

**SOBREDOSIS AGUDA Y CRÓNICA DE  
PARACETAMOL EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA:  
ESTUDIO PROSPECTIVO DE COHORTES PARA  
EVALUAR LOS FACTORES CLINICOS Y  
BIOMARCADORES PREDICTORES DE  
HEPATOTOXICIDAD**

**Nº DE PROTOCOLO: GEIPA-2012-01**

**Grupo de Estudio de la Intoxicación por Paracetamol (GEIPA)** formado por los  
Servicios de Urgencias y Farmacología Clínica. IdiPaz, Hospital Universitario “La Paz”.

## RESUMEN DEL ESTUDIO

### 0. Tipo de solicitud

Estudio observacional.

### 1. Identificación de promotor y dirección

**Grupo de Estudio de la Intoxicación por Paracetamol (GEIPA)** formado por los Servicios de Urgencias y Farmacología Clínica. IdiPaz, Hospital Universitario “La Paz”.Hospital Universitario “La Paz”.

Paseo de la Castellana nº 261. 28046 Madrid

### 2. Título del estudio

SOBREDOSIS AGUDA Y CRÓNICA DE PARACETAMOL EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA: ESTUDIO PROSPECTIVO DE COHORTES PARA EVALUAR LOS FACTORES CLINICOS Y BIOMARCADORES PREDICTORES DE HEPATOTOXICIDAD

### 3. Código del protocolo: GEIPA-2012-01

### 4. Investigador principal y dirección: Dra. Elena Ramírez García.

### 5. Punto de contacto:

Servicio de Farmacología Clínica del Hospital Universitario “La Paz.”  
Pso de la Castellana nº 261.  
28046 Madrid  
Tf: 917277215; 917277559  
Fax: 917277559

### 6. Centro en los que se prevé realizar el estudio

Hospital Universitario “La Paz”

### 7. Tipo de estudio

Estudio de tipo observacional, de cohorte con de casos-control.

### 8. Comité Ético de Investigación Clínica que evalúa el estudio

Siguiendo las directrices sobre estudios observacionales para medicamentos de uso humano, el estudio será evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica del

Hospital La Paz, cuya composición es ya conocida y acreditada por el Ministerio de Sanidad.

## **9. Fundamento**

El paracetamol es el principal fármaco causante de fallo hepático agudo en algunos países como Estados Unidos, Reino Unido y otros países europeos. Uno de los motivos es que no se dispone de un biomarcador de daño hepático eficiente para detectar lesión hepática en fases tempranas. La tecnología metabonómica (utilizando espectrometría de masa y resonancia magnética nuclear), podría tener la capacidad de identificar biomarcadores específicos de eventos adversos y toxicidad en fases tempranas. La valoración del riesgo de hepatotoxicidad es difícil de evaluar en pacientes que no cumplen los siguientes criterios: que acudan en un estadio tardío ( $> 24$  horas tras la ingesta), ingesta crónica de paracetamol, ingesta aguda en pacientes alcohólicos, ingesta concomitante de otros fármacos que puedan alterar la cinética del paracetamol y pacientes con ingesta de formulaciones de paracetamol de liberación sostenida. El desarrollo de biomarcadores de toxicidad por paracetamol pudiera tener importante implicación clínica para los grupos de pacientes a quienes no se pueda aplicar el nomograma de Rumack–Matthew. La determinación de nuevos biomarcadores que sean específicos de la sobredosis por paracetamol podría ser útil en la evaluación de niños con fallo hepático agudo de etiología desconocida, además de poder predecir la aparición de lesión hepática en su fase precoz. Por otro lado, es necesario realizar una evaluación de las intoxicaciones agudas por éste fármacos en población pediátrica y comprobar la utilidad del nomograma de Rumack-Matthew en estos pacientes.

## **10. Objetivos principales**

1. Determinar los factores clínicos y biomarcadores (farmacocinéticos, genéticos y metabonómicos) que predicen el desarrollo de hepatotoxicidad en población pediátrica tras la ingesta aguda y crónica de paracetamol.
2. Desarrollar un modelo predictivo que permita evaluar el riesgo de hepatotoxicidad en intoxicaciones agudas y crónicas por paracetamol adaptado a pacientes pediátricos para su uso en la práctica clínica.

## **11. Población en estudio y número total de pacientes**

Se reclutará una cohorte de pacientes constituida por los pacientes que ingresen en urgencias de pediatría del Hospital Universitario La Paz (menores de 14 años) con sospecha de ingesta aguda o crónica de paracetamol definida como:

- Historia de ingesta aguda de dosis superiores de 150mg/Kg en una dosis única en aquellos pacientes sin factores de riesgo de hepatotoxicidad por paracetamol

- Historia de ingesta aguda de dosis superiores de 100mg/Kg en una dosis única en aquellos pacientes con factores de riesgo de hepatotoxicidad por paracetamol, siendo estos:

- Malnutrición
- Ayuno prolongado (> 1 día)
- Anorexia-bulimia
- Fallo del medro – caquexia
- Fibrosis quística
- Deshidratación presente
- Nutrición parenteral total
- Enfermedad hepática previa
- AIDS
- Alteraciones previas de la función renal
- Consumo crónico de alcohol
- Tratamiento prolongado previo con fármacos que estimulan el citocromo P450
- Enfermedad de Gilbert

- Historia de ingesta crónica de paracetamol en sobredosis definida como:

- ❖ En menores de 6 años: ingesta de una dosis superior a 200 mg/Kg en un periodo de 24 horas, o mayor de 150 mg/Kg cada 24 horas durante al menos 48 horas, o mayor a 100 mg/Kg en un periodo de 24 horas en pacientes con factores de riesgo.

- ❖ En pacientes mayores de 6 años: una dosis superior a 200 mg/Kg o 10 gramos (la menor de ella) en un periodo de 24 horas, o mayor de 150 mg/Kg o 6 gramos (la menor de ellas) cada 24 horas durante al menos 48 horas, o mayor de 100 mg/Kg o 4 gramos/día (la menor de ellas) en un periodo de 24 horas en pacientes con factores de riesgo.

Así mismo, se reclutarán dos cohortes control:

- ❖ Pacientes que no han tomado paracetamol en las últimas dos semanas.
- ❖ Pacientes sin factores de riesgo con ingesta de paracetamol a dosis recomendadas según protocolo de Urgencias de Pediatría: 10-15 mg/Kg/dosis, siendo la máxima entre 50-75 mg/Kg/día durante al menos 5 dosis de dosificación continua y como máximo 3 días +/- 1 día.

Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, se precisan 36 casos y 144 controles para detectar una odds ratio mínima de 3

## 12. Calendario y fecha prevista de realización

El estudio se iniciará en Noviembre 2012 con una duración estimada de 2 años, con la idea de incluir a todos los pacientes que acudan a urgencias de pediatría del Hospital Universitario La Paz con sospecha de ingesta de paracetamol en sobredosis que cumplan con los criterios establecidos de ingesta aguda o crónica.

