos potencialmente protectores (Mamoulakis et al., 2017).

### Antagonistas de adenosina

Debido a que la administración de los medios de contraste origina vasoconstricción mediante el aumento de la secreción de adenosina, diversos estudios han evaluado la utilidad de antagonistas de adenosina, principalmente teofilina y aminofilina, en la prevención de la NIC. Los resultados obtenidos han sido inconsistentes. Así, existen autores que han observado que, en pacientes a los que se le administraba teofilina como medida profiláctica, el riesgo de NIC era menor (Huber et al., 2002; Kapoor et al., 2002). En cambio, en otros estudios en que se administraba teofilina (Erley et al., 1999), o aminofilina (Abizaid et al., 1999), de manera conjunta con la hidratación, no se obtuvo ningún beneficio adicional.

### Fenoldopam

El mesilato de fenoldopam es un antagonista selectivo del receptor de dopamina, que produce vasodilatación sistémica, periférica y de las arterias renales. Su uso en la

prevención de la NIC además se justifica con el hecho de que disminuye la resistencia vascular renal y aumenta el flujo sanguíneo. A pesar de que *a priori* presenta estos efectos beneficiosos, los resultados obtenidos en estudios clínicos no han sido concluyentes. Así, aunque existen estudios a favor de la administración de fenoldopam como medida preventiva (Madyoon et al., 2001), otros autores no han encontrado que el fenoldopam sea más útil que la hidratación en la prevención de la NIC (Allaqband et al., 2002; Stone et al., 2003).

### Otros

Existen otras sustancias que se han estudiado por su potencial beneficio sobre la vasculatura renal. Así, se ha estudiado la utilidad de administrar prostaglandina E<sub>1</sub> por su capacidad vasodilatadora, bloqueadores de los canales de calcio, como verapamilo, antagonistas de endotelina o L-arginina, precursor del NO; obteniéndose resultados contradictorios (Stacul et al., 2006).

### 2.2.2. Prevención del estrés oxidativo

Como se ha comentado anteriormente, el estrés oxidativo es un mecanismo implicado de manera directa en la toxicidad celular de los medios de contraste. En concreto, provoca apoptosis, y además participa en otras muchas causas de la toxicidad, como la isquemia renal. Por ello, numerosos compuestos con propiedades antioxidantes han sido estudiados como terapia preventiva de la NIC.

### N-acetilcisteína

La N-acetilcisteína es la sustancia más estudiada para prevenir el daño renal originado por los medios de contraste, tanto a nivel preclínico como clínico (Quiros et al., 2013), debido a que es un potente antioxidante que capta una amplia variedad de ROS. Además, podría actuar también incrementando la capacidad reductora de la célula o incrementando los efectos biológicos del NO, combinándose con él y formando S-

nitrosotiol, un potente vasodilatador. Adicionalmente, aumenta la expresión de NO sintasa (Gleeson y Bulugahapitiya, 2004).

Diversos estudios preclínicos han probado la eficacia de este compuesto. Por una parte, en cultivos celulares se ha demostrado que la N-acetilcisteína es capaz de prevenir la apoptosis inducida por varios medios de contraste con propiedades fisicoquímicas diferentes, y que ese efecto es dosis dependiente. Este hecho parece lograrlo mediante la inhibición de la activación de la vía intrínseca de la apoptosis (Romano et al., 2008). Estos resultados han sido corroborados en estudios animales (Gong et al., 2016; Ozturk et al., 2018).

A pesar de la eficacia demostrada en estudios preclínicos, los resultados en la clínica no han sido concluyentes. Por un lado, algunos estudios manifiestan la eficacia de la N-acetilcisteína en la prevención de la NIC. Por ejemplo, Tepel et al. (2000) observaron una disminución de la incidencia tras administrar 600 mg de N-acetilcisteína dos veces al día, el día anterior y posterior a la administración del contraste radiológico, en pacientes con daño renal previo. Otros estudios en cambio no han mostrado resultados tan positivos. Este es el caso del estudio realizado por ACT Investigators, (2011), en que se incluyeron 2308 pacientes, con al menos un factor de riesgo de NIC, que eran sometidos a una angiografía. En este estudio se probó la eficacia de N-acetilcisteína frente a la administración de un placebo y se observó que no había diferencias en la incidencia de NIC entre ambos grupos. Otros estudios similares tampoco obtuvieron resultados positivos (Allaqaband et al., 2002; Amini et al., 2009; Thiele et al., 2010). Es por ello, que el uso de N-acetilcisteína ya no se recoge en las guías como medida preventiva.

### Estatinas

Las estatinas son fármacos utilizados en el tratamiento de la hipercolesterolemia que además presentan otros efectos pleiotrópicos. Así, las estatinas mejoran la función endotelial y el flujo sanguíneo, e incluso disminuyen el estrés oxidativo y la inflamación vascular (Liao y Laufs, 2005). En concreto, son capaces de aumentar la cantidad circulante de progenitores de células endoteliales, de incrementar la

cantidad de NO sintasa, de atenuar la producción de ROS mediada por angiotensina II o de disminuir la síntesis de endotelina (Azzalini et al., 2016; Blum y Shamburek, 2009). Es por eso por lo que numerosos autores han evaluado la utilidad de las estatinas en la prevención de la NIC.

Estudios preclínicos en células han demostrado que la atorvastatina disminuye los parámetros de inflamación y la apoptosis originada como consecuencia de administrar lopamidol. Los estudios en animales han corroborado esos resultados (He et al., 2017, 2016). Así, se ha observado que el tratamiento con la simvastatina, la atorvastatina o la rosuvastatina atenuaba los efectos renales de los medios de contraste, mediante la modulación de la apoptosis, el estrés oxidativo y la inflamación (Al-Otaibi et al., 2012; Deng et al., 2015; Su et al., 2014).

En clínica han sido numerosas las investigaciones llevadas a cabo para comprobar la eficacia de las estatinas en la prevención de la NIC. Así, en un estudio clínico realizado con casi 3.000 pacientes con diabetes mellitus y enfermedad renal crónica como factores de riesgo asociados, se observó que la administración de rosuvastatina durante 5 días (2 días antes de administrar el contraste y 3 días después) reducía el riesgo de NIC (Khanal, 2014). Diferentes metaanálisis realizados también apuntan en esta dirección (Liang et al., 2017; Liu et al., 2018; Zhang et al., 2018). Sin embargo, no todos los estudios han podido demostrar esa eficacia (Bouzas-Mosquera et al., 2009).

Según los resultados obtenidos en diversos metaanálisis, parece ser que los pacientes que más se verían beneficiados del uso de estatinas como tratamiento preventivo son aquellos que además padecen diabetes mellitus, enfermedad renal crónica o ambas patologías. Sin embargo, existen grandes diferencias en cuanto a los tipos de población en los que se han llevado a cabo estos estudios, así como en los regímenes de tratamiento y los parámetros utilizados para definir la NIC. Además, no se ha podido establecer qué estatina es más adecuada, ni en qué dosis o posología debe administrarse. Tampoco se ha dilucidado si únicamente aquellos pacientes que no estaban en tratamiento de manera previa con este fármaco experimentan beneficios, o si pacientes en tratamiento crónico también se podrían beneficiar tras recibir una dosis suplementaria (Vanmassenhove et al., 2016). Por tanto, aún no existen pautas

para implementar su uso habitual en la práctica clínica, siendo necesarios ensayos adicionales para evaluar el beneficio del uso de estatinas.

### Ácido ascórbico (Vitamina C)

Debido a sus propiedades antioxidantes el ácido ascórbico ha sido propuesto como compuesto protector frente a la NIC. Sin embargo, los resultados obtenidos en estudios clínicos no son concluyentes. Así, hay estudios en los que la administración de 3 g de ácido ascórbico antes de la realización de una angiografía o intervención en la que se utilizaba un medio de contraste, y 1 g diario durante los dos días siguientes era eficaz en la prevención de la NIC (Alexopoulos et al., 2010; Spargias Konstantinos et al., 2004). Otros autores en cambio niegan ese efecto protector (Boscheri et al., 2007; Zhou y Chen, 2012).

### $\alpha$ -tocoferol (Vitamina E)

La vitamina E posee propiedades antioxidantes y antiinflamatorias, de ahí su potencial capacidad preventiva de la NIC. En el estudio de Tasanarong et al. (2009) la administración profiláctica de 525 UI de  $\alpha$ -tocoferol 48 y 24 horas previas y la mañana del procedimiento en que se requería el medio de contraste, demostró ser eficaz. Del mismo modo, la administración de 600 mg de vitamina E 12 h antes del medio de contraste y de 400 mg 2 h después en combinación con hidratación con suero salino, fue superior al placebo en la prevención de la NIC en pacientes sometidos a una angiografía (Rezaei et al., 2016). Sin embargo, otros estudios niegan el efecto protector, no encontrando ningún beneficio adicional respecto a la hidratación (Kitzler et al., 2012; Nouri-Majalan et al., 2009).

### Nebivolol

El nebilolol es un antagonista del receptor adrenérgico  $\beta$ 1. Se ha postulado que este compuesto ejerce su efecto protector por su acción antioxidante y vasodilatadora mediante el NO. Esto es debido a que el nebilolol aumenta la liberación y

biodisponibilidad del NO y evita su desactivación. La acción protectora se ha demostrado en animales a los que se les administraba el fármaco por vía oral durante 5 días (Toprak et al., 2008). Los resultados han evidenciado que el nebivolol es capaz de prevenir la disminución del aclaramiento de creatinina y de los niveles de NO y, a la vez, de disminuir la necrosis tubular y el estrés oxidativo.

Estudios realizados en humanos también parecen obtener los mismos resultados, aunque el número de pacientes es bajo, siendo necesarios más estudios (Avci et al., 2011; Günebakmaz et al., 2012).

### Quercetina

La quercetina es uno de los más de 4.000 flavonoides presentes en plantas y productos vegetales, en concreto un flavonol que se encuentra abundantemente en cebollas, manzanas, brócoli, bayas o té blanco (Formica y Regelson, 1995). A esta sustancia se le han atribuido diversas propiedades biológicas como antioxidante, antiinflamatorio, antifibrótico, antibacteriano, anticoagulante, antihipertensivo o antiproliferativo (Boots et al., 2008).

La propiedad que mejor se ha descrito de la quercetina es la antioxidante. Dentro de los flavonoides, la quercetina es el captador de ROS más potente, debido a la presencia de dos farmacóforos antioxidantes (Boots et al., 2008). La propiedad antiinflamatoria se atribuye a la capacidad para inhibir las enzimas ciclooxigenasa y lipooxigenasa, disminuyendo la formación de metabolitos inflamatorios (Nijveldt et al., 2001).

Con respecto a la protección que ejerce la quercetina frente a la toxicidad de los medios de contraste, esta se ha observado en estudios preclínicos. Así, en células tubulares renales, se ha observado que la quercetina reduce los efectos tóxicos del medio de contraste, incrementando la viabilidad celular, por lo que se propone como una posible terapia preventiva frente a la NIC (Andreucci et al., 2018). Además, en ratas a las que se les administraba un extracto vegetal que contenía quercetina durante 5 días previos a la inducción de un daño renal por medios de contraste, la severidad del daño era menor (Tasanarong et al., 2014).



Estudios llevados a cabo por nuestro grupo de investigación han demostrado, en modelos animales, la capacidad nefroprotectora de este antioxidante. Así, se ha comprobado que la quercetina es efectiva en la prevención del daño renal que causa el fármaco antineoplásico cisplatino, sin que se vea afectada la capacidad antitumoral (Sanchez-Gonzalez et al., 2011). También se evidenció la capacidad protectora frente a la nefrotoxicidad causada por la exposición crónica al cadmio, por sus propiedades tanto antioxidantes como quelantes (Morales et al., 2006). Otros autores también han demostrado esta capacidad protectora frente al daño renal en modelos de isquemia reperusión. En ellos, la quercetina administrada de manera previa a la inducción de la lesión, reducía el daño y las secuelas inflamatorias, tanto por sus propiedades antioxidantes como por su capacidad antiapoptótica (Kenan Kinaci et al., 2012; Shoskes, 1998).

Basados en los resultados descritos, la quercetina se presenta como un potencial compuesto nefroprotector, que pudiera ser capaz de paliar o remitir los efectos tóxicos inducidos por los medios de contraste. La posibilidad de extrapolar estos hallazgos a la clínica supondría un avance de cara a facilitar el uso de estas intervenciones diagnósticas de forma segura. Por ello, en este estudio se llevó a cabo un ensayo clínico cuya estrategia fue la administración de quercetina con el objetivo de evaluar su capacidad para contrarrestar o amortiguar el desarrollo de la NIC.







## *Objetivos*

---

---









## **OBJETIVO GENERAL**

Como se ha planteado en la introducción, la NIC es una patología con una elevada incidencia, por ello el objetivo principal de este trabajo fue la búsqueda de estrategias que ayudasen a prevenir, o al menos paliar, dicha nefrotoxicidad. Este objetivo se abordó mediante dos diferentes enfoques de actuación: el diagnóstico temprano y el tratamiento preventivo.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

Los objetivos específicos para cada abordaje fueron los siguientes:

### DIAGNÓSTICO TEMPRANO

- Estudiar y caracterizar temporalmente, en un modelo experimental animal, la predisposición al daño renal inducido por los medios de contraste, e identificar posibles biomarcadores urinarios capaces de detectar esa condición.
- Evaluar la capacidad de los biomarcadores identificados en el objetivo anterior para detectar la predisposición a la NIC. En este objetivo también se evaluarán otros biomarcadores validados en diferentes modelos experimentales por nuestro grupo de investigación.

### TERAPIA PREVENTIVA

- Evaluar la eficacia y la seguridad del flavonoide quercetina como posible terapia para reducir la nefrotoxicidad de los medios de contraste.



## ***Materiales y métodos***

---

---



## A. DIAGNÓSTICO TEMPRANO

### 1. MODELO PRECLÍNICO

La primera estrategia planteada en esta Tesis Doctoral frente a la toxicidad de los medios de contraste, fue la búsqueda de nuevos marcadores capaces de detectar a los pacientes susceptibles de padecer NIC antes de la administración del contraste yodado. Para ello, inicialmente se desarrolló un modelo animal de predisposición al DRA inducido por medios de contraste, en el que identificar biomarcadores urinarios capaces de detectar esta condición. Tras identificar estos marcadores, en segundo lugar, se evaluó la utilidad de los mismos en pacientes cardiopatas.

#### 1.1. CONSIDERACIONES LEGALES

El estudio descrito a continuación respeta todos los aspectos contemplados por la Directiva 2010/63/UE del Parlamento Europeo y del Consejo de 22 de septiembre de 2010 relativa a la protección de animales utilizados para fines científicos; así como por el Real Decreto 53/2013, de 1 de febrero, por el que se establecen las normas básicas aplicables para la protección de los animales utilizados en experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia; y por la Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio. El sacrificio de los animales se llevó a cabo siguiendo las guías para la eutanasia de los animales de experimentación detalladas en el Anexo III del RD 53/2013, basadas en el reglamento (CE) n.º 1099/2009 del Consejo.

Asimismo, todo el personal involucrado en el desarrollo de este estudio cumple con la Orden ECC/566/2015, de 20 de marzo, por la que se establecen los requisitos de capacitación del personal que maneje animales utilizados, criados o suministrados con fines de experimentación y otros fines científicos, incluyendo la docencia.

Además, el estudio fue evaluado y aprobado por el Comité de Bioética de la Universidad de Salamanca.

### 1.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS ANIMALES Y CONDICIONES

En este modelo experimental se utilizaron ratas Wistar macho con una edad de 9 meses, procedentes del Servicio de Experimentación Animal de la Universidad de Salamanca. Se escogieron ratas de esta edad puesto que, estudios previos realizados en nuestro laboratorio mostraron que las ratas de 2-5 meses no sufren daño renal tras la administración de varias dosis de medio de contraste. Además, el uso de ratas de 9 meses, edad avanzada, reproduce la situación clínica, en la que la edad media de los pacientes es elevada, particularmente en cardiópatas, en los que los procedimientos diagnósticos que conllevan la utilización de contrastes son frecuentes.

La estabulación en el animalario permitió asegurar unas condiciones ambientales óptimas: temperatura de 20 °C, humedad aproximada del 60 %, tiempo diario de luz (fotoperiodo) de 12 horas y actividad continua de los sistemas de renovación y filtración de aire y olores.

Durante todo el periodo experimental, las ratas permanecieron en jaulas metabólicas individuales con acceso libre a agua y alimento (dieta estándar A04, Panlab®, Barcelona, España). Antes del comienzo del estudio fueron sometidas a un periodo de acostumbramiento a las jaulas metabólicas de 48 horas.

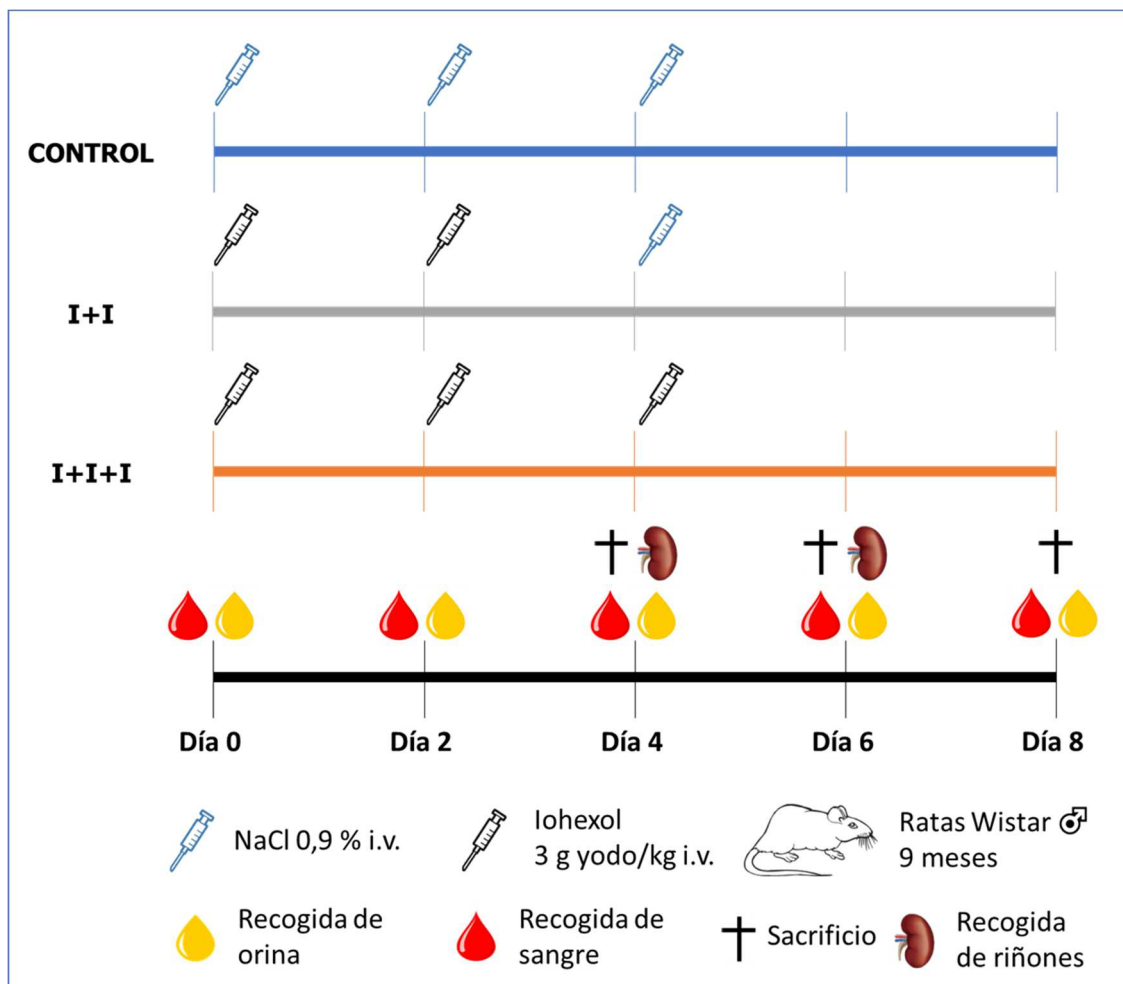
### 1.3. DISEÑO EXPERIMENTAL

En el diseño del estudio se plantearon tres grupos experimentales (**Figura 7**):

- Grupo Control (C): formado por 14 ratas, a las que se les inyectó suero fisiológico por vía intravenosa los días 0, 2 y 4 del experimento. El volumen de suero inyectado era equivalente en proporción al que se inyectó de Iohexol a los animales de los otros dos grupos experimentales.
- Grupo I+I, con dos dosis de Iohexol: formado por 8 ratas, a las cuales se les inyectó Iohexol por vía intravenosa a la dosis de 3 g yodo/kg (Omnipaque®,

concentración 350 mg yodo/mL), los días 0 y 2 y suero fisiológico, también por vía intravenosa, el día 4.

- Grupo I+I+I, con tres dosis de Iohexol: formado por 21 ratas, a las cuales se les inyectó Iohexol por vía intravenosa a la dosis de 3 g yodo/kg (Omnipaque®, concentración 350 mg yodo/mL), los días 0, 2 y 4.



**Figura 7.** Modelo de predisposición al daño renal inducido por Iohexol. *i.v.*: intravenoso.

### 1.3.1. Administración de los tratamientos

Se escogió la vena caudal de la cola de los animales para realizar la administración intravenosa, tanto del suero fisiológico como del Iohexol. En primer lugar, los animales se anestesiaron por vía inhalatoria con isoflurano (Vetflurane, Virbac) al 4 % para inducir la anestesia y del 1,5 al 3 % para mantenerla. Con esta práctica se evita que el animal sufra dolor durante la administración y además se facilita la

manipulación al investigador. Una vez anestesiado el animal, se procedió a canular la vena caudal, para lo cual se utilizó un catéter de 25 G (BD Insyte).

### 1.3.2. Recogida de muestras de orina y sangre

A lo largo del experimento se recogió la orina de las 24 horas previas los días 0, 2, 4, 6 y 8. Antes de la recogida de la orina, en los colectores se añadió 1 mL de aceite mineral (Panreac) para evitar la evaporación de la orina y 100 µL de azida sódica al 0,1 % para evitar la contaminación bacteriana de la muestra. La orina recogida se centrifugó a 2.000 g durante 9 minutos para eliminar restos de partículas sólidas y posteriormente se alicuotó y se conservó a -80 °C hasta su posterior análisis.

La recogida de sangre se realizó de manera previa a la administración de los tratamientos, a través del catéter colocado en la vena caudal. Se recogió con la ayuda de capilares heparinizados (Deltalab), los cuales fueron centrifugados posteriormente a 11.000 rpm durante 3 minutos para separar la fracción celular y plaquetaria del plasma. Dicho plasma se recogió en tubos de 1,5 mL que se conservaron a -80 °C hasta su análisis posterior.

### 1.3.3. Sacrificio y recogida de órganos

El sacrificio de las ratas se llevó a cabo a distintos tiempos para obtener muestras de riñón para el estudio histológico. Así, parte se sacrificaron a día 4 y 6 con el fin de obtener muestras histológicas. Los animales restantes se sacrificaron el día 8.

En el momento del sacrificio se llevó a cabo la perfusión y extracción de los riñones tras la disección de las ratas. Para ello, las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital a una dosis de 50 mg/kg por vía intraperitoneal. Una vez anestesiadas, se colocaron en posición decúbito supino sobre una tabla de microcirugía y se realizó la apertura de la cavidad abdominal mediante laparotomía media con evisceración. Tras canular la bifurcación ilíaca con una cánula tipo mariposa de calibre 21 G, se realizó una perfusión con suero salino heparinizado al 0,1 % durante 8 minutos a una



velocidad de 3 mL/min. Este protocolo asegura que el suero entra al organismo a una velocidad fisiológica, evitando que se produzcan alteraciones en el tejido. Una vez realizada la perfusión, los riñones se desencapsularon, se extrajeron y se conservaron en formaldehído al 3,7 % estabilizado con metanol a 4 °C.

#### **1.3.4. Estado fisiológico de los animales**

La monitorización del estado fisiológico del animal se llevó a cabo cada dos días mediante el registro de su peso corporal, la observación de su movilidad y del color del pelo; así como mediante el control del consumo de alimento y bebida.

### **1.4. EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL**

#### **1.4.1. Creatinina plasmática y urinaria. Aclaramiento de creatinina.**

Para la determinación de la concentración de la creatinina en el plasma y en la orina se utilizó el kit comercial "Quantichrom® creatinine assay kit" de BioAssay Systems® (Haywar, CA, EEUU). Este kit se fundamenta en el método de Jaffe (Jaffé, 1886), según el cual, la reacción del ácido pícrico con la creatinina, en medio alcalino, da lugar a un complejo coloreado, cuya intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de creatinina en la muestra.

En cada tipo de muestra se siguió el protocolo sugerido. En el caso de las muestras de plasma, en una placa de 96 pocillos se pipetearon 30 µL del plasma, así como de los patrones de la recta estándar preparada (rango 0-10 mg/dL de creatinina), y posteriormente se añadieron 200 µL de la mezcla de reactivos A y B del kit (proporción 1:1). La absorbancia se midió tras añadir los reactivos y pasados 5 minutos de incubación. La longitud a la que se mide la absorbancia es 491 nm, para lo cual se utilizó el lector de placas Multiskan FCR (Thermo Scientific®, Waltham, MA, EEUU). En el caso de las muestras de orina, la cantidad pipeteada fueron 5 µL de orina previamente diluida (1:10), y de la recta estándar preparada (rango 0-50 mg/dL de creatinina). Se añadieron 200 µL de la mezcla de reactivos A, B y agua destilada

(proporción 1:1:2) y se midió la absorbancia del modo explicado anteriormente. Para determinar la concentración de creatinina de cada muestra o punto de la recta, se calculó la diferencia entre la absorbancia obtenida a los cinco minutos y la basal. Con los datos obtenidos se determinó la recta patrón necesaria para, mediante interpolación inversa, calcular la concentración de creatinina en las muestras, teniendo en cuenta el factor de dilución en el caso de las muestras urinarias.

El aclaramiento de creatinina ( $Cl_{cr}$ ) se define como el volumen de plasma sanguíneo que es depurado de creatinina tras su paso por el riñón, por unidad de tiempo. Este parámetro es un estimador fiable de la TFG. Para su cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$Cl_{cr} = \frac{\text{Concentración de Creatinina urinaria} \times \text{Flujo urinario}}{\text{Concentración de Creatinina plasmática}}$$

### 1.4.2. Urea plasmática

Para la determinación de la concentración de urea en el plasma se utilizó el kit comercial “Quantichrom® Urea Assay Kit” de BioAssay System® (Hayward, CA, EEUU). Este kit se fundamenta en el método de Jung (Jung et al., 1975), según el cual, la urea reacciona con dos moléculas, el ortoftalaldehído y el N-naftileno diamida, dando lugar a un compuesto coloreado cuya intensidad de color es directamente proporcional a la cantidad de urea presente en la muestra.

Siguiendo el protocolo, en una placa de 96 pocillos se pipetearon 5  $\mu$ L de muestra previamente diluida (1:10), y de los patrones de la recta estándar (0 a 50 mg/dL de urea). Se añadieron 200  $\mu$ L de la mezcla de reactivos A y B (proporción 1:1) y se midió la absorbancia tras 20 minutos de incubación en oscuridad. Pasado ese tiempo se midió la intensidad de color a 491 nm en el lector de placas Multiskan FC® (Thermo Scientific®, Waltham, MA, EEUU). La concentración de urea se calculó por interpolación inversa utilizando la recta estándar de calibrado, y teniendo en cuenta el factor de dilución.

### 1.4.3. Excreción urinaria de proteínas

La cuantificación de la cantidad de proteínas excretadas en orina llevó a cabo mediante el método de Bradford (Bradford, 1976). El fundamento de esta técnica se basa en la formación de un complejo azulado debido a la reacción entre las proteínas que se hallan en la muestra y el colorante azul de Coomassie G-250, en medio ácido (reactivo de Bradford). La intensidad de color es directamente proporcional a la cantidad de proteínas presente en la muestra.

Siguiendo el protocolo, en una placa de 96 pocillos se pipetearon 4  $\mu$ L de las muestras y de los patrones de la recta estándar (0-600 mg/L de albúmina sérica bovina, BSA de sus siglas en inglés). Posteriormente se añadieron 200  $\mu$ L del reactivo de Bradford y, pasados 15 minutos de incubación en oscuridad, se midió la absorbancia a 595 nm en el lector de placas Multiskan FC® (Thermo Scientific®, Waltham, MA, EEUU). Las absorbancias obtenidas se interpolaron en la recta de calibrado para obtener la concentración de proteínas en la muestra.

Para calcular la excreción diaria de proteínas se tuvo en cuenta el flujo urinario de cada animal:

$$\text{Excreción diaria de proteínas} = \text{Concentración de proteínas} \times \text{Flujo urinario}$$

### 1.5. ESTUDIO HISTOPATOLÓGICO

Los riñones recogidos en los días 4 y 6 del experimento, y que se conservaron en formaldehído, se enviaron al Servicio de Patología Molecular Comparada del Centro de Investigación del Cáncer de Salamanca, donde fueron realizados los siguientes procedimientos:

- Inclusión en parafina: en primer lugar, los riñones se deshidrataron con etanol en gradación creciente hasta llegar a etanol de 100 °. Posteriormente se transfirieron a xileno y por último se incluyeron en parafina líquida a 60 °C, tras lo cual se dejaron solidificar a temperatura ambiente.

- Corte de los bloques: los bloques de parafina se cortaron con un microtomo (Microm® HM 310, Thermo Scientific, Waltham, MA, EEUU) a fin de obtener secciones transversales de 5 µm de grosor.
- Tinción hematoxilina-eosina: los cortes histológicos fueron desparafinados con xileno, rehidratados y posteriormente teñidos con hematoxilina-eosina. Esta tinción emplea un colorante básico, la hematoxilina, y otro de carácter ácido, la eosina. La hematoxilina tiene afinidad por los ácidos, por lo que se une a los ácidos nucleicos y por tanto tiñe de azul los núcleos de las células. La eosina en cambio tiene afinidad por los compuestos básicos, tiñendo de color rosa el citoplasma celular. De esta manera es posible el estudio de la estructura morfológica de las células del tejido (Universidad de Vigo, 2018).

Los cortes histológicos que se obtuvieron fueron analizados y fotografiados con un microscopio óptico Olympus BX51® acoplado a una cámara digital Olympus DP70 colour® (Olympus®, Madrid, España). Durante el análisis se observó el aspecto general del riñón y se evaluó el estado de la corteza (integridad de los glomérulos y de los túbulos proximales) y de la médula (integridad de los túbulos distales), así como de los vasos sanguíneos y de la región intersticial.

## 1.6. CUANTIFICACION DE BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO Y DE PREDISPOSICIÓN

### 1.6.1. Excreción urinaria de N-acetil-β-D-glucosaminidasa

La cuantificación de la cantidad excretada de esta enzima se realizó utilizando el kit comercial “N-acetil-β-D-glucosaminidase (NAG) assay kit” de Diazyme® (Poway, CA, EEUU). El fundamento de este kit se basa en que la NAG hidroliza el compuesto 2-metoxi-4-(2' nitrovinil)-fenil 2 acetamida-2-deoxi- β-D-glucopiranosido (MNP-GlcNac) en 2-metoxi-4-(2' nitrovinil)-fenol, producto coloreado cuyo máximo de absorbancia se produce a una longitud de onda de 505 nm.

Siguiendo el protocolo, se pipetearon 10 µL de la muestra de orina y de los patrones de la recta estándar (0 a 49,1 UI/L) en una placa de 96 pocillos. Se añadieron 150 µL de la mezcla de reactivos 1 y 2 (proporción 3:1) y se incubó la placa a 37 °C durante 5 minutos. Tras esa incubación, se añadieron 50 µL del reactivo 3 para parar la reacción. La absorbancia de cada muestra se midió utilizando el espectrofotómetro de placa EpochR® (Biotek®, Winooski, VT, EEUU). Con los datos obtenidos se calculó la recta patrón correspondiente, a partir de la cual, por interpolación inversa, se calculó la actividad de NAG en cada muestra de orina. Para calcular la excreción diaria de NAG se tuvo en cuenta el flujo urinario de cada animal:

$$\text{Excreción diaria de NAG} = \text{Concentración de NAG} \times \text{Flujo urinario}$$

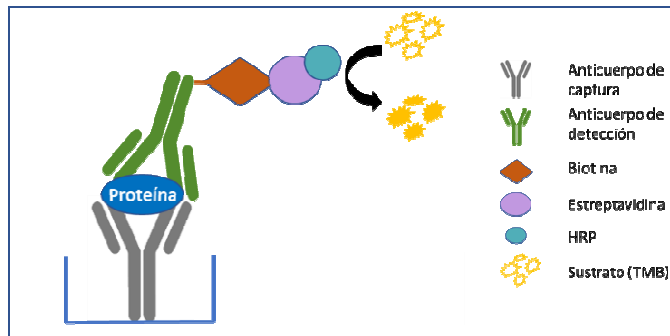
#### 1.6.2. Excreción urinaria de lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos, de la molécula de daño renal 1 y de albúmina

La determinación de estos biomarcadores se llevó a cabo mediante kits comerciales basados en la técnica del ensayo por inmunoabsorción asociado a enzimas (ELISA). Para la evaluación de la NGAL el kit empleado fue el “Rat NGAL ELISA kit 046 ®” (BioPorto Diagnostics®, Hellerup, Dinamarca). Para cuantificar la KIM-1 se utilizó el kit “Rat Kidney Injury Molecule 1 (KIM-1) ELISA kit CSB-E08808r®” (Cusabio Biotech®, College Park, MD, EEUU); y para la cuantificación de la albúmina se empleó el kit “Rat Albumin ELISA kit E11-125®” (Bethyl Laboratories®, Montgomery, TX, EEUU).

La técnica de ELISA es un inmunoensayo en el que, para la detección de un antígeno, se emplean anticuerpos que directa o indirectamente originan una reacción colorimétrica cuantificable.

Para la evaluación de los marcadores mencionados, la variante aplicada fue el ELISA de captura o “tipo sándwich” (**Figura 8**). En este tipo, se utiliza una placa cuyos pocillos vienen tapizados con un anticuerpo primario de captura que reconoce a la proteína buscada en nuestras muestras. Las proteínas que quedan fijadas a ese anticuerpo son reconocidas posteriormente por otro anticuerpo primario de detección, el cual está marcado con biotina. Posteriormente se añade la enzima

peroxidasa de rábano picante (HRP, por sus siglas en inglés horseradish peroxidase) conjugada con estreptavidina, la cual reconoce a la biotina y se unen. En el siguiente paso se añade 3,3',5,5'-tetrametilbenzidina (TMB), que es sustrato de la enzima, y la reacción que se desencadena origina un producto coloreado, cuya intensidad es proporcional a la cantidad de proteína y se puede medir por espectrofotometría. El equipo utilizado para ello fue el lector de placas Multiskan FC® (Thermo Scientific®, Whaltham, MA, EEUU).



**Figura 8.** Esquema representativo de los ELISAs llevados a cabo. HRP: peroxidasa de rábano picante; TMB: tetrametilbenzidina.

El cálculo posterior de la concentración de NGAL, KIM-1 y albúmina en cada muestra se realizó por interpolación inversa utilizando la ecuación de las curvas de cuatro parámetros obtenidas a partir de soluciones de concentraciones conocidas de estas moléculas. Para calcular la excreción diaria de cada una de estas proteínas se tuvo en cuenta el flujo urinario de cada animal:

$$\text{Excreción diaria de biomarcador} = \text{Concentración de biomarcador} \times \text{Flujo urinario}$$

### 1.6.3. Excreción urinaria de transferrina, t-gelsolina y de la proteína activadora del gangliósido GM2

La determinación de estas proteínas se llevó a cabo mediante la técnica de western blot. El western blot es una técnica que permite separar e identificar proteínas de una mezcla. En primer lugar, las proteínas de la muestra se separan mediante electroforesis. Posteriormente son transferidas a un soporte sólido y por último son reconocidas en base a la especificidad antígeno-anticuerpo. (Yang y Mahmood, 2012).

La técnica de electroforesis utilizada fue la SDS-PAGE, acrónimo en inglés de *sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis* (electroforesis en gel de poliacrilamida con dodecilsulfato sódico), en condiciones reductoras.

A cada muestra se le añadió tampón de carga (dodecilsulfato sódico 2 %, glicerol 10 %, Tris base 125 mM, azul de bromofenol 0,0005 %;  $\beta$ -mercaptoetanol 1 %; pH 6,8) y posteriormente todas las muestras se calentaron a 90 °C durante 5 minutos. Una vez pasado ese tiempo, se cargaron, en volúmenes proporcionales al flujo urinario de cada rata, en un gel de poliacrilamida con un gradiente ascendente de polimerización (4-20 % Criterion TGX® Stain-Free Protein Gel, Bio-Rad Laboratories®, Hercules, CA, EEUU). Mediante electroforesis vertical, las proteínas de la muestra se separaron en función de su peso molecular, tras aplicar un voltaje de 130 V y gracias a la conducción proporcionada por el tampón de electroforesis (Tris/Glycine Buffer 10 % y SDS Solution 0,01 %, Bio-Rad Laboratories®, Hercules, CA, EEUU; diluido en agua destilada). Además de las muestras, en cada uno de los geles también se cargó un marcador de pesos moleculares, una serie de proteínas de pesos moleculares conocidos teñidas con colorantes para su identificación en el gel (Page Ruler® Prestained Protein Ladder, Thermo-Scientific®, Waltham, MA, EEUU), y un control positivo. Este es una muestra de orina que contiene la proteína buscada, se carga del mismo modo en todos los geles y sirve como referencia para la cuantificación.

Una vez separadas, las proteínas se transfirieron a una membrana de fluoruro de polivinilideno (Immun-Blot® PVDF Membrane, Bio-Rad Laboratories®, Hercules, CA, EEUU) utilizando un tampón conductor (Trans-Blot Turbo® Transfer Buffer 20 %, Bio-Rad Laboratories®, Hercules, CA, EEUU; y metanol 20 % en agua destilada) y el equipo Trans-Blot® Turbo™ transfer system (Bio-Rad Laboratories®, Hercules, CA, EEUU).

Los posibles residuos del proceso de transferencia fueron eliminados con tampón de lavado (Tris 1 M pH 7,5 2 %, NaCl 3 M 5 % y polisorbato 20 0,1 % diluido en agua destilada). La membrana se bloqueó con BSA al 3 % para ocupar los sitios desprovistos de proteína y evitar la unión inespecífica de los anticuerpos. A continuación, se incubó con una solución que contiene el anticuerpo primario que reconocerá la proteína objeto de estudio (**Tabla 3**). Tras retirar con tampón de lavado el exceso de anticuerpo no unido, se añadió el anticuerpo secundario, que reconoce

una zona específica del anticuerpo primario, y está conjugado con la enzima HRP. Esta enzima, en presencia de peróxido de hidrógeno y luminol (Clarity® Western ECL substrate, Bio-Rad Laboratories®, Hercules, CA, EEUU) catalizó una reacción quimioluminiscente cuya intensidad lumínica fue captada por una película fotográfica (Fuji Medical X-Ray Film, Fuji, Tokyo, Japón) que se reveló utilizando el equipo Kodak® Medical X-Ray Processor (Kodak®, Rochester, NY, EEUU).

La determinación de la concentración de proteína por esta técnica es semicuantitativa y se utiliza como referencia el control positivo. Para ello, la película se digitaliza y la intensidad de color de la banda correspondiente se cuantifica utilizando el programa informático Scion Image® (Scion Corporation®, Frederick, MD, EEUU).