# INDICE

<b>1. Información general.....</b>	<b>8</b>
Identificación del proyecto. ....	8
Servicios promotores.....	8
Centro de Investigación. ....	8
Comité Ético de Investigación Clínica.....	9
Duración prevista del proyecto. ....	9
<b>2. Justificación.....</b>	<b>10</b>
<b>3. Objetivos.....</b>	<b>155</b>
Objetivo primarios .....	155
Objetivos secundarios .....	155
<b>4. Diseño del estudio.....</b>	<b>166</b>
Definición de población del estudio .....	16
Periodo del estudio. ....	17
Fármacos estudiados:.....	17
Origen de los datos:.....	18
Calendario y fecha prevista de realización: .....	18
Cálculo del tamaño muestral: .....	18
Definición de las variables:.....	18
<b>5. Variables en evaluación .....</b>	<b>20</b>
5.1. Variables demográficas .....	20
5.2. Variables hospitalarias.....	20
5.3 Variables de comorbilidad y diagnóstico clínico y analítico del paciente .....	20
5.5 Variables de tratamiento .....	20
5.6 Variables de evolución clínica.....	20
5.7 Niveles séricos de paracetamol.....	20
5.8 Variables genéticas .....	20
5.9 Variables metabólica .....	20
<b>6. Metodología .....</b>	<b>21</b>
Selección de los casos del estudio .....	21
Selección de los controles del estudio.....	22
Datos a recoger .....	22
El CRD del paciente incluirá:.....	24
Desarrollo del estudio.....	26
Análisis estadístico.....	26
<b>7. Aspectos éticos .....</b>	<b>28</b>
<b>8. BIBLIOGRAFÍA .....</b>	<b>30</b>
<b>ANEXO I: CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS .....</b>	<b>34</b>

<b>ANEXO II: COMPROMISO DEL INVESTIGADOR.....</b>	<b>37</b>
<b>ANEXO III: CARTA AL CEIC .....</b>	<b>39</b>
<b>ANEXO IV: HOJA DE INFORMACIÓN Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO .....</b>	<b>41</b>
<b>ANEXO V: PROTOCOLO CLÍNICO DE URGENCIAS DE PEDIÁTRICAS.....</b>	<b>57</b>

## 1. INFORMACIÓN GENERAL

### *Identificación del proyecto.*

**Título:** SOBREDOSIS AGUDA Y CRÓNICA DE PARACETAMOL EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA: ESTUDIO PROSPECTIVO DE COHORTES PARA EVALUAR LOS FACTORES CLÍNICOS Y BIOMARCADORES PREDICTORES DE HEPATOTOXICIDAD

**Código:** GEIPA-2012-01

### *Servicios promotores.*

Grupo de Estudio de la Intoxicación por Paracetamol (GEIPA) formado por los Servicios de Urgencias y Farmacología Clínica. IdiPaz, Hospital Universitario “La Paz”.  
Investigador principal y colaboradores.

Investigador principal:	Dra. Elena Ramírez García (1)
Investigadores colaboradores	Dr. Santos García García (2)
	Dr. Jesús Frías Iniesta (1)
	Dr. Antonio Carcas Sansuán (1)
	Dr. Alberto Borobia Pérez (1)
	Dra. Hoi Yan Tong (1)
	Dr. Nicolás Medrano Casique (1)
	Dr. José Antonio Ruiz Domínguez (2)
	Dra. Julia Martín Sánchez (2)
	Dra. Lourdes Krauel-Bilwell (1)
	Dra. Ariadna Caparrós García (1)

Servicios de Farmacología Clínica (1) y Urgencias Pediátricas (2) del Hospital Universitario La Paz.

### *Centro de Investigación.*

Hospital Universitario La Paz.



*Comité Ético de Investigación Clínica.*

El proyecto será evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital La Paz, cuya composición es ya conocida y acreditada por el Ministerio de Sanidad.

*Duración prevista del proyecto.*

La duración del proyecto se estima en 2 años aproximadamente.

## 2. JUSTIFICACIÓN

El paracetamol es el fármaco más ampliamente utilizado para el tratamiento del dolor y la fiebre, aunque presenta un perfil de seguridad bastante aceptable cuando es utilizado a la dosis recomendada, en situación de sobredosis, puede ocasionar hepatotoxicidad leve e incluso fallo hepático fulminante. Es el principal fármaco causante de fallo hepático agudo en algunos países como Estados Unidos, Reino Unido y otros países europeos.<sup>1-3</sup> De acuerdo con el reporte del sistema de notificación de eventos adversos de la FDA en Estados Unidos entre 1998 y 2005, el paracetamol ocupó el 5º lugar entre los fármacos sospechosos de ocasionar alguna reacción adversa grave no mortal y mortal<sup>4</sup>. El fallo hepático agudo es un evento raro, que puede comprometer la vida del paciente o terminar en trasplante hepático en más del 45% de los casos. Se describe que la causa del fallo hepático no está demostrada entre el 40- 50% de los pacientes pediátricos.<sup>5</sup> El paracetamol representa una importante causa que hay que tener en cuenta en la valoración de cualquier niño con fallo hepático agudo. En un estudio multicéntrico en el que se determinaron las causas de fallo hepático agudo en menores de 17 años de edad, se obtuvo que el 8,8% de los pacientes presentaron antecedente de ingesta de paracetamol.<sup>6</sup>

Se ha observado que la mayor parte de las intoxicaciones en niños pequeños son accidentales por vía oral. Las intoxicaciones intencionales son más frecuentes entre adolescentes. En España, la exposición a una sustancia potencialmente tóxica es un motivo de consulta infrecuente en los servicios de urgencias de pediatría, lo cual acontece en menos del 0,3% de todas las consultas, siendo los fármacos las sustancias más comúnmente envueltas en los diferentes grupos de edad pediátrica.<sup>7</sup>

El impacto en la salud pública de la sobredosis por paracetamol ha sido evaluado en diversos estudios epidemiológicos. En un análisis multicéntrico realizado en España el paracetamol fue considerado causa de fallo hepático agudo en únicamente el 2,6% de 267 casos identificados entre 1992 y 2000 y la incidencia estimada de fallo hepático agudo durante el periodo de estudio fue de 1.4 casos por millón de habitantes por año.<sup>8</sup> Por otro lado, el fallo hepático agudo tras la ingesta terapéutica es altamente inusual y

aún no se ha llegado a precisar el mecanismo por el cual se produce. En un ensayo clínico realizado con voluntarios adultos sanos quienes recibieron 4 gr de paracetamol al día tanto como presentación única como en combinación con opioides durante 14 días se registró un aumento en los valores de GPT (más de 5 veces el límite superior de la normalidad) en más del 19% de los participantes comparado con un 3% en el grupo placebo.<sup>9</sup> Asimismo, en un estudio epidemiológico se observó que el riesgo relativo (RR) de insuficiencia hepática aguda con dosis terapéutica de paracetamol fue de 7 (IC 99%: 3,3 – 13,9) con una tasa de incidencia estimada de 2,4 casos por 100.000 personas-año de exposición.<sup>10</sup>

Darren *et al.*<sup>11</sup> evaluaron los pacientes que ingresaron por alteración de la función hepática secundario al consumo de paracetamol entre los años 1992 y 2008, obteniéndose 663 pacientes, de los cuales 161 (24,3%) habían tenido un consumo crónico de este fármaco (definiéndose como la ingesta de 2 o más dosis supratrapéuticas de paracetamol en un intervalo de tiempo superior a 8 horas, resultando en una dosis acumulada mayor de 4 gramos al día). Se evidenció que los pacientes con ingesta crónica fueron más propensos a desarrollar encefalopatía hepática en cualquier momento de la evolución clínica que los pacientes con ingesta aguda. Resultados similares se obtuvieron en un estudio realizado en nuestro hospital, en donde se evaluaron retrospectivamente los casos con sospecha de ingesta de paracetamol tanto en adultos como en niños, observándose que los pacientes con ingesta crónica de paracetamol presentaban mayor riesgo de desarrollar fallo hepático que los pacientes con ingesta aguda.<sup>12</sup>

El papel del metabolismo en la mediación de toxicidad ha sido reconocido desde los años 70 y desde entonces se han estudiado en modelos animales para entender el mecanismo de hepatotoxicidad del paracetamol<sup>13-15</sup> en donde el oxígeno y el estrés nitrogenado son considerados importantes en la mediación de toxicidad.<sup>16-20</sup> Por otro lado, estudios bioquímicos y ultraestructurales han demostrado que a dosis tóxicas de paracetamol podría causar cambios en la morfología y función de la mitocondria hepática.<sup>21</sup> Así, en roedores, la unión del metabolito tóxico a proteínas lleva a una disfunción mitocondrial y fragmentación del DNA nuclear, resultando en muerte celular por necrosis. Este mecanismo se ha propuesto para explicar la toxicidad hepática del

paracetamol en humanos. McGill *et al* han publicado recientemente este mecanismo de hepatotoxicidad en humanos tras la ingesta de dosis supratrapéuticas de paracetamol.<sup>22</sup>

La detección de hepatotoxicidad durante la fase de desarrollo de los fármacos es relativamente difícil. Uno de los motivos es que no se dispone de un biomarcador de daño hepático eficiente para detectar lesión hepática en fases tempranas.<sup>23</sup> La tecnología metabonómica (utilizando espectrometría de masa y resonancia magnética nuclear), podría tener la capacidad de identificar biomarcadores específicos de eventos adversos y toxicidad en fases tempranas.<sup>24</sup> El desarrollo de estos nuevos biomarcadores se centra en las rutas metabólicas que presenta el paracetamol y los mecanismos responsables de su toxicidad. Tras su absorción, el paracetamol entra a la circulación enterohepática, donde la mayor parte del fármaco original es eliminado por conjugación y una pequeña fracción es oxidado por el citocromo P450 para formar el metabolito (N-acetil-p-benzoquinone imina: NAPQI). Las principales isoformas del citocromo P450 que participan en la oxidación del paracetamol son CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A4.<sup>25</sup> Tras bajas dosis de paracetamol, el 90% del paracetamol es metabolizado a Paracetamol-glucurónido y paracetamol-sulfato en el hígado por las glucuroniltransferasa y sulfotransferasa y posteriormente eliminado a través de la orina. La sulfato conjugación es la vía metabólica dominante en neonatos y niños pequeños, pero el metabolismo glucurónido aumenta con la edad y menos del 10% es metabolizado por el citocromo P450 para formar NAPQI, el cual es inmediatamente neutralizado por conjugación con glutatión y excretado en la orina como cisteína y conjugados de ácido mercapturico. En una situación de sobredosis de paracetamol, o en circunstancias en que haya una reducción del glutatión, el metabolito NAPQI se une covalentemente a las proteínas celulares formando los aductos.<sup>26</sup> Sin embargo, a pesar de las investigaciones realizadas, los eventos moleculares y celulares asociados a una sobreingesta de paracetamol no están del todo comprendidos y la toxicidad por este fármaco permanece aún como un problema clínico sin resolver. El desarrollo de nuevos biomarcadores de toxicidad de paracetamol podría ser de utilidad en el diagnóstico y/o manejo de estos pacientes.

Por otro lado, en estudios realizados se demuestra que las uniones covalentes que se forman entre el NAPQI y las proteínas celulares pueden ser usadas para identificar a los pacientes con toxicidad oculta por paracetamol.<sup>27, 28</sup> James LP *et al.*<sup>28</sup> reconocieron

que existía una correlación entre los aductos y los marcadores clínicos de hepatotoxicidad de uso habitual en niños y adolescentes con sobredosis de paracetamol. Además, de no encontrarse los aductos en pacientes con otras causas conocidas de fallo hepático agudo y en aquellos pacientes que recibían tratamiento de N-acetil cisteína se lograban detectar bajos niveles de aductos.

La descodificación del genoma humano dio lugar a la creación de la genómica y la proteómica, ciencias que se encargan del análisis global de los genes y de las proteínas, respectivamente. Mientras que la genómica y la proteómica nos indican lo que podría haber pasado, la metabonómica nos indica lo que realmente ha pasado convirtiéndola en la ciencia que mejor puede caracterizar los fenotipos de los seres vivos. La metabonómica es la ciencia encargada de la detección, identificación y cuantificación de los metabolitos presentes en las muestras biológicas, en particular en biofluidos como orina, sangre, líquido cefalorraquídeo, saliva o incluso tejidos o cultivos celulares con el fin de encontrar variaciones que puedan ser usadas como patrones discriminantes entre las distintas clases de muestras. En los casos de muestras obtenidas de individuos sanos y afectados con alguna enfermedad o intoxicación, el objetivo del análisis metabonómico es identificar las diferencias entre las dos clases, mediante el análisis de los metabolitos endógenos encontrados en tejidos o fluidos biológicos. La ausencia o presencia de algunos de estos metabolitos, así como la concentración relativa entre ellos, puede ser un indicador de estados de enfermedad o de factores de predisposición a ella.

En las últimas décadas también se ha evolucionado en el uso de la tecnología transcriptómica para entender el mecanismo de toxicidad hepática. La expresión genética puede proveer información que refleja el status fisiológico del cuerpo. Bushel *et al.*<sup>29</sup> confirmaron la hipótesis de que los patrones de expresión genética derivados de células sanguíneas periféricas pudieran predecir el grado de lesión hepática tras una sobredosis aguda de paracetamol antes que se pueda detectar por los parámetros tradicionales. El análisis de los genes reveló una mayor alteración en las vías inflamatorias que involucran a la IL-1 y NF-kB. Esta respuesta inflamatoria pudiera ser respuesta de las células sanguíneas a la liberación de citoquinas y quimoquinas inducidas por el paracetamol liberadas por el hígado, o pudiera ser también una

respuesta directa de las células sanguíneas a la exposición al paracetamol. Se ha determinado que el tratamiento con paracetamol producía una expresión en las células sanguíneas 48 horas después de iniciado el tratamiento aun en ausencia de daño hepático. La magnitud de estos cambios en la expresión se correlacionaba positivamente con la producción del metabolito NAPQI y el incremento de lactato sérico, como se demuestra en los estudios metabólicos.