Anticuerpo primario	Condiciones de incubación	Anticuerpo secundario	Condiciones de incubación
$\alpha$ -Transferrina (I-20) (sc-22597, Santa Cruz Biotechnology®, Santa Cruz, CA, EEUU)	1:1.000 en BSA 1 %, 12 h 4 °C	$\alpha$ -Cabra (6300-05, Southern Biotech®, AL, EEUU)	1:10.000 en BSA 1 % 45 min, T ambiente
$\alpha$ -Gelsolina (C-20) (sc-6505, Santa Cruz Biotechnology®, Santa Cruz, CA, EEUU)	1:600 en BSA 1 %, 12 h, 4 °C	$\alpha$ -Cabra (6300-05, Southern Biotech®, AL, EEUU)	1:10.000 en BSA 1 % 45 min, T ambiente
$\alpha$ -GM2AP (propio)	1:1.000 en BSA 1 %, 2 h, T ambiente	$\alpha$ -Conejo (4052-05, Southern Biotech®, AL, EEUU)	1:10.000 en BSA 1 % 30 min, T ambiente

**Tabla 3.** Relación de anticuerpos primarios utilizados en los western blot, con sus correspondientes anticuerpos secundarios y condiciones de incubación.

BSA: albúmina sérica bovina; GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2.



## 1.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Antes de llevar a cabo otros tests estadísticos, a los datos obtenidos se les aplicó el test de Grubbs para eliminar aquellos datos que fuesen anómalos (outliers). En primer lugar, se calculó el parámetro G experimental ( $G_{exp}$ ) según la fórmula:

$$G_{exp} = \frac{|Valor\ sospechoso - Promedio|}{Desviación\ estándar}$$

Posteriormente se comparó el valor de la  $G_{exp}$  con el G teórico, recogido en la Tabla de Grubbs para el tamaño de muestra estudiado (n) y con una probabilidad del 95 %. En los casos en que el valor de la  $G_{exp}$  fuese mayor que el valor de la G teórico, el valor fue considerado un outlier (Miller, 2015).

Para la comparación de los parámetros cuantitativos entre los distintos grupos de estudio, en primer lugar, se aplicó el test de Kolmogorov-Smirnov para comprobar si su distribución se ajustaba a la normalidad (se asumió que se ajustaban a la normalidad cuando el valor de p era superior a 0,05). En caso de ser así, se aplicaron test estadísticos paramétricos. Se realizó el test estadístico de análisis de varianza ANOVA para determinar las diferencias significativas entre más de dos grupos de datos, acoplado a un test de Scheffé; y el test t de Student para determinar la existencia de diferencias significativas entre dos grupos de datos en un mismo día de estudio. Los p-valores inferiores a 0,05 se consideraron estadísticamente significativos.

Cuando el conjunto de datos no siguió una distribución normal, se utilizaron test estadísticos no paramétricos. Se empleó el test U de Mann-Whitney para comparar las medianas de dos grupos en un mismo día de tratamiento y el test de Kruskal-Wallis para encontrar diferencias en un mismo grupo en los diferentes días de tratamiento. Se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas si el valor de p era menor a 0,05.

Todos los test se realizaron utilizando el programa informático IBM SPSS Statistics® 23 (International Business Machines®, Armonk, NY, EEUU).

## 2. ESTUDIO CLÍNICO

El objetivo de este estudio era validar, en pacientes cardiopatas, si los biomarcadores identificados en modelos preclínicos podrían ser útiles para diagnosticar la susceptibilidad a padecer NIC antes de recibir el medio de contraste. Los resultados positivos del mismo nos permitirían estratificar a los pacientes según su riesgo y poder tomar medidas preventivas.

### 2.1. CONSIDERACIONES LEGALES

El estudio clínico descrito a continuación respeta los principios éticos recogidos en la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial, el Convenio sobre los Derechos Humanos y la Biomedicina del Consejo de Europa, la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos de la UNESCO, las disposiciones de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica; así como los requerimientos establecidos por la legislación española en el campo de la protección de datos personales y la bioética. Además, el estudio recibió una evaluación favorable por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del Complejo Asistencial Universitario de Salamanca (CAUSA).

Antes de su inclusión, todos los pacientes de este trabajo fueron informados verbalmente del estudio que se estaba realizando. Además, se les entregó una “Hoja de información al paciente”, tras la lectura de la cual cada paciente firmó el consentimiento informado. (ANEXO I). Puesto que era necesario el almacenamiento de muestras biológicas en el Biobanco del CAUSA, también fue necesario que cada paciente leyese y firmase el “Documento de consentimiento informado del Biobanco” (ANEXO II).

### 2.2. DESCRIPCIÓN GENERAL

Se trata de un estudio observacional en el que se incluyeron pacientes procedentes del Servicio de Cardiología del CAUSA a los que se les administraba un medio de

contraste como parte de su tratamiento diagnóstico o intervencionista. Los contrastes fueron administrados por vía intravenosa siguiendo las guías de práctica clínica del hospital. Se utilizaron los medios de contraste Iohexol, de baja osmolaridad no iónico (concretamente Omnipaque®) o Iodixanol, isoosmolar no iónico (concretamente Visipaque®). El estudio no alteraba el procedimiento estándar a seguir con los pacientes ni exigía ninguna actuación o intervención adicional. Además, se realizó con la supervisión y participación de diferentes profesionales acreditados. Los facultativos del Servicio de Cardiología se encargaron del reclutamiento, tratamiento y seguimiento de los pacientes, así como de la recogida de muestras y datos bioquímicos de los pacientes. El personal docente e investigador fue el responsable de elaborar los protocolos de actuación, así como de realizar las técnicas analíticas y de procesar los resultados mediante estudios estadísticos.

### 2.3.PROTOCOLO Y DESARROLLO

#### 2.3.1.Reclutamiento de pacientes

Los criterios de inclusión y de exclusión establecidos fueron:

- Criterios de inclusión:
  - Haber otorgado el consentimiento informado
  - Ser mayor de edad
- Criterios de exclusión
  - Presentar alguna enfermedad o situación de importancia clínica que en opinión del investigador interfiriera en las evaluaciones del estudio.

Los pacientes podían retirarse libremente del estudio en cualquier momento sin necesidad de dar explicaciones.

#### 2.3.2.Recogida de datos

Se elaboró una base de datos en soporte informático (Microsoft Office Excel® 2016, Microsoft®, Redmont, WA, EEUU) en la que, de cada paciente, y tras preservar su

identidad mediante un sistema de encriptación previamente establecido, se recogió la siguiente información (**Tabla 4**):

<b>Datos descriptivos y antropométricos</b>	Edad Sexo Peso Altura Índice de masa corporal
<b>Enfermedades previas y factores de riesgo</b>	Enfermedad renal previa Hipertensión arterial Diabetes mellitus Dislipidemia Tabaquismo Obesidad Alcoholismo Tratamientos farmacológicos Otros
<b>Datos sobre el medio de contraste administrado</b>	Tipo de medio de contraste Volumen administrado
<b>Datos sobre la estancia hospitalaria</b>	Tiempo de estancia hospitalaria Exitus

**Tabla 4.** Datos recogidos a partir de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el estudio clínico.

### 2.3.3. Recogida de muestras de sangre y orina

Se recogieron muestras de sangre en los siguientes tiempos:

- Antes de la administración del medio de contraste.
- Cada día tras la administración del medio de contraste, a razón de una muestra diaria hasta el momento del alta, con la finalidad de comprobar la evolución de la función renal.

Las muestras de sangre fueron enviadas al Servicio de Análisis Clínicos del CAUSA. En ellas se midió la creatinina plasmática, utilizando un analizador automático (Hitachi 917®, Roche Diagnostics®, Mannheim, Alemania).

En relación con las muestras de orina, se recogió la muestra previa a la administración del medio de contraste, y se envió al Biobanco del CAUSA, donde fue centrifugada a 2.000 g durante 9 minutos y almacenada en alícuotas a -80 °C hasta su utilización para las determinaciones analíticas.

#### 2.3.4. Distribución de los pacientes en los grupos de estudio

En función de los resultados obtenidos en las analíticas sanguíneas, los pacientes fueron distribuidos en los siguientes grupos:

- Grupo Controles: pacientes que no sufrieron NIC tras recibir el medio de contraste.
- Grupo Casos: pacientes que, tras la administración del medio de contraste, sufrieron NIC. El criterio seguido fue el de la Sociedad Europea de Radiología Urogenital, que establece un aumento en la creatinina plasmática de  $\geq 0,5$  mg/dL o un incremento  $\geq 25$  % respecto a la creatinina basal en un periodo de hasta 5 días tras la exposición al contraste.

## 2.4. CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO Y DE PREDISPOSICIÓN

### 2.4.1. Concentración de creatinina urinaria

La concentración de creatinina urinaria se determinó utilizando el kit comercial “Quantichrom® creatinine assay kit” de BioAssay Systems® (Haywar, CA, EEUU), siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 1.4.1 de esta sección. Los valores de creatinina urinaria se utilizaron para homogeneizar los resultados de los marcadores urinarios analizados y así obtener datos de excreción urinaria. Para ello se empleó la siguiente fórmula:

$$\text{Excreción urinaria de marcador} = \frac{\text{Concentración urinaria de marcador}}{\text{Concentración urinaria de creatinina}}$$

### 2.4.2. Excreción urinaria de proteínas

La cuantificación urinaria de proteínas se llevó a cabo mediante el método de Bradford, siguiendo el protocolo descrito en el apartado 1.4.3 de esta sección.

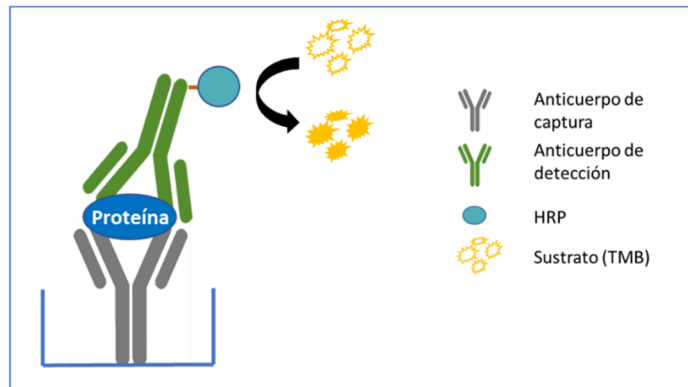
### 2.4.3. Excreción urinaria de N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa

La cuantificación de los niveles urinarios de esta enzima se realizó mediante el kit comercial “N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidase (NAG) assay kit” de Diazyme® (Poway, CA, EEUU) de acuerdo el procedimiento descrito en el apartado 1.6.1 de esta sección. El espectrofotómetro utilizado fue el Epoch® (Biotek®, Winooski, VT, EEUU).

### 2.4.4. Excreción urinaria de lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos, de la molécula de daño renal 1 y de albúmina

La determinación de estos biomarcadores se llevó a cabo mediante kits comerciales basados en la técnica ELISA. Para la evaluación de la NGAL el kit empleado fue el “Human NGAL ELISA kit 036CE®” (BioPorto Diagnostics®, Hellerup, Dinamarca) y para cuantificar la KIM-1 se utilizó el kit “KIM-1 (human) ELISA Kit #ADI-900-226®” (Enzo Life Sciences®, Farmingdale, NY, EEUU). Para la cuantificación de la albúmina se empleó el “Human Albumin ELISA Quantitation Set E80-129®” y para determinar la transferrina el “Human Transferrin ELISA Quantitation Set E80-128®” (ambos de Bethyl Laboratories®, Montgomery, TX, EEUU). Para la realización de estos dos últimos ELISAs es necesario el “ELISA Starter Accesory kit E101®” también de Bethyl Laboratories®. Los “Quantitation set” contienen los anticuerpos necesarios para, con la ayuda de los diluyentes del “Starter kit”, llevar a cabo el ELISA.

Todos los ELISAs mencionados son de “tipo sándwich” o de captura, y el fundamento y el cálculo de las concentraciones se ha explicado previamente en el apartado 1.6.2 de esta sección, con la excepción de que, en los ELISAs de transferrina y albúmina, el anticuerpo de detección está conjugado con la enzima HRP, por lo que su protocolo es más reducido (**Figura 9**).



**Figura 9.** Esquema representativo de los ELISAs de albúmina y transferrina llevados a cabo. HRP: peroxidasa de rábano picante; TMB: tetrametilbenzidina

#### 2.4.5. Excreción urinaria de transferrina, t-gelsolina y de la proteína activadora del gangliósido GM2

La determinación de estos biomarcadores se llevó a cabo mediante la técnica de western blot, siguiendo el procedimiento y empleando los anticuerpos descritos en el apartado 1.6.3 de esta sección. El volumen cargado de cada muestra no dependía del flujo urinario, puesto que no se disponía de dicho dato, sino que se cargó el mismo volumen para todas las muestras, 21  $\mu$ L. Los resultados obtenidos fueron corregidos con el valor de creatinina urinaria.

### 2.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Antes de llevar a cabo las diferentes pruebas estadísticas, a los datos obtenidos, se les aplicó el test de Grubbs para eliminar aquellos datos que fuesen anómalos (outliers), siguiendo el procedimiento que figura en el apartado 1.7 de esta sección.

#### 2.5.1. Test de contraste entre los grupos de estudio

Para el estudio de las semejanzas o diferencias de los diversos parámetros estudiados entre el grupo Casos y el grupo Controles, se aplicaron varios test estadísticos.

En el caso de las variables cualitativas dicotómicas, la existencia de diferencias significativas entre ambos grupos se estudió aplicando un test  $\chi^2$  (chi-cuadrado) de Pearson. Se consideró que había diferencias estadísticamente significativas si el p-valor era inferior a 0,05.

En el caso de variables cuantitativas continuas, en primer lugar, se estudió si los datos en ambos grupos seguían una distribución normal, aplicando el test de Kolmogorov-Smirnov. Se asumió que los datos se ajustaban a la normalidad si el p-valor era superior a 0,05. En las variables normales se aplicó el test t de Student de contraste de medias, y en las variables que no se distribuían de acuerdo a la normalidad se aplicó el test U de Mann-Whitney de contraste de medianas. En ambos casos se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas si el p-valor era inferior a 0,05.

Todos los test se realizaron utilizando el programa informático IBM SPSS Statistics® 23 (International Business Machines®, Armonk, NY, EEUU).

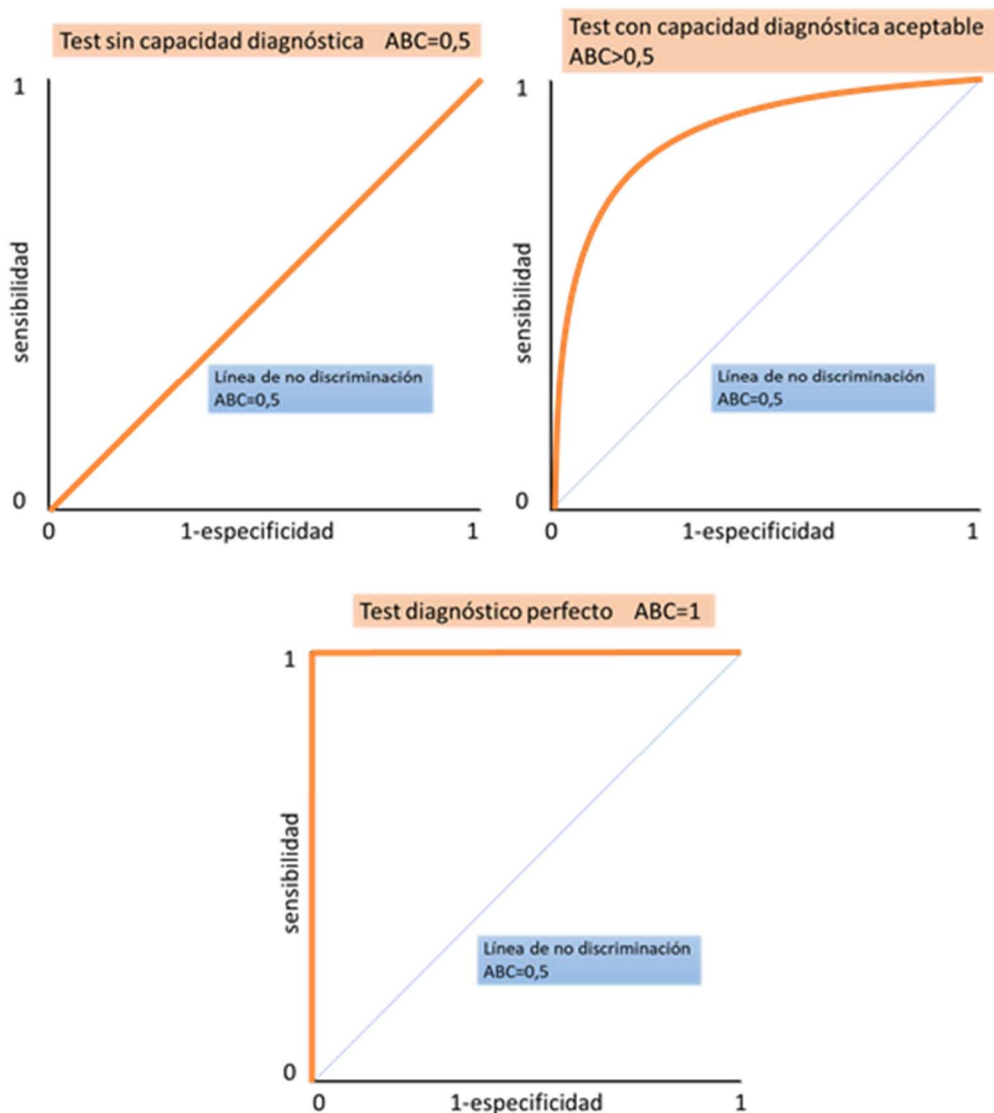
### 2.5.2. Evaluación de la capacidad diagnóstica de los marcadores urinarios

El estudio de la capacidad diagnóstica de los marcadores urinarios se realizó mediante curvas ROC. Las curvas ROC, acrónimo en inglés de *receiver operating characteristic* (característica operativa del receptor) son un método estadístico utilizado para determinar la exactitud diagnóstica de pruebas que utilizan escalas continuas. Este método permite evaluar la capacidad discriminativa de un test diagnóstico (capacidad para diferenciar sujetos sanos de enfermos) y compararla con la de otros (Cerda y Cifuentes, 2012). Para ello se representan en un sistema de coordenadas la proporción de individuos positivos clasificados incorrectamente, o falsos positivos (1-especificidad); y la proporción de individuos positivos clasificados adecuadamente (sensibilidad) (Martínez-Camblora, 2007).

Para estimar la capacidad discriminativa de la prueba diagnóstica el parámetro utilizado es el área bajo la curva (ABC), que refleja la calidad del test para discriminar pacientes con y sin enfermedad. En la gráfica, el eje Y corresponde a la proporción de



verdaderos positivos (sensibilidad) y el eje X a la proporción de falsos positivos (1-especificidad) Por tanto, cada punto de la curva representa la proporción de verdaderos positivos frente a la de falsos positivos para ese valor de marcador medido. A modo de referencia se traza una línea diagonal o línea de no discriminación (**Figura 10**). Cuando el ABC correspondiente a la línea trazada es de 0,5, significa que el test diagnóstico no tiene capacidad para distinguir pacientes sanos de enfermos, pues para cada punto de corte existiría la misma proporción de verdaderos positivos que de falsos positivos. Un test tendrá mayor capacidad diagnóstica cuanto más lejana de la línea de no discriminación se sitúe la curva ROC trazada, hasta llegar a un ABC de 1. En ese caso, la totalidad de los casos serían verdaderos positivos, teniendo por tanto una capacidad diagnóstica perfecta.



**Figura 10.** Curvas ROC y su capacidad diagnóstica.  
ABC: área bajo la curva; ROC: receiver operating characteristic

## B.TERAPIA PREVENTIVA

### 1. ENSAYO CLÍNICO

Dado que el estrés oxidativo es uno de los principales mecanismos patológicos implicados en el desarrollo de la NIC, y teniendo en cuenta que en estudios preclínicos la quercetina ha demostrado ser útil en la prevención de la nefrotoxicidad, el segundo abordaje planteado frente a la NIC fue la administración del antioxidante quercetina como terapia preventiva. Para ello se desarrolló un ensayo clínico con pacientes cardiópatas del CAUSA en el que se evaluó tanto la eficacia para disminuir la nefrotoxicidad de los medios de contraste, como la seguridad de la quercetina.

#### 1.1.CONSIDERACIONES LEGALES

El ensayo clínico descrito a continuación respeta los principios éticos recogidos en la Declaración de Helsinki de la Asamblea Médica Mundial, el Convenio sobre los Derechos Humanos y la Biomedicina del Consejo de Europa; y la Declaración Universal sobre el Genoma Humano y los Derechos Humanos de la UNESCO.

Así mismo cumple las disposiciones de la Ley 14/2007, de 3 de julio, de Investigación Biomédica y el RD 223/2004 de 6 de febrero que regula los ensayos clínicos con medicamentos; así como los requerimientos establecidos por la legislación española en el campo de la protección de datos personales y la bioética. Además, el estudio recibió una evaluación favorable por parte del Comité Ético de Investigación Clínica del CAUSA.

Antes de su inclusión, todos los pacientes de este trabajo fueron informados verbalmente del estudio que se estaba realizando. Además, se les entregó una “Hoja de información al paciente”, tras la lectura de la cual cada paciente firmó el consentimiento informado. (ANEXO III). Puesto que era necesario el almacenamiento de muestras biológicas en el Biobanco del CAUSA, también fue necesaria la lectura y firma del “Documento de consentimiento informado del Biobanco” (ANEXO II).

## 1.2.DESCRIPCIÓN GENERAL

Se trata de un ensayo clínico en fase II, abierto, en el que se incluyeron pacientes del Servicio de Cardiología del CAUSA a los que se les administraba un medio de contraste yodado, y en los que se estudiaba la eficacia del flavonoide quercetina para disminuir la incidencia de la NIC. Los medios de contraste eran administrados por vía intravenosa siguiendo las guías de práctica clínica del hospital. Se utilizaron el medio de contraste Iohexol, de baja osmolaridad no iónico (concretamente Omnipaque®) o el Iodixanol, isoosmolar no iónico (concretamente Visipaque®).

El estudio se realizó con la supervisión y participación de diferentes profesionales acreditados. Así, el personal docente e investigador fue el encargado de elaborar los protocolos de actuación y realizar el seguimiento del proyecto, así como de la fase analítica y de llevar a cabo los estudios estadísticos. Los facultativos del Servicio de Cardiología del CAUSA se encargaron de tramitar las pertinentes autorizaciones por las agencias oficiales, así como del reclutamiento, tratamiento y seguimiento de los pacientes. Por último, el equipo de Enfermería del Servicio de Cardiología fue responsable de la administración de la quercetina y de la recogida de las muestras y de los datos bioquímicos de los pacientes.

## 1.3.PROTOCOLO Y DESARROLLO

### 1.3.1.Reclutamiento de pacientes

Los criterios de inclusión y de exclusión establecidos fueron:

- Criterios de inclusión:
  - Haber otorgado el consentimiento informado
  - Ser mayor de edad
- Criterios de exclusión
  - Presentar alguna enfermedad o situación de importancia clínica que, en opinión del investigador, interfiriera en las evaluaciones del estudio.

- Presentar una infección activa y/o una úlcera péptica gástrica o duodenal activa no controlada.
- Estar embarazada o en periodo de lactancia
- Abuso de drogas conocido
- Presentar cualquier trastorno que le impidiera firmar el consentimiento informado.
- Reacción alérgica conocida a la quercetina
- Haber realizado un tratamiento experimental en los 30 días previos a la entrada en el estudio.

Los pacientes podían retirarse libremente del estudio en cualquier momento sin necesidad de dar explicaciones, o si aparecía toxicidad por quercetina u ocurría algún otro evento que fuese clínicamente relevante y afectase a la seguridad del paciente.

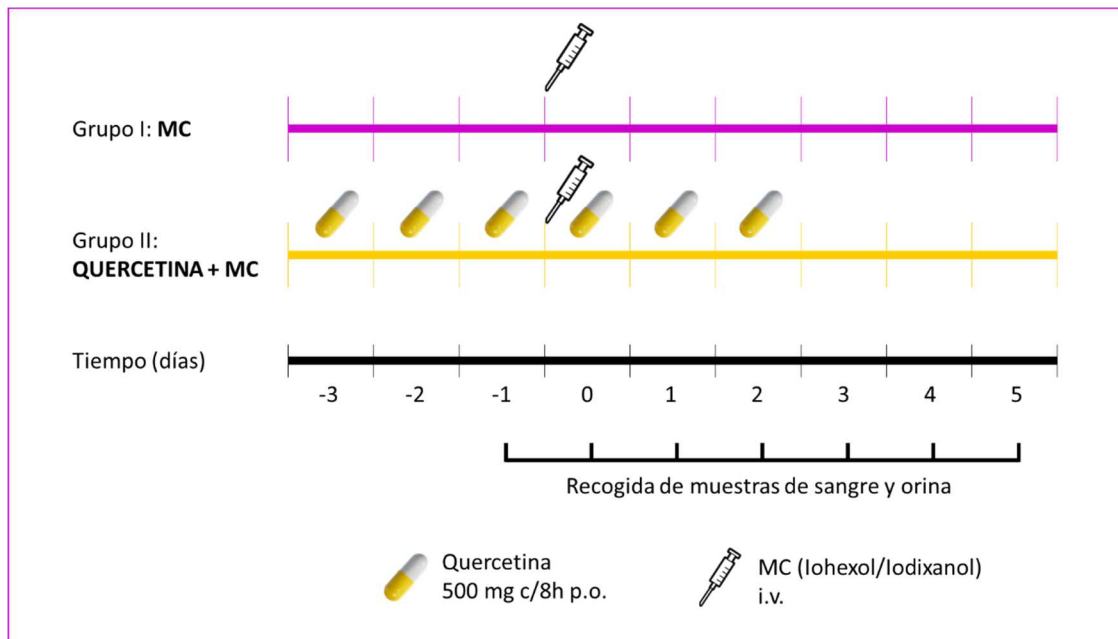
### 1.3.2. Diseño experimental

Los pacientes que aceptaron su inclusión en el estudio y cumplieron los criterios establecidos fueron divididos en dos grupos (**Figura 11**):

- Grupo I, contraste (MC): pacientes que recibieron un medio de contraste.
- Grupo II, quercetina + contraste (Q + MC): pacientes a los que se les administró un medio de contraste y quercetina. Esta última se administró por vía oral a una dosis de 500 mg cada 8 horas. Esa pauta se inició tres días antes de la realización del procedimiento en el que se administraba el medio de contraste (día -3) y se alargó hasta dos días después del procedimiento (día 2).

El momento de la administración del medio de contraste se consideró como el día 0.

La quercetina fue distribuida por el laboratorio Acofarma® (Madrid, España), en formato de polvo y con una pureza del 95,25 %. La encapsulación de la quercetina en dosis de 500 mg se realizó en una farmacia comunitaria, que contaba con la autorización precisa para ese fin. Posteriormente, desde el Servicio de Farmacia del CAUSA, se distribuyeron en formato unidosis. Los pacientes del grupo MC no recibieron ningún tratamiento placebo.



**Figura 11.** Diseño experimental del ensayo clínico, administración de fármacos y recogida de muestras.

MC: medio de contraste; p.o.: "per os" (vía oral); i.v.: intravenosa.

### 1.3.3. Recogida de datos

Se elaboró una base de datos en soporte informático (Microsoft Office Excel® 2016, Microsoft®, Redmont, WA, EEUU) en la que, de cada paciente, y tras preservar su identidad mediante un sistema de encriptación previamente establecido, se recogieron los siguientes datos (**Tabla 5**):

<b>Datos descriptivos y antropométricos</b>	Edad
	Sexo
	Peso
	Altura
	Índice de masa corporal

<b>Enfermedades previas y factores de riesgo</b>	Enfermedad renal previa Hipertensión arterial Diabetes mellitus Dislipidemia Tabaquismo Obesidad Alcoholismo Tratamientos farmacológicos Otros
<b>Datos sobre el medio de contraste administrado</b>	Tipo de medio de contraste Volumen administrado
<b>Patología tratada</b>	Insuficiencia cardiaca Infarto de miocardio
<b>Datos sobre la estancia hospitalaria</b>	Tiempo de estancia hospitalaria Exitus

**Tabla 5.** Datos recogidos a partir de las historias clínicas de los pacientes incluidos en el ensayo clínico.

#### 1.3.4. Recogida de muestras

Se recogieron muestras de sangre y orina en los siguientes tiempos:

- Inmediatamente antes de la administración del medio de contraste (día 0).
- Cada día tras la administración del medio de contraste, a razón de una muestra diaria hasta el momento del alta, con la finalidad de comprobar la evolución de la función renal.

En el caso de las muestras de sangre, estas fueron enviadas al Servicio de Análisis Clínicos del CAUSA. En ellas se midió la creatinina plasmática, utilizando un analizador automático (Hitachi 917®, Roche Diagnostics®; Mannheim, Alemania).

Las muestras de orina fueron enviadas al Biobanco del CAUSA, donde fueron centrifugadas a 2.000 g durante 9 minutos y almacenadas en alícuotas a -80 °C, hasta ser utilizadas para las determinaciones analíticas.

## 1.4. ESTUDIO DE LA FUNCIÓN RENAL

### 1.4.1. Cálculo de la tasa de filtración glomerular

La TFG se estimó mediante el cálculo del aclaramiento de creatinina, para lo que se utilizaron las ecuaciones de Cockcroft-Gault (CG) y la Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI), las cuales calculan el aclaramiento de creatinina ( $Cl_{Cr}$ ).

- Ecuación de CG:

$$\text{Aclaramiento de creatinina} = \frac{(140 - \text{Edad}) \times \text{Peso (kg)}}{72 \times \text{Creatinina plasmática } \left(\frac{\text{mg}}{\text{dL}}\right)} \times (0,85 \text{ si mujer})$$

- Ecuación CKD-EPI:

Raza	Sexo	Cr (mg/dL)	Ecuación
Blanca	Mujer	≤ 0,7	$Cl_{Cr} = 144 \times (\text{Crpl}/0,7)^{-0,329} \times (0,993)^{\text{edad}}$
Blanca	Mujer	> 0,7	$Cl_{Cr} = 144 \times (\text{Crpl}/0,7)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{edad}}$
Blanca	Hombre	≤ 0,9	$Cl_{Cr} = 141 \times (\text{Crpl}/0,9)^{-0,411} \times (0,993)^{\text{edad}}$
Blanca	Hombre	> 0,9	$Cl_{Cr} = 141 \times (\text{Crpl}/0,9)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{edad}}$
Negra	Mujer	≤ 0,7	$Cl_{Cr} = 166 \times (\text{Crpl}/0,7)^{-0,329} \times (0,993)^{\text{edad}}$
Negra	Mujer	> 0,7	$Cl_{Cr} = 166 \times (\text{Crpl}/0,7)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{edad}}$
Negra	Hombre	≤ 0,9	$Cl_{Cr} = 163 \times (\text{Crpl}/0,9)^{-0,411} \times (0,993)^{\text{edad}}$
Negra	Hombre	> 0,9	$Cl_{Cr} = 163 \times (\text{Crpl}/0,9)^{-1,209} \times (0,993)^{\text{edad}}$

### 1.4.2. Excreción urinaria de proteínas y de N-acetil-β-D-glucosaminidasa

Para el estudio de la función renal se cuantificó la excreción urinaria de proteínas y la excreción urinaria de NAG. Los protocolos a seguir aparecen recogidos en el apartado 1.4.3 y 1.6.1 de esta sección respectivamente. Al igual que en el estudio anterior, se utilizó la creatinina urinaria para corregir la concentración de los biomarcadores urinarios utilizados en función del flujo (de manera indirecta), y así calcular la excreción urinaria, como figura en el apartado 2.4.1 de esta sección.

### 1.5. ANÁLISIS ESTADÍSTICO DE LOS RESULTADOS

Antes de llevar a cabo los diferentes test estadísticos, a los datos obtenidos, se les aplicó el test de Grubbs para eliminar aquellos datos que fuesen anómalos (outliers), siguiendo el procedimiento que figura en el apartado 1.7 de esta sección.

#### 1.5.1. Test de contraste entre los grupos de estudio

Las diferencias o semejanzas de los diversos parámetros recogidos entre el grupo MC y el grupo Q+MC se estudiaron aplicando diversos test estadísticos.

Para comprobar la existencia de diferencias estadísticamente significativas entre las variables cualitativas dicotómicas de ambos grupos se aplicó un test  $\chi^2$  (chi-cuadrado) de Pearson. Se consideró que había diferencias estadísticamente significativas si el p-valor era inferior a 0,05.

En el caso de las variables cuantitativas continuas, en primer lugar, aplicando el test de Kolmogorov-Smirnov, se estudió si los datos seguían una distribución normal. Si el p-valor era superior a 0,05 se consideró que los datos se ajustaban a la normalidad. En ese caso se aplicó el test t de Student de contraste de medias, y si las variables no se ajustaban a la normalidad se aplicó el test U de Mann-Whitney de contraste de medianas. En ambos casos se consideró que las diferencias eran estadísticamente significativas si el p-valor era inferior a 0,05.

Todos estos test se realizaron utilizando el programa informático IBM SPSS Statistics® 23 (International Business Machines®, Armonk, NY, EEUU).

#### 1.5.2. Cálculo del riesgo relativo

El riesgo relativo (RR) mide la fuerza de asociación entre la presencia de un determinado factor de riesgo y una enfermedad (Pita-Fernández et al., 1997). En nuestro caso se ha utilizado para estudiar la probabilidad de que se desarrolle NIC en aquellos pacientes expuestos a un factor de riesgo en relación con los que no están



expuestos, y además evaluar si la administración de quercetina es capaz de reducir o no la probabilidad de desarrollar la NIC debida a cada uno de los siguientes factores de riesgo: diabetes mellitus, HTA, dislipidemia, tabaquismo y administración de más de 350 mL de medio de contraste. El cálculo del RR se realizó siguiendo la siguiente fórmula:

$$RR = \frac{\text{Incidencia en expuestos}}{\text{Incidencia en no expuestos}} = \frac{a/(a + b)}{c/(c + d)}$$

en la que:

- a: número de pacientes que desarrollan NIC y tienen el factor de riesgo.
- b: número de pacientes que no desarrollan NIC, pero tienen el factor de riesgo.
- c: número de pacientes que desarrollan NIC, pero no tienen el factor de riesgo.
- d: número de pacientes que no desarrollan NIC ni tienen el factor de riesgo.

El valor obtenido, que no tiene dimensiones, presentará un valor de 0 a infinito. Si el RR es igual a 1 significa que no existe asociación entre la presencia del factor de riesgo y el evento, y si el RR es >1 significa que la asociación es positiva, es decir, la presencia del factor de riesgo se asocia con una mayor ocurrencia del evento. Para estudiar si el valor obtenido era estadísticamente diferente de 1 se calculó el intervalo de confianza del 95 %, y si este no engloba el 1 se puede afirmar que el valor de RR es distinto de 1 con un valor de probabilidad  $p < 0,05$ .

## 1.6.SEGURIDAD DE LA QUERCETINA

Para estudiar la seguridad de la quercetina, los pacientes incluidos en el estudio, ayudados por el personal de enfermería del Servicio de Cardiología, respondieron a una encuesta. Esta encuesta contenía preguntas sobre diferentes aspectos relacionados con la aparición de efectos adversos o la posible toxicidad de la quercetina. En concreto se les preguntó si habían experimentado alguno de los siguientes efectos tras ingerir el flavonoide: cefaleas, palpitaciones, diarrea, astenia, edema, náuseas o vómitos, dolor abdominal vértigo o fiebre.







## *Resultados*











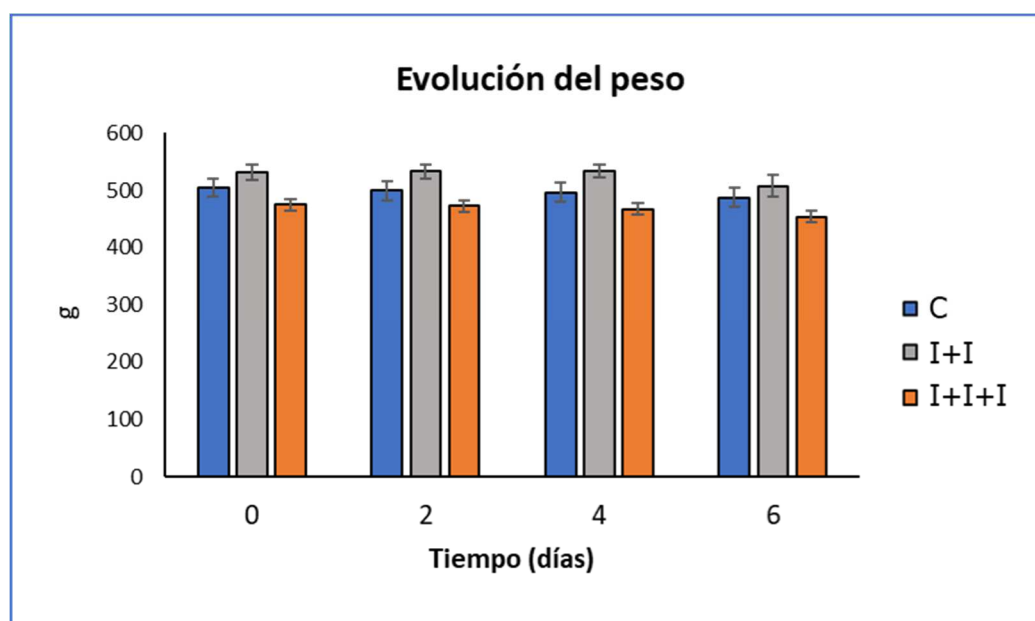
## A. DIAGNÓSTICO TEMPRANO

### 1. MODELO PRECLÍNICO

Se diseñó un modelo de predisposición adquirida al DRA mediante la administración de dosis subtóxicas del medio de contraste Iohexol. El estudio preclínico propuesto se llevó a cabo con animales de una edad de 9 meses, con la finalidad de simular el perfil del paciente que recibe medio de contraste, ya que generalmente se trata de personas de edad avanzada.

#### 1.1. ESTADO FISIOLÓGICO DE LOS ANIMALES

Con el fin de evaluar el estado fisiológico de los animales se monitorizó la evolución del peso corporal, y se observaron posibles cambios en el aspecto y comportamiento de los animales.



**Figura 12.** Evolución del peso corporal de los animales durante el experimento.

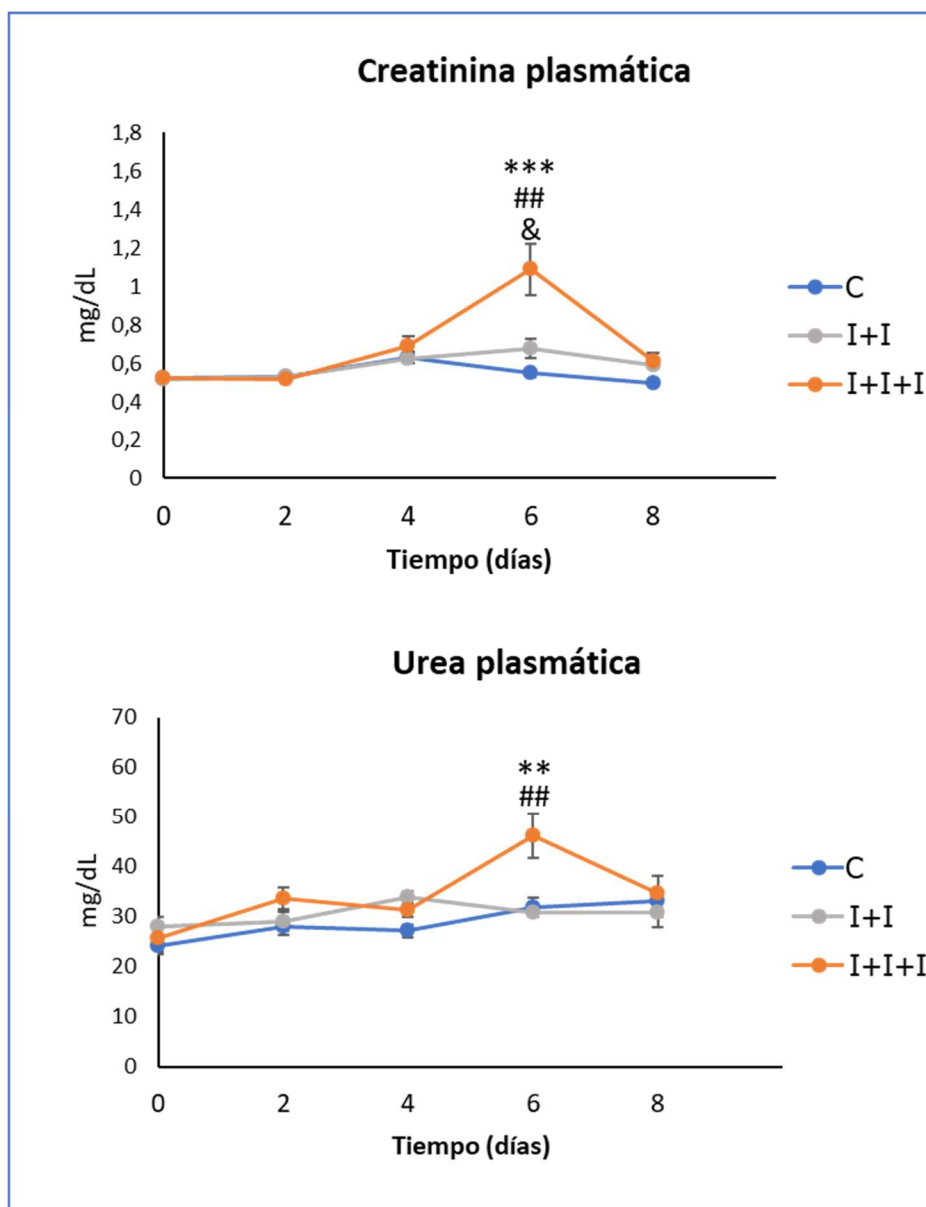
Los datos se expresan como promedio  $\pm$  Error Estándar de la Media (EEM).

C: grupo control, suero fisiológico intravenoso los días 0, 2 y 4; I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0 y 2, y suero fisiológico el día 4; I+I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0, 2 y 4.

Como se puede observar en la **Figura 12**, los tres grupos experimentales partieron de un peso corporal basal similar, situado alrededor de los 500 g. Este es el valor normal para una rata de 9 meses de edad. A lo largo del experimento no se observaron cambios significativos, el peso corporal de los animales apenas varió durante los días que duró el estudio. En cuanto a su estado físico, tampoco se observó ninguna alteración en su aspecto ni en su comportamiento que indicase deterioro de la salud.

### 1.2.FUNCIÓN RENAL

Para evaluar la función renal se determinaron los marcadores creatinina y urea plasmáticas. Como se puede observar en la **Figura 13**, los tres grupos experimentales partían de una función renal similar. La administración de dos dosis de Iohexol parece no alterar la función renal, medida mediante estos marcadores. Este dato se evidenció en el grupo I+I, en el que la creatinina y la urea mantenían valores similares al grupo Control durante todo el periodo experimental. En cambio, la administración de tres dosis de Iohexol (grupo I+I+I) produjo un incremento tanto de la creatinina como de la urea plasmáticas, que se manifestó el día 6 del experimento, es decir dos días después de la administración de la tercera dosis de Iohexol. En ese momento, la concentración de ambos marcadores fue estadísticamente superior a la observada en los otros grupos, en los que la creatinina y urea plasmáticas apenas variaron a lo largo del periodo experimental. Por tanto, la administración de dos dosis de Iohexol predispuso a las ratas a padecer un daño renal, el cual solo se desencadenó cuando se les administró una tercera dosis del medio de contraste. Los niveles de creatinina plasmática alcanzados a día 6 supusieron un incremento de más de 0,5 mg/dL, por lo que estas ratas habrían desarrollado una NIC, en base a la definición de la misma. El daño originado fue transitorio y a día 8 los valores de creatinina y urea plasmática habían regresado a valores basales.



**Figura 13.** Evolución de la creatinina y urea plasmáticas en los diferentes grupos de estudio a lo largo del experimento.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

C: grupo control, suero fisiológico intravenoso los días 0, 2 y 4; I+I: lohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0 y 2, y suero fisiológico el día 4; I+I+I: lohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0, 2 y 4.

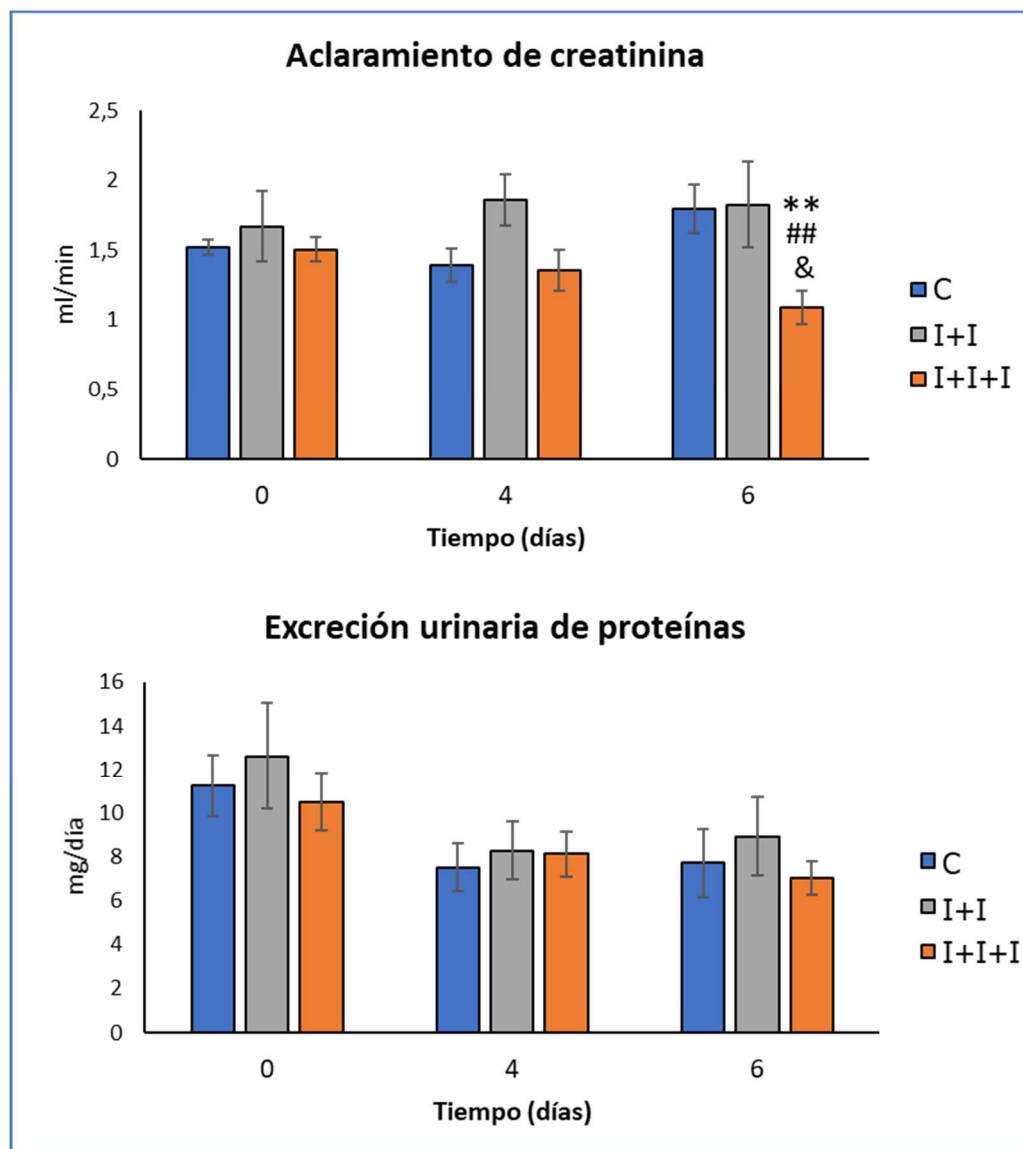
\*\* $: p < 0,01$ ; \*\*\* $: p < 0,001$  respecto a su grupo a día 0.

## $: p < 0,01$  respecto al grupo Control a ese mismo tiempo.

& $: p < 0,05$  respecto al grupo I+I a ese mismo tiempo.

El aclaramiento de creatinina confirmó los resultados obtenidos con la creatinina y urea plasmáticas, pues tras administrar dos dosis de lohexol (día 4 de estudio), no hubo diferencias estadísticamente significativas respecto al valor basal, ni en el grupo I+I ni en el I+I+I, mientras que el administrar una tercera dosis, el grupo I+I+I

experimentó una disminución estadísticamente significativa. En cuanto a la excreción diaria de proteínas, el medio de contraste Iohexol no provocó cambios significativos, ni en el momento de predisposición, tras recibir dos dosis, ni tras desencadenar el daño con una tercera dosis. Estos datos están recogidos en la **Figura 14**.



**Figura 14.** Evolución del aclaramiento de creatinina y de la excreción urinaria de proteínas a lo largo del experimento.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

C: grupo control, suero fisiológico intravenoso los días 0, 2 y 4; I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0 y 2, y suero fisiológico el día 4; I+I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0, 2 y 4

\*\* :  $p < 0,01$  respecto a su grupo a día 0.

## :  $p < 0,01$  respecto al grupo Control a ese mismo tiempo.

& :  $p < 0,05$  respecto al grupo I+I a ese mismo tiempo.

### 1.3. ESTUDIO HISTOLÓGICO

Con el objetivo de averiguar si la ausencia de cambios funcionales en el día 4, momento de la predisposición, se acompañaba de integridad en la morfología renal, se llevó a cabo un estudio histológico. Para ello, se estudiaron los riñones del día 4 del experimento, en que tanto el grupo I+I como el grupo I+I+I habían recibido dos dosis del medio de contraste. También se estudiaron los riñones del día 6, día en que las ratas del grupo I+I+I experimentaron daño renal en base a la creatinina plasmática, para ver si la estructura del riñón también se veía afectada.

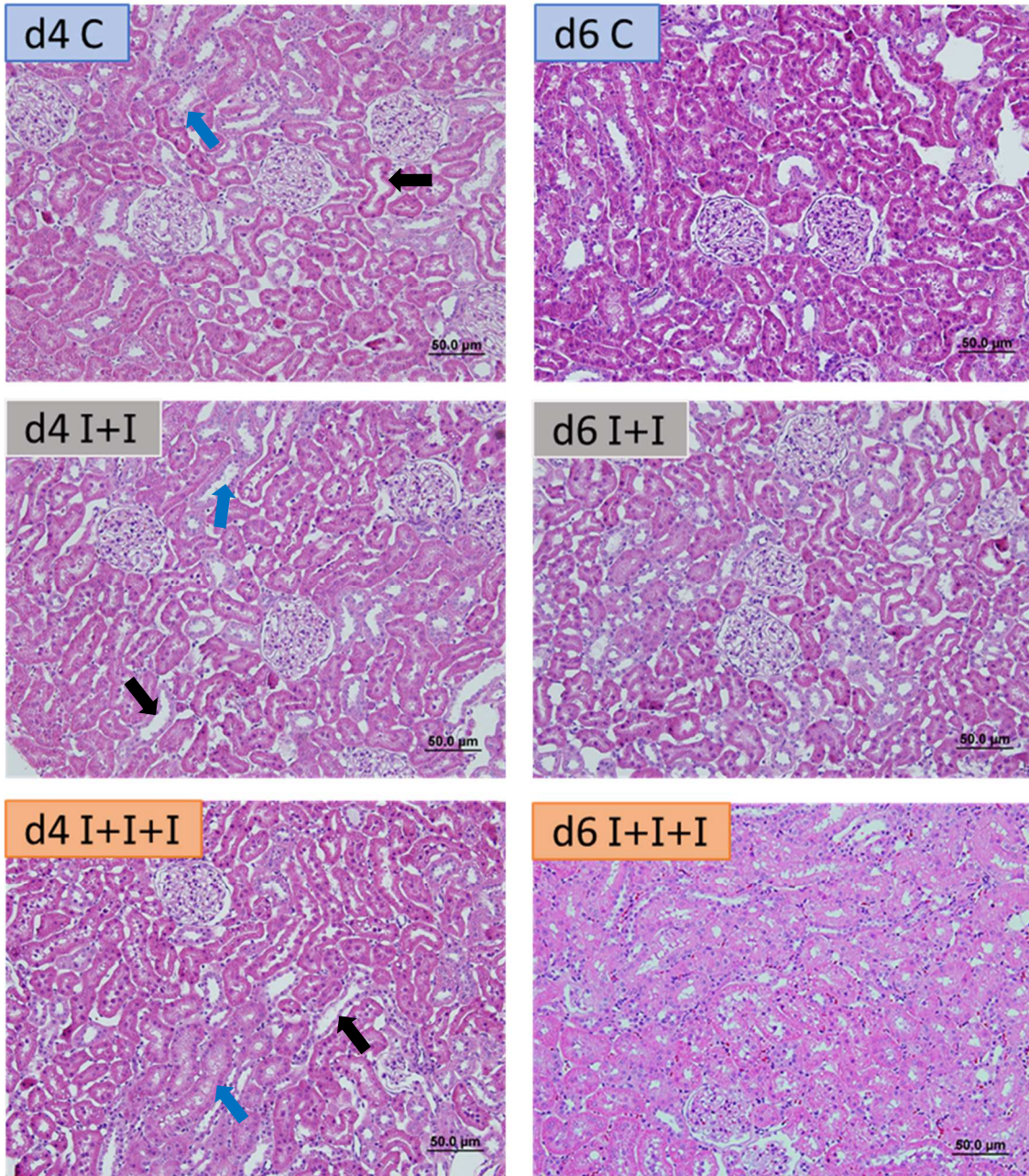
Las imágenes correspondientes al estudio histopatológico realizado en los riñones de los animales se presentan en las **Figuras 15 y 16**.

El análisis de los cortes histológicos del día 4 mostró que la corteza presentaba, de manera general, dilatación tubular leve y, de manera focal, alteración del epitelio tubular proximal. En la zona medular no se apreciaron alteraciones relevantes. Puesto que estos hallazgos estaban presentes en todos los grupos, se podrían asociar a una degeneración debida a la edad de las ratas y no a la administración del Iohexol.

En cambio, a día 6 se encontraron diferencias histológicas entre los riñones de las ratas del grupo I+I+I y los de los animales tanto del grupo Control como del grupo I+I. De manera generalizada, en los riñones de las ratas del grupo I+I+I se observó vacuolización en los túbulos proximales y alteración del epitelio de estos, tanto en la zona cortical como corticomedular, cambios que no se apreciaron en los otros dos grupos. En ninguno de los grupos hubo alteración glomerular, esclerosis o signos de inflamación.

Estos cambios morfológicos serían coherentes con el estudio funcional, no habiendo diferencias entre los grupos tras haber recibido dos dosis de Iohexol (día 4), y observándose alteración morfológica a día 6 en el grupo que presentaba alteración en la función renal tras recibir tres dosis de Iohexol (grupo I+I+I).

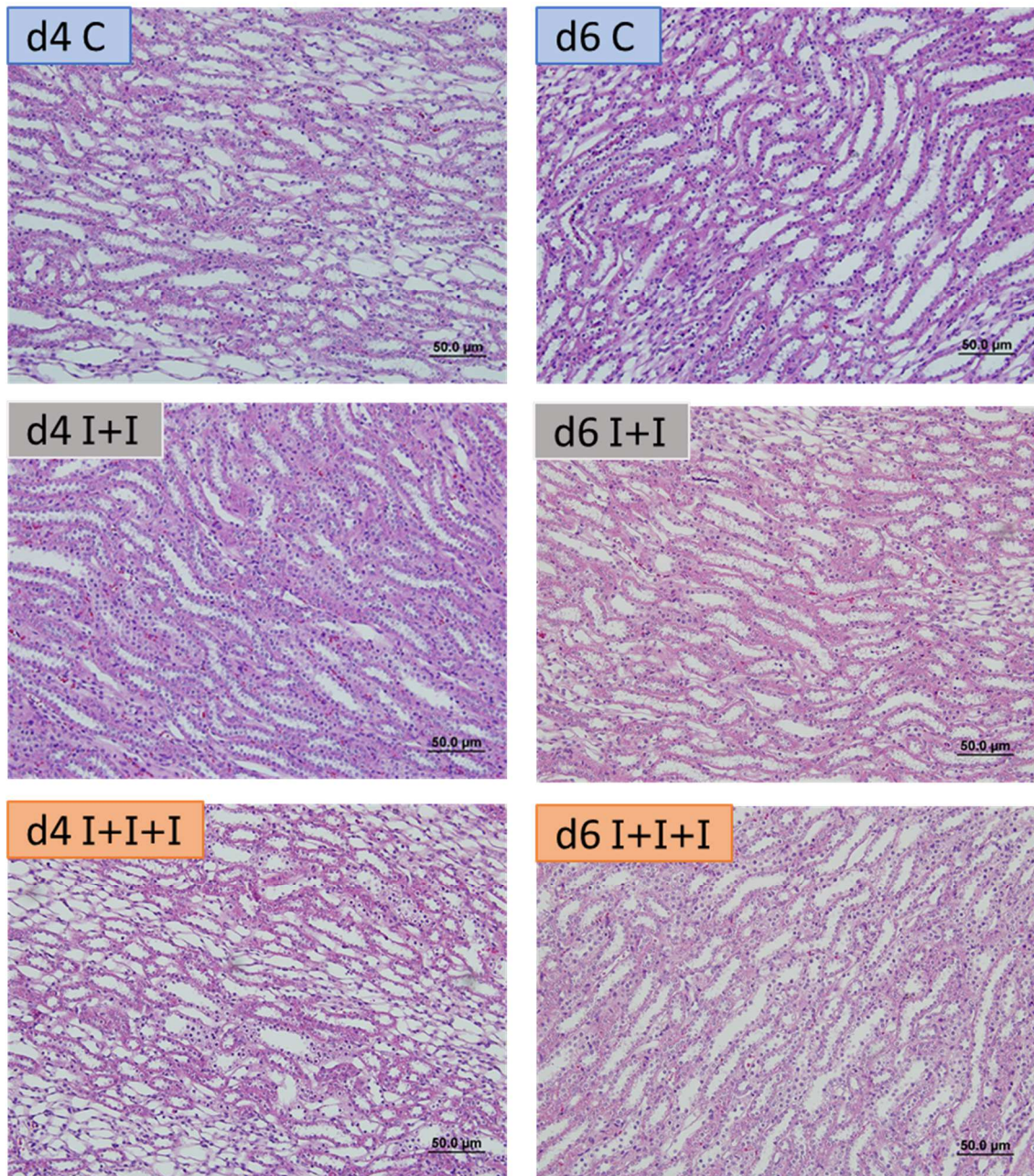




**Figura 15.** Imágenes representativas de cortes histológicos y posterior tinción con hematoxilina-eosina de la región cortical renal. Se muestra la imagen de un corte por cada grupo de estudio en los días 4 y 6. Las flechas negras marcan las dilataciones tubulares, y las flechas azules alteraciones del epitelio. Aumento de las imágenes 200X.

C: grupo control, suero fisiológico intravenoso los días 0, 2 y 4; I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0 y 2, y suero fisiológico el día 4; I+I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0, 2 y 4; d4: día 4 del estudio; d6: día 6 del estudio.



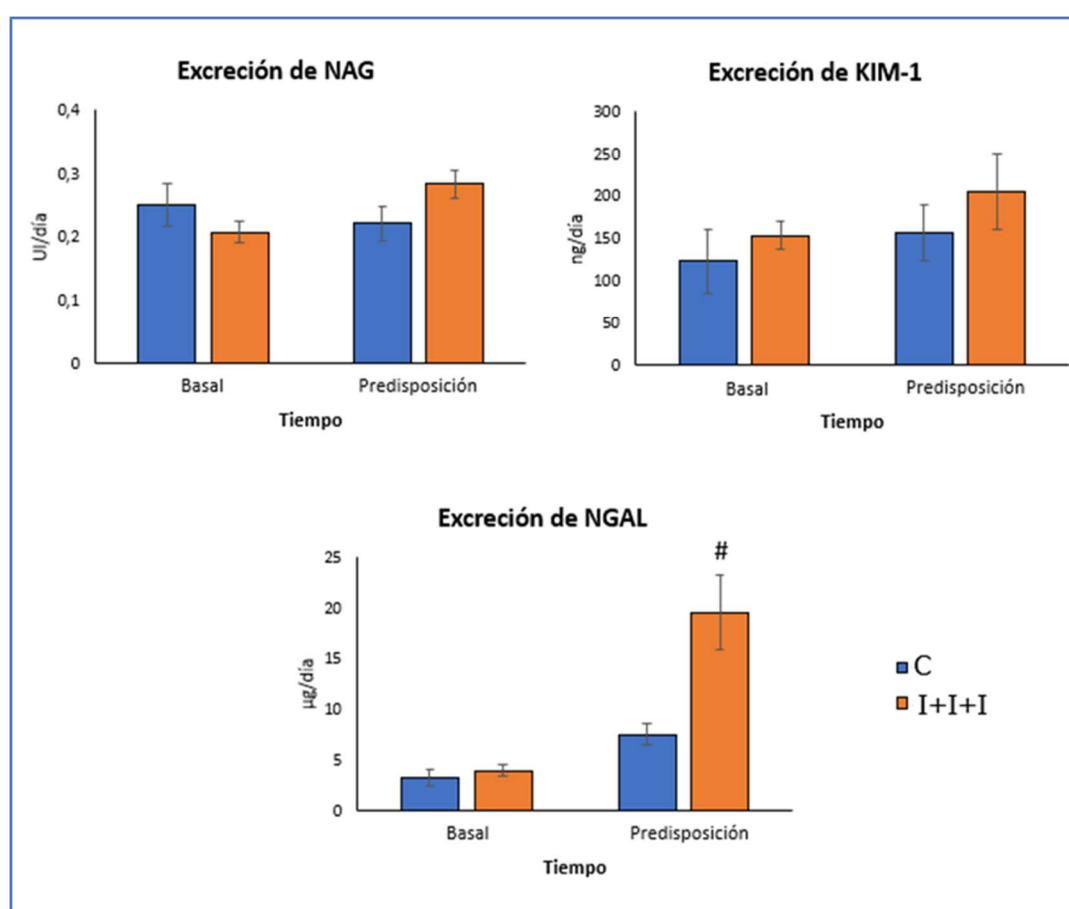


**Figura 16.** Imágenes representativas de cortes histológicos y posterior tinción con hematoxilina-eosina de la región medular renal. Se muestra la imagen de un corte por cada grupo de estudio en los días 4 y 6. Aumento de las imágenes 200X. C: grupo control, suero fisiológico intravenoso los días 0, 2 y 4; I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0 y 2, y suero fisiológico el día 4; I+I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0, 2 y 4; d4: día 4 del estudio; d6: día 6 del estudio.

## 1.4. CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE DAÑO RENAL TEMPRANO

Los resultados descritos anteriormente sientan las bases de un modelo experimental de predisposición al daño renal, que se desencadena por la administración de una tercera dosis de medio de contraste (grupo I+I+I). El siguiente paso fue comprobar si determinados biomarcadores eran capaces de detectar esta condición.

En concreto, como biomarcadores de daño renal temprano, se cuantificó la excreción urinaria de NAG, KIM-1 y NGAL a día 4 en las ratas predispuestas (grupo I+I+I) y en las ratas Control, resultados que aparecen recogidos en la **Figura 17**.



**Figura 17.** Excreción urinaria de los biomarcadores NAG, KIM-1 y NGAL el día basal y el día de predisposición (día 4)

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

C: grupo control, suero fisiológico intravenoso los días 0, 2 y 4; I+I+I: iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0, 2 y 4.

NAG: N-acetil-b-D-glucosaminidasa; KIM-1: molécula de daño renal 1; NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos.

#:  $p < 0,05$  respecto al grupo Control a ese mismo tiempo.

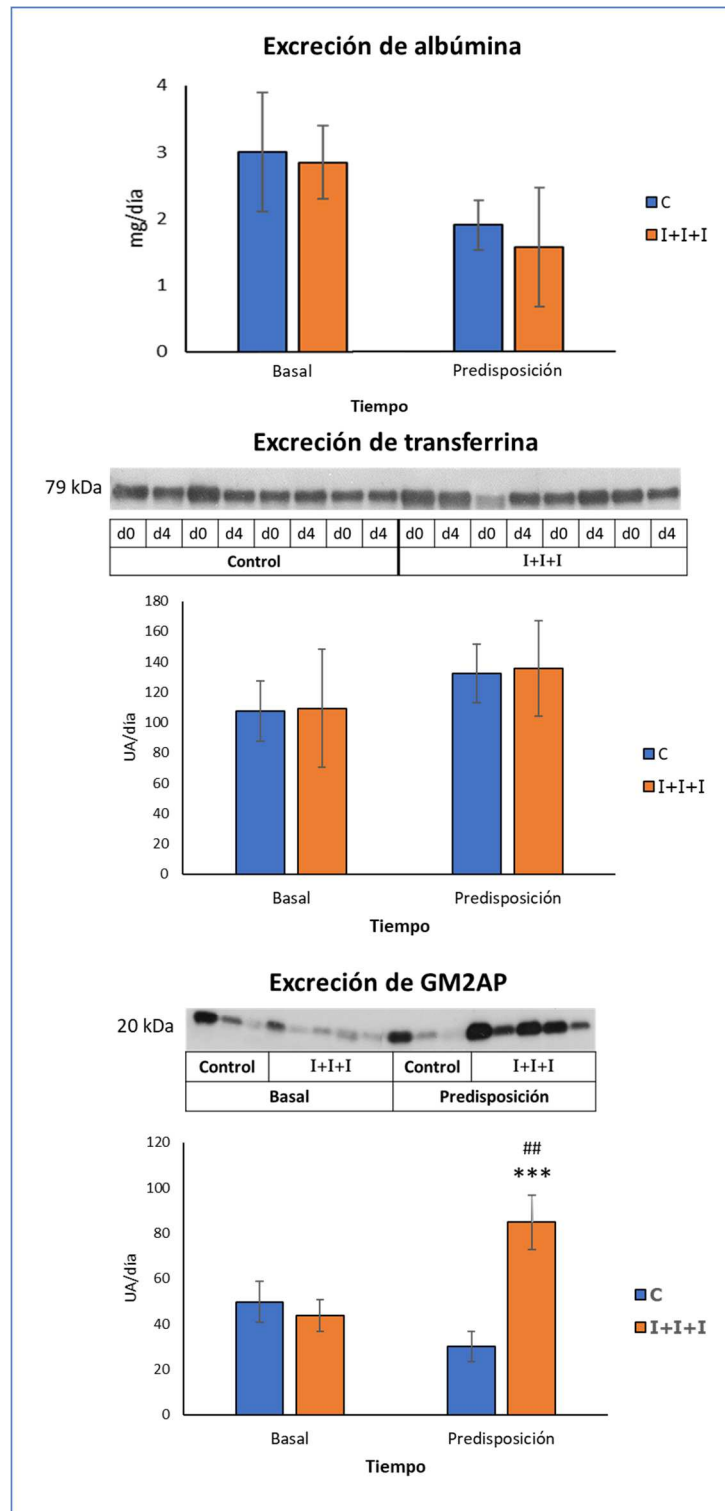


Como se puede observar, los marcadores de daño renal temprano NAG y KIM-1 no fueron capaces de detectar la predisposición al daño renal temprano causada por Iohexol que posteriormente se evidenció con la tercera dosis. La proteína NGAL, en cambio, podría ser útil como marcador de predisposición, al mostrar una excreción significativamente superior en las ratas predispuestas al daño renal.

Para llevar a cabo un estudio más exhaustivo que detectase el riesgo a padecer daño renal se cuantificaron marcadores más específicos de predisposición.

### 1.5. CUANTIFICACIÓN DE BIOMARCADORES DE PREDISPOSICIÓN

Se llevó a cabo la cuantificación de la excreción urinaria de los biomarcadores de predisposición albúmina, transferrina, t-gelsolina y GM2AP. La t-gelsolina no se detectó en ninguno de los grupos ni a ninguno de los tiempos (resultados no mostrados). Con respecto a los otros tres biomarcadores evaluados, la excreción a tiempo basal fue similar en las ratas Control y las del grupo I+I+I. En el caso de la excreción de albúmina y transferrina, no hubo diferencias entre los grupos, en ninguno de los tiempos evaluados. En cambio, la excreción urinaria de GM2AP incrementó en el día 4 en las ratas predispuestas, observándose una diferencia altamente significativa tanto respecto a los niveles del grupo Control como respecto a sus niveles basales (**Figura 18**).



**Figura 18.** Excreción urinaria de los biomarcadores albúmina, transferrina y GM2AP el día basal y el día de predisposición (día 4). Imágenes representativas de los resultados obtenidos mediante el análisis por Western blot y excreción urinaria de los distintos biomarcadores.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

C: grupo control, suero fisiológico intravenoso los días 0, 2 y 4; I+I+I: Iohexol 3 g yodo/kg intravenoso los días 0, 2 y 4.

UA: unidades arbitrarias; GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2.

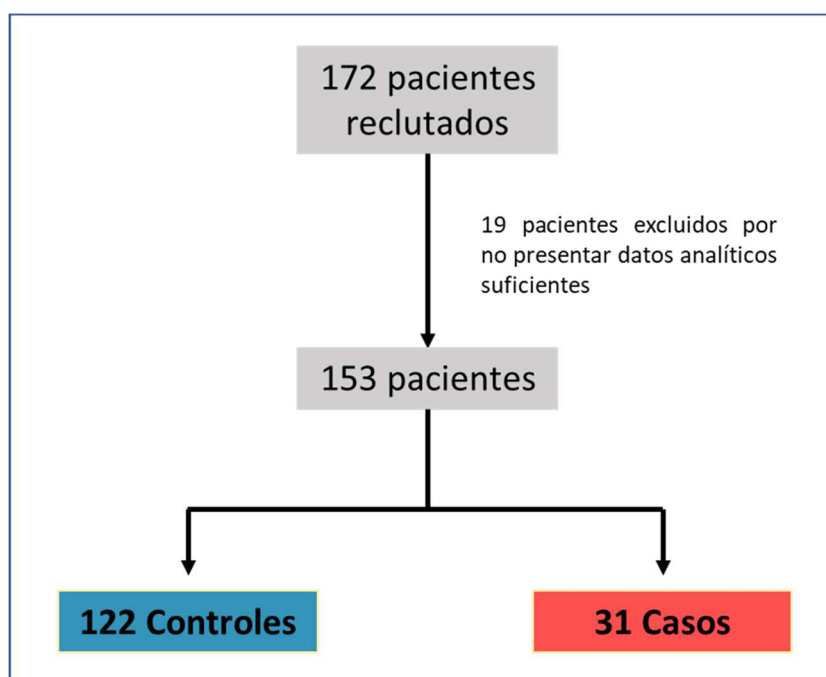
\*\*:  $p < 0,01$  respecto a su grupo a día 0.

#:  $p < 0,05$ ; ###:  $p < 0,001$  respecto al grupo Control a ese mismo tiempo

## 2. ESTUDIO CLÍNICO

### 2.1. RECLUTAMIENTO DE PACIENTES

Durante el tiempo en el que se desarrolló el estudio se reclutaron un total de 172 pacientes. De ellos, 19 fueron excluidos por no disponer de datos sobre la creatinina plasmática suficientes para poder estudiar su evolución tras administrar el medio de contraste, y por tanto determinar si habían sufrido NIC o no. Finalmente, 153 pacientes participaron en el estudio, los cuales se dividieron en Controles y Casos en función de si desarrollaron NIC o no. Así, se asignaron al grupo Casos aquellos pacientes cuya creatinina plasmática aumentó  $\geq 0,5$  mg/dL o  $\geq 25$  % respecto a la creatinina basal en un periodo de hasta 5 días tras la exposición al contraste (**Figura 19**).

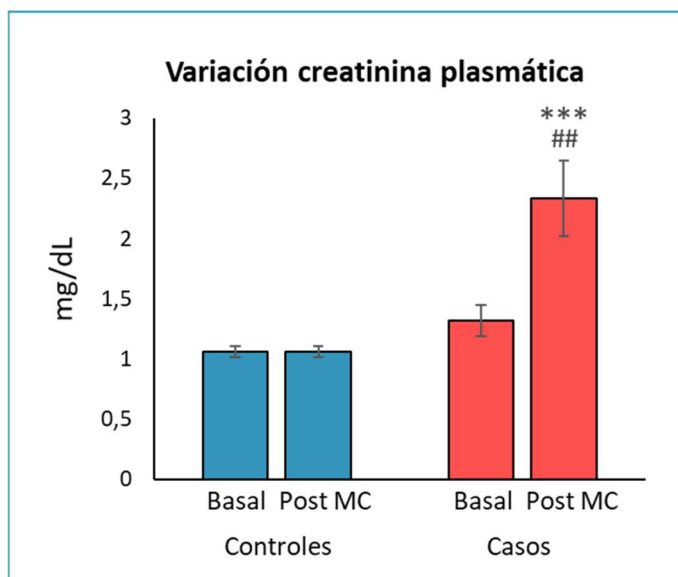


**Figura 19.** Diagrama de flujo en el que se representan las etapas de inclusión, exclusión y separación por grupos de los pacientes en estudio.

*Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes.*

En el momento previo a la administración del medio de contraste no había diferencias estadísticamente significativas en el nivel plasmático de creatinina entre ambos grupos. Sin embargo, tras administrar el contraste yodado, en el grupo Casos

la creatinina plasmática incrementó un 67,1 % de media, a diferencia de lo observado en el grupo Controles, donde la creatinina plasmática no se modificó tras la administración del medio de contraste. Estos datos están recogidos en la **Figura 20**.



**Figura 20.** Creatinina plasmática en ambos grupos de estudio antes de recibir el medio de contraste (Basal), y en el momento en que la creatinina es más alta en los 5 días siguientes a la administración del medio de contraste (Post MC)

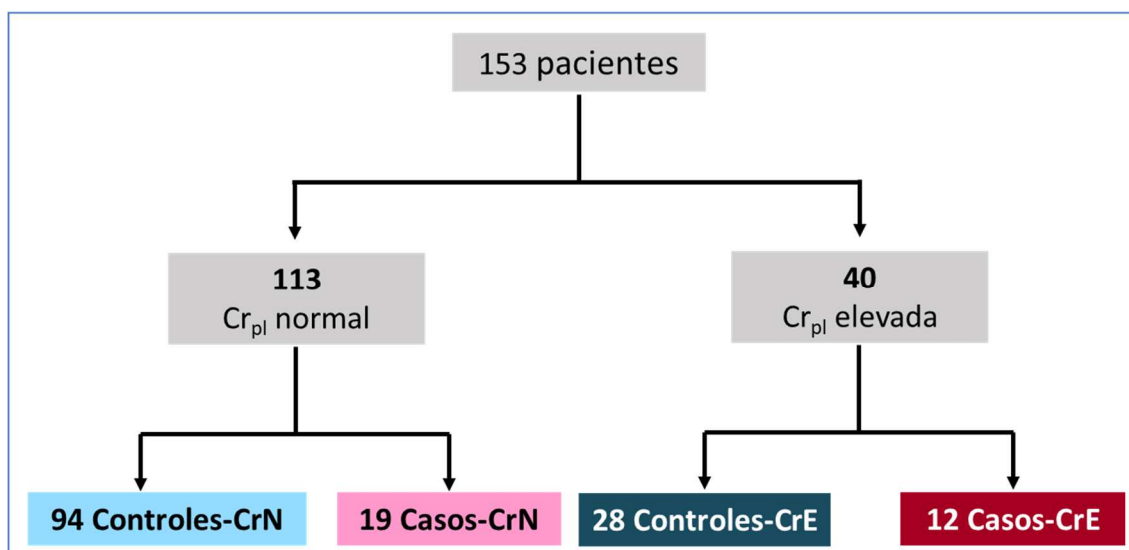
Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes.

\*\*\*:  $p < 0,001$  respecto al valor promedio de creatinina plasmática más alto alcanzado en el grupo Controles. ##:  $p < 0,01$  respecto al valor promedio de creatinina plasmática en el grupo Casos a tiempo basal.

Además, puesto que la disfunción renal es el factor de riesgo con mayor influencia en el desarrollo de la NIC, se dividió a los pacientes en base a su creatinina plasmática basal. Se consideró que, si el valor era inferior a 1,3 mg/dl en los hombres o 1,1 mg/dL en las mujeres, la función renal era normal, según los valores establecidos por el método analítico. De esta manera se pretendía estudiar si el valor basal de creatinina plasmática era capaz de predecir si los pacientes sufrirían NIC.

De los 153 pacientes incluidos en el estudio, 113 partían con un valor de creatinina plasmática dentro de los niveles normales. De ellos, 19 pacientes desarrollaron NIC. Los pacientes que partían con un nivel de creatinina plasmática elevada fueron 40, de los cuales 12 desarrollaron NIC. El diagrama explicativo de esta división se presenta en la **Figura 21**.

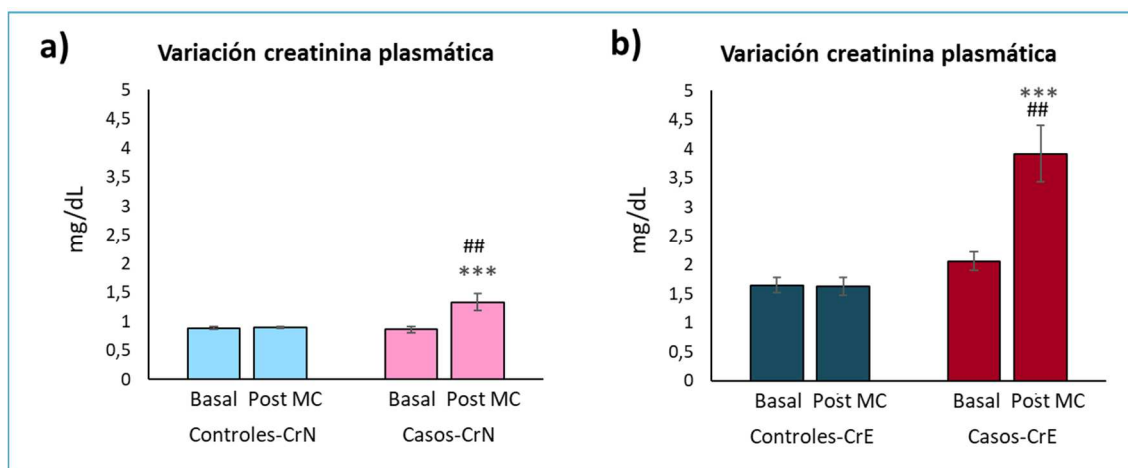


**Figura 21.** Diagrama de flujo en el que se representa la agrupación de los pacientes en función de su creatinina plasmática basal y el desarrollo o no de nefropatía inducida por contraste.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. Cr<sub>pl</sub>: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

La incidencia de la NIC fue del 16,8 % en los pacientes que no tenían la función renal alterada, mientras que en aquellos que ya tenían niveles de creatinina plasmática por encima de lo considerado normal, la incidencia fue del 30 %. Así, aunque la función renal basal influye, duplicándose la incidencia de la NIC (16,8 % frente a 30 %), no es el único condicionante. De hecho, los pacientes del grupo Controles-CrE, apenas experimentaron variación en la creatinina plasmática tras recibir un medio de contraste, como se puede ver en la **Figura 22**. Por tanto, la creatinina plasmática no parece ser un marcador útil para predecir qué pacientes van a desarrollar NIC, lo cual hace necesaria la búsqueda de nuevos marcadores más específicos.

La gravedad del daño renal desarrollado, en cambio, es distinta según cuál sea el valor de creatinina plasmática basal. Así, en los pacientes del grupo Casos-CrN el incremento de creatinina plasmática fue del 55 %, alcanzándose un valor promedio de 1,33 mg/dL, mientras que en el grupo Casos-CrE, la creatinina plasmática aumentó un 90 %, alcanzando un nivel próximo a los 4 mg/dl.



**Figura 22.** Creatinina plasmática en ambos grupos de estudio antes de recibir el medio de contraste (Basal), y en el momento en que la creatinina es más alta en los 5 días siguientes a la administración del medio de contraste (Post MC). (a) Pacientes cuya creatinina plasmática basal se encontraba en niveles normales. (b) Pacientes cuya creatinina plasmática basal estaba elevada.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

\*\*\*:  $p < 0,001$  respecto al valor promedio de creatinina plasmática más alto alcanzado en el grupo Controles. ##:  $p < 0,01$  respecto al valor de creatinina plasmática en el grupo Casos a tiempo basal.