El nomograma de Rumack-Matthew es ampliamente utilizado y ayuda a decidir la necesidad de administrar el antídoto N-acetilcisteína (NAC), después de una sobredosis de paracetamol. El nomograma fue realizado a partir de datos de concentraciones de paracetamol dependiente del tiempo en población adulta con una única ingesta de paracetamol que acudieron a los servicios de urgencias dentro de las primeras 24 horas postingesta. La valoración del riesgo de hepatotoxicidad es difícil de evaluar en pacientes que no cumplen los siguientes criterios: que acudan en un estadio tardío (> 24 horas tras la ingesta), ingesta crónica de paracetamol, ingesta aguda en pacientes alcohólicos,<sup>30</sup> ingesta concomitante de otros fármacos que puedan alterar la cinética del paracetamol<sup>31</sup> y pacientes con ingesta de formulaciones de paracetamol de liberación sostenida.<sup>32</sup>

El desarrollo de biomarcadores de toxicidad por paracetamol pudiera tener importante implicación clínica para los grupos de pacientes a quienes no se pueda aplicar el nomograma de Rumack-Matthew. Una diferencia importante entre la valoración que hace el nomograma y la basada en la determinación de aductos es que la primera se centra en la determinación de los niveles del fármaco original independientemente del metabolismo, mientras que los niveles de aductos es una medida del NAPQI remanente después de la detoxificación por el glutatión, así como las contribuciones de ambas fases del metabolismo.

La determinación de nuevos biomarcadores que sean específicos de la sobredosis por paracetamol podría ser útil en la evaluación de niños con fallo hepático agudo de etiología desconocida, además de poder predecir la aparición de lesión hepática en su fase precoz. Por otro lado, es necesario realizar una evaluación de las sobredosis agudas por éste fármacos en población pediátrica y comprobar la utilidad del nomograma de Rumack-Matthew en estos pacientes.

### 3. OBJETIVOS

#### *Objetivo primarios*

1. Determinar los factores clínicos y biomarcadores (farmacocinéticos, genéticos y metabonómicos) que predicen el desarrollo de hepatotoxicidad en población pediátrica tras la ingesta aguda de paracetamol.
2. Desarrollar un modelo predictivo que permita evaluar el riesgo de hepatotoxicidad en sobredosis agudas por paracetamol adaptado a pacientes pediátricos para su uso en la práctica clínica.

#### *Objetivos secundarios*

1. Caracterizar las sobredosis agudas de paracetamol, según características demográficas, motivo de ingesta, dosis, niveles séricos de paracetamol, valores de transaminasas, bilirrubina, creatinina, INR, actividad de protrombina, fosfato, pH
2. Determinar la farmacocinética del paracetamol en población pediátrica en sobredosis agudas.
3. Estudiar la farmacocinética del paracetamol en población pediátrica en sobredosis crónicas
4. Evaluar el curso, tanto clínico como analítico, de las sobredosis crónicas por paracetamol
5. Crear un protocolo de actuación en casos de sobredosis crónicas por paracetamol en población pediátrica

## 4. DISEÑO DEL ESTUDIO

### *Definición de población del estudio*

a) Cohorte de pacientes con sospecha de ingesta de paracetamol en sobredosis:

Todo paciente que sea atendido en urgencias de pediatría del Hospital Universitario La Paz con los criterios establecidos de sospecha de sobredosis por paracetamol tanto aguda como crónica, se les ofrecerá a los padres y/o tutores participar en el estudio, se reclutará si aceptan y se firma el consentimiento informado.

Los pacientes con sospecha de sobredosis aguda (ingesta aguda) se definirán como todo aquel que haya ingerido en una sola toma una dosis superior a 150 mg/Kg para pacientes sin factores de riesgo y superior a 100 mg/Kg en pacientes con alguno de los siguientes factores de riesgo:

- Malnutrición
- Ayuno prolongado (> 1 día)
- Anorexia-bulimia
- Fallo del medro – caquexia
- Fibrosis quística
- Deshidratación presente
- Nutrición parenteral total
- Enfermedad hepática previa
- AIDS
- Alteraciones previas de la función renal
- Consumo crónico de alcohol
- Tratamiento prolongado previo con fármacos que estimulan el citocromo P450
- Enfermedad de Gilbert



Los pacientes con sospecha de sobredosis crónica deben cumplir los criterios que se muestran en la tabla, definidos según la edad de éstos:

<b>Criterios de dosis/cronicidad</b>	
<b>&gt; 6 años</b>	<b>Niños de 0-6 años</b>
• > 200 mg/K ó 10 g (la menor de ellas) en un periodo de 24h.	• > 200 mg/K en un periodo de 24h.
• > 150 mg/K ó 6 g (la menor de ellas) cada 24h durante al menos 48h.	• > 150 mg/K cada 24h durante al menos 48h.
• > 100 mg/K ó 4 g/día (la menor de ellas) en un periodo de 24h en pacientes con factores de riesgo.	• > 100 mg/K en un periodo de 24h en pacientes con factores de riesgo.

b) Cohortes control: Se reclutaran dos cohortes control::

- Pacientes que no han tomado paracetamol en las últimas dos semanas.
- Pacientes sin factores de riesgo con ingesta de paracetamol a dosis recomendadas según protocolo de Urgencias de Pediatría: 10-15 mg/Kg/dosis, siendo la máxima entre 50-75 mg/Kg/día durante al menos 5 dosis de dosificación continua y como máximo 3 días +/- 1 día.

Los pacientes de las cohortes control serán escogidos emparejados según posibles variables de confusión que evaluaremos una vez reclutados los casos.

#### *Periodo del estudio.*

Noviembre 2012 a Noviembre 2014

#### *Fármacos estudiados:*

Paracetamol, del grupo N02BE de la clasificación ATC.

### *Origen de los datos:*

Los datos serán obtenidos a través de una entrevista a los padres y/o tutores de los pacientes y se complementará con la consulta de la historia clínica en papel y electrónica (estación clínica, servicio de informática HULP).

### *Calendario y fecha prevista de realización:*

El estudio se iniciará en Noviembre 2012 con una duración estimada de 2 años, con la idea de incluir a todos los pacientes que acudan a urgencias de pediatría del Hospital Universitario La Paz con ingesta de paracetamol en sobredosis que cumplan con los criterios establecidos de ingesta aguda o crónica.