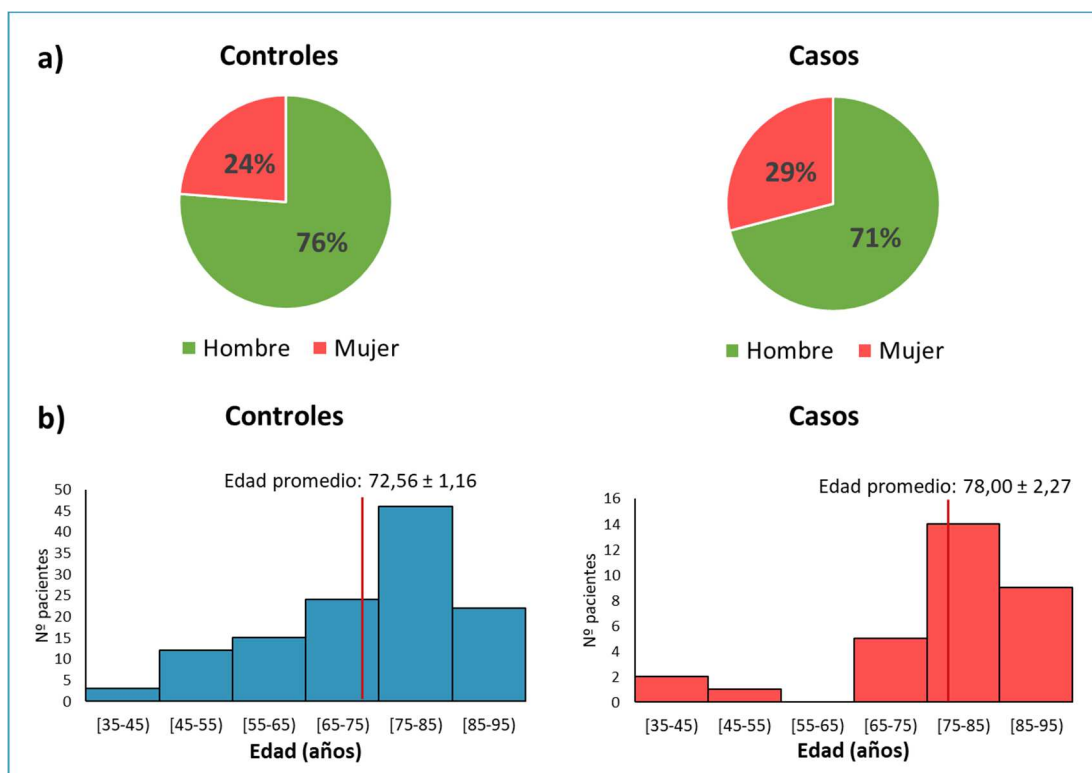
## 2.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

### 2.2.1. Variables descriptivas y antropométricas

Debido a que existía una gran diferencia numérica entre el número de pacientes incluidos en cada grupo, era importante saber si las poblaciones eran homogéneas y por tanto comparables.

En relación con el sexo, tanto en el grupo Controles como en el grupo Casos el número de hombres incluidos fue superior al de mujeres, representando un porcentaje muy similar en ambos grupos, por encima del 70 %. En cuanto a la edad, a pesar de existir una cierta variabilidad en la distribución por rangos, el valor promedio fue muy similar en ambos grupos, y la mayor parte de los pacientes se encontraba en el rango de los 75-85 años, en concreto, el 37,7 % de los pacientes pertenecientes al

grupo Controles y el 45,2 % de los pacientes del grupo Casos. Estos datos se encuentran recogidos en la **Figura 23**.

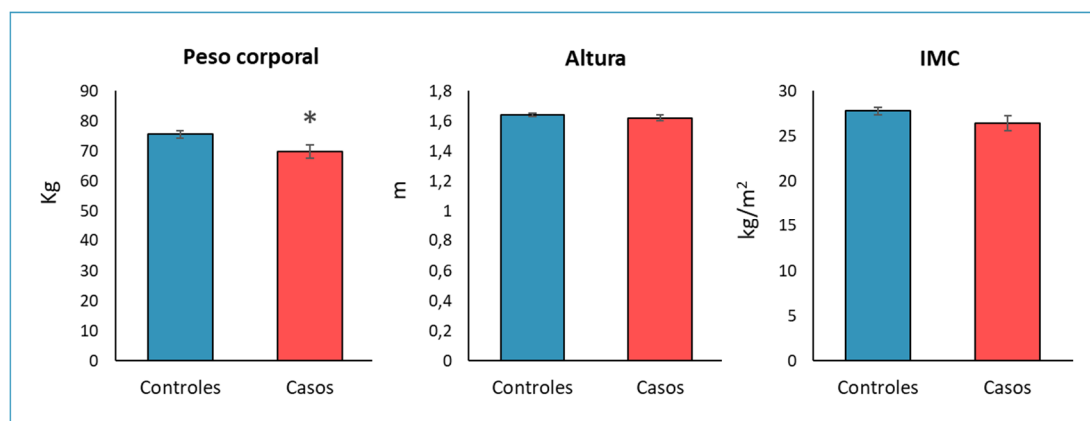


**Figura 23.** (a): Sexo de los pacientes incluidos en el estudio clínico. Los datos se expresan en porcentaje respecto al total. (b): Edad de los pacientes incluidos en el estudio clínico. Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes.

Las características antropométricas de los pacientes están incluidas en la **Figura 24**. El peso corporal fue estadísticamente inferior en el grupo Casos. Sin embargo, ni la altura ni el IMC presentaron diferencias significativas entre ambos grupos. Para realizar comparaciones entre grupos, el IMC es un valor más completo que el peso o la talla de manera individual, ya que incluye ambos parámetros en su cálculo. En ambos grupos el IMC promedio corresponde a valores que refieren sobrepeso (entre 25,0 y 29,9 kg/m<sup>2</sup>).

## Resultados



**Figura 24.** Datos antropométricos de los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; IMC: índice de masa corporal.

\*:  $p < 0,05$  respecto al grupo Controles.

Este análisis de datos se realizó también con las diferentes subpoblaciones obtenidas tras dividir a los pacientes en función de su creatinina basal (**Tabla 6**). Se puede observar que se mantiene la homogeneidad entre grupos, variando únicamente la edad promedio. En concreto, el subgrupo Casos-CrE estaba formado por pacientes de mayor edad, aunque la diferencia respecto al grupo Controles-CrE no fue estadísticamente significativa.

VARIABLES DESCRIPTIVAS Y ANTROPOMÉTRICAS	Crpl basal normal		Crpl basal elevada	
	Controles-CrN	Casos-CrN	Controles-CrE	Casos-CrE
Hombres / Mujeres	77/23 %	68/32 %	75/25 %	75/25 %
Edad (años)	70,8 $\pm$ 1,3	74,9 $\pm$ 3,4	78,4 $\pm$ 1,9	82,9 $\pm$ 1,4
Peso corporal (kg)	75,6 $\pm$ 1,6	70,4 $\pm$ 2,77	75,7 $\pm$ 3,2	69,0 $\pm$ 3,6
Altura (m)	1,65 $\pm$ 0,01	1,63 $\pm$ 0,03	1,64 $\pm$ 0,01	1,62 $\pm$ 0,03
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	27,63 $\pm$ 0,39	26,51 $\pm$ 1,15	28,25 $\pm$ 1,21	26,28 $\pm$ 1,26

**Tabla 6.** Datos relativos a las variables descriptivas y antropométricas de los pacientes incluidos en cada grupo de estudio, tras dividirlos en base a su función renal.

Los datos se expresan como porcentaje respecto al total o como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. IMC: índice de masa corporal; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.



### 2.2.2. Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos

De cada paciente se recopilaron las enfermedades y factores de riesgo que presentaban, así como los medicamentos que consumían de manera crónica como parte de su tratamiento farmacológico. La finalidad era estudiar si existía alguna diferencia en alguno de estos aspectos entre aquellos pacientes que, al administrarles el medio de contraste, desarrollaron NIC y los que no, lo cual podría influir en la aparición de la misma. Los datos recogidos aparecen en la **Tabla 7**.

ENFERMEDADES Y FACTORES DE RIESGO	Controles	Casos
Diabetes mellitus	27,6 %	33,3 %
Dislipidemia	43,1 %	33,3 %
Hipertensión arterial	55,2 %	70,4 %
Enfermedad renal previa	5,2 %	7,4 %
Obesidad	6,0 %	7,4 %
Tabaquismo	18,1 %	11,1 %
Consumo de alcohol	4,3 %	3,7 %
Consumo de drogas	1,7 %	0 %
CONSUMO DE FÁRMACOS		
AAS	30,9 %	28,6 %
AINEs	5,3 %	3,6 %
Antiagregantes	20,4 %	25,0 %
Diuréticos	30,1 %	39,3 %
IECAs	19,5 %	32,1 %
ARAs	14,2 %	10,7 %
Betabloqueantes	24,8 %	21,4 %
Alfabloqueantes	2,7 %	3,6 %
Antagonistas de calcio	13,3 %	25,0 %
Antidiabéticos	17,7 %	17,9 %
Hipolipemiantes	35,4 %	35,7 %

**Tabla 7.** Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos de los pacientes pertenecientes a cada uno de los grupos de estudio.

Los datos se presentan en porcentaje de individuos respecto al total del grupo.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; AAS: ácido acetil salicílico; AINE: antiinflamatorio no esteroideo; IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; ARA: antagonista de los receptores de angiotensina II.

Las enfermedades y factores de riesgo que más frecuentemente presentaban estos pacientes fueron la HTA, la dislipidemia y la diabetes mellitus. En ninguna de ellas la prevalencia fue estadísticamente diferente entre el grupo Controles y el grupo Casos. En cuanto al consumo de sustancias como el tabaco, el alcohol y otras drogas, el porcentaje fue ligeramente superior en los pacientes del grupo Controles. La proporción de pacientes que presentaban enfermedad renal previa fue baja, así como la de pacientes obesos, y similar en ambos grupos.

En lo que respecta al consumo de fármacos, el ácido acetil salicílico (AAS) en dosis utilizadas como antiagregante, otros antiagregantes, los diuréticos, los betabloqueantes y los hipolipemiantes fueron los más habituales tanto en el grupo Controles como en el grupo Casos. Otros fármacos relacionados con el tratamiento de patologías cardíacas también mostraban un consumo significativo. El porcentaje de pacientes que consumen AINEs fue muy bajo. Tras analizar estos parámetros, no hubo diferencias estadísticamente significativas en ningún caso, por lo que ambas poblaciones son homogéneas en este aspecto.

Siguiendo con el abordaje de dividir a los pacientes en base a su función renal, se estudió si alguno de los parámetros relacionados con las comorbilidades o la terapéutica farmacológica era significativamente diferente entre los Casos y los Controles de cada subpoblación. Estos datos aparecen recogidos en la **Tabla 8**. Un resultado esperable fue que, en los pacientes con una creatinina plasmática basal normal, la prevalencia de enfermedad renal previa era prácticamente nula, únicamente un paciente se encontraba en esa situación. En cambio, entre los pacientes cuya creatinina sérica era elevada a tiempo basal, la prevalencia de enfermedad renal fue destacable, un 17,9 % en el grupo Controles-CrE y un 16,7 % en el grupo Casos-CrE.

En ninguno de los otros factores de riesgo se encontraron diferencias significativas entre el grupo Controles y el grupo Casos para cada una de las subpoblaciones. De hecho, salvo la HTA, cuyo porcentaje el grupo Casos-CrE fue superior, la prevalencia de todas las enfermedades y factores de riesgo fue similar.

Respecto al consumo de fármacos, tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas, en ninguna de las dos subpoblaciones, entre el porcentaje del grupo Controles y el del grupo Casos.

ENFERMEDADES Y FACTORES DE RIESGO	Crpl basal normal		Crpl basal elevada	
	Controles-CrN	Casos-CrN	Controles-CrE	Casos-CrE
Diabetes mellitus	26,6 %	18,5 %	25,0 %	33,3 %
Dislipidemia	43,6 %	14,8 %	32,1 %	41,7 %
Hipertensión arterial	50,0 %	33,3 %	60,7 %	83,3 %
Enfermedad renal previa	1,1 %	0 %	17,9 %	16,7 %
Obesidad	7,4 %	1 %	0 %	0 %
Tabaquismo	18,1 %	11,1 %	14,3 %	0 %
Consumo de alcohol	5,3 %	0 %	0 %	3,5 %
Consumo de drogas	2,1 %	0 %	0 %	0 %
<b>CONSUMO DE FÁRMACOS</b>				
AAS	29,3 %	11,1 %	28,6 %	50,0 %
AINEs	4,3 %	0 %	7,1 %	8,3 %
Antiagregantes	15,9 %	11,1 %	17,8 %	41,7 %
Diuréticos	20,4 %	27,8 %	39,3 %	50,0 %
IECAs	14,2 %	27,8 %	21,4 %	33,3 %
ARAs	8,8 %	0 %	21,4 %	25,0 %
Betabloqueantes	18,6 %	11,1 %	25,0 %	33,3 %
Alfabloqueantes	1,8 %	16,7 %	3,6 %	0 %
Antagonistas de calcio	8,0 %	16,7 %	21,4 %	33,3 %
Antidiabéticos	11,5 %	16,7 %	25,0 %	16,7 %
Hipolipemiantes	30,1 %	22,2 %	21,4 %	50,0 %

**Tabla 8.** Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos de los pacientes pertenecientes a cada uno de los grupos de estudio tras dividirlos en base a su función renal. Los datos se presentan en porcentaje de individuos respecto al total del grupo.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; AAS: ácido acético salicílico; AINE: antiinflamatorio no esteroideo; IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; ARA: antagonista de los receptores de angiotensina II; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

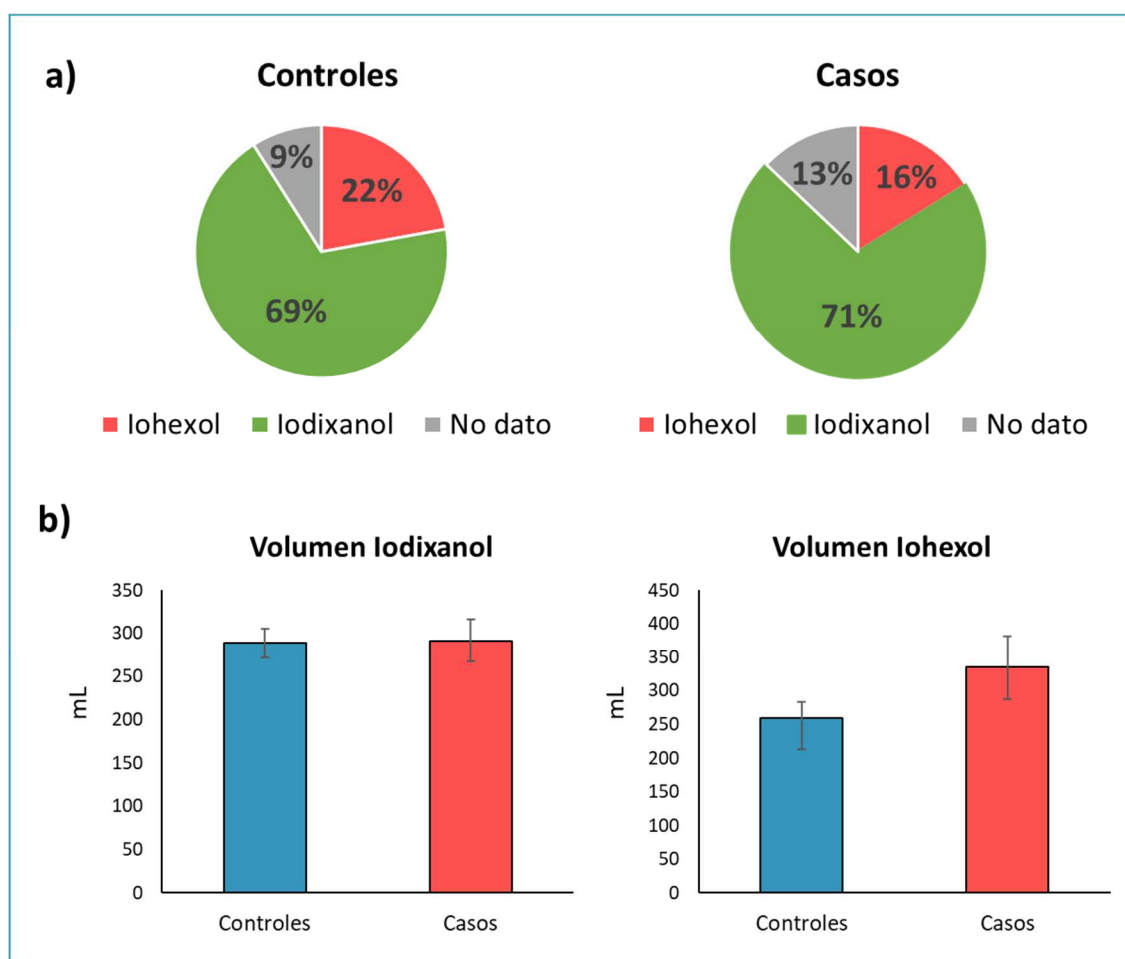
### 2.2.3. Medio de contraste administrado

El tipo de medio de contraste, así como el volumen administrado, se consideran factores con una gran influencia en el desarrollo de la NIC. En nuestro estudio, tanto

## Resultados

en el grupo Controles como en el grupo Casos, el medio de contraste que se administró más frecuentemente fue el Iodixanol. En ambos grupos, casi un 70 % de los pacientes recibieron este contraste yodado. El resto de los pacientes recibieron el medio de contraste Iohexol. En algunos pacientes no se dispuso del dato referente al contraste radiológico administrado.

Con respecto a la cantidad de medio de contraste, no se observaron diferencias significativas ni en el volumen de Iodixanol ni en el de Iohexol administrado a los Casos y los Controles. Los datos referentes al tipo y volumen de medio de contraste administrado se recogen en la **Figura 25**.



**Figura 25.** Datos sobre el medio de contraste administrado a los pacientes en cada grupo de estudio. (a): tipo de medio de contraste administrado. Los datos se expresan en porcentaje respecto al total (b): Volumen de medio de contraste administrado. Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes.

En aquellos pacientes que tenían un valor basal de creatinina plasmática normal el medio de contraste mayoritariamente administrado también fue el Iodixanol, presentando un porcentaje similar en el grupo Controles-CrN y en el Casos-CrN. En relación con el volumen de contraste administrado, la cantidad no fue estadísticamente diferente entre el grupo Controles-CrN y el grupo Casos-CrN, ni en el caso del Iodixanol ni en el del Iohexol.

En los pacientes que partían con una función renal alterada, el porcentaje de pacientes del grupo Controles-CrE que recibieron Iodixanol parece ser algo inferior, aunque en un alto número de pacientes no se disponía del dato referente al tipo de contraste administrado y pudiera ser que también lo hubieran recibido. El volumen de Iodixanol administrado en ambos grupos fue comparable. En cuanto al volumen de Iohexol, este fue mucho menor en el grupo Casos-CrE. Sin embargo, debe tenerse en cuenta que este dato corresponde a un único paciente.

Los datos referentes al medio de contraste administrado teniendo en cuenta la división en función a la creatinina plasmática basal figuran en la **Tabla 9**.

MEDIO DE CONTRASTE ADMINISTRADO	Crpl basal normal		Crpl basal elevada	
	Controles-CrN	Casos-CrN	Controles-CrE	Casos-CrE
Iodixanol	73 %	68 %	54 %	75 %
Iohexol	17 %	21 %	25 %	8 %
No dato	10 %	11 %	21 %	17 %
Volumen Iodixanol (mL)	291,7 ± 19,3	298,8 ± 35,4	275,4 ± 32,6	282,3 ± 35,8
Volumen Iohexol (mL)	269,6 ± 30,0	374,5 ± 31,3	231,7 ± 23,7	175

**Tabla 9.** Datos sobre el tipo y volumen de medio de contraste administrado a los pacientes en cada una de las subpoblaciones estudiadas.

Los datos se expresan como porcentaje respecto al total o como promedio ± EEM.

Controles: pacientes que no desarrollan nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollan nefropatía inducida por contrastes; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

### 2.2.4. Estancia hospitalaria

El tiempo que los pacientes permanecieron ingresados, aunque sin llegar a ser estadísticamente significativo, fue superior en el grupo Casos en comparación con el grupo Controles. En relación con la mortalidad, esta fue estadísticamente superior en el grupo Casos, en el que un 25,8 % de los pacientes fallecieron, respecto al 7,8 % de pacientes fallecidos en el grupo Controles (**Tabla 10**).

ESTANCIA HOSPITALARIA	Controles	Casos
Tiempo estancia (días)	6,38 ± 0,34	8,79 ± 1,46
Fallecidos	7,8 %	25,8 %

**Tabla 10.** Tiempo de estancia hospitalaria, expresado como promedio ± EEM y porcentaje de fallecidos en cada grupo del estudio.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes.

En aquellos pacientes que antes de la administración del medio de contraste no tenían alterada la función renal, el tiempo de la estancia hospitalaria no fue significativamente diferente entre el grupo Controles-CrN y el grupo Casos-CrN. La mortalidad tampoco fue estadísticamente distinta entre los dos grupos de estudio, falleciendo 4 pacientes del grupo Controles-CrN, y 1 paciente del grupo Casos-CrN.

En los pacientes cuya creatinina plasmática basal estaba elevada, tanto el tiempo de estancia hospitalaria como la mortalidad fueron superiores a la de aquellos que no la tenían elevada. Además, ese tiempo fue mayor si los pacientes habían desarrollado NIC. El porcentaje de pacientes fallecidos también fue superior, y en concreto en el grupo Casos-CrE 7 de los 12 pacientes fallecieron, aunque no es posible establecer una relación de causalidad directa con la NIC. Estos datos aparecen en la **Tabla 11**.

ESTANCIA HOSPITALARIA	Crpl basal normal		Crpl basal elevada	
	Controles-CrN	Casos-CrN	Controles-CrE	Casos-CrE
Tiempo estancia (días)	5,65 ± 0,3	6,43 ± 0,79	9,29 ± 0,9	12,1 ± 3,1
Fallecidos	4,2 %	5,2 %	14,3 %	58,3 %

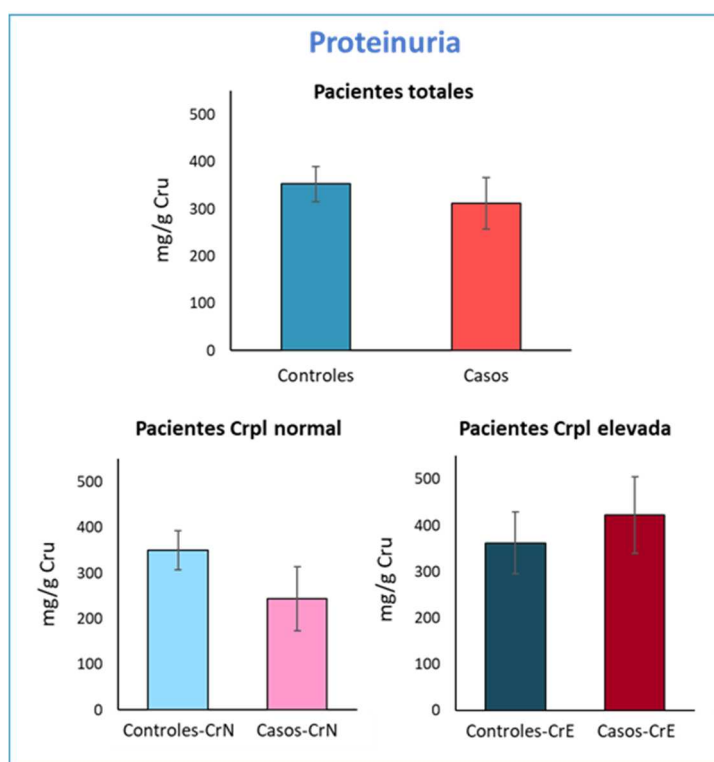
**Tabla 11.** Tiempo de estancia hospitalaria, expresado como promedio ± EEM y porcentaje de fallecidos en cada una de las subpoblaciones estudiadas.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

## 2.3. PREDICCIÓN DE LA NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES MEDIANTE BIOMARCADORES URINARIOS

### 2.3.1. Biomarcadores urinarios de daño renal temprano

En primer lugar, se evaluaron los marcadores de daño renal temprano, a fin de estudiar si, antes de administrar el medio de contraste correspondiente, estas proteínas ya alertaban de alguna alteración en la función renal que permitiese diferenciar aquellos pacientes en mayor riesgo de padecer NIC al recibir el medio de contraste. También se estudió la excreción total de proteínas, que, aunque no es un marcador de daño renal temprano, es indicativo de alteración en la función renal (**Figura 26**).



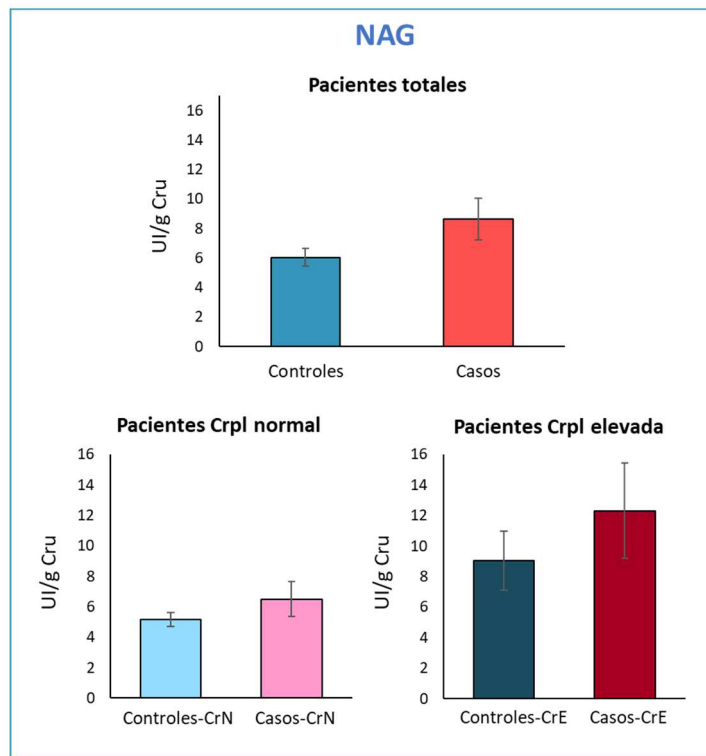
**Figura 26.** Proteinuria en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

El hecho de que no haya un aumento en la proteinuria, pero de manera individual la excreción de alguna proteína este elevada, estaría indicando una alteración en el manejo renal de esa proteína concreta.

Los datos referentes a la excreción urinaria de, NAG, KIM-1 y NGAL en los pacientes estudiados aparecen en las **Figuras 27, 28 y 29** respectivamente.

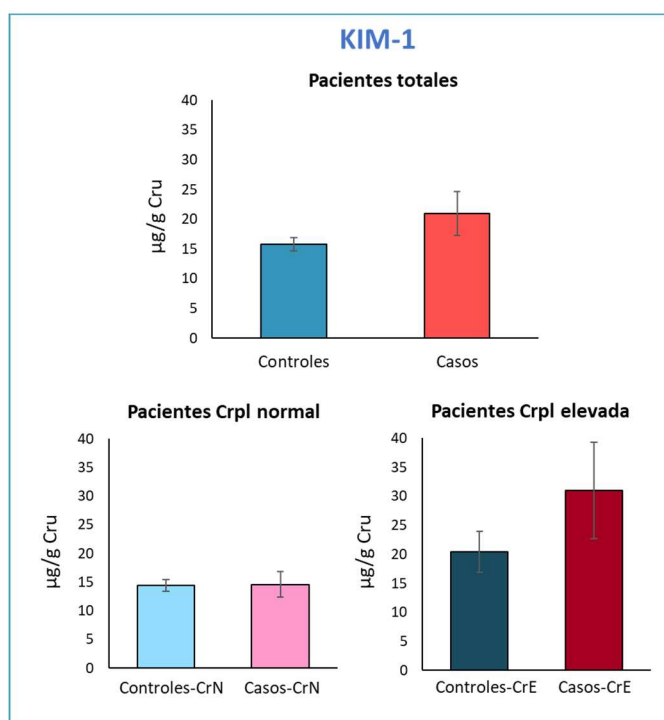


**Figura 27.** Excreción urinaria de NAG en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

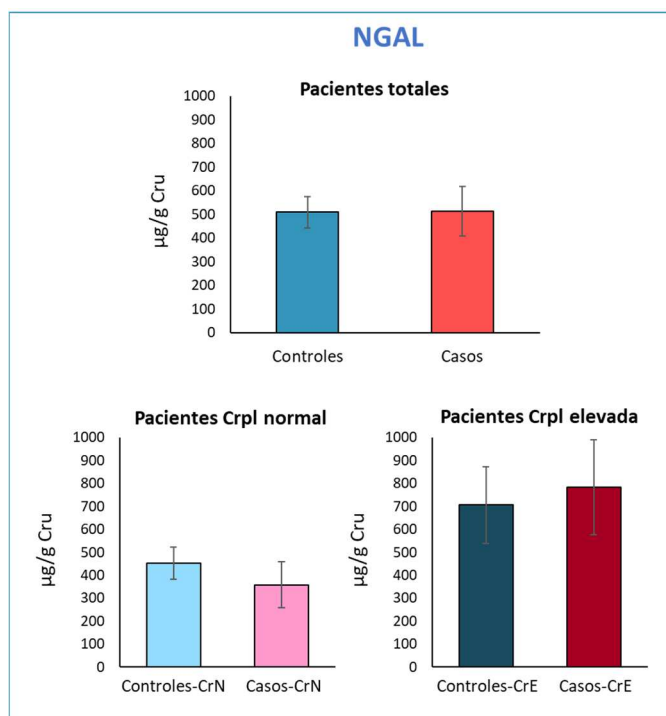
Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. NAG: N-acetil-b-D-glucosaminidasa; Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.





**Figura 28.** Excreción urinaria de KIM-1 en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. KIM-1: molécula de daño renal 1; Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.



**Figura 29.** Excreción urinaria de NGAL en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos; Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

En el conjunto total de la población, ninguno de los biomarcadores de daño renal temprano mostró diferencias estadísticamente significativas entre el grupo Controles y el grupo Casos en el momento previo a la administración del medio de contraste. La excreción urinaria de NAG y de KIM-1 mostró una ligera tendencia a ser superior en los pacientes que posteriormente desarrollaron NIC, aunque no fue significativa. Al subdividir a los pacientes en base a su función renal basal se apreció que, aquellos cuya creatinina plasmática era normal, tenían una menor excreción de todos los biomarcadores que aquellos cuya creatinina estaba elevada. Sin embargo, ni en aquellos cuya función renal era normal ni en los que la tenían alterada existía una diferencia estadísticamente significativa entre los pacientes pertenecientes al grupo Controles y al grupo Casos.

La diferencia que se observaba en los niveles de NAG y de KIM-1 en el total de la población se apreció únicamente en aquellos pacientes con una creatinina plasmática basal elevada, pero de nuevo esa diferencia no fue estadísticamente significativa. En cuanto al nivel de NGAL, no se apreció ninguna diferencia entre Controles y Casos ni en aquellos cuya función renal era normal ni en los que la tienen alterada, aunque estos últimos presentaban valores superiores.

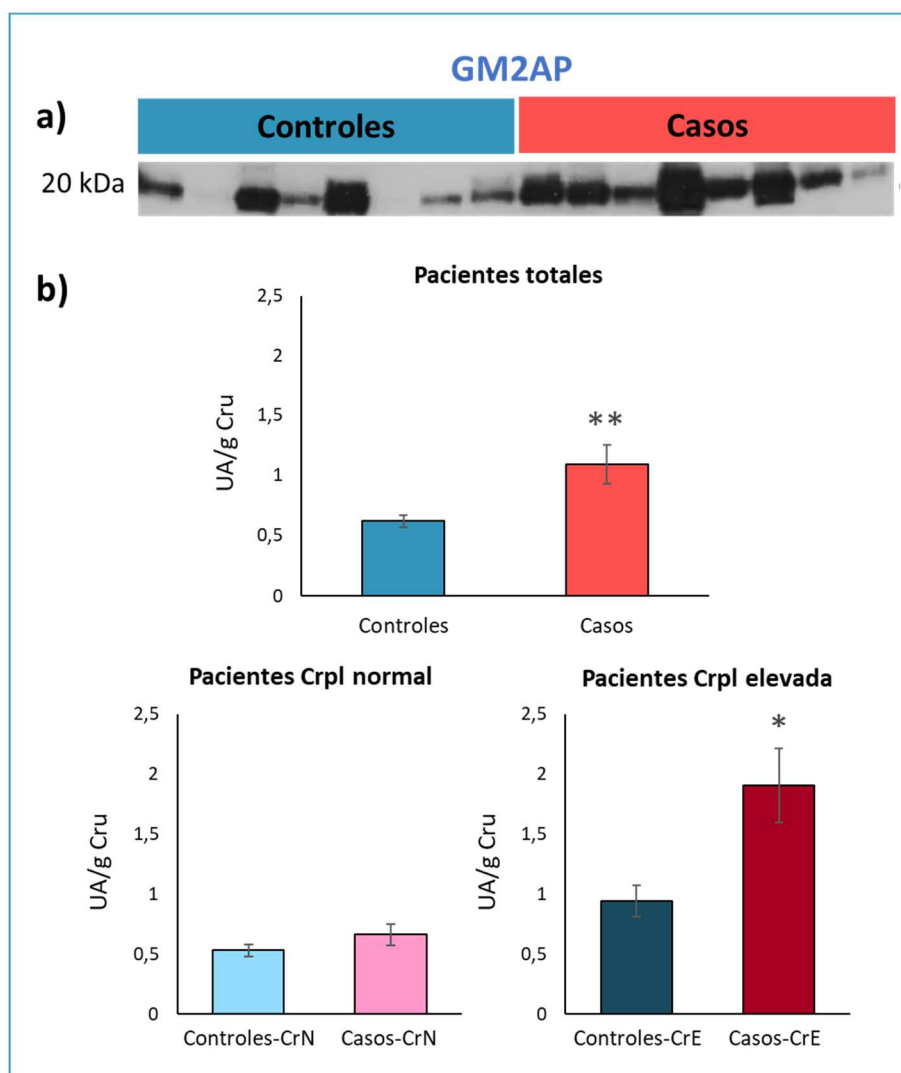
Por tanto, estos marcadores no son capaces de predecir el desarrollo de la NIC antes de la administración del medio de contraste.

### **2.3.2. Biomarcadores urinarios de predisposición**

A continuación, se cuantificaron diversos biomarcadores de predisposición identificados en varios modelos animales llevados a cabo en nuestro laboratorio, incluido el GM2AP, detectado en el modelo de predisposición al DRA por Iohexol.

En la población total, la excreción de la proteína GM2AP, fue estadísticamente superior en los pacientes pertenecientes al grupo Casos. Al subdividir a los pacientes según su creatinina plasmática, no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo Controles-CrN y el grupo Casos-CrN. En cambio, el grupo

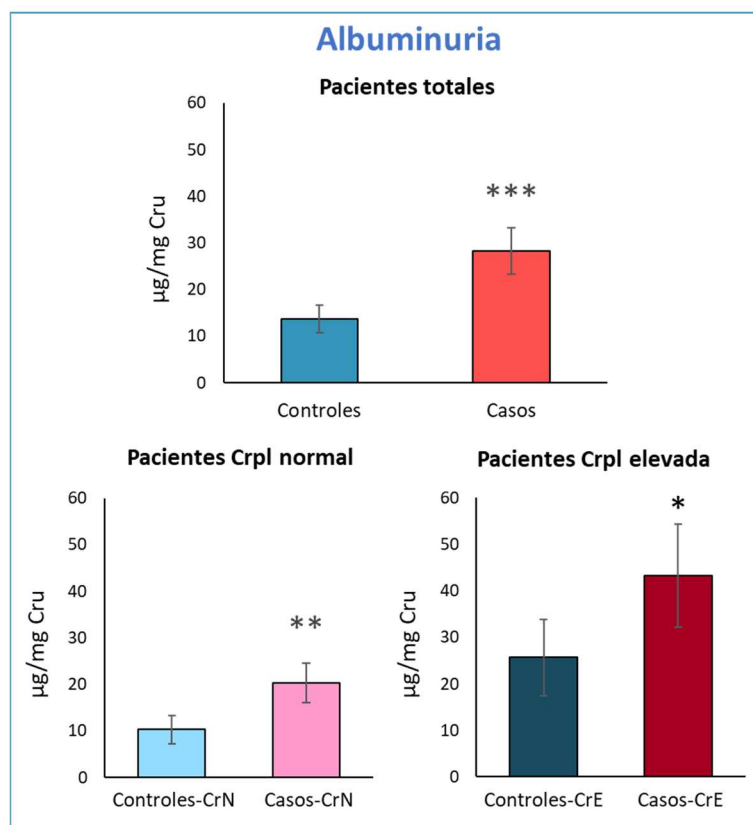
Casos-CrE, presentó un incremento respecto al grupo Controles-CrE. Estos datos aparecen recogidos en la **Figura 30**.



**Figura 30.** Excreción urinaria de GM2AP en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. (a): imagen representativa de los resultados obtenidos mediante el análisis por Western blot. (b): niveles de excreción urinaria de GM2AP. Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM. Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2; Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada. \*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$  respecto a su correspondiente grupo Controles.

En relación con la albuminuria, los valores observados en el conjunto total de la población estudiada fueron estadísticamente superiores en el grupo Casos. Tras subdividir a los pacientes en función de su creatinina plasmática basal, en ambas

subpoblaciones se observaron diferencias significativas entre Casos y Controles, pero los valores de albuminuria eran muy diferentes en función de la creatinina basal. De hecho, el grupo de Casos-CrN tenía valores inferiores al observado en el grupo Controles-CrE. Los datos referentes a la albuminuria de los pacientes aparecen recogidos en la **Figura 31**.



**Figura 31.** Albuminuria en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.

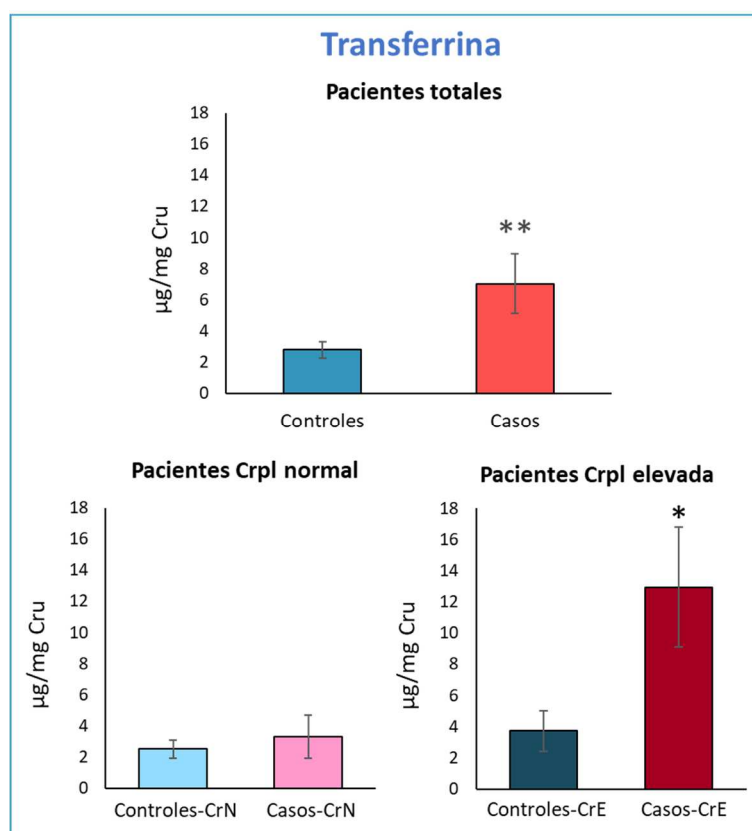
Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$ , \*\*\*:  $p < 0,001$  respecto a su correspondiente grupo Controles

La transferrina también fue estadísticamente diferente en el conjunto total de la población entre ambos grupos. Esta diferencia no se observó en los pacientes cuya creatinina plasmática basal era normal, pero se mantenía en aquellos que tenían alterada la función renal antes de administrar el medio de contraste. Cabe reseñar que este biomarcador únicamente aparecía aumentado en el grupo Casos-CrE. En el

resto de los grupos, el nivel fue muy similar, aun teniendo la creatinina plasmática elevada. Estos datos están recogidos en la **Figura 32**.