### *Cálculo del tamaño muestral:*

Aceptando un riesgo alfa de 0.05 y un riesgo beta de 0.2 en un contraste bilateral, se precisan 36 casos y 144 controles para detectar una odds ratio mínima de 3. Se asume que la tasa de expuestos en el grupo control será del 0.4. Se ha estimado una tasa de pérdidas de seguimiento del 0%. Se ha utilizado la aproximación de POISSON

Se prevé recoger los pacientes atendidos con sospecha de ingesta de Paracetamol en sobredosis aguda o crónica, en el servicio de Urgencias de pediatría del Hospital Universitario La Paz durante el periodo del estudio, que firmen el consentimiento informado para participar en el estudio. Según un estudio hecho por nosotros (código HULP: PI-1152), se identificaron aproximadamente 18 pacientes pediátricos al año que acuden a urgencias con sospecha de toxicidad por paracetamol. En los dos años del estudio se espera recoger 36 pacientes casos y 144 pacientes controles.

### *Definición de las variables:*

La definición de ingesta aguda es la de una única ingesta de éste fármaco a dosis superior a 150 mg/Kg para pacientes sin factores de riesgo y superior a 100 mg/Kg en pacientes con factores de riesgo.

La ingesta crónica es definido como el consumo de dos o más dosis de paracetamol, en menores de 6 años; a una dosis superior a 200 mg/Kg en un periodo de

24 horas, o mayor de 150 mg/Kg cada 24 horas durante al menos 48 horas, o mayor a 100 mg/Kg en un periodo de 24 horas en pacientes con factores de riesgo. Y en pacientes mayores de 6 años; una dosis superior a 200 mg/Kg o 10 gramos (la menor de ellas) en un periodo de 24 horas, o mayor de 150 mg/Kg o 6 gramos (la menor de ellas) cada 24 horas durante al menos 48 horas, o mayor de 100 mg/Kg o 4 gramos/día (la menor de ellas) en un periodo de 24 horas en pacientes con factores de riesgo.

Se considerará como factor de riesgo la presencia de al menos una de las siguientes:

- Malnutrición
- Ayuno prolongado (> 1 día)
- Anorexia-bulimia
- Fallo del medro – caquexia
- Fibrosis quística
- Deshidratación presente
- Nutrición parenteral total
- Enfermedad hepática previa
- AIDS
- Alteraciones previas de la función renal
- Consumo crónico de alcohol
- Tratamiento prolongado previo con fármacos que estimulan el citocromo P450
- Enfermedad de Gilbert (pacientes con diagnóstico conocido).

Se considerará fallo hepático agudo todo aquel paciente con afectación de la función hepática junto a alteración de la coagulación (INR > 1,5 o actividad de protrombina < 50%) de aparición aguda con o sin encefalopatía.

Según la clasificación de la FDA, se considera importante una elevación en los valores de la GPT > 3 veces del límite superior de la normalidad y/o > 2 veces del límite superior de la normalidad en la bilirrubina total, por tanto, hemos considerado este valor para definir la variable de alteración de enzimas hepáticas.

## **5. VARIABLES EN EVALUACIÓN**

### **5.1. Variables demográficas**

Sexo, edad, grupo étnico y peso del paciente.

### **5.2. Variables hospitalarias**

Ingreso Hospitalario y servicio clínico

### **5.3. Variables de comorbilidad y diagnóstico clínico y analítico del paciente**

Antecedentes personales, dosis/kg de paracetamol ingerida, hallazgos de laboratorio y diagnóstico.

### **5.5 Variables de tratamiento**

Tratamiento recibido al ingreso, tiempo transcurrido hasta que recibe tratamiento.

### **5.6 Variables de evolución clínica**

Alta (mejoría clínica) e ingreso (no mejoría clínica). Diagnósticos del desenlace.

### **5.7 Niveles séricos de paracetamol**

Niveles séricos de paracetamol. Cálculo de la vida media de eliminación de paracetamol.

### **5.8 Variables genéticas**

Presencia de polimorfismo en los genes UDP-glucuronosyltransferase (UGT), CYP2E1, CYP1A2 y CYP3A4

### **5.9 Variables metabonómica**

Determinación de los principales metabolitos resultantes del análisis metabonómico que pudieran predecir la aparición de hepatotoxicidad.

## 6. METODOLOGÍA

### *Selección de los casos del estudio*

A todos los pacientes que ingresen en urgencias de pediatría del Hospital Universitario La Paz (menores de 14 años) con sospecha de ingesta aguda de paracetamol:

- ❖ Dosis superiores de 150 mg/Kg para pacientes sin factores de riesgo
- ❖ Superiores de 100 mg/Kg en pacientes con factores de riesgo

Pacientes con sospecha de ingesta en sobredosis de forma crónica:

- ❖ En menores de 6 años con una dosis superior a 200 mg/Kg en un periodo de 24 horas, o mayor de 150 mg/Kg cada 24 horas durante al menos 48 horas, o mayor a 100 mg/Kg en un periodo de 24 horas en pacientes con factores de riesgo.
- ❖ Y pacientes mayores de 6 años; una dosis superior a 200 mg/Kg o 10 gramos (la menor de ella) en un periodo de 24 horas, o mayor de 150 mg/Kg o 6 gramos (la menor de ellas) cada 24 horas durante al menos 48 horas, o mayor de 100 mg/Kg o 4 gramos/día (la menor de ellas) en un periodo de 24 horas en pacientes con factores de riesgo.

Todos estos pacientes serán valorados en urgencias de pediatría con activación de los protocolos de actuación correspondientes, según sea una sobredosis aguda o crónica (ANEXO V). A su vez, se le planteará a los padres y/o tutores de los pacientes la posibilidad de participar en el estudio, proporcionándose una hoja de información sobre el estudio, se les entregará el consentimiento informado, de estar de acuerdo, deberán firmar el mismo (por duplicado) previa a la realización de cualquier procedimiento en relación con el estudio.

Según el protocolo clínico, a todos los pacientes se les harán al menos tres extracciones de sangre en diferentes momentos para valorar función hepática, renal y niveles de paracetamol (Puntos A, B y C del ANEXO V), se le hará extracción de una mayor cantidad de sangre para ser utilizadas con fines de investigación. Además se les solicitarán 3 muestras de orina en diferentes momentos.

### *Selección de los controles del estudio*

Se reclutaran dos cohortes control:

- Pacientes que no han tomado paracetamol en las últimas dos semanas.
- Pacientes sin factores de riesgo con ingesta de paracetamol a dosis recomendadas según protocolo de Urgencias de Pediatría: 10-15 mg/Kg/dosis, siendo la máxima entre 50-75 mg/Kg/día durante al menos 5 dosis de dosificación continua y como máximo 3 días +/- 1 día.

Los pacientes de las cohortes control serán escogidos emparejados según posibles variables de confusión que evaluaremos una vez reclutados los casos.

A los padres y/o tutores de los pacientes se les proporcionará información sobre el estudio, su finalidad y se les propondrá participar en el mismo, se les entregará el consentimiento informado, debiendo firmar el mismo (por duplicado) previa a la realización de cualquier procedimiento en relación con el estudio.

### *Datos a recoger*

#### **Entrevista a los casos y controles**

En primer lugar a través de una entrevista a los padres/tutores/pacientes, se les explicará el proyecto, solicitándole el consentimiento informado. Si el representante otorgara el consentimiento se procederá a la entrevista y la colección de muestras biológicas. La entrevista con el paciente (padres o tutor legal) tendrá una duración aproximada de 20 minutos y se llevará a cabo durante la hospitalización o consulta

hospitalaria, tan pronto como sea posible. Simultáneamente se procederá a la recogida de las muestras de sangre y orina para el análisis cinético, genético y metabonómico.

Se recogerán los datos para cumplimentar el cuaderno de recogida de datos (CRD), recabándose la información con respecto a la dosis y pauta ingerida, la formulación de paracetamol ingerida, los síntomas previos a la ingesta de paracetamol, los antecedentes personales, síntomas propios de hepatotoxicidad, otros fármacos ingeridos los últimos 15 días, y posteriormente procederemos a revisar la historia clínica tanto en papel como electrónica para completar la información (analítica, serología, imágenes, niveles séricos de paracetamol).

### **Colección de muestras**

Además de la entrevista, se solicitará a los pacientes su colaboración para el seguimiento y recogida de muestras biológicas (sangre total, suero y orina). Tanto para los casos y controles de ingestas agudas como en ingestas crónicas: se pedirá permiso para tomar una parte de la sangre que se le extraiga en la analítica habitual en tres ocasiones para evitar realizar extracciones adicionales:

La primera extracción se hará coincidir con la determinación de niveles de paracetamol, función hepática y renal y coagulación a su llegada al servicio de Urgencias de pediatría. Adicionalmente, se solicitará una parte de la sangre para la determinación genética y análisis metabonómico (la cantidad adicional será de 2,5 ml) más una de orina para el perfil metabonómico [A] (ver ANEXO V). Estando en observación coincidiendo con una segunda muestra para el análisis habitual de control (hemograma, coagulación, función hepática y función renal) y niveles de paracetamol, se solicitará tomar una parte de la sangre para análisis metabonómico (la cantidad de sangre adicional será de 2 ml) y orina para perfil metabonómico [B] (ver ANEXO V).

Cómo parte del control clínico, se citará a las 72 a 96 horas tras la ingesta de paracetamol para una nueva valoración clínica y analítica. Solicitaremos una parte de la tercera muestra de sangre de control analítico de aproximadamente la misma cantidad que la segunda (2 ml) y orina para análisis metabonómico [C] (ver ANEXO V). Los pacientes con criterios para iniciar perfusión de N-acetilcisteína se harán la segunda

extracción [B] previa al inicio del mismo, y la tercera muestra [C] tras 72 a 96 horas de la última ingesta.

El volumen de sangre será según la edad del paciente; que son siempre  $\leq 1\%$  del volumen total de sangre por extracción y no más del 3% en 4 semanas, como se recomienda en las directrices europeas.<sup>33</sup> El volumen total de sangre se estima que sea de 80 a 90 ml/Kg de peso. De forma que si un niño pesa 11 Kgs; su volumen total sería 880 – 990 ml estimándose que el 1% sea de 9 – 10 ml. Según el volumen de sangre necesario para las determinaciones, el peso mínimo de los pacientes establecido para poder ser incluidos en el estudio sería de 6 Kgs.

Tabla resumen de las extracciones de sangre en paciente con el menor peso establecido para participar en el estudio (6 Kgs):

PESO MINIMO (6kg)	EXTRACC IONES	TUBO AMARILLO (1 tubo de 3ML)			T. COAGULACION (1)	TUBO MORADO (1)	TOTAL
		BIOQUIMICA (1ML)	NIVELES (0.2 ML)	METABOLOMICA (1ML)	1ML	0.5ML	Máximo 4,8ml x extracción
	<b>A</b>	1	0,2	1,8	1	0,5	4,5
	<b>B</b>	1	0,2	1,8	1		4
	<b>C</b>	1	0,2	1,8	1		4
							12,5

Todos los tubos con sangre y biomuestras serán enviadas al Servicio de Farmacología Clínica (Grupo Toxicidad por paracetamol en niños).

### *Conservación de muestras de sangre para genotipado y técnica de genotipado*

Para el análisis farmacogenético se obtendrá una muestra de sangre total (en tubo con EDTA-K2) que será almacenada en un congelador a -80°C ubicado en el Servicio de Farmacología Clínica. Una vez finalizada la fase de reclutamiento, se realizará la extracción de DNA mediante el kit QuickGene DNA blood kit S (Fujifilm®, Düsseldorf, Germany). Posteriormente se realizará el genotipado de los alelos descritos mediante sondas Taqman® (Applied Biosystems®, Foster City, USA), en el Departamento de Farmacología Clínica de la Universidad Autónoma de Madrid.



### *Conservación de muestras para el análisis metabólico y técnica metabólica*

El análisis metabólico se realizará a partir de las 3 muestras de orina y las 3 muestras de suero. Las muestras serán analizadas e interpretadas en el Servicio Interdepartamental de Investigación en la facultad de Medicina de la Universidad Autónoma de Madrid.

#### *El CRD del paciente incluirá:*

- Edad, sexo, grupo étnico y peso del paciente.
- Fecha y hora de ingreso a urgencias pediátricas.
- Tiempo transcurrido desde la ingesta de paracetamol hasta su llegada a urgencias
- Presencia de factores de riesgo (Malnutrición, ayuno prolongado (> 1 día), anorexia-bulimia, fallo del medro – caquexia, fibrosis quística, deshidratación presente, nutrición parenteral total, enfermedad hepática previa, AIDS, alteraciones previas de la función renal, consumo crónico de alcohol, tratamiento prolongado previo con fármacos que estimulan el citocromo P450, enfermedad de Gilbert)
- Dosis de Paracetamol ingerida, pauta de ingesta (aguda o crónica).
- Formulación del paracetamol ingerida.
- Otros fármacos ingeridos los últimos 15 días, fecha de inicio y fecha de fin.
- Hallazgos analíticos: Al ingreso, máximo valor obtenido (tiempo), al desenlace (última analítica):
  - GPT/ALT (UI/L), GOT/AST (UI/L), GGT (UI/L), BT (mg/dl), FA (UI/L), Actividad de Protrombina (%) INR, Glucemia (mg/dl), pH, Ácido láctico (mg/dl), Fosfato (mg/dl), Creatinina sérica (mg/dl).
- Tratamiento recibido y tiempo transcurrido (desde la ingesta): N-Acetilcisteína, Lavado gástrico, Carbón Activado.
- Síntomas previos a la ingesta de paracetamol: fiebre, dolor, otro

- Síntomas tras la ingesta de paracetamol: dolor abdominal, náuseas, vómitos, decaimiento, alteración nivel de consciencia, irritabilidad.
- Evaluación de riesgo de hepatotoxicidad por el nomograma de Rumack-Matthew: si o no.
- Resultado del Nomograma de Rumack-Matthew
- Si no se pudo aplicar el nomograma de Rumack-Matthew, explicar el motivo.
- Desenlace de la hospitalización: Alta, traslado (motivo), exitus, trasplante.

### *Desarrollo del estudio*

Desarrollo del estudio en el Servicio de Farmacología Clínica.

	NOVIEMBRE 2012 A JULIO 2014	AGOSTO Y SEPTIEMBRE 2014	OCTUBRE 2014	OCTUBRE 2014
Identificación de los pacientes	●	●	●	
Recogida de datos	●	●	●	
Base de datos del estudio		●		
Análisis cinético, genético y metabonómico			●	
Análisis estadístico			●	
Elaboración del informe final				●

**Tabla 1. Desarrollo del estudio**

### *Análisis estadístico*

**Análisis estadístico de los resultados:** Los resultados de frecuencia serán expresados en términos absolutos, como porcentajes e intervalos de confianza. Las variables continuas serán expresadas como media (DE) y mediana (rango) según prueba de normalidad (test de Kolmogorov Smirnov). Para la estimación de diferencias entre variables se utilizará Chi cuadrado o la T de student si son paramétricos. Y en caso de no seguir una distribución normal, se utilizará test no paramétricos (U de Mann-

Whitney o Kruskal Wallis, según proceda). Los datos serán analizados usando el software de análisis estadístico SPSS 20.0.

Para determinar los factores asociados al daño hepático se realizará una regresión logística multivariada en donde la variable dependiente será la presencia de hepatotoxicidad (siguiendo los parámetros definidos previamente) y como variables independientes los factores (demográficos, clínicos, analíticos, cinéticos, genéticos y metabonómicos).

Así mismo, se utilizará la regresión lineal multivariada para determinar la relación entre valores de transaminasas y los factores (demográficos, clínicos, cinéticos, analíticos, genéticos y metabonómicos).

Para el desarrollo del nomograma se recogerá al menos dos muestras por paciente para determinar el nivel de paracetamol en relación con las horas transcurridas desde la ingesta, se crea una curva que relacionen ambos parámetros y a través de una curva ROC determinar el punto de corte para mayor especificidad y sensibilidad.

**Análisis metabonómico:** Tras la adquisición de los espectros por RMN, será necesario realizar un pretratamiento de las señales con el fin de evitar varianzas propias de la adquisición y hacer los análisis posteriores más robustos. Una vez preprocesados los datos espectrales, podremos comenzar el análisis estadístico. Como primer paso, generalmente se ejecuta un análisis multivariante no supervisado; principalmente un análisis de componentes principales (PCA). El PCA nos destacará las regiones espectrales que están sometidas a una mayor variabilidad (posibles biomarcadores) o que presenten señales no reproducibles (posibles contaminaciones), e identificará las muestras que se diferencian en exceso del conjunto general (posibles outliers). El análisis no supervisado nos permitirá filtrar los datos, mejorando su robustez y a través de él podremos identificar los posibles biomarcadores, que serán validados a través de un análisis multivariante supervisado o un modelado posterior.

**Análisis de causalidad:** en aquellos casos en donde presente alteración de la función hepática; se hará un análisis de causalidad por medio del algoritmo de Naranjo<sup>34</sup> y el de CIOMS<sup>35</sup> para detectar los casos atribuibles al paracetamol.

## 7. ASPECTOS ÉTICOS

Los investigadores se atenderán estrictamente a lo dispuesto en este protocolo y a las normas de buena práctica clínica.

Se seguirán las directrices de la Comunidad Europea incluidas en la sección cuarta del capítulo V del "Notice to Applicants" y "Notice to Marketing Authorisation Holders. Pharmacovigilance Guidelines" del 29 de Enero de 1999, el RD 1344/2007, de 11 de octubre, por el que se regula la farmacovigilancia de medicamentos de uso humano, así como los aspectos aplicables de la circular núm.15/2002 de la Agencia Española del medicamento, de acuerdo con el Real Decreto 711/2002.

Siguiendo las directrices sobre estudios observacionales para medicamentos de uso humano, el estudio será evaluado por el Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital La Paz. La revisión actual de la declaración de Helsinki es la base aceptada para la ética en investigación en seres humanos, y debe ser escrupulosamente seguida y respetada por todas las personas implicadas en dicha investigación.

Se elaborará una hoja de información para los representantes y tutores legales, y formulario de consentimiento informado para los representantes y tutores legales. Este último se diseñará de tal forma que permitirá otorgar el consentimiento de forma diferenciada a cada una de las partes: 1) recogida de información del estudio de vigilancia epidemiológica; 2) recogida de muestras biológicas y análisis de las mismas.

Únicamente los investigadores conocerán los datos (iniciales del paciente y número de historia) que puedan identificar a los pacientes. Las iniciales y el número de historia del paciente se separarán del resto del cuaderno, y no serán introducidos en la base de datos del estudio. El paciente será identificado mediante un código numérico con la finalidad de respetar la confidencialidad de los datos personales de los pacientes, según establece la Ley Orgánica 15/1999 de Protección de Datos de Carácter Personal. La colección y el manejo de muestras seguirá las indicaciones establecidas en la Ley 14/2007, de 3 de julio, de investigación biomédica.

Es responsabilidad de los investigadores la preparación de un manuscrito en un plazo máximo de 6 meses a contar desde que se cierre la base de datos del estudio para su publicación en una revista de la especialidad. Los datos globales serán utilizados en publicaciones en Congresos o revistas médicas, en las que se hará referencia al estudio y al grupo investigador.

## 8. BIBLIOGRAFÍA

1.- Larson AM, et al. Acute Liver Failure Study Group. Acetaminophen-induced acute liver failure: results of a United States multicenter, prospective study. *Hepatology*. 2005;42(6):1364-1372

2.- Bernal W. Changing patterns of causation and the use of transplantation in the United Kingdom. *Semin Liver Dis*. 2003;23(3):227-237

3.- Wei G, et al. Acute liver failure in Sweden: etiology and outcome. *J Intern Med*. 2007;262(3):393-401.

4.- Moore T, Cohen M, Furberg C. Serious adverse drug events reported to the Food and Drug Administration, 1998-2005. *Arch Intern Med* 2007;167(16):1752-1759

5.-Squires R, Shneider B, Bucuvalas J, Alonso E, Sokol R, et al. Acute liver failure in children: the first 348 patients in the pediatric acute liver failure study group. *J pediatr* 2006;148:652-8.

6.- Narkewicz M, Dell D, Karpen S, Murray K, Sxhwarz K, Yazigi N, Zhang S, Belle S, et al. Pattern of Diagnostic evaluation for the causes of pediatric acute liver failure: an opportunity for quality improvement. *The Journal of Pediatrics* 2009;155(6):801-806.

7.- Mintegi S, Fernández A, Alustiza J, Canduela V, Mongil I, Caubet I, et al. Emergency visits for Childhood Poisoning: A 2 – year prospective multicenter survey in Spain. *Pediatric emergency Care*,2006;22(5):334-38

8.- Escorsell A, Mas A, de la Mata M, Spanish Group for the Study of Acute Liver Failure: Acute liver failure in Spain: analysis of 267 cases. *Liver Transpl* 2007;13:1389-95

9.- Watkins PB, Kaplowitz N, Slattery JT, Colonese CR, Colucci SV, Stewart PW, Harris SC. Aminotransferase elevations in healthy adults receiving 4 grams of acetaminophen daily. *JAMA* 2006;296:87-93

10.- Sabaté M, Ibáñez L, Pérez E, Vidal X, Buti M, Xiol X, Mas A, Guarner C, Forne M, Sola R, Castellote J, Rigau J, Laporte JR. Risk of acute liver injury associated with the use of drugs: a multicentre population Surrey. *Aliment Pharmacol Ther* 2007;25:1401-09).

11.- Craig D, Bates C, Davidson J, Martin K, Hayes P, Simpson K. Staggered overdose pattern and delay to hospital presentation are associated with adverse outcomes following paracetamol-induced hepatotoxicity. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2011;73(2):285-94.

12.- Ramírez E, García S, Quintana M, .....et al. Intoxicación de paracetamol. Cohorte retrospectiva en El Hospital Universitario La Paz entre los años 2005 y 2010. (Pendiente por publicar).

13.- Jollow DJ, Mitchell JR, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis. II Role of covalent binding in vivo. *J Pharmacol Exp Ther* 1973;187(1):195-202.

14- Mitchell JR, Jollow DJ, Potter WZ, Davis DC, Gillette JR, Brodie BB. Acetaminophen-induced hepatic necrosis I. Role of drug metabolism. *J Pharmacol Exp Ther* 1973;187:185-94 [pubmed:4746326]

15.- Roberts DW, Pumford NR, Potter DW, Benson RW, Hinson JA. A sensitive immunochemical assay for acetaminophen-protein adducts. *J Pharmacol Exp Ther* 1987;241(2):527-33.

16.- Brand MD, Affourtit C, Esteves TC, Green K, Lambert AJ, Miwa S, Pakay JL, Parker N. Mitochondrial superoxide: production, biological effects, and activation of uncoupling proteins. *Free Radic Biol Med* 2004;37:755-67

17.- Casteilla L, Rigoulet M, Penicaud L. Mitochondrial ROS metabolism: modulation by uncoupling proteins. *IUBMB life* 2001;52:181-88

18.- Koop DR. Oxidative and reductive metabolism by cytochrome P450 2E1. *FASEB J*. 1992;6:724-730

- 19.- Sies H, de Groot H. Role of reactive oxygen species in cell toxicity. *Toxicol Lett.* 1992;64-65:547-551
- 20.- Hinson JA, Pike SL, Pumford NR, Mayeux PR. Bitrotyrosine-protein adducts in hepatic centrilobular areas following toxic doses of acetaminophen in mice. *Chem Res Toxicol* 1998; 11:604-7
- 21.- Placke ME, Ginsberg GL, Wyand DS, Cohen SD. Ultrastructural changes during acute acetaminophen-induced hepatotoxicity in the mouse: a time and dose study. *Toxicol Pathol.* 1987;15(4):431-438
- 22.- McGill MR, Sharpe MR, Williams CD, Taha M, Curry SC, Jaeschke H. The mechanism underlying acetaminophen-induced hepatotoxicity in humans and mice involves mitochondrial damage and nuclear DNA fragmentation. *The Journal of Clinical Investigation* 2012;122(4):1574-1583
- 23.- Beger R, Sun J, Schnackenberg L. Metabolomics approaches for discovering biomarkers of drug-induced hepatotoxicity and nephrotoxicity. *Toxicology and applied pharmacology* 2010;243:154-166.
- 24.- Van Ravenzwaay B, Cunha GC, Leibold E, Looser R, Meller W, Prokoudine A, Walk T, Wiemer J. The use of metabolomics for the discovery of new biomarkers of effect. *Toxicol let* 2007;172(1-2):21-8
- 25.- Hinson JA, Pumford NR, Roberts DW. Mechanisms of acetaminophen toxicity: immunochemical detection of drug-protein adducts. *Drug Metab Rev* 1995;27:73-92
- 26.- Streeter AJ, Harvoson PJ, Nelson SD, Baillier TA. Cross-linking of protein molecules by the reactive metabolite of acetaminophen, N-acetyl-p-benzoquinone imine, and related quinoid compounds. *Adv Exp Med Biol* 1986;197:727-737
- 27.- Davern TJ 2nd, et al. Measurement of serum acetaminophen-protein adducts in patients with acute liver failure. *Gastroenterology* 2006;130:687-694



28.- James LP, et al. Detection of acetaminophen protein adducts in children with acute liver failure of indeterminate cause. *Pediatrics* 2006;118:e676-e681.

29.- Bushel PR, Heinloth AN, Li J, et al. Blood gene expression signatures predict exposure levels. *Proc Natl Acad Sci. USA* 2007;104(46):18211-18216.

30.- Ali FM, Boyer EW, Bird SB. Estimated risk of hepatotoxicity after an acute acetaminophen overdose in alcoholics. *Alcohol* 2008;42:213-218

31.- Halcomb SE, Sivilotti ML, Goklaney A, Mullins ME. Pharmacokinetic effects of diphenhydramine or oxycodone in simulated acetaminophen overdose. *Acad. Emerg. Med* 2005;12:169-172

32.- Bizovi KE, Aks SE, Paloucek F, Gross R, Keys N, Rivas J. Late increase in acetaminophen concentration after overdose of Tylenol Extended Relief. *Ann Emerg Med* 1996;28:549-551.

33.- Ethical considerations for clinical trial on medicinal products conducted with the paediatric population [http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-10/ethical\\_considerations\\_en.pdf](http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-10/ethical_considerations_en.pdf).

34.- Naranjo CA, Busto U, Sellers EM, et al. A method for estimating the probability of adverse drug reactions. *Clin Pharmacol and Ther* 1981; 30, 239–245

35.- Bénichou C. Criteria of drug-induced liver disorders. Report of an international consensus meeting. *J. Hepatol.* 1990 Sep;11(2):272-276

## **ANEXO I: CUADERNO DE RECOGIDA DE DATOS**





## **ANEXO II: COMPROMISO DEL INVESTIGADOR**



## **ANEXO III: CARTA AL CEIC**





## **ANEXO IV: HOJA DE INFORMACIÓN Y FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO**



































## **ANEXO V: PROTOCOLO CLÍNICO DE URGENCIAS DE PEDIÁTRICAS**