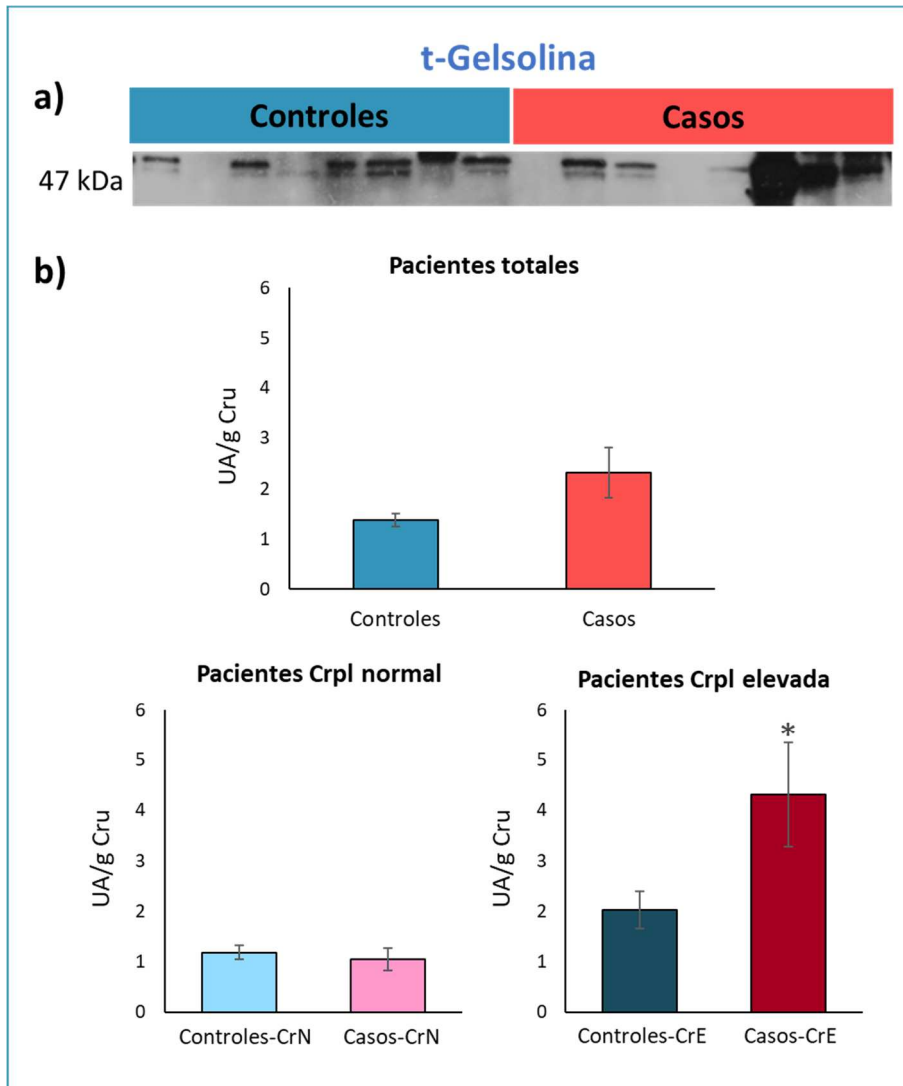
**Figura 32.** Excreción urinaria de transferrina en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

\*:  $p < 0,05$ , \*\*:  $p < 0,01$  respecto al grupo Controles.

Con respecto a la t-gelsolina, en el conjunto total de la población, a pesar de que la excreción fue superior en los pacientes del grupo Casos, la diferencia no fue estadísticamente significativa. En cambio, al subdividir a los pacientes, el grupo Casos-CrE, tenía un valor estadísticamente superior al grupo Controles-CrE. En los pacientes con la función renal basal normal no existieron diferencias entre el grupo Controles-CrN y el grupo Casos-CrN. Estos datos están recogidos en la **Figura 33**.



**Figura 33.** Excreción urinaria de t-gelsolina en los pacientes incluidos en cada grupo de estudio. (a): imagen representativa de los resultados obtenidos mediante el análisis por Western blot. (b): niveles de excreción urinaria de t-gelsolina.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

Controles: pacientes que no desarrollaron nefropatía inducida por contrastes; Casos: pacientes que desarrollaron nefropatía inducida por contrastes. Cru: creatinina urinaria; Crpl: creatinina plasmática; CrN: creatinina plasmática basal normal; CrE: creatinina plasmática basal elevada.

\*:  $p < 0,05$  respecto al grupo Controles.

## 2.4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PREDICTIVA DE LOS BIOMARCADORES URINARIOS

Con el objetivo de estudiar si la excreción urinaria de los biomarcadores estudiados, además de ser superior en los pacientes que desarrollaron NIC, tenía capacidad predictiva, se realizaron las curvas ROC de cada uno de ellos.

Las curvas ROC y sus respectivas ABC, obtenidas mediante el análisis pormenorizado de cada uno de los biomarcadores urinarios, en el conjunto total de la población estudiada, están recogidas en la **Tabla 12** y la **Figura 34**.

BIOMARCADOR	ABC	Intervalo de confianza 95 %		p-valor
		Límite inferior	Límite superior	
Proteínas totales	0,490	0,375	0,606	0,872
NAG	0,584	0,453	0,716	0,154
KIM-1	0,556	0,445	0,667	0,340
NGAL	0,537	0,419	0,655	0,539
Albúmina	0,752	0,654	0,850	<b><math>3,6 \cdot 10^{-5}</math></b>
Transferrina	0,652	0,534	0,771	<b>0,010</b>
t-Gelsolina	0,592	0,471	0,712	0,122
GM2AP	0,692	0,584	0,800	<b>0,001</b>

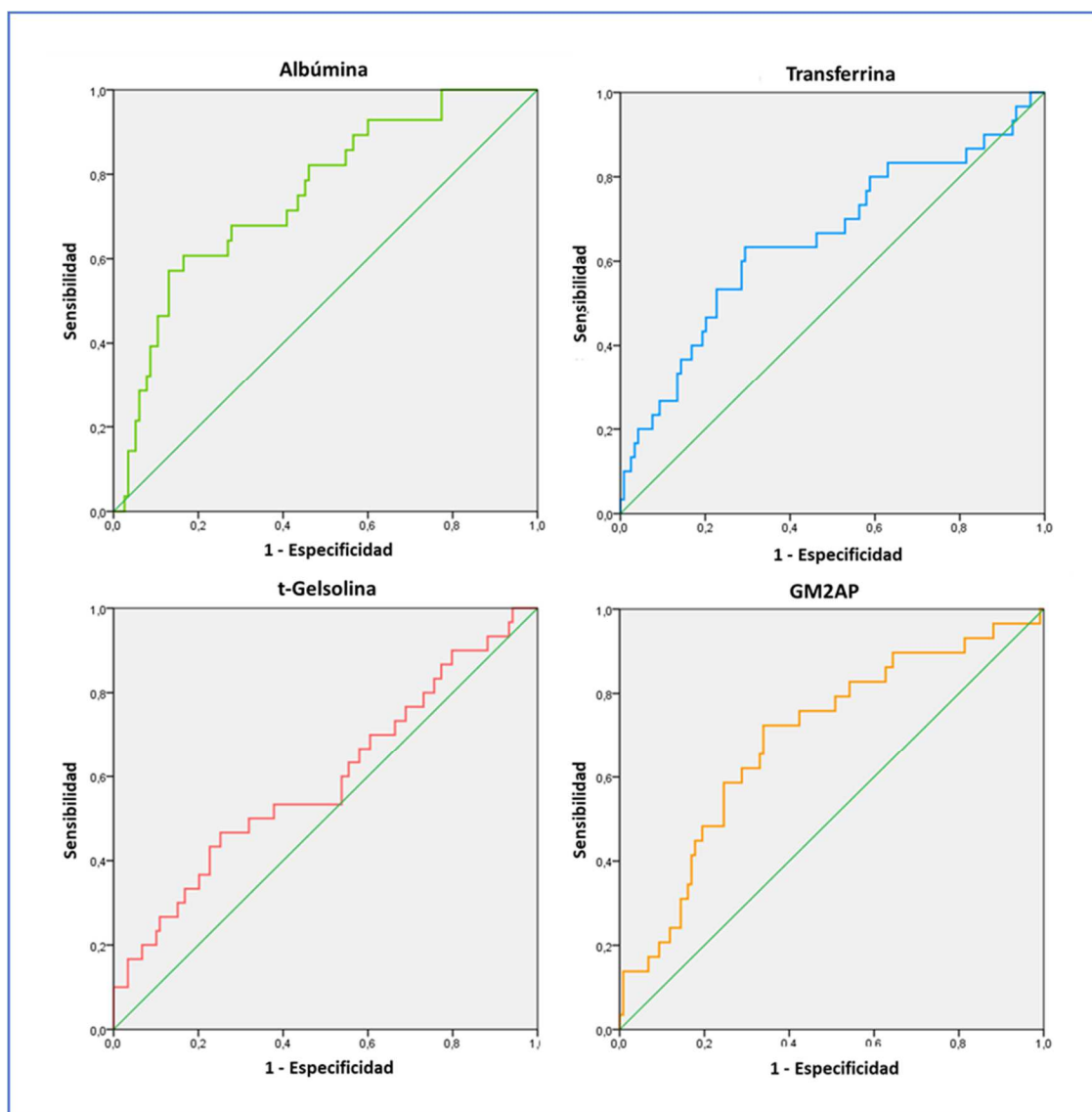
**Tabla 12.** Valores de las áreas bajo las curvas ROC y su significación estadística de cada uno de los biomarcadores urinarios, en el conjunto total de la población estudiada.

ABC: área bajo la curva; NAG: N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa; KIM-1: molécula de daño renal 1; NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos; GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2.

Tal y como cabía esperar por los resultados obtenidos con los marcadores de daño renal temprano (NAG, KIM-1 y NGAL), el análisis de las curvas ROC arrojó como resultado que ninguno de ellos tenía una capacidad predictiva significativa (no era capaz de distinguir entre Controles y Casos), ya que el valor del ABC no fue significativamente superior al valor de 0,5, que marca una capacidad diagnóstica nula.

En el caso de los biomarcadores urinarios de predisposición, tras el análisis de las curvas ROC se puede concluir que todos ellos, con la excepción de la t-gelsolina, tienen capacidad de distinguir entre los pacientes que sufrirán NIC y los que no. De

ellos, la albúmina es el que presentó un mayor poder diagnóstico, con un ABC de 0,752.



**Figura 34.** Curvas ROC de los biomarcadores de predisposición albúmina, transferrina, t-gelsolina y GM2AP en el conjunto total de la población estudiada. GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2.

En aquellos pacientes que tenían una creatinina plasmática basal normal antes de la administración del medio de contraste, tampoco los biomarcadores de daño renal temprano poseían capacidad de predecir la NIC. En cuanto a los biomarcadores urinarios de predisposición, de entre los estudiados únicamente la albúmina tenía una capacidad significativa para distinguir los Casos-CrN de los Controles-CrN, es decir, tenía capacidad predictiva. Los datos de las áreas bajo las curvas ROC de cada

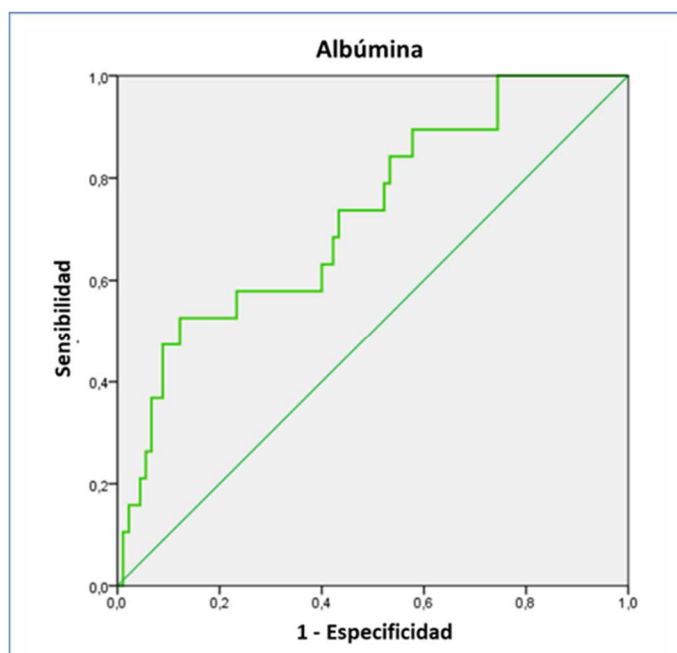


uno de los biomarcadores estudiados se recogen en la **Tabla 13**, y la curva ROC de la albúmina en la **Figura 35**.

BIOMARCADOR	ABC	Intervalo de confianza 95 %		p-valor
		Límite inferior	Límite superior	
Proteínas totales	0,400	0,265	0,534	0,169
NAG	0,569	0,406	0,732	0,345
KIM-1	0,510	0,369	0,651	0,890
NGAL	0,488	0,354	0,622	0,868
Albúmina	0,726	0,601	0,851	<b>0,002</b>
Transferrina	0,605	0,467	0,743	0,150
t-Gelsolina	0,506	0,369	0,643	0,933
GM2AP	0,630	0,494	0,765	0,075

**Tabla 13.** Valores de las áreas bajo las curvas ROC y su significación estadística de cada uno de los biomarcadores urinarios, en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal normal.

ABC: área bajo la curva; NAG: N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa; KIM-1: molécula de daño renal 1; NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos; GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2.



**Figura 35.** Curva ROC del biomarcador de predisposición albúmina en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal normal.

## Resultados

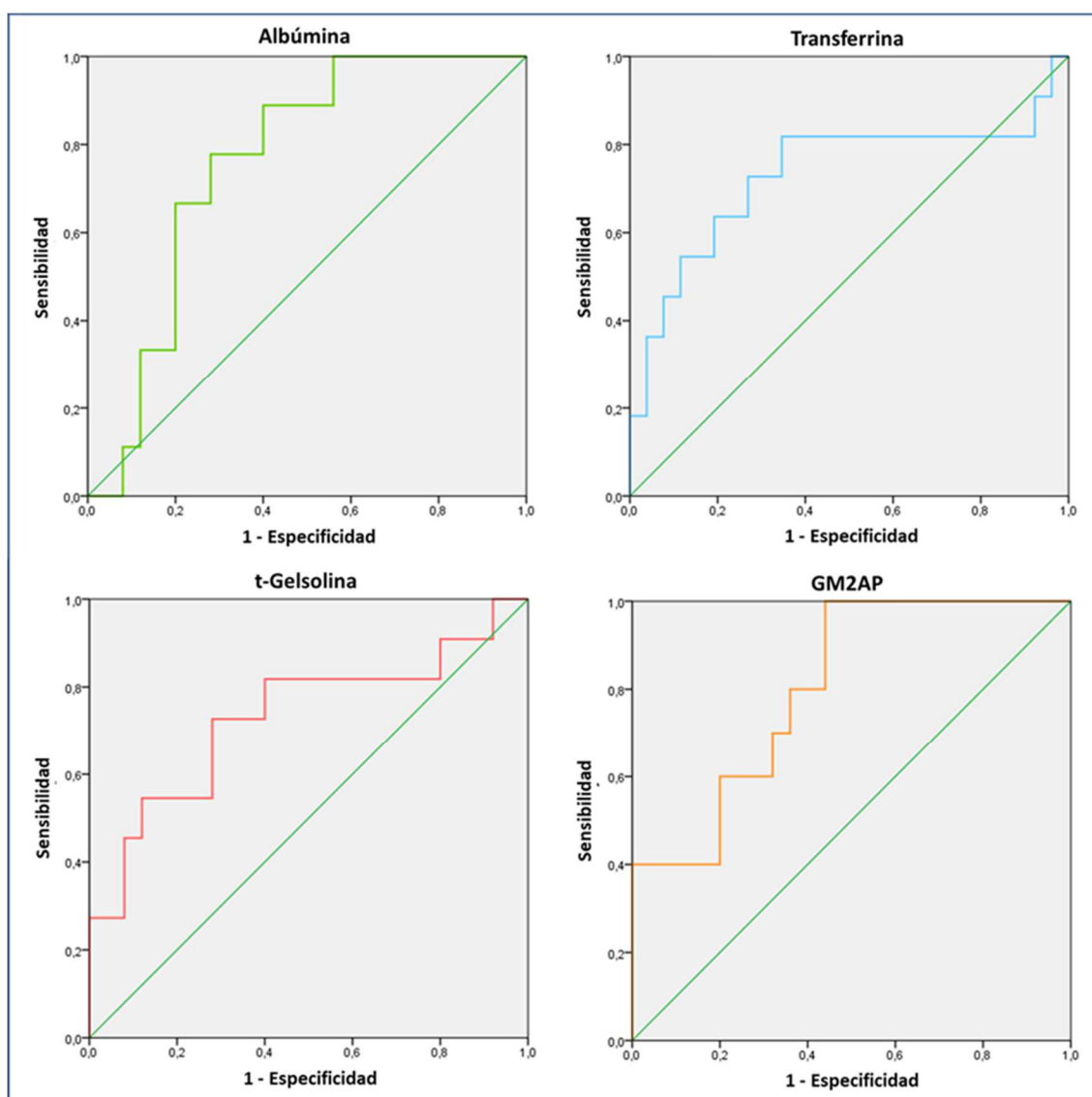
De nuevo, al igual que pasaba con los otros conjuntos poblacionales, en los pacientes con una creatinina plasmática basal elevada los marcadores de daño renal temprano no fueron útiles para predecir el desarrollo de NIC. En cambio, como se puede ver en la **Tabla 9**, en la cual están recogidas las ABC de cada uno de los biomarcadores urinarios estudiados, los cuatro biomarcadores de predisposición tienen capacidad predictiva. Esto quiere decir que son capaces de distinguir los pacientes que sufrirán NIC al recibir el medio de contraste de los que no.

BIOMARCADOR	ABC	Intervalo de confianza 95 %		p-valor
		Límite inferior	Límite superior	
Proteínas totales	0,626	0,436	0,815	0,232
NAG	0,581	0,353	0,809	0,435
KIM-1	0,581	0,392	0,771	0,435
NGAL	0,607	0,400	0,814	0,321
Albúmina	0,760	0,598	0,922	<b>0,022</b>
Transferrina	0,731	0,520	0,942	<b>0,028</b>
t-Gelsolina	0,731	0,532	0,930	<b>0,029</b>
GM2AP	0,804	0,655	0,953	<b>0,006</b>

**Tabla 14.** Valores de las áreas bajo las curvas ROC y su significación estadística de cada uno de los biomarcadores urinarios, en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal elevado.

ABC: área bajo la curva; NAG: N-acetil- $\beta$ -D-glucosaminidasa; KIM-1: molécula de daño renal 1; NGAL: lipocalina asociada a la gelatinasa de neutrófilos; GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2

De todos ellos, aquel cuya ABC fue más elevada, y por tanto tuvo una mayor capacidad predictiva, fue la proteína GM2AP. Las curvas ROC de los biomarcadores de predisposición aparecen en la **Figura 36**.



**Figura 36.** Curvas ROC de los biomarcadores de predisposición albúmina, transferrina, t-gelsolina y GM2AP en los pacientes con un nivel de creatinina plasmática basal elevado. GM2AP: proteína activadora del gangliósido GM2.

Resumiendo, ni en el conjunto de total de la población estudiada, ni en las dos subpoblaciones obtenidas en base a la creatinina plasmática, los marcadores de daño renal temprano son capaces de predecir que pacientes sufrirán NIC. De entre los biomarcadores de predisposición, a excepción de la t-gelsolina, todos son útiles para conocer el riesgo en el total de los pacientes. Sin embargo, en los pacientes cuya creatinina plasmática basal es normal, únicamente la albumina tiene esa capacidad. En los pacientes que antes de recibir el medio de contraste tenían la función renal alterada, todos los marcadores de predisposición tienen capacidad predictiva, y de

ellos el que tiene mayor capacidad es la proteína GM2AP. A continuación, se muestra la **Tabla 15** que resume dichos resultados.

BIOMARCADOR	Pacientes totales	Pacientes Crpl basal normal	Pacientes Crpl basal elevada
Proteínas totales			
NAG			
KIM-1			
NGAL			
Albúmina			
Transferrina			
t-Gelsolina			
GM2AP			

**Tabla 15.** Tabla resumen de la capacidad predictiva de la nefropatía inducida por contrastes en cada una de las poblaciones estudiadas. La significación se expresa mediante un código de colores. La ausencia de poder predictivo se marca en color blanco, y en negro el marcador con mayor capacidad predictiva. Mediante distintos tonos de grises se marcan los valores intermedios.

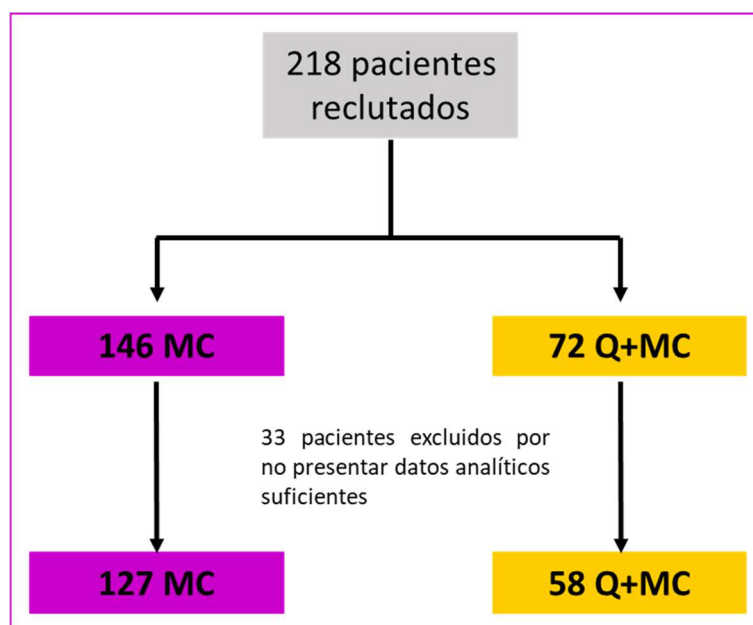
## B. TERAPIA PREVENTIVA

El segundo abordaje planteado fue el desarrollo de un ensayo clínico con pacientes cardiopatas. El objetivo fue evaluar la utilidad del compuesto antioxidante quercetina como terapia preventiva frente a la NIC, así como confirmar la seguridad de dicha administración. A continuación, se recogen los resultados obtenidos tras el análisis de los datos obtenidos.

### 1. ENSAYO CLÍNICO

#### 1.1. RECLUTAMIENTO DE PACIENTES

Se reclutaron un total de 218 pacientes para formar parte del estudio. De ellos, 127 pacientes únicamente recibieron el contraste yodado, mientras que 72 pacientes recibieron quercetina durante los tres días previos al medio de contraste, el día de la administración y los dos días posteriores. Se excluyeron 33 pacientes por no disponer de datos suficientes sobre la creatinina plasmática que permitieran estudiar su evolución clínica tras la administración del medio de contraste. El diagrama de flujo en el que se recoge el proceso de inclusión en el estudio se presenta en la **Figura 37**.



**Figura 37.** Diagrama de flujo en el que se representan las etapas de inclusión, exclusión y separación por grupos de los pacientes en el ensayo.

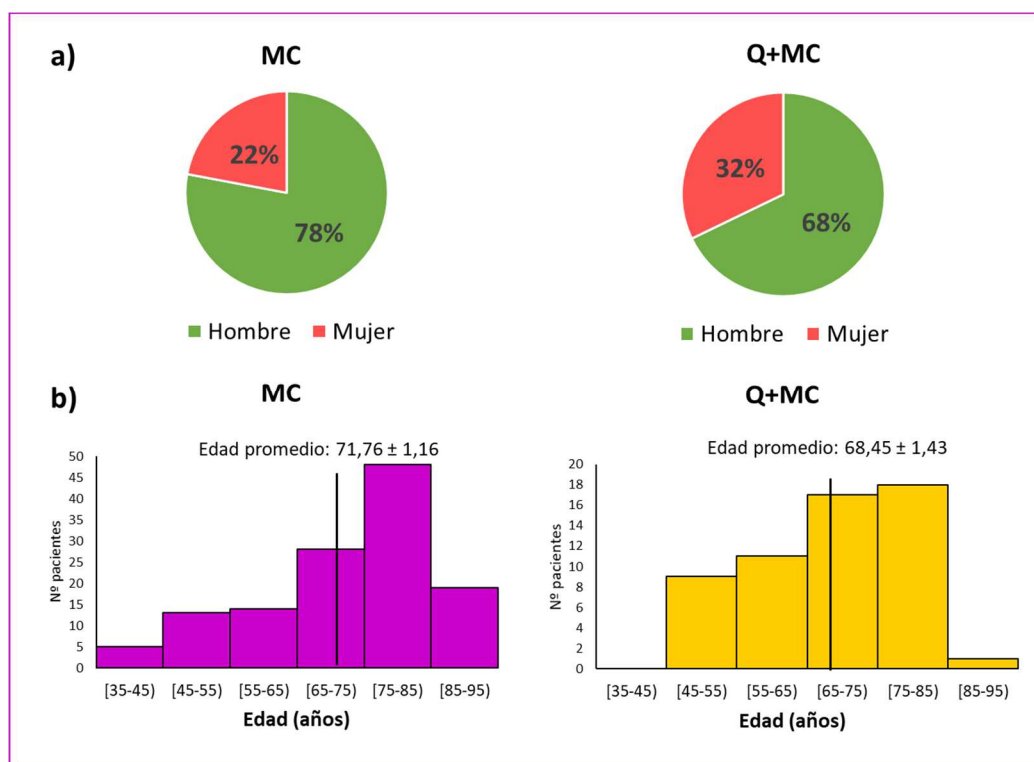
MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste

El número de pacientes en el grupo Q+MC fue inferior debido a que la aceptación de los pacientes fue menor.

### 1.2. CARACTERÍSTICAS DE LOS PACIENTES

#### 1.2.1. Variables descriptivas y antropométricas

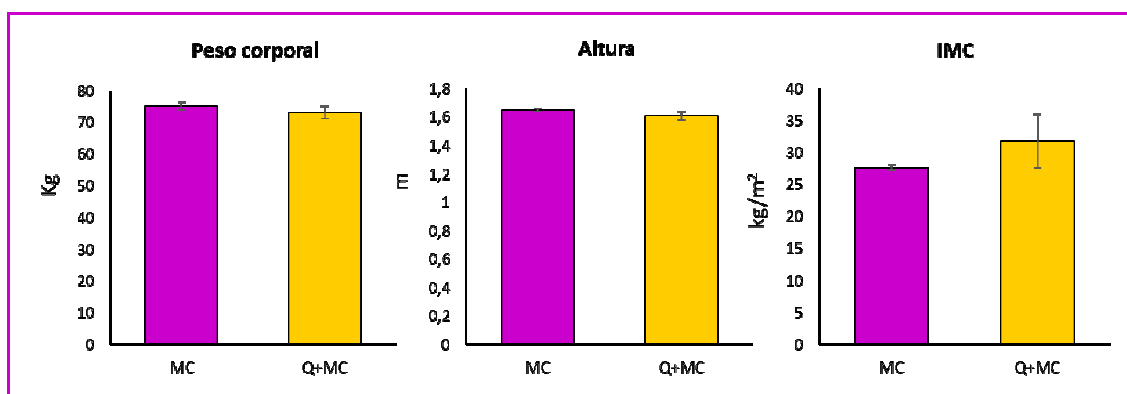
A pesar de la diferencia en el número de pacientes incluidos en cada grupo, las características descriptivas y antropométricas fueron similares entre ambos. Los pacientes incluidos fueron mayoritariamente hombres con una edad media cercana a los 70 años. Aunque la distribución de edades parece diferente, en ambos grupos el mayor porcentaje de pacientes se encontraba entre los 65 y los 85 años. Estos datos aparecen recogidos en la **Figura 38**.



**Figura 38.** (a): Sexo de los pacientes incluidos en el ensayo clínico. Los datos se expresan en porcentaje respecto al total. (b): Edad de los pacientes incluidos en el ensayo clínico. Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste.

En lo referente a sus variables antropométricas, ambos grupos tenían valores muy parecidos de peso corporal, altura e IMC, mostrando este último un valor superior a los 25 kg/m<sup>2</sup>, lo que indica presencia de sobrepeso (preobesidad). Ninguno de los parámetros mostró diferencias estadísticamente significativas, siendo la población homogénea en estos términos. Así, aunque el número de pacientes incluidos en cada grupo es diferente, las dos poblaciones de estudio son similares y por tanto comparables. Estos resultados aparecen recogidos en la **Figura 39**.



**Figura 39.** Datos antropométricos de los pacientes incluidos en cada grupo del ensayo.

Los datos se expresan como promedio ± EEM.

MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste. IMC: índice de masa corporal.

### 1.2.2. Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos

Los datos obtenidos de sus historias clínicas relacionados con las enfermedades, factores de riesgo y consumo de fármacos están recogidos en la **Tabla 16**.

Las enfermedades que fueron más prevalentes en los pacientes de ambos grupos fueron la HTA, la dislipidemia y la diabetes mellitus. Estas dos últimas fueron superiores porcentualmente en los pacientes del grupo Q+MC, aunque la diferencia no fue estadísticamente significativa. Por tanto, en lo referente a las comorbilidades, ambos grupos fueron homogéneos.

En cuanto al consumo de alcohol y otras drogas, ambos grupos presentaron valores muy bajos o nulos. En cambio, un elevado porcentaje de pacientes eran fumadores, siendo estadísticamente superior en los pacientes del grupo Q+MC respecto a los del

grupo MC. El porcentaje de pacientes que presentaban enfermedad renal previa fue bajo, así como el de pacientes obesos en ambos grupos.

En relación con el consumo de fármacos, el AAS a dosis anticoagulantes y los hipolipemiantes fueron los más consumidos por los pacientes de ambos grupos. Los IECAs, antiagregantes, diuréticos, betabloqueantes y antidiabéticos también fueron habituales tanto en el grupo MC como en el grupo Q+MC. En ningún caso hubo diferencias estadísticamente significativas en el porcentaje de pacientes en tratamiento. En el caso de los AINEs, considerados un factor de riesgo en el desarrollo de NIC, aunque se dio en un bajo porcentaje de los pacientes, fue superior en los pacientes que recibían quercetina.

	MC	Q+MC
<b>ENFERMEDADES Y FACTORES DE RIESGO</b>		
Diabetes mellitus	28,8 %	31,0 %
Dislipidemia	44,8 %	51,7 %
Hipertensión arterial	56,7 %	53,4 %
Enfermedad renal previa	4,0 %	3,6 %
Obesidad	6,3 %	5,2 %
Tabaquismo	18,4 %	36,2 %
Consumo de alcohol	5,5 %	3,4 %
Consumo de drogas	1,6 %	0 %
<b>CONSUMO DE FÁRMACOS</b>		
AAS	33,9 %	24,1%
AINEs	5,5 %	13,7 %
Antiagregantes	23,6 %	10,3 %
Diuréticos	24,4 %	17,2 %
IECAs	21,3 %	22,4 %
ARAs	12,6 %	12,1 %
Betabloqueantes	26,8 %	15,5 %
Alfabloqueantes	3,1 %	8,6 %
Antagonistas de calcio	17,3%	3,4 %
Antidiabéticos	18,9 %	15,5 %
Hipolipemiantes	37,0 %	24,1 %

**Tabla 16.** Enfermedades previas, factores de riesgo y consumo de fármacos de los pacientes pertenecientes a cada uno de los grupos del ensayo.

Los datos se presentan en porcentaje de individuos respecto al total del grupo.

MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste. AAS: ácido acetil salicílico; AINE: antiinflamatorio no esteroideo; IECA: inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina; ARA: antagonista de los receptores de angiotensina II.

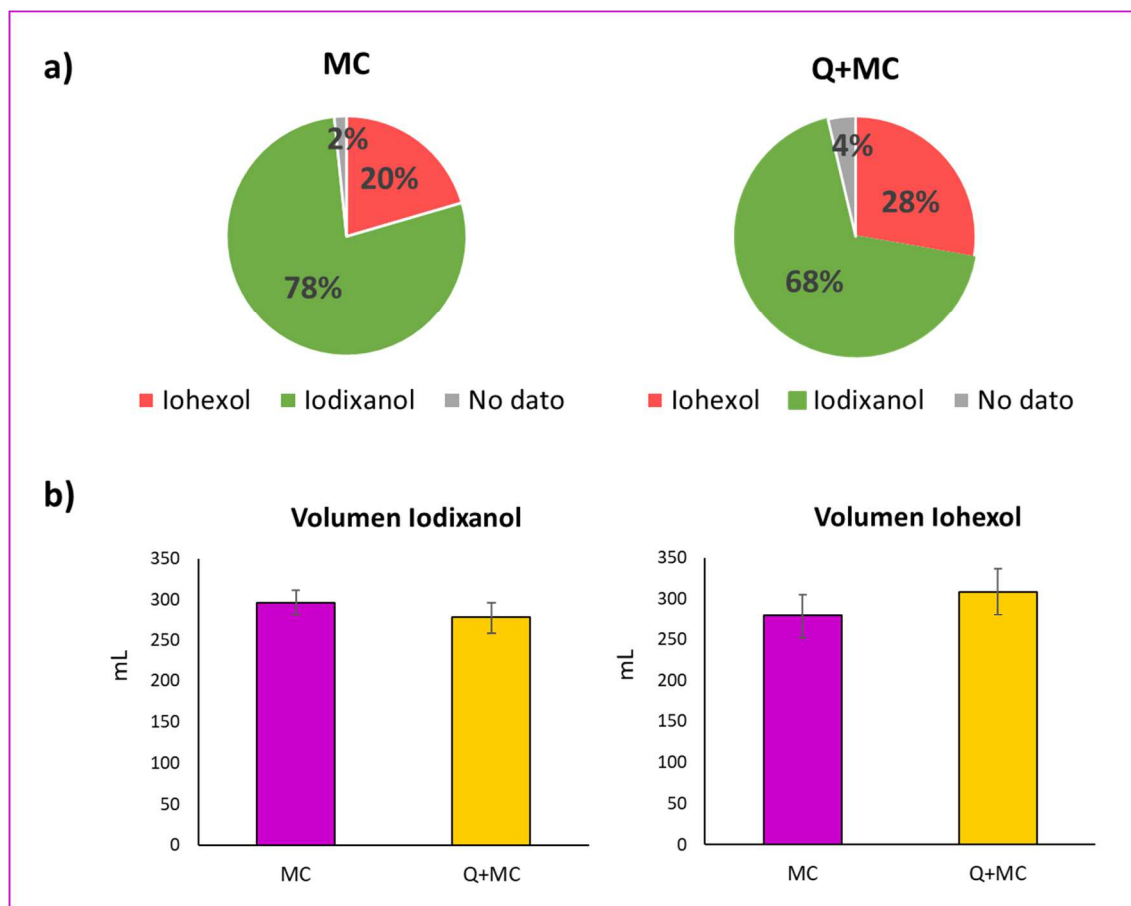


### 1.2.3. Medio de contraste administrado

El medio de contraste mayoritariamente utilizado en ambos grupos de pacientes fue el Iodixanol. En concreto se administró a un 78 % de los pacientes pertenecientes al grupo MC y a un 68 % de los pacientes del grupo Q+MC. El resto de los pacientes recibieron como medio de contraste el Iohexol. El hecho de recibir Iodixanol, contraste isoosmolar, o Iohexol, de baja osmolaridad, no parece tener influencia en el desarrollo de la NIC. Así, en el grupo MC un 23 % de los pacientes que reciben Iodixanol padecen NIC, y un 19 % de los que reciben Iohexol. En el grupo que recibió quercetina esta incidencia fue menor que la observada en los pacientes que no la recibieron. Al igual que en el caso anterior, tampoco se apreciaron diferencias en el desarrollo de la NIC en función del medio de contraste administrado (16,6 % con Iodixanol y 12,5 % con Iohexol).

El volumen administrado fue muy similar en ambos grupos, tanto en el caso del Iodixanol como en el del Iohexol. A pesar de que el volumen medio de contraste administrado se encuentra alrededor de los 300 mL, un porcentaje destacable de los pacientes recibieron un volumen superior. En concreto, un 29,1 % de los pacientes del grupo MC y un 29,3 % de los pacientes del grupo Q+MC reciben más de 350 mL, llegando incluso hasta los 750 mL.

Los datos referentes al tipo de medio de contraste y el volumen administrado están recogidos en la **Figura 40**.



**Figura 40.** Datos sobre el medio de contraste administrado a los pacientes incluidos en cada grupo del ensayo. (a): tipo de medio de contraste administrado. (b): volumen de medio de contraste administrado.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

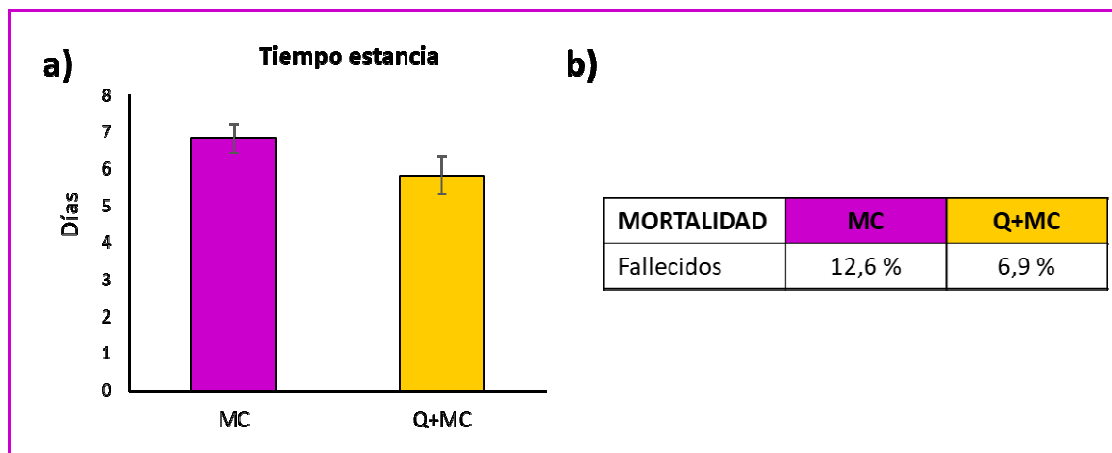
MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste.

#### 1.2.4. Estancia hospitalaria

Los pacientes pertenecientes al grupo MC permanecieron ingresados durante más tiempo. En concreto, estuvieron un promedio de 6,83 días ingresados frente a los 5,82 días que permanecieron hospitalizados los que recibieron quercetina. En relación con la mortalidad, esta también fue superior en el grupo MC, en el que un 12,6 % de los pacientes fallecieron, respecto al 6,9 % de pacientes fallecidos en el grupo Q+MC.

Estas diferencias no son estadísticamente significativas y podrían no ser atribuibles de manera directa con la administración de quercetina. Podrían existir diferencias referentes a las comorbilidades o a la patología tratada durante la realización del

procedimiento en el que se administra el medio de contraste que justifiquen un mayor tiempo de estancia hospitalaria y una mayor mortalidad.



**Figura 41.** (a) Tiempo de estancia hospitalaria y (b) porcentaje de fallecidos en cada uno de los grupos del estudio.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

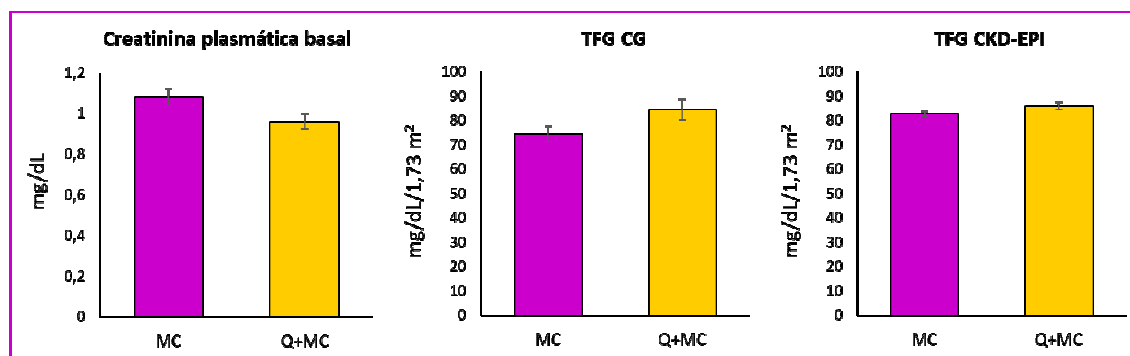
MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste.

Los datos referentes a la estancia hospitalaria y la mortalidad están recogidos en la **Figura 41**.

### 1.3. EVALUACIÓN DE LA FUNCIÓN RENAL

A tiempo basal, los pacientes de ambos grupos partieron de unas condiciones renales basales similares, siendo pacientes sin daño renal previo, si se usan como indicadores los valores de creatinina plasmática y de TFG. Así, la creatinina sérica basal fue de 1,08 mg/dL en el grupo MC y 0,96 mg/dL en el grupo Q+MC; y los valores de TFG, tanto calculada mediante la fórmula de Cockcroft-Gault como mediante la fórmula CKD-EPI, se encontraban alrededor de los 80 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, tanto en los pacientes que recibían quercetina como en los que no.

Los datos relacionados con los valores basales de creatinina plasmática y TFG se muestran en la **Figura 42**.



**Figura 42.** Función renal basal en ambos grupos del ensayo.

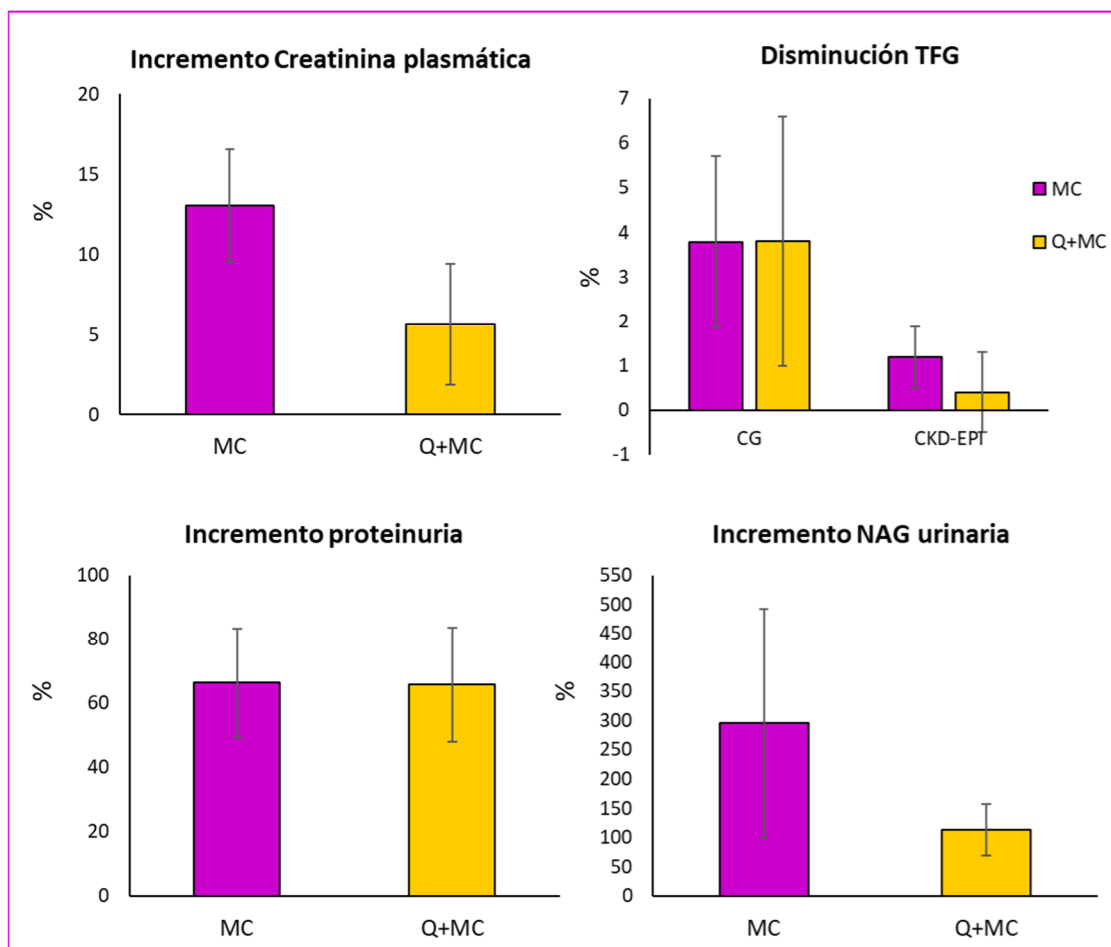
Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste. TFG CG: tasa de filtración glomerular estimada mediante la fórmula Cockcroft-Gault; TFG CKD-EPI: tasa de filtración glomerular estimada mediante la fórmula "Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration".

Se calculó el incremento de la creatinina plasmática utilizando el valor más elevado dentro de los 5 días posteriores a la administración del medio de contraste. Este incremento fue menor en los pacientes tratados con quercetina (**Figura 43**). Así, las variaciones en el valor de creatinina plasmática en el grupo Q+MC fueron muy pequeñas, aumentando de media un 5,6 % y alcanzándose un valor promedio tras la administración del medio de contraste de 1,01 mg/dL. En el grupo MC el incremento promedio fue del 13,1 %, alcanzándose un valor medio de 1,29 mg/dL.

Con respecto a la disminución de la TFG, el resultado fue ligeramente distinto según la fórmula aplicada para el cálculo (**Figura 43**). Si se aplicaba la fórmula de Cockcroft-Gault la disminución en ambos grupos era muy parecida. Si la fórmula aplicada era la CKD-EPI, la disminución era menor en el grupo de pacientes que habían recibido quercetina respecto al que no. Esto puede deberse al hecho de que la fórmula CKD-EPI incluye un mayor número de variables.

En cuanto a la excreción de proteínas, el incremento observado no fue diferente entre los dos grupos del ensayo. En lo referente a la variación de NAG, esta fue menor en aquellos pacientes que recibían la terapia preventiva con quercetina. En concreto, en el grupo MC se produjo un aumento de NAG cercano al 300 % respecto al valor basal, mientras que en el grupo Q+MC el aumento fue del 100 %. Sin embargo, la diferencia no fue estadísticamente significativa (**Figura 43**).

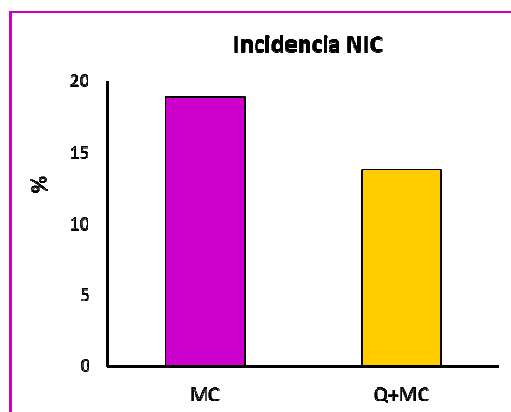


**Figura 43.** Variación de los parámetros de funcionalidad renal tras la administración del medio de contraste en ambos grupos del ensayo.

Los datos se expresan como promedio  $\pm$  EEM.

MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste. TFG: tasa de filtración glomerular; CG: tasa de filtración glomerular calculada mediante la fórmula de Cockcroft-Gault; CKD-EPI: tasa de filtración glomerular calculada mediante la fórmula Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration; NAG: N-acetil-beta-D-glucosaminidasa.

La incidencia de la NIC, calculada como el porcentaje de pacientes que sufren un aumento de la creatinina plasmática superior a 0,5 mg/dL o al 25 %, fue menor en el grupo de los pacientes que fueron tratados con quercetina. Así, en el grupo Q+MC la incidencia fue del 13,8 %, sufriendo NIC un total de 8 de los 58 pacientes, mientras que en el grupo MC fueron 24 los pacientes los que desarrollaron NIC, suponiendo ello una incidencia del 18,9 %. (Figura 44)



**Figura 44.** Incidencia de la nefropatía inducida por contraste en ambos grupos del ensayo. Los datos se expresan como porcentaje de pacientes respecto al total. MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste. NIC: nefropatía inducida por contrastes

### 1.4. CÁLCULO DEL RIESGO RELATIVO

El RR de sufrir NIC asociado a cada uno de los factores de riesgo establecidos en el estudio está recogido en la **Tabla 17**. En ambos grupos los valores fueron muy similares, aunque tienden a ser ligeramente inferiores en el grupo Q+MC. El único valor que presentó diferencias significativas fue la administración de volúmenes de medio de contraste superiores a 350 mL. En aquellos pacientes que recibieron quercetina, el RR fue de 0,80 y su intervalo de confianza incluyó el valor 1 de no asociación. En cambio, en los pacientes que no habían recibido quercetina, su RR de sufrir NIC si el volumen administrado era mayor de 350 mL fue de 1,83. Esos pacientes tendrán un riesgo entre 1,07 y 3,14 veces superior de desarrollar NIC que aquellos que no recibieron un volumen tan alto. Así, en los pacientes que han recibido quercetina, la administración de volúmenes de medio de contraste superiores a los 350 mL no supone un factor de riesgo para desarrollar NIC, mientras que, en aquellos que no han recibido el tratamiento preventivo, administrar grandes volúmenes de medio de contraste puede aumentar hasta 3 veces el riesgo de NIC. Por tanto, la administración de quercetina podría ejercer su actividad protectora disminuyendo el riesgo derivado de la administración de un gran volumen de medio de contraste.

FACTOR DE RIESGO	GRUPO MC			GRUPO Q+MC		
	RR	Intervalo de confianza 95 %		RR	Intervalo de confianza 95 %	
		Límite inferior	Límite superior		Límite inferior	Límite superior
Hipertensión arterial	1,19	0,83	1,68	0,87	0,41	3,85
Diabetes mellitus	1,15	0,57	2,29	0,74	0,21	2,63
Dislipidemia	0,73	0,41	1,32	1,56	0,85	2,82
Tabaquismo	1,17	0,50	2,71	1,06	0,40	2,78
Volumen MC >350 mL	1,83 *	1,07	3,14	0,80	0,22	2,86

**Tabla 17.** Valores del riesgo relativo de sufrir nefropatía inducida por contrastes de cada factor de riesgo.

MC: grupo contraste; Q+MC: grupo quercetina + contraste. RR: riesgo relativo.

\*:  $p < 0,05$  respecto al valor 1 indicativo de no asociación.

## 1.5. SEGURIDAD DE LA QUERCETINA

La administración de 500 mg de quercetina cada 8 horas durante 3-6 días no se asoció con la aparición de ningún efecto adverso. De los posibles efectos sobre los que fueron preguntados, únicamente dos pacientes manifestaron dolor abdominal, lo que supone un porcentaje del 3,4 % (**Tabla 18**). Este efecto se ha atribuido a la quercetina, aunque no se sabe si está directamente asociado a su consumo.

Efecto adverso	Frecuencia (%)
Cefaleas	0
Palpitaciones	0
Diarrea	0
Astenia	0
Edema	0
Náuseas o vómitos	0
Dolor abdominal	3,4
Vértigo	0
Fiebre	0

**Tabla 18.** Porcentaje de pacientes que presentan cada uno de los efectos adversos preguntados.





## *Discusión*





En la actualidad, como consecuencia del avance médico en lo relativo a los procedimientos diagnósticos, la utilización de los medios de contraste ha ido en aumento y con ello el número de pacientes que sufren NIC (Mettler et al., 2009).

Entre los factores que influyen en el desarrollo de la NIC se encuentran las características del medio de contraste y las del paciente (Goldenberg, 2005). Sin embargo, no todos los sujetos que reciben un contraste padecen esta patología, aun teniendo uno o varios de los factores de riesgo. Este hecho sugiere que existen otras circunstancias que aumentan la susceptibilidad de padecer esta condición. Entre ellas, se ha postulado la existencia de determinados polimorfismos genéticos asociados con el riesgo de NIC y la evolución de la misma, apuntando por tanto a una predisposición genética (Chang et al., 2013). Otra de las causas que podrían influir en el desarrollo de la NIC es la exposición previa a sustancias o tratamientos potencialmente tóxicos. Estudios experimentales llevados a cabo por nuestro grupo de investigación, han demostrado que dicha exposición es capaz de predisponer al individuo o hacerle especialmente sensible a padecer daño renal cuando se ve sometido a otra exposición potencialmente dañina, incluso a dosis subtóxicas (Quiros et al., 2010; Vicente-Vicente et al., 2015). En este contexto, la administración de un medio de contraste en un paciente predispuesto podría provocar el desarrollo de NIC.

Actualmente, no existe ningún tratamiento específico para la NIC una vez está instaurada, por lo que la única opción viable en los pacientes con DRA de estadio más avanzado es la diálisis. Asimismo, los compuestos evaluados como medida preventiva no han demostrado ser completamente eficaces.

Por todo ello, en este trabajo de Tesis Doctoral nos planteamos dos nuevos abordajes como estrategia frente a la NIC, el diagnóstico temprano del riesgo a padecer esta condición, antes de recibir el medio de contraste, y el tratamiento preventivo con un antioxidante, el flavonoide quercetina.

### 1. Diagnóstico temprano

#### 1.1 Modelo preclínico

En primer lugar, se planteó el desarrollo de un modelo experimental de NIC en el que identificar marcadores de detectasen la predisposición al daño renal.

Los modelos animales de NIC descritos en la literatura requieren de artefactos para poder desarrollar dicha patología. Esto hace que la alteración de la función renal se deba, al menos en parte, a otros factores (Basivireddy et al., 2004; Modlinger et al., 2004). La estrategia más utilizada es la administración de indometacina y L-NAME, los cuales inhiben la síntesis de prostaglandinas y NO respectivamente (Rollins et al., 2017; Tasanarong et al., 2014; Wang et al., 2014). También es frecuente la privación del consumo de agua durante un periodo de hasta 72 horas, que en ocasiones se suma a la estrategia anterior (Ozkan et al., 2012; Toprak et al., 2008). Existen otros procedimientos menos habituales, como la nefrectomía de 5/6 de la masa renal (Liu et al., 2014), la inducción de diabetes mellitus con estreptozotocina (Deng et al., 2015), o la isquemia-reperfusión renal (Linkermann et al., 2013). El único modelo animal en el que la nefrotoxicidad es producida mediante la administración de una sola dosis de contraste radiológico se ha realizado en conejos. Sin embargo, la dificultad que conlleva el manejo de esos animales, junto con las instalaciones que requieren, hace que sea un modelo difícil de reproducir (Kiss y Hamar, 2016).

Nuestro modelo experimental incluyó como único artefacto adicional a la administración del contraste radiológico la edad avanzada, en concreto se usaron ratas de 9 meses. Esta condición, que aumenta la susceptibilidad al daño renal, simula de una manera más fiel la realidad observada en la clínica, pues los medios de contraste son usados mayoritariamente en el ámbito de la cardiología intervencionista, en el que la media de los pacientes supera los 70 años (Baena Díez et al., 2005).

Para establecer el modelo animal de NIC se requirió la administración de tres dosis de Iohexol, de tal modo que las dos primeras dosis predisponían al daño renal, y la tercera dosis lo desencadenaba. La búsqueda de marcadores de predisposición se hizo en el momento previo a la administración de la tercera dosis.

### **Los marcadores NGAL y GM2AP identifican la predisposición inducida por los medios de contraste en un modelo experimental**

Los marcadores habitualmente utilizados en la clínica para el diagnóstico del daño renal (creatinina y urea plasmáticas y proteinuria) no sirvieron para identificar la predisposición al DRA causada por el Iohexol. Tampoco fueron útiles los marcadores de daño renal temprano NAG y KIM-1, ambos indicativos de daño en la zona proximal (Liangos et al., 2007).

En cambio, la proteína NGAL fue capaz de diferenciar a los animales predispuestos a sufrir daño renal. Esta proteína, que en condiciones fisiológicas normales se encuentra en cantidades muy bajas en diversos órganos, incluyendo los riñones, aumenta su expresión, de manera muy significativa, como consecuencia del daño isquémico, tóxico, la inflamación o la aterosclerosis, siendo fácilmente detectada en la orina (Ning et al., 2018; Parikh and Devarajan, 2008). Así, el incremento en la excreción urinaria de NGAL puede estar influenciado por factores que no se deban únicamente a una alteración renal. Por tanto, en nuestro estudio se hizo necesaria la búsqueda de marcadores más específicos de predisposición a la NIC.

En base a la experiencia previa de nuestro grupo, seleccionamos una batería de marcadores que en otros modelos experimentales habían detectado la predisposición al daño renal. Los marcadores transferrina, albúmina y t-gelsolina, identificados en modelos de predisposición al DRA por cisplatino (Vicente-Vicente et al., 2015), por la exposición crónica al contaminante ambiental nitrato de uranio (Vicente-Vicente et al., 2013) y por gentamicina (Quiros et al., 2017) respectivamente, no fueron útiles en este modelo de predisposición a la NIC. Las proteínas transferrina y albúmina proceden de la sangre, desde donde son filtradas en el glomérulo y posteriormente reabsorbidas en el túbulo proximal mediante endocitosis (Amsellem et al., 2010). Así, se ha postulado que la aparición de estas proteínas en orina es consecuencia de una disfunción en el proceso de reabsorción, debido a un daño tubular, mecanismo fisiopatológico que tienen en común tanto el cisplatino como el uranio (Homma-Takeda et al., 2015; Manohar y Leung, 2017). La excreción de la proteína t-gelsolina también se ha asociado con disfunción tubular (Ferreira et al., 2011).

El hecho de que la excreción de albúmina, transferrina y t-gelsolina no varíe en nuestro modelo experimental, sugiere que la predisposición al DRA causada por los medios de contraste no es consecuencia de una alteración en la función tubular encargada del manejo de estas proteínas.

En cambio, la excreción urinaria de la proteína GM2AP fue superior en el grupo de animales que desarrollaron NIC, por lo que se postula como un potencial marcador de predisposición al DRA causado por los medios de contraste. Esta proteína fue detectada por primera vez en un modelo de predisposición al daño renal por gentamicina (Quiros et al., 2010), vinculándose su incremento en orina con una alteración en el manejo tubular de la misma. Sin embargo, es posible que otros mecanismos también estén implicados en la predisposición inducida por gentamicina. Así, la nefrotoxicidad de este aminoglucósido es de origen multifactorial y además de los efectos tubulares también se ven afectados el glomérulo y los vasos. En caso de daño renal leve, los mecanismos extratubulares son los predominantes, principalmente la contracción mesangial y vascular (Lopez-Novoa et al., 2011), consecuencia de la liberación de mediadores como la endotelina (Valdivielso et al., 1999) o la angiotensina II (Lopez-Novoa et al., 2011; Rodriguez-Barbero et al., 1997), lo que sugiere una implicación vascular en el desarrollo de la nefrotoxicidad. Puesto que la alteración hemodinámica debida al aumento de mediadores vasoconstrictores es uno de los principales mecanismos fisiopatológicos implicados en el desarrollo de la NIC, la excreción de GM2AP en el modelo de predisposición al DRA por los medios de contraste podría ser consecuencia de la alteración vascular.

Otros estudios que apoyan la posibilidad de que la proteína GM2AP esté más relacionada con un daño vascular que tubular, son los obtenidos en un modelo de predisposición claramente tubular, como es el del cisplatino (Quiros et al., 2010). En este modelo, la GM2AP solo es excretada cuando el daño renal esta instaurado, momento en que se ha observado que se produce un deterioro vascular (Sánchez-González et al., 2011; Sancho-Martínez et al., 2012).

Estos resultados inducen a pensar que la excreción urinaria de GM2AP no estaría únicamente asociada a la disfunción tubular, y que la alteración hemodinámica también influiría en el aumento de sus niveles urinarios.

Por tanto, en el modelo animal de predisposición al daño renal por los medios de contraste planteado, la excreción de marcadores asociados con alteración tubular, tanto de daño renal temprano (NAG y KIM-1), como de predisposición (albúmina, transferrina y t-gelsolina), no presentó diferencias entre los animales que desarrollaron NIC y los que no. Estos resultados sugieren que, pese a que la toxicidad directa sobre las células tubulares es un mecanismo de daño de los medios de contraste, este podría no estar implicado en el desarrollo de la predisposición al DRA. Una posible explicación es que las ratas son muy resistentes a la nefrotoxicidad de los medios de contraste (Kiss y Hamar, 2016), entre otras causas por su capacidad de excretarlos rápidamente, reduciendo el tiempo en que el fármaco está en contacto con las células. También puede ser que el daño tubular se desarrolle una vez que la nefrotoxicidad es evidente. En cambio, las proteínas GM2AP y NGAL son capaces de detectar la predisposición adquirida al DRA inducido por los medios de contraste, pudiendo vincularse con una alteración de la vasculatura renal (GM2AP) y con isquemia renal (NGAL).

## 1.2 Estudio clínico

Una vez desarrollado el modelo animal de predisposición, en el que se identificaron marcadores que detectan dicha situación, el siguiente paso fue validar estos marcadores en cuanto a su capacidad para identificar pacientes susceptibles de desarrollar NIC. La población seleccionada para llevar a cabo el estudio fueron pacientes cardiopatas que iban a ser sometidos a la administración de un contraste radiológico.

De los pacientes incluidos en el estudio, un 20,3 % desarrolló NIC. Estos valores se corresponden con los que aparecen en la bibliografía, que sitúan la incidencia entre el 15-30 % en pacientes con características similares a los reclutados en este estudio

(cardiópatas con factores de riesgo) (Marenzi et al., 2004; McCullough et al., 2006, 1997). Este porcentaje es muy elevado, y se asocia con importantes repercusiones tanto clínicas, empeorando el pronóstico de los pacientes, como económicas, por los gastos sanitarios derivados de una mayor estancia hospitalaria.

Puesto que el hecho de tener la función renal alterada es uno de los principales factores de riesgo para el desarrollo de la NIC, se llevó a cabo la subdivisión de los pacientes en función de si sus valores de creatinina plasmática basal indicaban un estado de normalidad (valores inferiores a 1,3 mg/dL en los hombres y 1,1 mg/dL en las mujeres) o de patología renal. Tras la subdivisión, se comprobó que los grupos generados mantenían la homogeneidad observada antes de su división en cuanto a características antropométricas y factores de riesgo. Como cabía esperar, los pacientes que partían de una situación de daño renal, tomando como referencia los niveles de creatinina plasmática, mostraron una mayor incidencia de NIC y un mayor deterioro de la función renal. Así, según el criterio RIFLE, los pacientes con NIC del grupo con función renal basal normal (Casos-CrN) se clasificarían como pacientes de riesgo, mientras que los que partían con la función renal basal alterada (Casos-CrE) estarían en una situación de fallo renal (Ricci et al., 2008). El tiempo de estancia hospitalaria y la mortalidad también fueron superiores en los pacientes del grupo Casos-CrE. Aunque no se puede afirmar que haya una relación directa entre la administración del contraste y el fallecimiento, pues este podría deberse a las comorbilidades, a la severidad de la patología cardíaca, o al procedimiento realizado, parece evidente que el hecho de sufrir complicaciones renales influye negativamente en la evolución y pronóstico del paciente.

A pesar de que la creatinina plasmática basal tiene una gran repercusión en la incidencia y gravedad de la NIC, no es capaz de identificar a los pacientes que tienen mayor riesgo de sufrir daño renal. Por ello, en este estudio se investigó la capacidad de marcadores más específicos, que pudieran estratificar a los pacientes según su riesgo de desarrollar NIC. Puesto que en los pacientes la predisposición a la NIC puede deberse a otras circunstancias diferentes a la administración previa de un medio de contraste, como son sus factores de riesgo o la exposición a sustancias que aumenten su susceptibilidad, se decidió evaluar toda la batería de marcadores



probados en los animales. Así, se estudiaron tanto marcadores de daño renal temprano, (NAG, NGAL y KIM-1) como de predisposición (albúmina, transferrina, GM2AP y t-gelsolina).

### **Los marcadores NAG, NGAL y KIM-1 no son capaces de identificar a aquellos pacientes que desarrollarán NIC**

Ninguno de los biomarcadores de daño renal temprano (NAG, NGAL y KIM-1) fue útil para diferenciar los Controles de los Casos, ni en el conjunto total de los pacientes ni en ninguna de las subpoblaciones. El hecho de que en el modelo animal la NGAL sea indicativo de la predisposición a la NIC y en cambio en los pacientes no se reproduzca esa situación, puede deberse a que esta proteína aparece como consecuencia de procesos de isquemia (de origen no solo renal), y este es uno de los principales mecanismos patológicos de las cardiopatías que sufren los pacientes incluidos en este estudio. Así, se ha visto que la NGAL aumenta en situaciones como el infarto de miocardio, aterosclerosis o accidentes cerebrovasculares (Bolignano et al., 2010). Por tanto, los niveles de la NGAL podrían estar alterados como consecuencia de las patologías cardíacas y por ello no se observarían diferencias entre los grupos que permitieran detectar la mayor susceptibilidad a la NIC.

### **La albúmina posee un alto poder predictivo del desarrollo de NIC en pacientes con la función renal basal normal**

La microalbuminuria, considerada como la excreción de 30-300  $\mu\text{g}/\text{mg}$  creatinina urinaria, es un factor de riesgo cardiovascular y renal, y se ha observado en hipertensos, diabéticos o fumadores (Basi et al., 2008). En esas situaciones su excreción urinaria se ha asociado con disfunción vascular intrarrenal (Mimran et al., 1994; Pinto-Sietsma et al., 2000). Sin embargo, en nuestro estudio, el nivel de albuminuria de los pacientes que no tenían la creatinina plasmática basal elevada estaba por debajo de los márgenes de la microalbuminuria. Estudios epidemiológicos recientes han observado que, dentro de esos niveles inferiores a la microalbuminuria,

un nivel aumentado es indicativo de alteraciones renales, especialmente relacionadas con disfunción endotelial de la microvasculatura (arteriolas y capilares), posiblemente como consecuencia de la disminución en la producción de NO (Ärnlöv Johan et al., 2005; Martens et al., 2018; Ott et al., 2011).

En nuestro estudio, la posible influencia de la HTA o la diabetes en la excreción de albúmina sería comparable en ambos grupos, pues la prevalencia de estas patologías es similar. Así, el mayor nivel observado en el grupo Casos-CrN no estaría vinculado a los factores de riesgo.

### **La proteína GM2AP es capaz de predecir el riesgo de sufrir NIC en pacientes con la función renal alterada**

En los pacientes cuya función renal basal estaba alterada, el marcador que presentó una mayor capacidad predictiva de la NIC fue la proteína GM2AP. Este marcador ya fue propuesto como herramienta para el diagnóstico de la predisposición al DRA tras observarse un aumento de su excreción en pacientes que recibían el antibiótico gentamicina y cuyos parámetros comunes de daño renal no variaban (Quiros et al., 2010). Nuestros resultados confirmarían la utilidad de GM2AP para el diagnóstico de la susceptibilidad al daño renal. En base a los resultados obtenidos en el modelo animal, la excreción de GM2AP podría deberse a alteraciones en la función vascular renal, que posteriormente se verían agravadas con la administración del medio de contraste, provocando un deterioro de la función renal.

En este grupo de pacientes es de especial relevancia el hecho de disponer de un biomarcador que identifique a los pacientes en riesgo de desarrollar NIC. En los sujetos que presentan una disfunción renal, la administración del medio de contraste puede desencadenar una situación de fallo renal, lo cual tiene importantes repercusiones clínicas e incrementa la tasa de mortalidad. Por ello, el conocer, mediante la determinación de la proteína GM2AP, si un paciente presenta o no una mayor susceptibilidad a la NIC, permitiría ajustar los protocolos de actuación antes y después de la administración del medio de contraste.

Aunque los marcadores albúmina, transferrina y t-gelsolina también identificaban el riesgo de padecer NIC en esta subpoblación de mayor riesgo, su capacidad predictiva fue menor. En concreto, puesto que la barrera de filtración glomerular está alterada, como indican los valores elevados de creatinina plasmática, la especificidad de la albúmina para detectar la predisposición sería inferior a la observada en los pacientes con la función renal normal.

Así el estudio de los biomarcadores de predisposición en pacientes cardiópatas aporta resultados prometedores para el diagnóstico de la susceptibilidad de padecer NIC. El conocimiento anticipado del riesgo permitiría elegir un enfoque que se englobaría dentro de la denominada medicina 3p (predictiva, preventiva y personalizada).

## 2. Terapia preventiva

En la prevención del daño renal por tóxicos, una de las estrategias que se emplea frecuentemente es la administración de sustancias capaces de prevenir el desarrollo del mismo. Por ello se decidió evaluar si la quercetina, un compuesto con propiedades antioxidantes, era útil en la prevención de la NIC. Se seleccionó este producto en base a la experiencia previa de nuestro laboratorio con modelos preclínicos, en los que demostramos sus propiedades renoprotectoras, y debido a que el estrés oxidativo es un mecanismo patogénico de la NIC.

Para abordar esta estrategia se diseñó un ensayo clínico con pacientes cardiópatas que iban a recibir un medio de contraste. Participaron 185 pacientes, de los cuales 58 recibieron el tratamiento profiláctico con quercetina. Pese a la diferencia numérica de los grupos, ambos fueron homogéneos en relación con la edad, el sexo y las características antropométricas. Tampoco hubo diferencias en los medicamentos consumidos por cada grupo, el tipo y volumen de contraste administrado, o los factores de riesgo, salvo el tabaquismo.

### **La quercetina es un potencial compuesto protector frente a la NIC en pacientes cardiopatas**

La función renal basal, según los marcadores de daño renal medidos, no fue diferente entre los dos grupos. Nuestros resultados evidencian que la administración de quercetina parece ser útil en la reducción del daño renal causado por los medios de contraste, como muestra el menor incremento de la creatinina plasmática en los pacientes que recibieron el antioxidante. Por tanto, aunque no evitó completamente el deterioro, sí atenuó la gravedad.

Para evaluar la función renal con mayor detalle se determinó la TFG, la proteinuria y la actividad de la enzima NAG. La disminución de la TFG fue similar en los dos grupos estudiados, aunque existen ciertas discrepancias en función de la fórmula utilizada para su cálculo. El incremento en la excreción de proteínas entre el momento basal y el de mayor daño tras recibir el medio de contraste no fue diferente entre ambos grupos de pacientes. Sin embargo, parece haber afectación en el manejo tubular de algunas proteínas. En concreto, el incremento de NAG fue menor en los pacientes que habían recibido el tratamiento preventivo. Esta proteína es indicativa de daño tubular, por lo que la quercetina podría estar paliando la afectación tubular originada por los medios de contraste, la cual se observa cuando hay un daño renal establecido. Estos resultados indicarían una posible protección de la quercetina frente a la nefrotoxicidad de los medios de contraste. De hecho, la incidencia de la NIC fue un 5,1 % menor en los pacientes que tomaban el flavonoide. Además, en el grupo de pacientes tratados con quercetina tanto la estancia hospitalaria como la tasa de mortalidad fueron menores. Sin embargo, estos resultados no pueden asociarse directamente a la quercetina, pues podrían estar condicionados por la intervención a la que fue sometido el paciente o sus comorbilidades.

La definición de la NIC solamente tiene en cuenta la elevación de la creatinina plasmática. Sin embargo, la presencia de los factores de riesgo ya mencionados puede incrementar el riesgo de desarrollar esta patología. Para estudiar el efecto que tiene la administración de la quercetina en los factores de riesgo se calculó el RR de cada uno de ellos en los dos grupos estudiados. De todos los factores de riesgo, el único en el que la administración de quercetina influyó fue la administración de

volúmenes superiores a 350 mL. Así, en los pacientes que no habían recibido quercetina, la administración de un volumen de medio de contraste superior a 350 mL suponía un aumento del riesgo de NIC de entre 1 y 3 veces. En cambio, en los pacientes que recibían quercetina, el hecho de administrar un volumen elevado de contraste radiológico no suponía un factor de riesgo para el desarrollo de NIC. Por tanto, la quercetina reduciría el riesgo relacionado de manera directa con el medio de contraste, permitiendo a los facultativos la administración de volúmenes mayores, sin que ello suponga un riesgo añadido para los pacientes.

Todos estos datos sugieren que la quercetina tendría un potencial papel protector frente a la nefrotoxicidad de los medios de contraste. Sin embargo, existen ciertos aspectos que hacen que la eficacia sea menor a la observada en los estudios preclínicos. Uno de ellos es su baja biodisponibilidad por vía oral. La quercetina es poco soluble en medios acuosos, como los fluidos intestinales, y además es degradada por la microbiota intestinal, lo que condiciona la cantidad absorbida. Debido a todo ello hay una gran variabilidad interindividual en la proporción absorbida, pudiendo situarse entre el 0% y el 50 % (Graefe et al., 2001; Lesser and Wolfram, 2006). En nuestro estudio la dosis que se administró fue de 500 mg 3 veces al día. Incrementar la dosis administrada resultaría difícil debido al gran tamaño que deberían tener las cápsulas, lo cual podría provocar el rechazo al tratamiento por parte de los pacientes. Además, hay que tener en cuenta que la población en la que se ha llevado a cabo el estudio son pacientes que están polimedcados, y por tanto pueden mostrarse reticentes a la toma de un nuevo medicamento. Es por ello que en los últimos años se está estudiando el uso de otras formulaciones que solventen este problema, como son las nanopartículas (Li et al., 2009; Wu et al., 2008), las cuales mejorarían la solubilidad en agua y con ello la absorción de la quercetina, lo que haría que la dosis necesaria fuese menor. Además, para obtener resultados más robustos sería necesario un mayor número de pacientes.

### **La administración de quercetina a pacientes cardiopatas no provoca efectos adversos destacables.**

En relación con el estudio de seguridad llevado a cabo, a excepción del dolor abdominal, que fue referido por un 3,2 % de los pacientes, no se detectaron efectos adversos. Estos resultados están en consonancia con lo recogido en la bibliografía. La administración oral de este antioxidante no se ha relacionado con efectos adversos significativos, incluso a dosis de 1000 mg/día durante 12 semanas (Broman-Fulks et al., 2012; Kieseewetter et al., 2011; Lozoya et al., 2002; Shoskes, 1998). Solo en un estudio clínico en fase I los pacientes sufrieron emesis, disnea y nefrotoxicidad (aumento en la creatinina plasmática) (Ferry et al., 1996). En ese caso la quercetina se administraba por vía intravenosa, a una dosis de entre 945-1400 mg/m<sup>2</sup>, y los efectos no pueden compararse con aquellos de la administración por vía oral, pues debido a la baja biodisponibilidad, las concentraciones alcanzadas en sangre serían mucho menores. Se ha estimado que, para alcanzar la cantidad plasmática de quercetina obtenida tras administrar 722 mg por vía intravenosa, la dosis que causó nefrotoxicidad, sería necesaria una ingesta por vía oral de aproximadamente 28 kg (Harwood et al., 2007). Por tanto, se puede afirmar que la administración de quercetina por vía oral es segura.

Así, los resultados de nuestro estudio sugieren que la administración de quercetina en pacientes que van a recibir un medio de contraste protege, al menos en parte, frente a la nefrotoxicidad de los mismos. Esta estrategia permitiría además la administración de volúmenes mayores de contraste sin que ello aumente el riesgo de NIC. Asimismo, la dosis de flavonoide administrada es segura.

## *Conclusiones*







En base a los resultados obtenidos en este trabajo de investigación, las conclusiones que se pueden extraer son:

### **Conclusión 1**

- Los biomarcadores urinarios GM2AP y NGAL son capaces de identificar la predisposición al DRA inducida por los medios de contraste, en un modelo experimental.

### **Conclusión 2**

- En pacientes cardiopatas que van a recibir un medio de contraste, los biomarcadores urinarios de predisposición albúmina, GM2AP, transferrina y t-gelsolina son capaces de estratificar a los mismos según su riesgo de desarrollar NIC. Tras realizar un análisis más exhaustivo basado en la función renal basal, se concluye que:

- **Conclusión 2.1**

La albúmina es el único biomarcador capaz de discriminar a los pacientes que sufrirán NIC, entre aquellos que no presentan alteración renal.

- **Conclusión 2.2**

La proteína GM2AP es el marcador con mayor capacidad predictiva de la NIC, en los pacientes que parten con disfunción renal.

### **Conclusión 3**

- La administración de quercetina reduce la incidencia de NIC en nuestro estudio, por lo que se postula como un candidato prometedor frente a la nefrotoxicidad de los medios de contraste. Además, ejerce su efecto protector de manera segura y permitiría la administración de volúmenes mayores de medio de contraste sin que ello aumente el riesgo de toxicidad renal.



## ***Bibliografía***

---

---



- Abizaid, A.S., Clark, C.E., Mintz, G.S., Dosa, S., Popma, J.J., Pichard, A.D., Satler, L.F., Harvey, M., Kent, K.M., Leon, M.B., 1999. Effects of dopamine and aminophylline on contrast-induced acute renal failure after coronary angioplasty in patients with preexisting renal insufficiency. *Am. J. Cardiol.* 83, 260–263, A5.
- ACT Investigators\*, 2011. Acetylcysteine for prevention of renal outcomes in patients undergoing coronary and peripheral vascular angiography: main results from the randomized acetylcysteine for contrast-induced nephropathy trial (ACT). *Circulation* 124, 1250–1259. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.038943>
- Agmon, Y., Peleg, H., Greenfeld, Z., Rosen, S., Brezis, M., 1994. Nitric oxide and prostanoids protect the renal outer medulla from radiocontrast toxicity in the rat. *J. Clin. Invest.* 94, 1069–1075. <https://doi.org/10.1172/JCI117421>
- Alexopoulos, E., Spargias, K., Kyrzopoulos, S., Manginas, A., Pavlides, G., Voudris, V., Cokkinos, D.V., Lerakis, S., Mclean, D.S., 2010. Contrast-induced acute kidney injury in patients with renal dysfunction undergoing a coronary procedure and receiving non-ionic low-osmolar versus iso-osmolar contrast media. *Am. J. Med. Sci.* 339, 25–30. <https://doi.org/10.1097/MAJ.0b013e3181c06e70>
- Allaqaband, S., Tumuluri, R., Malik, A.M., Gupta, A., Volkert, P., Shalev, Y., Bajwa, T.K., 2002. Prospective randomized study of N-acetylcysteine, fenoldopam, and saline for prevention of radiocontrast-induced nephropathy. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 57, 279–283.
- Al-Otaibi, K.E., Al Elaiwi, A.M., Tariq, M., Al-Asmari, A.K., 2012. Simvastatin attenuates contrast-induced nephropathy through modulation of oxidative stress, proinflammatory myeloperoxidase, and nitric oxide. *Oxid. Med. Cell. Longev.* <https://doi.org/10.1155/2012/831748>
- Amini, M., Salarifar, M., Amirbaigloo, A., Masoudkabar, F., Esfahani, F., 2009. N-acetylcysteine does not prevent contrast-induced nephropathy after cardiac catheterization in patients with diabetes mellitus and chronic kidney disease: a randomized clinical trial. *Trials* 10, 45. <https://doi.org/10.1186/1745-6215-10-45>

- Andersen, K.-J., Christensen, E.I., Vik, H., 1994. Effects of iodinated x-ray contrast media on renal epithelial cells in culture. *Invest. Radiol.* 29, 955–962.
- Andrade, L., Campos, S.B., Seguro, A.C., 1998. Hypercholesterolemia aggravates radiocontrast nephrotoxicity: Protective role of L-arginine. *Kidney Int.* 53, 1736–1742. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.00906.x>
- Andreucci, M., Faga, T., Pisani, A., Sabbatini, M., Michael, A., 2014a. Acute kidney injury by radiographic contrast media: pathogenesis and prevention. *BioMed Res. Int.* 2014, 362725. <https://doi.org/10.1155/2014/362725>
- Andreucci, M., Faga, T., Pisani, A., Serra, R., Russo, D., De Sarro, G., Michael, A., 2018. Quercetin protects against radiocontrast medium toxicity in human renal proximal tubular cells. *J. Cell. Physiol.* 233, 4116–4125. <https://doi.org/10.1002/jcp.26213>
- Andreucci, M., Faga, T., Russo, D., Bertucci, B., Tamburrini, O., Pisani, A., Sabbatini, M., Fuiano, G., Michael, A., 2014b. Differential activation of signaling pathways by low-osmolar and iso-osmolar radiocontrast agents in human renal tubular cells. *J. Cell. Biochem.* 115, 281–289. <https://doi.org/10.1002/jcb.24662>
- Andreucci, M., Fuiano, G., Presta, P., Esposito, P., Faga, T., Bisesti, V., Procino, A., Altieri, V., Tozzo, C., Memoli, B., Michael, A., 2006. Radiocontrast media cause dephosphorylation of Akt and downstream signaling targets in human renal proximal tubular cells. *Biochem. Pharmacol.* 72, 1334–1342. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2006.08.008>
- Andreucci, M., Solomon, R., Tasanarong, A., 2014c. Side effects of radiographic contrast media: pathogenesis, risk factors, and prevention. *BioMed Res. Int.* 2014, e741018. <https://doi.org/10.1155/2014/741018>
- Aubry, P., Brillet, G., Catella, L., Schmidt, A., Bénard, S., 2016. Outcomes, risk factors and health burden of contrast-induced acute kidney injury: an observational study of one million hospitalizations with image-guided cardiovascular procedures. *BMC Nephrol.* 17. <https://doi.org/10.1186/s12882-016-0385-5>
- Avci, E., Yesil, M., Bayata, S., Postaci, N., Arikan, E., Cirit, M., 2011. The role of nebivolol in the prevention of contrast-induced nephropathy in patients with

- renal dysfunction. *Anadolu Kardiyol. Derg. Anatol. J. Cardiol.*  
<https://doi.org/10.5152/akd.2011.164>
- Azzalini, L., Spagnoli, V., Ly, H.Q., 2016. Contrast-induced nephropathy: from pathophysiology to preventive strategies. *Can. J. Cardiol.* 32, 247–255.  
<https://doi.org/10.1016/j.cjca.2015.05.013>
- Bachorzewska-Gajewska, H., Malyszko, J., Sitniewska, E., Malyszko, J.S., Poniatowski, B., Pawlak, K., Dobrzycki, S., 2008. NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) and cystatin C: are they good predictors of contrast nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine? *Int. J. Cardiol.* 127, 290–291.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.04.048>
- Bachórzewska-Gajewska, H., Poniatowski, B., Dobrzycki, S., 2009. NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) and L-FABP after percutaneous coronary interventions due to unstable angina in patients with normal serum creatinine. *Adv. Med. Sci.* 54, 221–224. <https://doi.org/10.2478/v10039-009-0036-1>
- Bader, B.D., Berger, E.D., Heede, M.B., Silberbauer, I., Duda, S., Risler, T., Erley, C.M., 2004. What is the best hydration regimen to prevent contrast media-induced nephrotoxicity? *Clin. Nephrol.* 62, 1–7.
- Bagshaw, S.M., Bellomo, R., 2007. Early diagnosis of acute kidney injury: *Curr. Opin. Crit. Care* 13, 638–644. <https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e3282f07570>
- Berg, K.J., 2000. Nephrotoxicity related to contrast media. *Scand. J. Urol. Nephrol.* 34, 317–322. <https://doi.org/10.1080/003655900750048341>
- Bird, J.E., Giancarli, M.R., Megill, J.R., Durham, S.K., 1996. Effects of endothelin in radiocontrast-induced nephropathy in rats are mediated through endothelin-A receptors. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 7, 1153–1157.
- Blum, A., Shamburek, R., 2009. The pleiotropic effects of statins on endothelial function, vascular inflammation, immunomodulation and thrombogenesis. *Atherosclerosis* 203, 325–330.  
<https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.08.022>

- Bonventre, J.V., 2009. Kidney injury molecule-1 (KIM-1): a urinary biomarker and much more. *Nephrol. Dial. Transplant.* 24, 3265–3268. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp010>
- Bonventre, J.V., Vaidya, V.S., Schmoeder, R., Feig, P., Dieterle, F., 2010. Next-generation biomarkers for detecting kidney toxicity. *Nat. Biotechnol.* 28, 436–440. <https://doi.org/10.1038/nbt0510-436>
- Boots, A.W., Haenen, G.R.M.M., Bast, A., 2008. Health effects of quercetin: From antioxidant to nutraceutical. *Eur. J. Pharmacol.* 585, 325–337. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2008.03.008>
- Boscheri, A., Weinbrenner, C., Botzek, B., Reynen, K., Kuhlisch, E., Strasser, R.H., 2007. Failure of ascorbic acid to prevent contrast-media induced nephropathy in patients with renal dysfunction. *Clin. Nephrol.* 68, 279–286.
- Bouzas-Mosquera, A., Vázquez-Rodríguez, J.M., Calviño-Santos, R., Vázquez-González, N., Castro-Beiras, A., 2009. Statin therapy and contrast-induced nephropathy after primary angioplasty. *Int. J. Cardiol.* 134, 430–431. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2007.12.122>
- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72, 248–254.
- Brezis, M., Rosen, S., 1995. Hypoxia of the renal medulla — its implications for disease. *N. Engl. J. Med.* 332, 647–655. <https://doi.org/10.1056/NEJM199503093321006>
- Briguori, C., Visconti, G.S., Rivera, N.V., Focaccio, A., Golia, B., Giannone, R., Castaldo, D., Micco, F.D., Ricciardelli, B., Colombo, A., 2010. Imaging Cystatin C and Contrast-Induced Acute Kidney Injury.
- Bulent Gul, C.B., Gullulu, M., Oral, B., Aydinlar, A., Oz, O., Budak, F., Yilmaz, Y., Yurtkuran, M., 2008. Urinary IL-18: a marker of contrast-induced nephropathy following percutaneous coronary intervention? *Clin. Biochem.* 41, 544–547. <https://doi.org/10.1016/j.clinbiochem.2008.01.002>
- Burgess, W.P., Walker, P.J., 2014. Mechanisms of Contrast-Induced Nephropathy Reduction for Saline (NaCl) and Sodium Bicarbonate (NaHCO<sub>3</sub>). *BioMed Res. Int.* 2014, 1-6 <https://doi.org/10.1155/2014/510385>



- Caiazza, A., Russo, L., Sabbatini, M., Russo, D., 2014. Hemodynamic and tubular changes induced by contrast media. *BioMed Res. Int.* 2014, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2014/578974>
- Cassiman, D., Zeevaert, R., Holme, E., Kvittingen, E.-A., Jaeken, J., 2009. A novel mutation causing mild, atypical fumarylacetoacetase deficiency (Tyrosinemia type I): a case report. *Orphanet J. Rare Dis.* 4, 28. <https://doi.org/10.1186/1750-1172-4-28>
- Cerda, J., Cifuentes, L., 2012. Uso de curvas ROC en investigación clínica: Aspectos teórico-prácticos. *Rev. Chil. Infectol.* 29, 138–141.
- Chalikias, G., Drosos, I., Tziakas, D.N., 2016. Contrast-Induced Acute Kidney Injury: An update. *Cardiovasc. Drugs Ther.* 30, 215–228. <https://doi.org/10.1007/s10557-015-6635-0>
- Conen, D., Buerkle, G., Perruchoud, A.P., Buettner, H.J., Mueller, C., 2006. Hypertension is an independent risk factor for contrast nephropathy after percutaneous coronary intervention. *Int. J. Cardiol., Themed Issue: Risk Factors* 110, 237–241. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2005.09.014>
- Costa, N., 2004. Understanding Contrast Media. *J. Infus. Nurs.* 27, 302–312.
- Cowley, A.W., Mori, T., Mattson, D., Zou, A.-P., 2003. Role of renal NO production in the regulation of medullary blood flow. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R1355–R1369. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00701.2002>
- Creager, M.A., Cooke, J.P., Mendelsohn, M.E., Gallagher, S.J., Coleman, S.M., Loscalzo, J., Dzau, V.J., 1990. Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans. *J. Clin. Invest.* 86, 228. <https://doi.org/10.1172/JCI114688>
- Cruz, D.N., Goh, C.Y., Haase-Fielitz, A., Ronco, C., Haase, M., 2010. Early biomarkers of renal injury. *Congest. Heart Fail.* 16, S25–S31. <https://doi.org/10.1111/j.1751-7133.2010.00163.x>
- Damman, K., Voors, A.A., Navis, G., van Veldhuisen, D.J., Hillege, H.L., 2012. Current and novel renal biomarkers in heart failure. *Heart Fail. Rev.* 17, 241–250. <https://doi.org/10.1007/s10741-011-9254-2>
- Deng, J., Wu, G., Yang, C., Li, Y., Jing, Q., Han, Y., 2015. Rosuvastatin attenuates contrast-induced nephropathy through modulation of nitric oxide,

- inflammatory responses, oxidative stress and apoptosis in diabetic male rats. *J. Transl. Med.* 13, 53. <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0416-1>
- Duan, S.B., Liu, G.L., Yu, Z.Q., Pan, P., 2013. Urinary KIM-1, IL-18 and Cys-c as early predictive biomarkers in gadolinium-based contrast-induced nephropathy in the elderly patients. *Clin. Nephrol.* 80, 349–354. <https://doi.org/10.5414/CN107829>
- Eisenberg, R., Bank, W., Hedgcock, M., 1981. Renal failure after major angiography can be avoided with hydration. *Am. J. Roentgenol.* 136, 859–861. <https://doi.org/10.2214/ajr.136.5.859>
- Erley, C., 2006. Concomitant drugs with exposure to contrast media. *Kidney Int., Proceedings of the Contrast-Induced Nephropathy Consensus Panel 69*, S20–S24. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000370>
- Erley, C.M., Duda, S.H., Rehfuss, D., Scholtes, B., Bock, J., Müller, C., Osswald, H., Risler, T., 1999. Prevention of radiocontrast-media-induced nephropathy in patients with pre-existing renal insufficiency by hydration in combination with the adenosine antagonist theophylline. *Nephrol. Dial. Transplant. Off. Publ. Eur. Dial. Transpl. Assoc. - Eur. Ren. Assoc.* 14, 1146–1149. <https://doi.org/10.1093/ndt/14.5.1146>
- Ferreira, L., Quiros, Y., Sancho-Martínez, S.M., García-Sánchez, O., Raposo, C., López-Novoa, J.M., González-Buitrago, J.M., López-Hernández, F.J., 2011. Urinary levels of regenerating islet-derived protein III  $\beta$  and gelsolin differentiate gentamicin from cisplatin-induced acute kidney injury in rats. *Kidney Int.* 79, 518–528. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.439>
- Formica, J.V., Regelson, W., 1995. Review of the biology of quercetin and related bioflavonoids. *Food Chem. Toxicol.* 33, 1061–1080. [https://doi.org/10.1016/0278-6915\(95\)00077-1](https://doi.org/10.1016/0278-6915(95)00077-1)
- Geenen, R.W.F., Kingma, H.J., van der Molen, A.J., 2013. Contrast-induced nephropathy: pharmacology, pathophysiology and prevention. *Insights Imaging* 4, 811–820. <https://doi.org/10.1007/s13244-013-0291-3>
- Gekle, M., 2005. Renal Tubule Albumin Transport. *Annu. Rev. Physiol.* 67, 573–594. <https://doi.org/10.1146/annurev.physiol.67.031103.154845>
- Gleeson, T.G., Bulughapitiya, S., 2004. Contrast-Induced Nephropathy 17.

- Goldenberg, I., 2005. Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and preventive strategies. *Can. Med. Assoc. J.* 172, 1461–1471. <https://doi.org/10.1503/cmaj.1040847>
- Gong, X., Duan, Y., Zheng, J., Wang, Y., Wang, G., Norgren, S., Hei, T.K., 2016. Nephroprotective effects of N-Acetylcysteine amide against Contrast-Induced Nephropathy through upregulating thioredoxin-1, inhibiting ASK1/p38MAPK pathway, and suppressing oxidative stress and apoptosis in rats. *Oxid. Med. Cell. Longev.* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/8715185>
- Grompe, M., 2001. The pathophysiology and treatment of hereditary tyrosinemia Type 1. *Semin. Liver Dis.* 21, 563–572. <https://doi.org/10.1055/s-2001-19035>
- Günebakmaz, Ö., Kaya, M.G., Koc, F., Akpek, M., Kasapkara, A., Inanc, M.T., Yarlioglu, M., Calapkorur, B., Karadag, Z., Oguzhan, A., 2012. Does Nebivolol prevent Contrast-Induced Nephropathy in humans? *Clin. Cardiol.* 35, 250–254. <https://doi.org/10.1002/clc.21013>
- Hall, J.E., Granger, J.P., Carmo, J.M. do, Silva, A.A. da, Dubinon, J., George, E., Hamza, S., Speed, J., Hall, M.E., 2012. Hypertension: Physiology and Pathophysiology, en: *Comprehensive Physiology*. American Cancer Society, pp. 2393–2442. <https://doi.org/10.1002/cphy.c110058>
- Haller, C., Hizoh, I., 2004. The cytotoxicity of Iodinated radiocontrast agents on renal cells *In Vitro: Invest. Radiol.* 39, 149–154. <https://doi.org/10.1097/01.rli.0000113776.87762.49>
- Han, W.K., Waikar, S.S., Johnson, A., Betensky, R.A., Dent, C.L., Devarajan, P., Bonventre, J.V., 2008. Urinary biomarkers in the early diagnosis of acute kidney injury. *Kidney Int.* 73, 863–869. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002715>
- Hansen, P.B., Castrop, H., Briggs, J., Schnermann, J., 2003. Adenosine induces vasoconstriction through Gi-dependent activation of phospholipase C in isolated perfused afferent arterioles of mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 14, 2457–2465. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000086474.80845.25>
- Hardiek, K., Katholi, R.E., Ramkumar, V., Deitrick, C., 2001. Proximal tubule cell response to radiographic contrast media. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 280, F61–F70. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.2001.280.1.F61>

- He, H., Li, W., Qian, W., Zhao, X., Wang, L., Yu, Y., Liu, J., Cheng, J., 2014. Urinary interleukin-18 as an early indicator to predict contrast-induced nephropathy in patients undergoing percutaneous coronary intervention. *Exp. Ther. Med.* 8, 1263–1266. <https://doi.org/10.3892/etm.2014.1898>
- Heshmatzadeh Behzadi, A., Farooq, Z., Newhouse, J.H., Prince, M.R., 2018. MRI and CT contrast media extravasation: A systematic review. *Medicine (Baltimore)* 97, e0055. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010055>
- Heyman, S.N., Clark, B.A., Kaiser, N., Spokes, K., Rosen, S., Brezis, M., Epstein, F.H., 1992. Radiocontrast agents induce endothelin release in vivo and in vitro. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 3, 58–65.
- Heyman, S.N., Rosen, S., Khamaisi, M., Idée, J.-M., Rosenberger, C., 2010. Reactive oxygen species and the pathogenesis of radiocontrast-induced nephropathy: *Invest. Radiol.* 45, 188–195. <https://doi.org/10.1097/RLI.0b013e3181d2eed8>
- Heyman, S.N., Rosen, S., Rosenberger, C., 2008. Renal parenchymal hypoxia, hypoxia adaptation, and the pathogenesis of radiocontrast nephropathy. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 3, 288–296. <https://doi.org/10.2215/CJN.02600607>
- Higashi, K., Mikami, T., Yamada, T., Kawashima, H., Kimura, T., Kaneko, H., 2010. A novel adipokine GM2AP impairs insulin signaling. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 402, 571–576. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.10.110>
- Hirsch, R., Dent, C., Pfriem, H., Allen, J., Beekman, R.H., Ma, Q., Dastrala, S., Bennett, M., Mitsnefes, M., Devarajan, P., 2007. NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatr. Nephrol. Berl. Ger.* 22, 2089–2095. <https://doi.org/10.1007/s00467-007-0601-4>
- Huber, W., Ilgmann, K., Page, M., Hennig, M., Schweigart, U., Jeschke, B., Lutitsky, L., Weiss, W., Salmhofer, H., Classen, M., 2002. Effect of theophylline on contrast material-nephropathy in patients with chronic renal insufficiency: controlled, randomized, double-blinded study. *Radiology* 223, 772–779. <https://doi.org/10.1148/radiol.2233010609>
- Hutchison, C.A., Batuman, V., Behrens, J., Bridoux, F., Sirac, C., Dispenzieri, A., Herrera, G.A., Lachmann, H., Sanders, P.W., on behalf of the International Kidney and Monoclonal Gammopathy Research Group, 2012. The

- pathogenesis and diagnosis of acute kidney injury in multiple myeloma. *Nat. Rev. Nephrol.* 8, 43–51. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2011.168>
- Jaffé, M., 1886. Ueber den Niederschlag, welchen Pikrinsäure in normalem harn erzeugt und über eine neue reaction des kreatinins. *Z. Für Physiol. Chem.* 10, 391–400.
- Jang, J.-S., Jin, H.-Y., Seo, J.-S., Yang, T.-H., Kim, Dae-Kyeong, Kim, T.H., Urm, S.-H., Kim, D.-S., Kim, Dong-Kie, Seol, S.-H., Kim, D.-I., Cho, K.-I., Kim, B.-H., Park, Y.H., Je, H.-G., Ahn, J.-M., Kim, W.-J., Lee, J.-Y., Lee, S.-W., 2012. Sodium bicarbonate therapy for the prevention of contrast-induced acute kidney injury. *Circ. J.* 76, 2255–2265. <https://doi.org/10.1253/circj.CJ-12-0096>
- Jung, D., Biggs, H., Erikson, J., Ledyard, P.U., 1975. New colorimetric reaction for end-point, continuous-flow, and kinetic measurement of urea. *Clin. Chem.* 21, 1136–1140.
- Just, A., Whitten, C.L., Arendshorst, W.J., 2008. Reactive oxygen species participate in acute renal vasoconstrictor responses induced by ETA and ETB receptors. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 294, F719–F728. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00506.2007>
- Kapoor, A., Kumar, S., Gulati, S., Gambhir, S., Sethi, R.S., Sinha, N., 2002. The role of theophylline in contrast-induced nephropathy: a case-control study. *Nephrol. Dial. Transplant.* 17, 1936–1941. <https://doi.org/10.1093/ndt/17.11.1936>
- Kenan Kinaci, M., Erkasap, N., Kucuk, A., Koken, T., Tosun, M., 2012. Effects of quercetin on apoptosis, NF-κB and NOS gene expression in renal ischemia/reperfusion injury. *Exp. Ther. Med.* 3, 249–254. <https://doi.org/10.3892/etm.2011.382>
- Khamaisi, M., Raz, I., Shilo, V., Shina, A., Rosenberger, C., Dahan, R., Abassi, Z., Meidan, R., Lecht, S., Heyman, S.N., 2008. Diabetes and radiocontrast media increase endothelin converting enzyme-1 in the kidney. *Kidney Int.* 74, 91–100. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.112>
- Khanal, S., 2014. Short-term rosuvastatin therapy for prevention of contrast-induced acute kidney injury in patients with diabetes and chronic kidney disease. *Indian Heart J.* 66, 387. <https://doi.org/10.1016/j.ihj.2014.03.012>

- Kim, G.-H., 2008. Renal effects of prostaglandins and cyclooxygenase-2 inhibitors. *Electrolytes Blood Press. E BP* 6, 35. <https://doi.org/10.5049/EBP.2008.6.1.35>
- Kiss, N., Hamar, P., 2016. Histopathological evaluation of contrast-induced acute kidney injury rodent models. *BioMed Res. Int.* 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/3763250>
- Kitzler, T.M., Jaber, A., Sendlhofer, G., Rehak, P., Binder, C., Petnehazy, E., Stacher, R., Kotanko, P., 2012. Efficacy of vitamin E and N-acetylcysteine in the prevention of contrast induced kidney injury in patients with chronic kidney disease: a double blind, randomized controlled trial. *Wien. Klin. Wochenschr.* 124, 312–319. <https://doi.org/10.1007/s00508-012-0169-2>
- Krasuski, R.A., Beard, B.M., Geoghagan, J.D., Thompson, C.M., Guidera, S.A., 2003. Optimal timing of hydration to erase contrast-associated nephropathy: the OTHER CAN study. *J. Invasive Cardiol.* 15, 699–702.
- Laffitte, E., Nenadov Beck, M., Hofer, M., Hohl, D., Panizzon, R.G., 2004. Severe Stevens-Johnson syndrome induced by contrast medium iopentol (ImagopaqueR). *Br. J. Dermatol.* 150, 376–378. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2133.2003.05763.x>
- Lee, H.-C., Sheu, S.-H., Yen, H.-W., Lai, W.-T., Chang, J.-G., 2010. JNK/ATF2 Pathway is involved in Iodinated contrast media-induced apoptosis. *Am. J. Nephrol.* 31, 125–133. <https://doi.org/10.1159/000259899>
- Lee, S.Y., Rhee, C.M., Leung, A.M., Braverman, L.E., Brent, G.A., Pearce, E.N., 2015. A Review: Radiographic iodinated contrast media-induced thyroid dysfunction. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 100, 376–383. <https://doi.org/10.1210/jc.2014-3292>
- Lenhard, D.C., Frisk, A.-L., Lengsfeld, P., Pietsch, H., Jost, G., 2012. The effect of iodinated contrast agent properties on renal kinetics and oxygenation: *Invest. Radiol.* 1. <https://doi.org/10.1097/RLI.0b013e31827b70f9>
- Li, H., Qian, Z.M., 2002. Transferrin/transferrin receptor-mediated drug delivery. *Med. Res. Rev.* 22, 225–250. <https://doi.org/10.1002/med.10008>
- Li, W.-H., Wang, L., He, H.-Y., Chen, J., Yu, Y.-R., 2016. Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in low osmolar contrast-induced nephropathy

- in rats and the effect of N-acetylcysteine. *Exp. Ther. Med.* 12, 3175–3180. <https://doi.org/10.3892/etm.2016.3779>
- Liang, M., Yang, S., Fu, N., 2017. Efficacy of short-term moderate or high-dose rosuvastatin in preventing contrast-induced nephropathy: A meta-analysis of 15 randomized controlled trials. *Medicine (Baltimore)* 96, e7384. <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000007384>
- Liao, B., Nian, W., Xi, A., Zheng, M., 2019. Evaluation of a diagnostic test of serum Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (NGAL) and urine KIM-1 in Contrast-Induced Nephropathy (CIN). *Med. Sci. Monit. Int. Med. J. Exp. Clin. Res.* 25, 565–570. <https://doi.org/10.12659/MSM.912569>
- Liao, J.K., Laufs, U., 2005. Pleiotropic effects of statins. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* 45, 89–118. <https://doi.org/10.1146/annurev.pharmtox.45.120403.095748>
- Ling, W., Zhaohui, N., Ben, H., Leyi, G., Jianping, L., Huili, D., Jiaqi, Q., 2008. Urinary IL-18 and NGAL as early predictive biomarkers in contrast-induced nephropathy after coronary angiography. *Nephron Clin. Pract.* 108, c176–c181. <https://doi.org/10.1159/000117814>
- Liss, P., Nygren, A., Olsson, U., Ulfendahl, H.R., Erikson, U., 1996. Effects of contrast media and mannitol on renal medullary blood flow and red cell aggregation in the rat kidney. *Kidney Int.* 49, 1268–1275. <https://doi.org/10.1038/ki.1996.181>
- Liu, L.-Y., Liu, Y., Wu, M.-Y., Sun, Y.-Y., Ma, F.-Z., 2018. Efficacy of atorvastatin on the prevention of contrast-induced acute kidney injury: a meta-analysis. *Drug Des. Devel. Ther.* 12, 437–444. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S149106>
- Lorusso, V., Taroni, P., Alvino, S., Spinazzi, A., 2001. Pharmacokinetics and safety of iomeprol in healthy volunteers and in patients with renal impairment or end-stage renal disease requiring hemodialysis. *Invest. Radiol.* 36, 309–316.
- Louis, B.M., Hoch, B.S., Hernandez, C., Namboodiri, N., Neiderman, G., Nissenbaum, A., Foti, F.P., Magno, A., Banayat, G., Fata, F., Manohar, N.L., Lipner, H.I., 1996. Protection from the nephrotoxicity of contrast dye. *Ren. Fail.* 18, 639–646. <https://doi.org/10.3109/08860229609047689>
- Lusic, H., Grinstaff, M.W., 2013. X-Ray computed tomography contrast agents. *Chem. Rev.* 113. <https://doi.org/10.1021/cr200358s>

- Madyoon, H., Croushore, L., Weaver, D., Mathur, V., 2001. Use of fenoldopam to prevent radiocontrast nephropathy in high-risk patients. *Catheter. Cardiovasc. Interv.* 53, 341–345.
- Malyszko, J., 2010. Biomarkers of acute kidney injury in different clinical settings: time to change the paradigm. *Kidney Blood Press. Res.* 33, 368–382. <https://doi.org/10.1159/000319505>
- Mamoulakis, C., Tsarouhas, K., Fragkiadoulaki, I., Heretis, I., Wilks, M.F., Spandidos, D.A., Tsitsimpikou, C., Tsatsakis, A., 2017. Contrast-induced nephropathy: Basic concepts, pathophysiological implications and prevention strategies. *Pharmacol. Ther.* 180, 99–112. <https://doi.org/10.1016/j.pharmthera.2017.06.009>
- Martínez-Camblora, P., 2007. Comparación de pruebas diagnósticas desde la curva ROC. *Rev. Colomb. Estad.* 30, 163–176.
- McCullough, P.A., 2008a. Radiocontrast-Induced Acute Kidney Injury. *Nephron Physiol.* 109, p61–p72. <https://doi.org/10.1159/000142938>
- McCullough, P.A., 2008b. Contrast-Induced Acute Kidney Injury. *J. Am. Coll. Cardiol.* 51, 1419–1428. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2007.12.035>
- McCullough, P.A., Adam, A., Becker, C.R., Davidson, C., Lameire, N., Stacul, F., Tumlin, J., 2006. Risk Prediction of Contrast-Induced Nephropathy. *Am. J. Cardiol.* Contrast-Induced Nephropathy: Clinical insights and practical guidance 98, 27–36. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.01.022>
- Mehran, R., Nikolsky, E., 2006. Contrast-induced nephropathy: Definition, epidemiology, and patients at risk. *Kidney Int.* 69, S11–S15. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000368>
- Mettler, F.A., Bhargavan, M., Faulkner, K., Gilley, D.B., Gray, J.E., Ibbott, G.S., Lipoti, J.A., Mahesh, M., McCrohan, J.L., Stabin, M.G., Thomadsen, B.R., Yoshizumi, T.T., 2009. Radiologic and nuclear medicine studies in the United States and worldwide: Frequency, radiation dose, and comparison with other radiation sources—1950–2007. *Radiology* 253, 520–531. <https://doi.org/10.1148/radiol.2532082010>
- Miller, J., 2015. Using the Grubbs and Cochran tests to identify outliers. *Anal. Methods* 7, 7948–7950. <https://doi.org/10.1039/C5AY90053K>



- Morales, A.I., Vicente-Sánchez, C., Sandoval, J.M.S., Egido, J., Mayoral, P., Arévalo, M.A., Fernández-Tagarro, M., López-Novoa, J.M., Pérez-Barriocanal, F., 2006. Protective effect of quercetin on experimental chronic cadmium nephrotoxicity in rats is based on its antioxidant properties. *Food Chem. Toxicol. Int. J. Publ. Br. Ind. Biol. Res. Assoc.* 44, 2092–2100. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.012>
- Mueller, C., 2006. Prevention of contrast-induced nephropathy with volume supplementation. *Kidney Int., Proceedings of the Contrast-Induced Nephropathy Consensus Panel* 69, S16–S19. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000369>
- Mueller, C., Buerkle, G., Buettner, H.J., Petersen, J., Perruchoud, A.P., Eriksson, U., Marsch, S., Roskamm, H., 2002. Prevention of Contrast Media-associated Nephropathy: Randomized comparison of 2 hydration regimens in 1620 patients undergoing coronary angioplasty. *Arch. Intern. Med.* 162, 329–336. <https://doi.org/10.1001/archinte.162.3.329>
- Murphy, M.E., Tublin, M.E., Li, S., 1998. Influence of contrast media on the response of rat renal arteries to endothelin and nitric oxide: influence of contrast media. *Invest. Radiol.* 33, 356–365.
- Myers, S.I., Wang, L., Liu, F., Bartula, L.L., 2006. Iodinated contrast induced renal vasoconstriction is due in part to the downregulation of renal cortical and medullary nitric oxide synthesis. *J. Vasc. Surg.* 44, 383–391. <https://doi.org/10.1016/j.jvs.2006.04.036>
- Nakamura, T., Sugaya, T., Node, K., Ueda, Y., Koide, H., 2006. Urinary excretion of Liver-Type Fatty Acid-Binding Protein in contrast medium-induced nephropathy. *Am. J. Kidney Dis.* 47, 439–444. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2005.11.006>
- Namasivayam, S., Kalra, M.K., Torres, W.E., Small, W.C., 2006. Adverse reactions to intravenous iodinated contrast media: a primer for radiologists. *Emerg. Radiol.* 12, 210–215. <https://doi.org/10.1007/s10140-006-0488-6>
- Nash, K., Hafeez, A., Hou, S., 2002. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am. J. Kidney Dis.* 39, 930–936. <https://doi.org/10.1053/ajkd.2002.32766>

- Navaneethan, S.D., Singh, S., Appasamy, S., Wing, R.E., Sehgal, A.R., 2009. Sodium bicarbonate therapy for prevention of contrast-induced nephropathy: A Systematic Review and Meta-analysis. *Am. J. Kidney Dis.* 53, 617–627. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.08.033>
- Naziroğlu, M., Yoldaş, N., Uzgur, E.N., Kayan, M., 2013. Role of Contrast Media on oxidative stress, Ca<sup>2+</sup> signaling and apoptosis in kidney. *J. Membr. Biol.* 246, 91–100. <https://doi.org/10.1007/s00232-012-9512-9>
- Nicola, R., Shaqdan, K.W., Aran, S., Prabhakar, A.M., Singh, A.K., Abujudeh, H.H., 2016. Contrast Media extravasation of computed tomography and magnetic resonance imaging: management guidelines for the radiologist. *Curr. Probl. Diagn. Radiol.* 45, 161–164. <https://doi.org/10.1067/j.cpradiol.2015.08.004>
- Nijveldt, R.J., van Nood, E., van Hoorn, D.E., Boelens, P.G., van Norren, K., van Leeuwen, P.A., 2001. Flavonoids: a review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 74, 418–425. <https://doi.org/10.1093/ajcn/74.4.418>
- Ning, M., Mao, X., Niu, Y., Tang, B., Shen, H., 2018. Usefulness and limitations of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the assessment of kidney diseases. *J. Lab. Precis. Med.* 3.
- Nouri-Majalan, N., Ardakani, E.F., Forouzannia, K., Moshtaghian, H., 2009. Effects of allopurinol and vitamin E on renal function in patients with cardiac coronary artery bypass grafts. *Vasc. Health Risk Manag.* 5, 489–494.
- Oparil, S., Zaman, M.A., Calhoun, D.A., 2003. Pathogenesis of Hypertension. *Ann. Intern. Med.* 139, 761. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-139-9-200311040-00011>
- Ozkok, S., Ozkok, A., 2017. Contrast-induced acute kidney injury: A review of practical points. *World J. Nephrol.* 6, 86. <https://doi.org/10.5527/wjn.v6.i3.86>
- Ozturk, O., Eroglu, H.A., Ustebay, S., Kuzucu, M., Adali, Y., Ozturk, O., Eroglu, H.A., Ustebay, S., Kuzucu, M., Adali, Y., 2018. An experimental study on the preventive effects of N-acetyl cysteine and ozone treatment against contrast-induced nephropathy. *Acta Cir. Bras.* 33, 508–517. <https://doi.org/10.1590/s0102-865020180060000005>

- Pallone, T.L., Turner, M.R., Edwards, A., Jamison, R.L., 2003. Countercurrent exchange in the renal medulla. *Am. J. Physiol.-Regul. Integr. Comp. Physiol.* 284, R1153–R1175. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00657.2002>
- Parikh, C.R., Devarajan, P., 2008. New biomarkers of acute kidney injury. *Crit. Care Med.* 36, S159–S165.
- Pasternak, J.J., Williamson, E.E., 2012. Clinical pharmacology, uses, and adverse reactions of Iodinated contrast agents: A primer for the non-radiologist. *Mayo Clin. Proc.* 87, 390–402. <https://doi.org/10.1016/j.mayocp.2012.01.012>
- Peer, A., Averbukh, Z., Berman, S., Modai, D., Averbukh, M., Weissgarten, J., 2003. Contrast media augmented apoptosis of cultured renal mesangial, tubular, epithelial, endothelial, and hepatic cells: *Invest. Radiol.* 38, 177–182. <https://doi.org/10.1097/01.RLI.0000054529.61167.84>
- Pérez, S., Barceló, D., 2007. Fate and occurrence of X-ray contrast media in the environment. *Anal. Bioanal. Chem.* 387, 1235–1246. <https://doi.org/10.1007/s00216-006-0953-9>
- Persson, P.B., Hansell, P., Liss, P., 2005. Pathophysiology of contrast medium–induced nephropathy. *Kidney Int.* 68, 14–22. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00377.x>
- Pflueger, A., Larson, T.S., Nath, K.A., King, B.F., Gross, J.M., Knox, F.G., 2000. Role of Adenosine in Contrast media–induced Acute Renal Failure in diabetes mellitus. *Mayo Clin. Proc.* 75, 1275–1283. <https://doi.org/10.4065/75.12.1275>
- Pita Fernández, S., Vila Alonso, M.T., Carpena Montero, J., 1997. Determinación de factores de riesgo. *Cad Aten Primaria* 4, 75–78.
- Pollock, D.M., Polakowski, J.S., Wegner, C.D., Opgenorth, T.J., 1997. Beneficial effect of ETA receptor blockade in a rat model of radiocontrast-induced nephropathy. *Ren. Fail.* 19, 753–761.
- Powell, C.J., Dobrota, M., Holtz, E., Vik, H., 1995. The histopathology of X-ray contrast medium induced renal droplets (vacuoles). *Eur. Radiol.* 5, 176–180. <https://doi.org/10.1007/BF00171305>
- Quinlan, G.J., Martin, G.S., Evans, T.W., 2005. Albumin: Biochemical properties and therapeutic potential. *Hepatology* 41, 1211–1219. <https://doi.org/10.1002/hep.20720>

- Quintavalle, C., Brenca, M., De Micco, F., Fiore, D., Romano, S., Romano, M.F., Apone, F., Bianco, A., Zabatta, M.A., Troncone, G., Briguori, C., Condorelli, G., 2011. In vivo and in vitro assessment of pathways involved in contrast media-induced renal cells apoptosis. *Cell Death Dis.* 2, e155. <https://doi.org/10.1038/cddis.2011.38>
- Quiros, Y., Blanco-Gozaño, V., Sancho-Martínez, S., Prieto-García, L., López-Novoa, J., López-Hernández, F., 2017. SP175 Urinary excretion of t-gelsolin differentiates acquired predisposition to acute injury from nephrotoxic acute kidney injury. *Nephrol. Dial. Transplant.* 32, iii162–iii162. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfx142.SP175>
- Quiros, Y., Ferreira, L., Sancho-Martínez, S.M., González-Buitrago, J.M., López-Novoa, J.M., López-Hernández, F.J., 2010. Sub-nephrotoxic doses of gentamicin predispose animals to developing acute kidney injury and to excrete ganglioside M2 activator protein. *Kidney Int.* 78, 1006–1015. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.267>
- Quiros, Y., Sánchez-González, P.D., López-Hernández, F.J., Morales, A.I., López-Novoa, J.M., 2013. Cardioprotectin-1 administration prevents the renal toxicity of Iodinated Contrast Media in rats. *Toxicol. Sci.* 132, 493–501. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kft007>
- Ramírez Ribelles, C., Sánchez Fuster, M.A., Pamies Guilabert, J., 2014. Contrastes yodados de utilización en Radiología. *Radiología* 56, 12–20. <https://doi.org/10.1016/j.rx.2014.06.002>
- Rear, R., Bell, R.M., Hausenloy, D.J., 2016. Contrast-induced nephropathy following angiography and cardiac interventions. *Heart* 102, 638–648. <https://doi.org/10.1136/heartjnl-2014-306962>
- Ren, L., Ji, J., Fang, Y., Jiang, S., Lin, Y., Bo, J., Qian, J., Xu, X., Ding, X., 2011. Assessment of urinary N-Acetyl- $\beta$ -Glucosaminidase as an early marker of Contrast-Induced Nephropathy. *J. Int. Med. Res.* 39, 647–653. <https://doi.org/10.1177/147323001103900234>
- Rezaei, Y., Khademvatani, K., Rahimi, B., Khoshfetrat, M., Arjmand, N., Seyyed-Mohammadzad, M., 2016. Short-term high-dose Vitamin E to prevent Contrast Medium–Induced Acute Kidney Injury in patients with chronic kidney

- disease undergoing elective coronary angiography: A randomized placebo-controlled trial. *J. Am. Heart Assoc.* 5. <https://doi.org/10.1161/JAHA.115.002919>
- Rickli, H., Benou, K., Ammann, P., Fehr, T., Brunner-La, H.R., Petridis, H., Riesen, W., Wüthrich, R.P., 2004. Time course of serial cystatin C levels in comparison with serum creatinine after application of radiocontrast media. *Clin. Nephrol.* 61, 98–102.
- Riedl, S.J., Shi, Y., 2004. Molecular mechanisms of caspase regulation during apoptosis. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* 5, 897–907. <https://doi.org/10.1038/nrm1496>
- Rigat, B., Reynaud, D., Smiljanic-Georgijev, N., Mahuran, D., 1999. The GM2 activator protein, a novel inhibitor of platelet-activating factor. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 258, 256–259.
- Rigat, B., Yeager, H., Shehnaz, D., Mahuran, D., 2009. GM2 activator protein inhibits platelet activating factor signaling in rats. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 385, 576–580. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2009.05.116>
- Romano, G., Briguori, C., Quintavalle, C., Zanca, C., Rivera, N.V., Colombo, A., Condorelli, G., 2008. Contrast agents and renal cell apoptosis. *Eur. Heart J.* 29, 2569–2576. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehn197>
- Sachse, A., Wolf, G., 2007. Angiotensin II–Induced Reactive Oxygen Species and the Kidney. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18, 2439–2446. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007020149>
- Sanchez-Gonzalez, P.D., Lopez-Hernandez, F.J., Perez-Barriocanal, F., Morales, A.I., Lopez-Novoa, J.M., 2011. Quercetin reduces cisplatin nephrotoxicity in rats without compromising its anti-tumour activity. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26, 3484–3495. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr195>
- Sancho-Martínez, S.M., López-Novoa, J.M., López-Hernández, F.J., 2015. Pathophysiological role of different tubular epithelial cell death modes in acute kidney injury. *Clin. Kidney J.* 8, 548–559. <https://doi.org/10.1093/ckj/sfv069>

- Sartori, P., Rizzo, F., Taborda, N., Anaya, V., Caraballo, A., Saleme, C., Carrizo, R., Cayo, M., Peña, A., 2013. Medios de contraste en imágenes. *Rev. Argent. Radiol.* 77, 49–62.
- Savill, J.S., Barrie, R., Ghosh, S., Muhlemann, M., Dawson, P., Pusey, C.D., 1988. Fatal Stevens-Johnson syndrome following urography with iopamidol in systemic lupus erythematosus. *Postgrad. Med. J.* 64, 392–394. <https://doi.org/10.1136/pgmj.64.751.392>
- Seeliger, E., Sendeski, M., Rihal, C.S., Persson, P.B., 2012. Contrast-induced kidney injury: mechanisms, risk factors, and prevention. *Eur. Heart J.* 33, 2007–2015. <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr494>
- Sendeski, M., Patzak, A., Pallone, T.L., Cao, C., Persson, A.E., Persson, P.B., 2009. Iodixanol, constriction of medullary descending vasa recta, and risk for Contrast Medium–induced Nephropathy. *Radiology* 251, 697–704. <https://doi.org/10.1148/radiol.2513081732>
- Sendeski, M.M., 2011. Pathophysiology of renal tissue damage by iodinated contrast media. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 38, 292–299. <https://doi.org/10.1111/j.1440-1681.2011.05503.x>
- Sendeski, M.M., Persson, A.B., Liu, Z.Z., Busch, J.F., Weikert, S., Persson, P.B., Hippenstiel, S., Patzak, A., 2012. Iodinated contrast media cause endothelial damage leading to vasoconstriction of human and rat vasa recta. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 303, F1592–F1598. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00471.2012>
- Seo, B., Oemar, B.S., Siebenmann, R., von Segesser, L., Lüscher, T.F., 1994. Both ETA and ETB receptors mediate contraction to endothelin-1 in human blood vessels. *Circulation* 89, 1203–1208. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.89.3.1203>
- Shoskes, D.A., 1998. Effect of bioflavonoids quercetin and curcumin on ischemic renal injury: a new class of renoprotective agents. *Transplantation* 66, 147–152.
- Silacci, P., Mazzolai, L., Gauci, C., Stergiopoulos, N., Yin, H.L., Hayoz, D., 2004. Gelsolin superfamily proteins: key regulators of cellular functions. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* 61, 2614–2623. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4225-6>
- Singh, J., Daftary, A., 2008. Iodinated contrast media and their adverse reactions. *J. Nucl. Med. Technol.* 36, 69–74. <https://doi.org/10.2967/jnmt.107.047621>

- Sirota, J.C., Klawitter, J., Edelstein, C.L., 2011. Biomarkers of acute kidney injury. *J. Toxicol* 2011, 1-10. <https://doi.org/10.1155/2011/328120>
- Soejima, K., Uozumi, J., Kanou, T., Fujiyama, C., Masaki, Z., 2003. Nonionic contrast media are less nephrotoxic than ionic contrast media to rat renal cortical slices. *Toxicol. Lett.* 143, 17–25. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(03\)00091-2](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(03)00091-2)
- Son, Y., Kim, S., Chung, H.-T., Pae, H.-O., 2013. Reactive oxygen species in the activation of MAP kinases, en: *Methods in Enzymology*. Elsevier, pp. 27–48. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-405881-1.00002-1>
- Soni, S.S., Ronco, C., Katz, N., Cruz, D.N., 2009. Early diagnosis of acute kidney injury: the promise of novel biomarkers. *Blood Purif.* 28, 165–174. <https://doi.org/10.1159/000227785>
- Spargias Konstantinos, Alexopoulos Elias, Kyrzopoulos Stamatis, Iacovis Panayiotis, Greenwood Darren C., Manginas Athanassios, Voudris Vassilis, Pavlides Gregory, Buller Christopher E., Kremastinos Dimitrios, Cokkinos Dennis V., 2004. Ascorbic acid prevents contrast-mediated nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. *Circulation* 110, 2837–2842. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.0000146396.19081.73>
- Speck, U., 2018. *X-Ray Contrast Media: overview, use and pharmaceutical aspects*. Springer.
- Spinardi, L., Witke, W., 2007. Gelsolin and Diseases, in: Carafoli, E., Brini, M. (Eds.), *Calcium signalling and disease: molecular pathology of calcium, subcellular biochemistry*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp. 55–69. [https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6191-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6191-2_3)
- Stacul, F., 2006. Late adverse reactions to intravascular iodinated contrast media, en: Thomsen, H.S. (Ed.), *Contrast Media*. Springer-Verlag, Berlin/Heidelberg, pp. 27–31. [https://doi.org/10.1007/3-540-27742-0\\_5](https://doi.org/10.1007/3-540-27742-0_5)
- Stacul, F., Adam, A., Becker, C.R., Davidson, C., Lameire, N., McCullough, P.A., Tumlin, J., 2006. Strategies to reduce the risk of contrast-induced nephropathy. *Am. J. Cardiol.* 98, 59–77. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.01.024>

- Stevens, L.A., Coresh, J., Greene, T., Levey, A.S., 2006. Assessing kidney function — Measured and estimated glomerular filtration rate. *N. Engl. J. Med.* 354, 2473–2483. <https://doi.org/10.1056/NEJMra054415>
- Stone, G.W., McCullough, P.A., Tumlin, J.A., Lepor, N.E., Madyoon, H., Murray, P., Wang, A., Chu, A.A., Schaer, G.L., Stevens, M., Wilensky, R.L., O’Neill, W.W., Investigators, for the C., 2003. Fenoldopam mesylate for the prevention of contrast-induced nephropathy: a randomized controlled trial. *JAMA* 290, 2284–2291. <https://doi.org/10.1001/jama.290.17.2284>
- Su, J., Zou, W., Cai, W., Chen, X., Wang, F., Li, S., Ma, W., Cao, Y., 2014. Atorvastatin ameliorates contrast medium-induced renal tubular cell apoptosis in diabetic rats via suppression of Rho-kinase pathway. *Eur. J. Pharmacol.* 723, 15–22. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2013.10.025>
- Subramanian, S., Tumlin, J., Bapat, B., Zyczynski, T., 2007. Economic burden of contrast-induced nephropathy: implications for prevention strategies. *J. Med. Econ.* 10, 119–134. <https://doi.org/10.3111/200710119134>
- Svaland, M.G., Haider, T., Langseth-Manrique, K., Andrew, E., Hals, P.A., 1992. Human pharmacokinetics of iodixanol. *Invest. Radiol.* 27, 130–133.
- Tang, L., Parker, M., Fei, Q., Loutzenhiser, R., 1999. Afferent arteriolar adenosine A<sub>2a</sub> receptors are coupled to K<sub>ATP</sub> in in vitro perfused hydronephrotic rat kidney. *Am. J. Physiol.-Ren. Physiol.* 277, F926–F933. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.1999.277.6.F926>
- Tasanarong, A., Kongkham, S., Itharat, A., 2014. Antioxidant effect of *Phyllanthus emblica* extract prevents contrast-induced acute kidney injury. *BMC Complement. Altern. Med.* 14, 138. <https://doi.org/10.1186/1472-6882-14-138>
- Tasanarong, A., Piyayotai, D., Thitiarchakul, S., 2009. Protection of radiocontrast induced nephropathy by Vitamin E (Alpha Tocopherol): a randomized controlled pilot study. *J. Med. Assoc. Tha.* 92, 1273-1281.
- Tepel, M., van der Giet, M., Schwarzfeld, C., Laufer, U., Liermann, D., Zidek, W., 2000. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *N. Engl. J. Med.* 343, 180–184. <https://doi.org/10.1056/NEJM200007203430304>



- Thiele, H., Hildebrand, L., Schirdewahn, C., Eitel, I., Adams, V., Fuernau, G., Erbs, S., Linke, A., Diederich, K.-W., Nowak, M., Desch, S., Gutberlet, M., Schuler, G., 2010. Impact of high-dose N-acetylcysteine versus placebo on contrast-induced nephropathy and myocardial reperfusion injury in unselected patients with ST-segment elevation myocardial infarction undergoing primary percutaneous coronary intervention: the LIPSIA-N-ACC (Prospective, Single-Blind, Placebo-Controlled, Randomized Leipzig Immediate Percutaneous Coronary Intervention Acute Myocardial Infarction N-ACC) Trial. *J. Am. Coll. Cardiol.* 55, 2201–2209. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2009.08.091>
- Thomsen, H.S., 2003. Guidelines for contrast media from the European Society of Urogenital Radiology. *Am. J. Roentgenol.* 181, 1463–1471. <https://doi.org/10.2214/ajr.181.6.1811463>
- Thomsen, H.S., Bellin, M.-F., Jakobsen, J.Å., Webb, J.A.W., 2014. Contrast Media Classification and terminology, in: Thomsen, H.S., Webb, J.A.W. (Eds.), *Contrast Media*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 3–11. [https://doi.org/10.1007/174\\_2013\\_864](https://doi.org/10.1007/174_2013_864)
- Thomsen, H.S., Morcos, S.K., van der Molen, A.J., 2004. Effect of iodinated contrast media on thyroid function in adults. *Eur. Radiol.* 14, 902–907. <https://doi.org/10.1007/s00330-004-2238-z>
- Toprak, O., Cirit, M., Tanrisev, M., Yazici, C., Canoz, O., Sipahioglu, M., Uzum, A., Ersoy, R., Sozmen, E.Y., 2008. Preventive effect of nebivolol on contrast-induced nephropathy in rats. *Nephrol. Dial. Transplant.* 23, 853–859. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfm691>
- Torregrosa, I., Montoliu, C., Urios, A., Andrés-Costa, M.J., Giménez-Garzó, C., Juan, I., Puchades, M.J., Blasco, M.L., Carratalá, A., Sanjuán, R., Miguel, A., 2015. Urinary KIM-1, NGAL and L-FABP for the diagnosis of AKI in patients with acute coronary syndrome or heart failure undergoing coronary angiography. *Heart Vessels* 30, 703–711. <https://doi.org/10.1007/s00380-014-0538-z>
- Tumlin, J., Stacul, F., Adam, A., Becker, C.R., Davidson, C., Lameire, N., McCullough, P.A., 2006. Pathophysiology of Contrast-Induced Nephropathy. *Am. J. Cardiol.* 98, 14–20. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2006.01.020>

- Universidad de Vigo, 2018. Técnicas Histológicas. 5- Tinción: Tinciones generales. Atlas de Histología Vegetal y Animal [Documento online]. URL <https://mmegias.webs.uvigo.es/6-tecnicas/5-general.php> (accessed 4.8.19).
- Vaidya, V.S., Waikar, S.S., Ferguson, M.A., Collings, F.B., Sunderland, K., Gioules, C., Bradwin, G., Matsouaka, R., Betensky, R.A., Curhan, G.C., Bonventre, J.V., 2008. Urinary biomarkers for sensitive and specific detection of acute kidney injury in humans. *Clin. Transl. Sci.* 1, 200–208. <https://doi.org/10.1111/j.1752-8062.2008.00053.x>
- Valero, M.O., 2011. Nefropatía inducida por medio de contraste endovenoso yodado. *An. Radiol. Mex.* 10.
- Vallon, V., Mühlbauer, B., Osswald, H., 2006. Adenosine and kidney function. *Physiol. Rev.* 86, 901–940. <https://doi.org/10.1152/physrev.00031.2005>
- Vanmassenhove, J., Vanholder, R., Lameire, N., 2016. Statins for the prevention of contrast-induced acute kidney injury: *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 25, 508–517. <https://doi.org/10.1097/MNH.0000000000000261>
- Vicente-Vicente, L., Ferreira, L., González-Buitrago, J.M., López-Hernández, F.J., López-Novoa, J.M., Morales, A.I., 2013. Increased urinary excretion of albumin, hemopexin, transferrin and VDBP correlates with chronic sensitization to gentamicin nephrotoxicity in rats. *Toxicology* 304, 83–91. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.12.006>
- Vicente-Vicente, L., Sánchez-Juanes, F., García-Sánchez, O., Blanco-Gozalo, V., Pescador, M., Sevilla, M.A., González-Buitrago, J.M., López-Hernández, F.J., López-Novoa, J.M., Morales, A.I., 2015. Sub-nephrotoxic cisplatin sensitizes rats to acute renal failure and increases urinary excretion of fumarylacetoacetase. *Toxicol. Lett.* 234, 99–109. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2014.11.033>
- Waller, A., Jørgensen, N.P., Koksvik, B., Skinnemoen, K., Andrew, E., 1987. Pharmacokinetics of iopentol in healthy volunteers. *Acta Radiol. Suppl.* 370, 113–117.
- Waikar, S.S., Bonventre, J.V., 2009. Creatinine kinetics and the definition of acute kidney injury. *J. Am. Soc. Nephrol. JASN* 20, 672–679. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008070669>

- Wang, A., Holcslaw, T., Bashore, T.M., Freed, M.I., Miller, D., Rudnick, M.R., Szerlip, H., Thames, M.D., Davidson, C.J., Shusterman, N., Schwab, S.J., 2000. Exacerbation of radiocontrast nephrotoxicity by endothelin receptor antagonism. *Kidney Int.* 57, 1675–1680. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00012.x>
- Weinstein, J.R., Anderson, S., 2010. The aging kidney: physiological changes. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 17, 302–307. <https://doi.org/10.1053/j.ackd.2010.05.002>
- Wong, P.C.Y., Li, Z., Guo, J., Zhang, A., 2012. Pathophysiology of contrast-induced nephropathy. *Int. J. Cardiol.* 158, 186–192. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2011.06.115>
- Yang, Dingwei, Lin, S., Yang, Dingping, Wei, L., Shang, W., 2012. Effects of short- and long-term hypercholesterolemia on contrast-induced acute kidney injury. *Am. J. Nephrol.* 35, 80–89. <https://doi.org/10.1159/000335077>
- Yang, P.-C., Mahmood, T., 2012. Western blot: Technique, theory, and trouble shooting. *North Am. J. Med. Sci.* 4, 429. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.100998>
- Zapata-Chica, C.A., Bello Marquez, D., Serna-Higuaita, L.M., Nieto-Ríos, J.F., Casas-Arroyave, F.D., Donado-Gómez, J.H., 2015. Sodium bicarbonate versus isotonic saline solution to prevent contrast-induced nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *Colomb. Medica Cali Colomb.* 46, 90–103.
- Zhang, D., Meyron-Holtz, E., Rouault, T.A., 2007. Renal iron metabolism: transferrin iron delivery and the role of iron regulatory proteins. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18, 401–406. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080908>
- Zhang, J., Guo, Y., Jin, Q., Bian, L., Lin, P., 2018. Meta-analysis of rosuvastatin efficacy in prevention of contrast-induced acute kidney injury. *Drug Des. Devel. Ther.* 12, 3685–3690. <https://doi.org/10.2147/DDDT.S178020>
- Zhou, L., Chen, H., 2012. Prevention of contrast-induced nephropathy with ascorbic acid. *Intern. Med.* 51, 531–535. <https://doi.org/10.2169/internalmedicine.51.6260>
- Zhou, X.J., Rakheja, D., Yu, X., Saxena, R., Vaziri, N.D., Silva, F.G., 2008. The aging kidney. *Kidney Int.* 74, 710–720. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.319>

- Zhou, Y., Vaidya, V.S., Brown, R.P., Zhang, J., Rosenzweig, B.A., Thompson, K.L., Miller, T.J., Bonventre, J.V., Goering, P.L., 2008. Comparison of kidney injury molecule-1 and other nephrotoxicity biomarkers in urine and kidney following acute exposure to gentamicin, mercury, and chromium. *Toxicol. Sci. Off. J. Soc. Toxicol.* 101, 159–170. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kfm260>
- Zoungas, S., Ninomiya, T., Huxley, R., Cass, A., Jardine, M., Gallagher, M., Patel, A., Vasheghani-Farahani, A., Sadigh, G., Perkovic, V., 2009. Systematic review: sodium bicarbonate treatment regimens for the prevention of contrast-induced nephropathy. *Ann. Intern. Med.* 151, 631. <https://doi.org/10.7326/0003-4819-151-9-200911030-00008>

## ***Anexos***





## **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Nombre del Proyecto: **Evaluación de la utilidad de marcadores de diagnóstico precoz como estrategia en la reducción de nefropatía inducida por contrastes**

**Estimado Señor/a,**

Mediante el presente documento se le invita a participar en un estudio de investigación o ensayo clínico, cuyo promotor es el *SERVICIO DE CARDIOLOGÍA, HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA*. Este formulario le informará de las características del estudio y los procedimientos a seguir en el mismo. Por favor, lea atentamente la información contenida en este formulario y no dude en contactar con su doctor para cualquier pregunta que le pueda surgir. Asimismo, usted puede consultar con otras personas antes de tomar una decisión.

### **Objetivo del estudio y antecedentes**

El objetivo de este estudio es identificar marcadores urinarios de daño renal temprano que se anticipen a la creatinina plasmática en la detección de la nefrotoxicidad de los medios de contraste.

Los medios de contrastes son sustancias que se usan para mejorar la visibilidad de estructuras o fluidos dentro del cuerpo. Las mejoras fármaco-químicas logradas en las últimas décadas han contribuido notablemente a la seguridad y eficacia de estas sustancias. Sin embargo, en algunos pacientes pueden aparecer efectos adversos considerables. Con este estudio se pretende encontrar marcadores urinarios que permitan prevenir el daño renal agudo ocasionado por los medios de contraste.

El estudio precisa incluir en el ensayo a pacientes que, como usted, serán sometidos por prescripción médica a un procedimiento en el que se utilizan agentes de contraste.

Como al resto de pacientes a incluir en el presente ensayo, a usted se le ofrece la oportunidad de participar en este estudio. Por supuesto usted es libre de no entrar en el mismo, y si lo hace, podrá abandonar el estudio en cualquier momento que desee. Su doctor también podrá pedirle que abandone el estudio si usted experimentara algún efecto no esperado.

### **Procedimientos**

Este es un estudio que se realizará en su hospital habitual. Está previsto que, si usted decide participar en el estudio, lo haga durante la completa duración del mismo, aunque usted es libre de abandonar el estudio en cualquier momento, sin dar ninguna explicación.

Si acepta participar, deberá firmar una hoja denominada consentimiento informado, o en caso de que exista algún impedimento que haga que no pueda firmarlo, podrá otorgar su consentimiento ante algún testigo, que firmará por usted.

Las exploraciones, pruebas, procedimientos y visitas previstas son las habituales en el proceso asistencial para la patología en estudio y no se contempla ningún procedimiento específico del estudio que no forme parte de su asistencia rutinaria. Si usted decide participar en el estudio se tomará una pequeña parte de las muestras (alícuotas) de sangre y orina que se obtienen para llevar a cabo la preparación y seguimiento normales de su proceso asistencial, con los fines de investigación recogidos en este proyecto.

Por tanto, el estudio no modificará en absoluto el procedimiento estándar a seguir con el paciente ni exigirá ninguna actuación o intervención adicional.

### **Riesgos**

En el proceso asistencial se utilizan contrastes iodados que pueden inducir un fallo en la función del riñón. El fallo renal se asocia a un incremento notable de las complicaciones y de la mortalidad. Este estudio no modifica en absoluto su proceso asistencial, por lo que los riesgos asociados a este no están vinculados a su participación en el estudio

### **Beneficios de su participación en el estudio**

El beneficio potencial de su participación en este estudio es evitar la aparición de fallo renal tras el medio de contraste. La información obtenida puede ser útil en la prevención de su aparición en otros pacientes en el futuro.

### **Participación voluntaria**

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Usted puede negarse a participar o retirarse del estudio en cualquier momento sin que de ello se derive ningún perjuicio ni pérdida de los beneficios a los que usted tiene derecho. Usted puede interrumpir su participación en el estudio sin que por ello se vean afectados sus cuidados médicos en curso.

### **Nuevos descubrimientos**

Todos los nuevos descubrimientos que se realicen durante el curso de esta investigación, que puedan influenciar razonablemente en su deseo de continuar en el estudio, le serán comunicados en cuanto sean disponibles. En este caso, usted deberá firmar un nuevo documento de consentimiento informado.

### **Confidencialidad**

Con el fin de garantizar la fiabilidad de los datos recogidos en este estudio, será preciso que representantes del promotor, miembros del equipo investigador y, eventualmente, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o miembros del Comité Ético de Investigación Clínica tengan acceso a su historia clínica, comprometiéndose a la más estricta confidencialidad.

Toda la información (personal, clínica, y los datos provenientes de la investigación con material biológico) recogida en su nombre se tratará con arreglo a la Directiva 95/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de octubre de 1995, relativa a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales, y a la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y su normativa de desarrollo, el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento que la desarrolla. En caso de cesión de datos a terceros países, se garantizará un nivel de protección equivalente al de nuestra legislación.

De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales y a su rectificación, cancelación y oposición, que podrá ejercer dirigiéndose al médico que le atiende en este estudio. En caso de que se ejerciten estos derechos, el médico lo pondrá inmediatamente en conocimiento del promotor como responsable del fichero.

### **Comités Éticos**

El presente protocolo de estudio ha sido revisado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, que han otorgado una opinión favorable del mismo. En la elaboración y diseño de este protocolo se han observado los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, recogidos en la Declaración de Helsinki.



**Póliza de seguros**

De acuerdo con la legislación vigente, RD 223/2004, usted está asegurado con una póliza de seguros concertada por el promotor del estudio con la compañía -----, con número de póliza ----- para cubrir los daños y perjuicios o riesgos potenciales que puedan derivarse de su participación en el presente ensayo. En caso de que usted decida suscribir algún seguro de vida, puede que a la hora de contratar el mismo la compañía aseguradora establezca alguna condición adicional por el hecho de que usted esté participando en un ensayo clínico.

Esperamos que después de leer este formulario, Usted estará suficientemente informado sobre los procedimientos del estudio. Su médico le contestará a cualquier pregunta o duda relacionada con este proyecto de investigación.

**Persona de contacto.**

Durante todo el estudio podrá formular cualquier pregunta que tenga. **En caso de urgencia** o si tuviese algún problema o más preguntas sobre el estudio o sobre sus derechos como paciente, póngase en contacto con la persona indicada a continuación

Nombre:.....  
 Dirección: .....  
 Teléfono:

**Firma del Médico**

**Fecha:**

**Fdo.:**

*Investigador colaborador con el proyecto de investigación: Evaluación de la utilidad de marcadores de diagnóstico precoz como estrategia en la reducción de nefropatía inducida por contrastes.*

Yo (indicar nombre completo del paciente).....

**DNI/Pasaporte,** .....

He leído la hoja informativa que me ha sido entregada.

He tenido oportunidad de efectuar preguntas sobre el estudio.

He recibido respuestas satisfactorias.

He recibido suficiente información en relación con el estudio.

He hablado con el Dr./Investigador:.....

Entiendo que la participación es voluntaria.

Entiendo que puedo abandonar el estudio:

- Cuando lo desee.
- Sin que tenga que dar explicaciones.
- Sin que ello afecte a MIS cuidados médicos.

También he sido informado de forma clara, precisa y suficiente de los siguientes extremos que afectan a los datos personales que se contienen en este consentimiento y en la ficha o expediente que se abra para la investigación:

- Estos datos serán tratados y custodiados con respeto a mi intimidad y a la vigente normativa de protección de datos.
- Sobre estos datos me asisten los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición que podré ejercitar mediante solicitud ante el investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.
- Estos datos no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.
- Doy mi consentimiento sólo para la extracción necesaria en la investigación de la que se me ha informado y para que sean utilizadas las muestras (fluidos, tejidos, etc..) exclusivamente en ella, sin posibilidad de compartir o ceder éstas, en todo o en parte, a ningún otro investigador, grupo o centro distinto del responsable de esta investigación o para cualquier otro fin.

Declaro que he leído y conozco el contenido del presente documento, comprendo los compromisos que asumo y los acepto expresamente. Y, por ello, firmo este consentimiento informado de forma voluntaria para **MANIFESTAR MI DESEO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN TITULADO EVALUACIÓN DE LA UTILIDAD DE MARCADORES DE DIAGNÓSTICO PRECOZ COMO ESTRATEGIA EN LA REDUCCIÓN DE NEFROPATÍA INDUCIDA POR CONTRASTES**, hasta que decida lo contrario. Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos. Recibiré una copia de este consentimiento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

Nombre del paciente o sujeto colaborador:

Firma:

Fecha:

Nombre del investigador:

DNI:

*Firma: Servicio de Cardiología, Hospital Universitario de Salamanca*

Fecha:



Hospital Virgen de la Vega  
Paseo de San Vicente 58-182 semiótano  
37007-Salamanca - SPAIN  
TF/Fax: +34 923 270 594



## DOCUMENTO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Apellidos \_\_\_\_\_

NHC \_

Nombre \_\_\_\_\_

Fecha \_

### Finalidad

Le rogamos que lea este consentimiento informado entendiendo su contenido y el objeto del mismo y que haga todas las preguntas que estime oportunas.

Este documento tiene como objeto solicitar su autorización escrita para la donación de parte de la muestra sobrante de tejido o de líquido durante su proceso diagnóstico, operatorio o postoperatorio para poderlos utilizar en proyectos de investigación relacionados directa o indirectamente con su enfermedad.

La donación de muestras al Biobanco del Hospital Universitario de Salamanca, en adelante Biobanco-HUSA, no supone para usted ningún riesgo o molestia adicional ya que las muestras proceden de las que forzosamente se le tienen que tomar a lo largo de su proceso diagnóstico.

El Biobanco es un centro de conservación de muestras que pueden ser tejidos, fluidos biológicos, ADN, ARN, células, etc. con un gran valor en la investigación de enfermedades.

El almacenamiento de las muestras en el Biobanco-HUSA permite a los científicos disponer de muestras para investigar:

- Qué genes influyen en el desarrollo de determinadas enfermedades o en la protección frente a las mismas.
- Obtención de conocimientos que permitan el desarrollo de nueva estrategias, métodos diagnósticos y terapias aplicables a pacientes.
- Marcadores biológicos que permitan el diagnóstico de algunas enfermedades con mayor rapidez y con menos molestias para el paciente.

### Carácter de la donación y derechos

Las donaciones, por disposición legal, son altruistas por lo que usted no obtendrá ningún beneficio económico por las mismas.

Podrá conocer para qué proyectos de investigación han sido utilizadas sus muestras y datos personales. Si usted lo solicita de manera expresa, tendrá a su disposición la información relativa a la utilización de su muestra en los proyectos de investigación a los que se haya cedido pero no se le comunicará, en general, ningún resultado personal obtenido del estudio de las mismas, dado que la manera en la que se emplearan sus datos, muestras así como el diseño de los proyectos de investigación en los que puedan ser empleados, no permiten la obtención de datos individualizados. No obstante, si en algún proyecto en el que se fueran a emplear sus muestras se obtuviera alguna información, derivada de los análisis genéticos, relativa a su salud o a la de su familia, tiene el derecho a ser informado sobre la misma si usted lo solicita expresamente. Le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo a sus familiares.

Usted puede decidir libremente sobre su muestra y solicitar, sin especificar el motivo, la eliminación de todas las muestras donadas al Biobanco-HUSA y sus datos asociados (*Revocación del Consentimiento*). Esto *no supone ningún cambio en la relación con su médico ni perjuicio alguno en su diagnóstico, tratamiento y/o seguimiento*. No se podrá extender su decisión a ningún dato resultante de las investigaciones que se hayan llevado a cabo hasta ese momento.



Hospital Virgen de la Vega  
Paseo de San Vicente 58-182 semisótano  
37007-Salamanca, SPAIN  
TF/Fax: +34 923 270 594



### Descripción del proceso

---

Será necesario recoger datos de su historia clínica y es posible que se le solicite rellenar un cuestionario de salud en el que se pedirán datos personales relacionados con hábitos de vida, historia médica, ambiente donde vive y trabaja, entre otros. Estos datos se emplearán en los proyectos de investigación junto con sus muestras. Es posible que sea necesario en el futuro contactar con usted para obtener datos adicionales y para ello se le solicita su autorización expresa.

Sus muestras serán almacenadas en el Biobanco-HUSA. Este Biobanco está integrado en una red Biobancos hospitalarios coordinada por el Instituto de Salud Carlos III y que tiene como objetivo almacenar muestras de pacientes que puedan ser empleadas en proyectos de investigaciones nacionales e internacionales.

Dado que sus muestras se cederán a diversos proyectos de investigación, es posible que alguno de ellos emplee animales de laboratorio. Estos son necesarios para proteger la salud humana. Con los conocimientos científicos que tenemos ahora, no es posible su sustitución por otros sistemas de experimentación. Será tarea de los comités y autoridades correspondientes, vigilar que esos proyectos de investigación cumplan las leyes y eviten el posible sufrimiento de los animales pero usted puede negarse a ceder sus muestras a esos proyectos, tal y como le solicitamos en este consentimiento.

De acuerdo con la Ley de Investigación Biomédica 14/2007, los datos clínicos y las muestras almacenadas en el Biobanco-HUSA podrán ser empleadas en estudios de investigación biomédica realizados por este u otros centros, nacionales y extranjeros siempre que los comités de Ética y Científico del Biobanco lo aprueben. Por esta misma ley y dado que el Biobanco-HUSA está integrado en una red nacional de Biobancos que podría colaborar con redes internacionales de Biobancos, se le solicitará expresamente que de su autorización para que sus muestras y datos asociados sean compartidos con Biobancos distintos al Biobanco-HUSA garantizando la confidencialidad de sus datos.

### Protección de datos y confidencialidad

---

Sus datos personales serán confidenciales y procesados de acuerdo con la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal y la legislación vigente relativa a investigación biomédica. Sus muestras y sus datos personales serán sometidas a un proceso de codificación y se harán anónimas para los investigadores, de tal forma que nunca puedan conocer su identidad. Sus datos personales serán incorporados a una base de datos de carácter confidencial inscrita en la Agencia Española de Protección de Datos, conforme a la ley 15/1999, cuyo titular es el Hospital Universitario de Salamanca.

Como donante, usted tiene el derecho a realizar cualquier modificación o eliminación de sus datos poniéndose en contacto con el Director del Biobanco-HUSA, Pso/ San Vicente 58-182, 37007-Salamanca.

### Declaración del donante

---

He sido informado por el personal clínico/investigador abajo mencionado y he comprendido:

1. La finalidad de la conservación, el lugar de conservación y la garantía del cumplimiento de la legalidad vigente.
2. La posibilidad de ceder a terceros las muestras para futuros proyectos de investigación que cumplan con las exigencias éticas y científicas exigidas por los comités correspondientes así como cualquier exigencia legal que sea aplicable.
3. La posibilidad de ceder muestras y datos clínicos a otros Biobancos nacionales y extranjeros para ser empleadas en proyectos de investigación biomédica, salvaguardando mi confidencialidad.
4. Que las muestras y datos personales serán proporcionados a los investigadores de tal manera que resulte imposible mi identificación.



Hospital Virgen de la Vega  
 Paseo de San Vicente 58-182 semidótano  
 37007-Salamanca, SPAIN  
 TF/Fax: +34 923 270 594



5. Que en cualquier momento puedo revocar mi consentimiento y exigir eliminar las muestras y mis datos personales almacenados en el Biobanco-HUSA.

6. Que no tendré acceso a los resultados específicos de los estudios realizados con las muestras pero que podre solicitar información genérica sobre los proyectos en los que se han empleado las muestras y los datos asociados. En el caso de que se obtuviera alguna información relativa a mi salud o la de mi familia puedo solicitar que se me proporcione.

**En pleno uso de mis facultades accedo a:**

Que las muestras y mis datos personales asociados puedan ser empleados con fines de investigación y almacenados en el Biobanco-HUSA de acuerdo con las condiciones expuestas SI  NO

Que si fuera necesario, se contacte conmigo para obtener datos adicionales SI  NO

Que mis muestras puedan cederse a proyectos de investigación en los que se empleen animales de laboratorio SI  NO

*Solicito:*

Recibir información relativa a mi salud o la de mis familiares en el caso de que se obtenga algun resultado genético que pueda afectar a las mismas SI  NO

Firma \_\_\_\_\_

**Declaración del personal clínico/investigador de que ha informado debidamente al donante**

Nombre \_\_\_\_\_ Fecha \_\_\_\_\_

Firma \_\_\_\_\_

**Revocación del consentimiento**

Yo \_\_\_\_\_ revoco el consentimiento para el almacenamiento y utilización de las muestras y datos asociados donados por mi voluntariamente y arriba firmado en el Biobanco-HUSA.

Fecha \_\_\_\_\_ Firma \_\_\_\_\_





## **CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Nombre del Proyecto: **Eficacia y seguridad de la quercetina para la prevención de la nefrotoxicidad en pacientes sometidos a cateterismo cardiaco.**

### **Estimado Señor/a,**

Mediante el presente documento se le invita a participar en un estudio de investigación o ensayo clínico, cuyo promotor es el *SERVICIO DE CARDIOLOGÍA, HOSPITAL UNIVERSITARIO DE SALAMANCA*. Este formulario le informará de las características del estudio y los procedimientos a seguir en el mismo. Por favor, lea atentamente la información contenida en este formulario y no dude en contactar con su doctor para cualquier pregunta que le pueda surgir. Asimismo, usted puede consultar con otras personas antes de tomar una decisión.

### **Objetivo del estudio y antecedentes**

EL objetivo de este ensayo es estudiar si la administración por vía oral del compuesto quercetina es útil para la prevención de la nefrotoxicidad de los medios de contraste.

Los medios de contrastes son sustancias que se usan para mejorar la visibilidad de estructuras o fluidos dentro del cuerpo. Las mejoras fármaco-químicas logradas en las últimas décadas han contribuido notablemente a la seguridad y eficacia de estas sustancias. Sin embargo, en algunos pacientes pueden aparecer efectos adversos considerables.

La quercetina es un compuesto de origen vegetal, que podría ser útil en la prevención de la toxicidad de los medios de contraste por su demostrada capacidad antioxidante.

El estudio precisa incluir en el ensayo a pacientes que, como usted, serán sometidos por prescripción médica a un procedimiento en el que se utilizan agentes de contraste.

Como al resto de pacientes a incluir en el presente ensayo, a usted se le ofrece la oportunidad de participar en este estudio. Por supuesto usted es libre de no entrar en el mismo, y si lo hace, podrá abandonar el estudio en cualquier momento que desee. Su doctor también podrá pedirle que abandone el estudio si usted experimentara algún efecto no esperado.

### **Procedimientos**

Este es un estudio que se realizará en su hospital habitual. Está previsto que, si usted decide participar en el estudio, lo haga durante la completa duración del mismo, aunque usted es libre de abandonar el estudio en cualquier momento, sin dar ninguna explicación.

Si acepta participar, deberá firmar una hoja denominada consentimiento informado, o en caso de que exista algún impedimento que haga que no pueda firmarlo, podrá otorgar su consentimiento ante algún testigo, que firmará por usted.

Si decide participar, el Servicio de Enfermería se encargará de suministrarle la quercetina. Así, 3 días antes del procedimiento en el que es necesario administrar un medio de contraste, se comenzará el tratamiento con quercetina, por vía oral, 500 mg cada 8 horas, en forma de cápsula. Este tratamiento se alargará hasta dos días después del procedimiento.

Además, en el estudio se tomará una pequeña parte de las muestras (alícuotas) de sangre y orina que se obtienen para llevar a cabo la preparación y seguimiento normales de su proceso asistencial, con los fines de investigación recogidos en este proyecto.

### **Riesgos**

En el proceso asistencial se utilizan contrastes iodados que pueden inducir un fallo en la función del riñón. El fallo renal se asocia a un incremento notable de las complicaciones y de la mortalidad.

La seguridad de la quercetina ya ha sido demostrada previamente en ensayos clínicos. No obstante, usted rellenará un pequeño cuestionario indicando si ha experimentado algún efecto tras la ingesta del compuesto.

### **Beneficios de su participación en el estudio**

El beneficio potencial de su participación en este estudio es evitar la aparición de fallo renal tras el medio de contraste. La información obtenida puede ser útil en la prevención de su aparición en otros pacientes en el futuro.

### **Participación voluntaria**

Su participación en el estudio es completamente voluntaria. Usted puede negarse a participar o retirarse del estudio en cualquier momento sin que de ello se derive ningún perjuicio ni pérdida de los beneficios a los que usted tiene derecho. Usted puede interrumpir su participación en el estudio sin que por ello se vean afectados sus cuidados médicos en curso.

### **Nuevos descubrimientos**

Todos los nuevos descubrimientos que se realicen durante el curso de esta investigación, que puedan influenciar razonablemente en su deseo de continuar en el estudio, le serán comunicados en cuanto sean disponibles. En este caso, usted deberá firmar un nuevo documento de consentimiento informado.

### **Confidencialidad**

Con el fin de garantizar la fiabilidad de los datos recogidos en este estudio, será preciso que representantes del promotor, miembros del equipo investigador y, eventualmente, la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios o miembros del Comité Ético de Investigación Clínica tengan acceso a su historia clínica, comprometiéndose a la más estricta confidencialidad.

Toda la información (personal, clínica, y los datos provenientes de la investigación con material biológico) recogida en su nombre se tratará con arreglo a la Directiva 95/46/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 24 de octubre de 1995, relativa a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales, y a la Ley Orgánica 15/1999 de 13 de Diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y su normativa de desarrollo, el Real Decreto 1720/2007, de 21 de diciembre, por el que se aprueba el Reglamento que la desarrolla. En caso de cesión de datos a terceros países, se garantizará un nivel de protección equivalente al de nuestra legislación.

De acuerdo con la ley vigente, tiene usted derecho al acceso de sus datos personales y a su rectificación, cancelación y oposición, que podrá ejercer dirigiéndose al médico que le atiende en este



estudio. En caso de que se ejerciten estos derechos, el médico lo pondrá inmediatamente en conocimiento del promotor como responsable del fichero.

### Comités Éticos

El presente protocolo de estudio ha sido revisado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Clínico Universitario de Salamanca, que han otorgado una opinión favorable del mismo.

En la elaboración y diseño de este protocolo se han observado los principios éticos para las investigaciones médicas en seres humanos, recogidos en la Declaración de Helsinki.

### Póliza de seguros

De acuerdo con la legislación vigente, RD 223/2004, usted está asegurado con una póliza de seguros concertada por el promotor del estudio con la compañía -----, con número de póliza ----- para cubrir los daños y perjuicios o riesgos potenciales que puedan derivarse de su participación en el presente ensayo. En caso de que usted decida suscribir algún seguro de vida, puede que a la hora de contratar el mismo la compañía aseguradora establezca alguna condición adicional por el hecho de que usted esté participando en un ensayo clínico.

Esperamos que después de leer este formulario, Usted estará suficientemente informado sobre los procedimientos del estudio. Su médico le contestará a cualquier pregunta o duda relacionada con este proyecto de investigación.

### Persona de contacto.

Durante todo el estudio podrá formular cualquier pregunta que tenga. **En caso de urgencia** o si tuviese algún problema o más preguntas sobre el estudio o sobre sus derechos como paciente, póngase en contacto con la persona indicada a continuación

Nombre: .....

Dirección: .....

Teléfono:

**Firma del Médico**

**Fecha:**

**Fdo.:**

***Investigador colaborador con el proyecto de investigación: Eficacia y seguridad de la quercetina para la prevención de la nefrotoxicidad en pacientes sometidos a cateterismo cardiaco.***

Yo (indicar nombre completo del paciente).....

DNI/Pasaporte, .....

He leído la hoja informativa que me ha sido entregada

He tenido oportunidad de efectuar preguntas sobre el estudio.

He recibido respuestas satisfactorias.

He recibido suficiente información en relación con el estudio.

He hablado con el Dr./Investigador:.....

Entiendo que la participación es voluntaria.

Entiendo que puedo abandonar el estudio:

- Cuando lo desee.
- Sin que tenga que dar explicaciones.
- Sin que ello afecte a MIS cuidados médicos.

También he sido informado de forma clara, precisa y suficiente de los siguientes extremos que afectan a los datos personales que se contienen en este consentimiento y en la ficha o expediente que se abra para la investigación:

- Estos datos serán tratados y custodiados con respeto a mi intimidad y a la vigente normativa de protección de datos.
- Sobre estos datos me asisten los derechos de acceso, rectificación, cancelación y oposición que podré ejercitar mediante solicitud ante el investigador responsable en la dirección de contacto que figura en este documento.
- Estos datos no podrán ser cedidos sin mi consentimiento expreso y no lo otorgo en este acto.

Doy mi consentimiento sólo para la extracción necesaria en la investigación de la que se me ha informado y para que sean utilizadas las muestras (fluidos, tejidos, etc..) exclusivamente en ella, sin posibilidad de compartir o ceder éstas, en todo o en parte, a ningún otro investigador, grupo o centro distinto del responsable de esta investigación o para cualquier otro fin.

Declaro que he leído y conozco el contenido del presente documento, comprendo los compromisos que asumo y los acepto expresamente. Y, por ello, firmo este consentimiento informado de forma voluntaria para **MANIFESTAR MI DESEO DE PARTICIPAR EN ESTE ESTUDIO DE INVESTIGACIÓN TITULADO EFICACIA Y SEGURIDAD DE LA QUERCETINA PARA LA PREVENCIÓN DE LA NEFROTOXICIDAD EN PACIENTES SOMETIDOS A CATETERISMO CARDIACO**, hasta que decida lo contrario. Al firmar este consentimiento no renuncio a ninguno de mis derechos. Recibiré una copia de este consentimiento para guardarlo y poder consultarlo en el futuro.

Nombre del paciente o sujeto colaborador:

Firma:

Fecha:

Nombre del investigador:

DNI:

*Firma: Servicio de Cardiología, Hospital Universitario de Salamanca*

Fecha:

