



**ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE
VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON FACTORES PRONÓSTICOS**
Sandra Ines Trefler Crespo

Dipòsit Legal: T. 1366-2011

ADVERTIMENT. La consulta d'aquesta tesi queda condicionada a l'acceptació de les següents condicions d'ús: La difusió d'aquesta tesi per mitjà del servei TDX (www.tesisenxarxa.net) ha estat autoritzada pels titulars dels drets de propietat intel·lectual únicament per a usos privats emmarcats en activitats d'investigació i docència. No s'autoritza la seva reproducció amb finalitats de lucre ni la seva difusió i posada a disposició des d'un lloc aliè al servei TDX. No s'autoritza la presentació del seu contingut en una finestra o marc aliè a TDX (framing). Aquesta reserva de drets afecta tant al resum de presentació de la tesi com als seus continguts. En la utilització o cita de parts de la tesi és obligat indicar el nom de la persona autora.

ADVERTENCIA. La consulta de esta tesis queda condicionada a la aceptación de las siguientes condiciones de uso: La difusión de esta tesis por medio del servicio TDR (www.tesisenred.net) ha sido autorizada por los titulares de los derechos de propiedad intelectual únicamente para usos privados enmarcados en actividades de investigación y docencia. No se autoriza su reproducción con finalidades de lucro ni su difusión y puesta a disposición desde un sitio ajeno al servicio TDR. No se autoriza la presentación de su contenido en una ventana o marco ajeno a TDR (framing). Esta reserva de derechos afecta tanto al resumen de presentación de la tesis como a sus contenidos. En la utilización o cita de partes de la tesis es obligado indicar el nombre de la persona autora.

WARNING. On having consulted this thesis you're accepting the following use conditions: Spreading this thesis by the TDX (www.tesisenxarxa.net) service has been authorized by the titular of the intellectual property rights only for private uses placed in investigation and teaching activities. Reproduction with lucrative aims is not authorized neither its spreading and availability from a site foreign to the TDX service. Introducing its content in a window or frame foreign to the TDX service is not authorized (framing). This rights affect to the presentation summary of the thesis as well as to its contents. In the using or citation of parts of the thesis it's obliged to indicate the name of the author.

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE

Valoración y correlación con factores pronósticos

Sandra Inés Trefler Crespo

TESIS DOCTORAL
UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
Facultat de Medicina i Ciències de la Salut



**UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI**
Tarragona 2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS
Sandra Inés Trefler Crespo
DL:T. 1366-2011

Sandra Inés Trefler Crespo

**ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE.
VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON FACTORES PRONÓSTICOS**

TESIS DOCTORAL

Dirigida por la Dra. Montserrat Giralt Batista y el Dr. Emili Díaz Santos

Departamento de Medicina y Cirugía



UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

Tarragona
2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011



UNIVERSITAT
ROVIRA I VIRGILI

Departamento de Medicina y Cirugía

Carrer Sant Llorenç, 21

43201 Reus

Tel. 977 75 93 45

Fax. 977 75 93 22

HAGO CONSTAR que este trabajo, titulado “Estrés oxidativo en pacientes con neumonía grave. Valoración y correlación con factores pronósticos”, que presenta Sandra Inés Trefler Crespo para la obtención del título de Doctor, ha sido realizado bajo nuestra dirección en el Departamento de Medicina y Cirugía de esta universidad.

Tarragona, 20 marzo de 2011

Los directores de la tesis doctoral

Dra. Montserrat Giralt Batista

Dr. Emili Díaz Santos

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS
Sandra Ines Trefler Crespo
DL:T. 1366-2011

DEDICATORIA

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

A Francisco y Maximiliano... los dos soles que iluminan mi vida
A Alejandro... mi gran amor
A Julio y Emmy... el reflejo de lo que soy

*La mejor victoria
es vencer sin combatir,
y esa es la distinción
entre el hombre prudente
y el ignorante.*

SUN TZU

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

AGRADECIMIENTOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis se materializó gracias al esfuerzo intelectual pero también y fundamentalmente al aspecto anímico para llegar hasta el final, y en este punto muchas personas tienen mucho que ver, entre las cuales quisiera nombrar...

...a Montse, por ser mi guía en el sinuoso mundo del estrés oxidativo, por las intensas horas compartidas entre gráficos, risas y base de datos, por incluirme generosamente en su círculo personal y por aceptarme tal cual soy.

...a Emili, por su apoyo incondicional y por ver siempre la parte positiva incluso en momentos difíciles.

...a mis hermanos Analía, Adriana y Francisco que aunque estén lejos geográficamente, están presentes en cada momento importante de mi vida, y por supuesto, en éste no podían faltar para disfrutarlo junto a mí.

...a Rosi, por estar siempre ahí, por animarme, por nuestra singular complicidad, por saber sacarme una sonrisa cuando más lo necesito y por ser como es.

...a Mireia, por su ayuda sin condiciones cada vez que lo necesité, y siempre sin pedir nada a cambio.

...a Ángel, que gracias a su faceta menos científica y más lúdica, ser DJ, logra aflojar mis tensiones al son de la música que saca de su tornamesa.

...a Carmen, Eva y Fede, por compartir conmigo este gran desafío desde el comienzo.

...a Marta "nina", por contagiarme de esa fuerza y energía únicas que desprende cada día.

...a Vanesa, por su sonrisa perenne y su colaboración desinteresada en el laboratorio.

...a Rosa y Marta, por sus consejos y hacerme sentir una más de la Unidad.

No puedo evitar volver a nombrar a Ale, porque quiero agradecerle y decirle que sin su gran apoyo y la infinita paciencia que me tuvo durante todo este tiempo, hubiera sido muchísimo más difícil sobrellevar este inolvidable pero intenso capítulo de mi vida.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS
Sandra Ines Trefler Crespo
DL:T. 1366-2011

*Volver a amar una vez más,
nacer de nuevo en ti, en tu mirar
llenando con tu luz
las sombras de mi soledad...*

C. CASTRO

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI
ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS
Sandra Ines Trefler Crespo
DL:T. 1366-2011

ÍNDICE GENERAL

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

ÍNDICE	Página
Índice General	19
Índice de Tablas.....	27
Índice de Figuras.....	33
1. Introducción	39
1.1. Generalidades sobre radicales libres y especies reactivas de oxígeno	39
1.1.1. Formación de radicales libres de oxígeno y especies reactivas de oxígeno	40
1.1.2. Fuentes productoras de radicales libres de oxígeno y especies reactivas de oxígeno	42
1.1.3. Daño celular: Efecto de las especies reactivas de oxígeno sobre las estructuras celulares.....	44
1.1.3.1. Membranas celulares	45
1.1.3.2. DNA.....	47
1.1.3.3. Proteínas.....	48
1.2. Sistemas de defensa frente al ataque de radicales libres.....	49
1.2.1. Mecanismo de acción	49
1.2.2. Localización de los diferentes antioxidantes	52
1.2.3. Características del sistema de defensa enzimático.....	53
1.2.3.1. SOD	53
1.2.3.2. CAT.....	55
1.2.3.3. GPx/GR	55
1.2.4. Características del sistema de defensa no enzimático.....	56
1.2.4.1. GSH	57
1.2.4.2. Vitamina E.....	57
1.2.4.3. Vitamina C	58
1.2.4.4. Ácido Úrico	58
1.2.4.5. Proteínas quelantes de iones metálicos	59

1.3. Estrés oxidativo.....	60
1.3.1. Introducción	60
1.3.2a. Estrés oxidativo en la neumonía grave	62
1.3.2b. Estrés oxidativo en la neumonía viral por influenza (H1N1)v.....	64
1.3.3. Estrés oxidativo en el infarto agudo de miocardio.....	66
2. Hipótesis	69
3. Objetivos	73
4. Material y Métodos	77
4.1. Descripción de la población de estudio.....	77
4.2. Variables determinadas.....	79
4.3. Plan de Trabajo	84
4.4. Obtención, procesamiento y conservación de las muestras	85
4.4.1. Sangre total obtenida con tubo con Heparina-Litio.....	85
4.4.2. Sangre total obtenida con tubo con EDTA	85
4.5. Métodos utilizados	87
4.5.1. Determinación de hematocrito y hemoglobina.....	87
4.5.2. Metodología para la determinación de daño oxidativo.....	87
4.5.2.1. Determinación de los productos de peroxidación lipídica	87
4.5.3. Metodología para la determinación de los sistemas antioxidantes	88
4.5.3.1. Superóxido Dismutasa	88
4.5.3.2. Catalasa	89
4.5.3.3. Glutatión Peroxidasa.....	89
4.5.3.4. Glutatión Reductasa	90
4.5.3.5. Glutatión reducido/ oxidado	90
4.6. Cálculo del tamaño muestral.....	92
4.7. Análisis estadístico.....	93

5. Resultados	97
5.1. Características generales de los pacientes que ingresan a UCI incluidos en el estudio (población de estudio).....	97
5.2. Análisis de estrés oxidativo en pacientes con neumonía grave vs. grupo control.....	99
5.2.1. Características generales.....	99
5.2.2. Biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso a UCI.....	101
5.2.3. Biomarcadores de estrés oxidativo al día 3.....	102
5.2.4. Biomarcadores de estrés oxidativo al alta de UCI.....	104
5.3. Variación temporal de los biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con neumonía grave.....	105
5.3.1. Variación temporal de la SOD.....	106
5.3.2. Variación temporal de la CAT.....	107
5.3.3. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P.....	108
5.4. Variación temporal de los biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con infarto agudo de miocardio (grupo control).....	109
5.5. Biomarcadores de estrés oxidativo y mortalidad en la población de estudio.....	111
5.5.1. Características generales de los pacientes según viven o no considerando su evolución al alta de UCI.....	111
5.5.2. Biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso a UCI.....	112
5.5.3. Biomarcadores de estrés oxidativo al día 3.....	113
5.5.4. Biomarcadores de estrés oxidativo al alta de UCI.....	114
5.6. Correlación del daño oxidativo (lipoperoxidación) con las tres escalas de gravedad.....	115
5.6.1. Escala SOFA.....	115
5.6.2. Escala APACHE II.....	116
5.6.3. Escala SIRS.....	117
5.7. Correlación del sistema enzimático antioxidante con las tres escalas de gravedad.....	119
5.7.1. Escala SOFA.....	119
5.7.2. Escala SIRS.....	120
5.7.3. Escala APACHE II.....	121

5.8. Correlación del sistema no enzimático antioxidante con las tres escalas de gravedad.....	122
5.8.1. Escala SOFA.....	122
5.8.2. Escala SIRS	125
5.8.3. Escala APACHE II	127
5.9. Análisis de estrés oxidativo en pacientes con neumonía bacteriana(nosocomial y comunitaria) vs. viral	128
5.9.1. Clasificación de la población.....	128
5.9.2. Características generales de ambos subgrupos.....	128
5.10. Variación temporal de los biomarcadores de estrés oxidativo que logran diferencias significativas entre pacientes con neumonía bacteriana (Grupo NB) vs. neumonía viral (Gripe A)	130
5.10.1. Variación temporal de los TBARS E	130
5.10.2. Variación temporal de los TBARS P.....	131
5.10.3. Variación temporal de la GR	132
5.10.4. Variación temporal del GSSG P.....	133
5.10.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P	134
5.10.6. Variación temporal de la GPx.....	135
5.11. Biomarcadores de estrés oxidativo del grupo NB vs. Grupo Gripe A.....	136
5.12. Análisis de estrés oxidativo en pacientes con neumonía nosocomial vs. viral	139
5.12.1. Características generales de ambos subgrupos.....	139
5.13. Variación temporal de los biomarcadores de estrés oxidativo que logran diferencias significativas entre pacientes con neumonía nosocomial vs. neumonía viral	140
5.13.1. Variación temporal del GSSG E	140
5.13.2. Variación temporal del GSSG P.....	141
5.13.3. Variación temporal de los TBARS P.....	142
5.13.4. Variación temporal de la GPx.....	143
5.14. Biomarcadores de estrés oxidativo en neumonía nosocomial vs. neumonía viral	144

5.15. Análisis de estrés oxidativo en pacientes con neumonía comunitaria bacteriana vs. neumonía viral	147
5.15.1. Características generales de ambos grupos.....	147
5.16. Variación temporal de los biomarcadores de estrés oxidativo que logran diferencias significativas entre pacientes con neumonía comunitaria bacteriana y neumonía viral	148
5.16.1. Variación temporal de los TBARS P.....	148
5.16.2. Variación temporal de los TBARS E.....	149
5.16.3. Variación temporal de la GR.....	150
5.16.4. Variación temporal del GSSG P.....	151
5.16.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P.....	152
5.17. Biomarcadores de estrés oxidativo en neumonía comunitaria bacteriana vs. neumonía viral	153
5.18. Análisis comparativo de estrés oxidativo entre pacientes con neumonía bacteriana vs. controles (IAM).....	156
5.19. Análisis comparativo de estrés oxidativo entre pacientes con neumonía viral vs. controles (IAM).....	159
6. Discusión	165
6.1. Aportaciones del presente trabajo de tesis.....	165
6.2. Generalidades.....	166
6.3. Objetivo principal	168
6.4. Objetivos secundarios	174
6.5. Limitaciones y sesgos	180
7. Conclusiones	185
8. Bibliografía	189
9. Publicaciones	203
10. Lista de Abreviaturas	209
11. Apéndice	215

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

ÍNDICE DE TABLAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

ÍNDICE DE TABLAS

Página

1.1.1.	Algunas especie reactivas de oxígeno (ERO) y de nitrógeno (ERN) de interés biológico	41
1.1.2.	Sistemas intra y extracelulares involucrados en la producción de radicales libres de oxígeno (RLO) y especies reactivas.....	42
1.1.3.a.	Resumen de los daños celulares causados por especies reactivas de oxígeno (ERO)	44
1.2.1.a.	Mecanismos de acción de antioxidantes.....	50
1.2.1.b.	Sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos	50
1.2.2.	Compartimentalización de los diferentes antioxidantes	52
1.2.4.	Clasificación de antioxidantes no enzimáticos	56
5.1.	Características generales de los pacientes incluidos en el estudio (n=33).....	97
5.1.1.	Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes incluidos en el estudio al ingreso a UCI (n=33).....	98
5.2.1.	Características generales al ingreso en UCI de los pacientes con neumonía grave y los pacientes con IAM	99
5.2.2.	Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con neumonía grave y con IAM al ingreso a UCI	101
5.2.3.	Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con neumonía grave y con IAM al día 3 del ingreso a UCI.....	102
5.2.4.	Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con neumonía grave y con IAM al alta de UCI	104
5.3.	Tabla comparativa de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso, día 3 yalta de UCI de los pacientes con neumonía grave	105
5.4.	Tabla comparativa de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso, día 3 y alta de UCI de los pacientes del grupo control (IAM)	109
5.5.1.	Características generales al ingreso a UCI de los pacientes vivos y no vivos.....	111

5.5.2.	Biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso a UCI de los pacientes vivos y no vivos	112
5.5.3.	Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes según evolución a las 72 hs de admitidos en UCI.....	113
5.5.4.	Biomarcadores de estrés oxidativo al alta de UCI de los pacientes vivos y no supervivientes	114
5.6.2.	Correlación del daño oxidativo (TBARS) con la escala APACHE II en la población de estudio	116
5.7.1.	Correlaciones de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante con la escala SOFA que no alcanzaron significancia estadística	120
5.7.2.	Correlaciones de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante con la escala SIRS	120
5.7.3.	Correlaciones de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante con la escala APACHE II	121
5.8.1.	Correlaciones de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante con la escala SOFA que no alcanzaron significancia estadística	124
5.8.2.	Correlaciones de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante con la escala SIRS que no alcanzaron significancia estadística	127
5.8.3.	Correlaciones de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante con la escala APACHE II	127
5.9.2.	Características generales al ingreso a UCI de los pacientes pertenecientes a los grupos <i>Gripe A</i> y <i>NB</i>	128
5.11.1.	Biomarcadores de estrés oxidativo en los pacientes pertenecientes a los grupos <i>Gripe A</i> y <i>NB</i> al ingreso a UCI.....	136
5.11.2.	Biomarcadores de estrés oxidativo en los pacientes pertenecientes a los grupos <i>Gripe A</i> y <i>NB</i> al tercer día del ingreso a UCI.....	137
5.11.3.	Biomarcadores de estrés oxidativo en los pacientes pertenecientes a los grupos <i>Gripe A</i> y <i>NB</i> al alta de UCI	138
5.12.1.	Características generales al ingreso a UCI de los pacientes pertenecientes a los grupos neumonía vira (NV) y neumonía nosocomial (NN	139

5.14.1. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo neumonía nosocomial (NN) y de los pacientes del grupo neumonía viral (NV) al ingreso a UCI.....	144
5.14.2. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo neumonía nosocomial (NN) y de los pacientes del grupo neumonía viral (NV) al día 3 del ingreso a UCI	145
5.14.3. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo neumonía nosocomial (NN) y de los pacientes del grupo neumonía viral (NV) al alta de UCI	146
5.15.1. Características generales al ingreso a UCI de los pacientes pertenecientes a los grupos neumonía viral (NV) y neumonía comunitaria bacteriana (NCB).....	147
5.17.1. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes pertenecientes a los grupos neumonía viral (NV) y neumonía comunitaria bacteriana (NCB) al ingreso a UCI.....	153
5.17.2. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes pertenecientes a los grupos neumonía viral (NV) y neumonía comunitaria bacteriana (NCB) al día 3 del ingreso a UCI	154
5.17.3. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes pertenecientes a los grupos neumonía viral (NV) y neumonía comunitaria bacteriana (NCB) al alta de UCI	155
5.18.a. Biomarcadores de lipoperoxidación en los pacientes con neumonía bacteriana (NB) pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio	156
5.18.b. Biomarcadores del Sistema Enzimático Antioxidante en los pacientes con neumonía bacteriana (NB) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.....	157
5.18.c. Biomarcadores del Sistema No Enzimático Antioxidante en los pacientes con neumonía bacteriana (NB) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio	158
5.19.a. Biomarcadores de lipoperoxidación en los pacientes con neumonía viral (NV) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio	159
5.19.b. Biomarcadores del Sistema Enzimático Antioxidante en los pacientes con neumonía viral (NV) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.....	160

5.19.c. Biomarcadores del Sistema No Enzimático Antioxidante
en los pacientes con neumonía viral (NV) y pacientes
control (IAM) durante el periodo de estudio..... 161

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

ÍNDICE DE FIGURAS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

ÍNDICE DE FIGURAS	Página
1.1.1.a Reducción total del oxígeno molecular	40
1.1.1.b. Reacción de Haber-Weiss	41
1.1.2. Fuentes celulares de RLO.....	43
1.1.3.1. Esquema de las etapas de la lipoperoxidación	45
1.1.3.1.a. Reacción de Fenton	46
1.2.1. Diagrama esquemático mostrando la interacción entre antioxidantes enzimáticos (con la intervención del GSH)	51
1.3.1. Esquema del comportamiento celular frente al estrés oxidativo	61
1.3.2.a. Origen de sepsis en UCI	63
4.3. Plan de trabajo	84
5.3.1. Variación temporal desde el ingreso hasta el alta de UCI de la SOD en el grupo de pacientes con neumonía grave	106
5.3.2. Variación temporal desde el ingreso hasta el alta de UCI de la CAT en el grupo de pacientes con neumonía grave.....	107
5.3.3. Variación temporal desde el ingreso hasta el alta de UCI de la relación GSSG/GSH plasmático en el grupo de pacientes con neumonía grave	108
5.6.1. Correlación entre el nivel de daño oxidativo (TBARS P) y disfunción orgánica (SOFA score) en la población de estudio	115
5.6.3.a. Correlación entre el nivel de TBARS P y SIRS score en la población de estudio	117
5.6.3.b. Correlación entre el nivel de TBARS E y SIRS score en la población de estudio	118
5.7.1. Correlación entre la SOD y SOFA score en la población de estudio.....	119
5.8.1.a. Correlación entre el nivel de GSH E y SOFA score en la población de estudio	122
5.8.1.b. Correlación entre la relación GSSG/GSH E y SOFA score en la población de estudio	123
5.8.2.a. Correlación entre el nivel de GSH E y SIRS score en la población de estudio	125

5.8.2.b. Correlación entre el nivel de GSH P y SIRS score en la población de estudio	126
5.10.1. Variación temporal de los niveles de TBARS E en los grupos <i>NB</i> y <i>Gripe A</i> durante todo el periodo de estudio	130
5.10.2. Variación temporal de los niveles de TBARS P en los grupos <i>NB</i> y <i>Gripe A</i> durante todo el periodo de estudio	131
5.10.3. Variación temporal de la actividad de la GR en los grupos <i>NB</i> y <i>Gripe A</i> durante todo el periodo de estudio	132
5.10.4. Variación temporal de los niveles de GSSG P en los grupos <i>NB</i> y <i>Gripe A</i> durante todo el periodo de estudio	133
5.10.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P en los grupos <i>NB</i> y <i>Gripe A</i> durante todo el periodo de estudio	134
5.10.6. Variación temporal de la actividad de la GPx en los grupos <i>NB</i> y <i>Gripe A</i> durante todo el periodo de estudio	135
5.13.1. Variación temporal de los niveles de GSSG E en los grupos neumonía nosocomial y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	140
5.13.2. Variación temporal de los niveles de GSSG P en los grupos neumonía nosocomial y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	141
5.13.3. Variación temporal de los niveles de TBARS P en los grupos neumonía nosocomial y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	142
5.13.4. Variación temporal de la actividad de la GPx en los grupos neumonía nosocomial y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	143
5.16.1. Variación temporal de los niveles de TBARS P en los grupos neumonía comunitaria bacteriana y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	148
5.16.2. Variación temporal de los niveles de TBARS E en los grupos neumonía comunitaria bacteriana y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	149
5.16.3. Variación temporal de la actividad de la GR en los grupos neumonía comunitaria bacteriana y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	150

5.16.4. Variación temporal de los niveles de GSSG P en los grupos neumonía comunitaria bacteriana y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	151
5.16.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P en los grupos neumonía comunitaria bacteriana y neumonía viral durante todo el periodo de estudio	152

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

INTRODUCCIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

1. INTRODUCCIÓN

1.1. GENERALIDADES SOBRE RADICALES LIBRES Y ESPECIES REACTIVAS DE OXÍGENO

Un radical libre es un átomo, molécula o compuesto altamente inestable debido a que en su estructura atómica o molecular tiene en su orbital más externo uno o más electrones desapareados (Wu D y col.; 2003). También son definidos como especies químicas con electrones de similar movimiento (spin) direccional. Estas características hacen que sean sumamente reactivos frente a compuestos no radicales en un esfuerzo por compartir ese electrón de su órbita más externa con un electrón cercano. De esta manera, un radical libre puede ceder o tomar un electrón de una especie no radical (y así pasar a un estado más estable) provocando que éste último se transforme en un radical, generando así una reacción en cadena y como resultado final, la formación de múltiples radicales libres (Halliwell B; 1989). Sin embargo, existe otra forma por la cual una molécula puede transformarse en un radical libre, la fisión homolítica de un enlace covalente, de esta forma se originan dos fragmentos con un electrón retenido cada uno y, en consecuencia, dos radicales libres (Oldhman KM y col.; 1998).

La estructura de los radicales libres se simboliza con un punto al lado de la abreviación química (R^{\bullet}) representando la presencia de un electrón desapareado.

La elevada reactividad y, por ende, el alto grado de inestabilidad de los radicales libres contribuye a su corta vida media, lo que hace muy difícil su cuantificación. Existen técnicas, como la espectroscopía de resonancia paramagnética del electrón, en combinación con el atrapamiento del *spin* del electrón (*Trapping spin*), que permiten la medición de los radicales libres a través de la cantidad de energía absorbida por medio de un electrón desapareado en un campo magnético a temperaturas bajas extremas (Hortin JW; 2003).

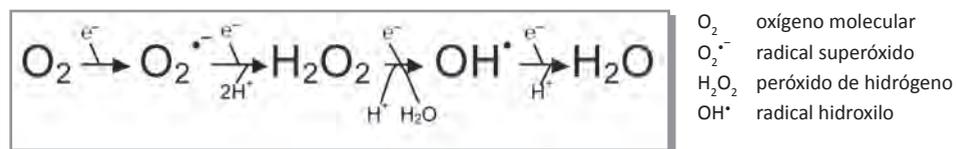
Los radicales libres pueden provenir de diferentes moléculas, entre las que se destacan:

- El átomo de Hidrógeno (H^{*})
- El oxígeno molecular (O₂)
- Los fosfolípidos de membrana (lipoperoxidación)
- Moléculas nitrogenadas (NO y NO₂): contaminantes atmosféricos
- Los metales de transición (Fe, Cu)
- Cualquier molécula con capacidad para transformarse en radical libre

1.1.1. Formación de radicales libres de oxígeno y especies reactivas de oxígeno

El oxígeno molecular es esencial para la función celular. Normalmente, más del 95% del consumo de oxígeno (en organismos aerobios) resulta en su reducción enzimática en agua a través de la cadena respiratoria mitocondrial, donde se produce la mayor cantidad de adenosina trifosfato (ATP), que provee de la energía requerida para muchas reacciones y funciones celulares (Wu D y col.; 2003). En la mitocondria (cresta interna) es donde se realiza el ciclo de Krebs y la cadena respiratoria en la cual el O₂ es completamente reducido hasta agua y CO₂, producto final en la cadena de transporte electrónico. La reducción se realiza en cuatro pasos, como puede observarse en la Figura 1.1.1.a. La reducción comienza con el aporte de un electrón al O₂ formándose así el anión superóxido. Luego, un segundo electrón es cedido a éste produciendo peróxido de hidrógeno. Un tercer electrón, como ocurre en la reacción de Fenton (Fe²⁺ + H₂O₂ → Fe³⁺ + OH^{*} + OH⁻) resulta en la producción del radical hidroxilo. Finalmente, el aporte de un cuarto electrón produce agua (Giordano FJ; 2005).

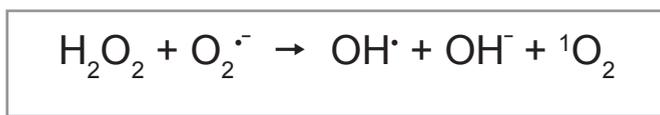
Figura 1.1.1.a. Reducción total del oxígeno molecular



Este proceso genera productos intermedios denominados especies reactivas de oxígeno (ERO). ERO es un término colectivo que incluye radicales de oxígeno y ciertos no radicales que son agentes oxidantes y /o son fácilmente convertidos en radicales como ácido hipocloroso (HOCl), peroxinitrito (ONOO⁻), etc. En otras palabras, todos los radicales de oxígeno son ERO pero no todos los ERO son radicales de oxígeno (Halliwell B y col.; 2004).

El oxígeno singulete (¹O₂), una forma reactiva del oxígeno molecular, en el cual los electrones más externos alcanzan un estado energético muy alto, puede ser formado por una variedad de mecanismos enzimáticos, incluida la reacción Haber-Weiss (Toufektsian MC y col.; 2001) como puede verse en la Figura 1.1.1.b.

Figura 1.1.1.b. Reacción de Haber-Weiss



Todas estas ERO tienen la capacidad de reaccionar muy fácilmente con toda sustancia orgánica que esté a su alrededor, provocando un gran daño a nivel de lípidos, proteínas y DNA (daño oxidativo), como veremos más adelante.

Algunas ERO y ERN (especies reactivas de nitrógeno) de interés biológico se enumeran en la Tabla 1.1.1. (Sies H; 1991; Chabot F y col.; 1998):

Tabla 1.1.1. Algunas especies reactivas de oxígeno (ERO) y de nitrógeno (ERN) de interés biológico.

	Radicales Libres	No Radicales
ERO	Peroxil (RO ₂ [•]) Alcoxil (RO [•]) Hidroperoxil (HO ₂ [•])	Acido Hipocloroso (HOCl) Ozono (O ₃) Hidroperóxido (ROOH)
ERN	Oxido Nítrico Dióxido de Nitrógeno ((NO ₂ [•]))	Peroxinitrito (ONOO ⁻) Cation Nitronio (NO ₂ ⁺) Cation Nitrosil (NO ⁺) AlquilPeroxinitrito (ROONO)

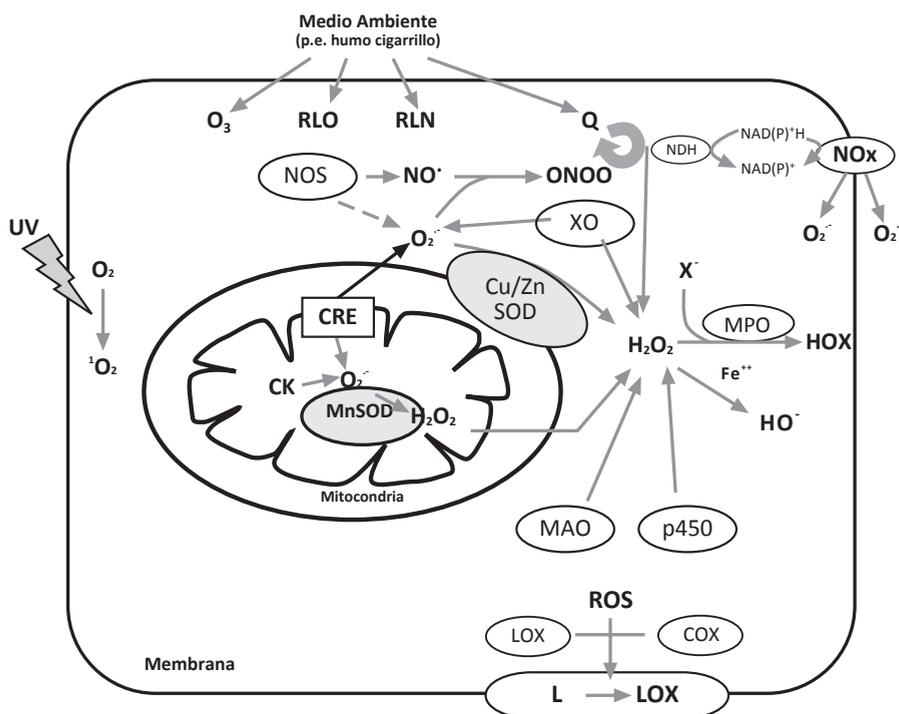
1.1.2. Fuentes productoras de radicales libres de oxígeno y especies reactivas de oxígeno

Numerosos sistemas intracelulares y extracelulares (Figura 1.1.2.) pueden producir RLO y ERO (Wu D y col.; 2003; Stocker R y col.; 2004): Los más importantes son enumerados en la Tabla 1.1.2

Tabla 1.1.2. Sistemas intra y extracelulares involucrados en la producción de radicales libres de oxígeno (RLO) y especies reactivas.

SISTEMAS INTRACELULARES
<ul style="list-style-type: none">▪ Cadena respiratoria mitocondrial: es la mayor fuente de producción de RLO▪ Citocromo P450: enzimas oxidativas tipo Xantina-oxidasa▪ Macrófagos y neutrófilos: células fagocitarias que contienen, entre otras, un grupo de enzimas denominadas complejo NADPH-oxidasa▪ NOs (Óxido nítrico sintetasa): familia de enzimas que catalizan la oxidación de L-arginina a L-citrulina y la síntesis de un potente vasodilatador (NO•)▪ Mieloperoxidasa: Enzima que cataliza la conversión de Cl⁻ a HOCl.▪ Lipoxigenasa: Una dioxigenasa que actúa sobre los fosfolípidos de la membrana celular generando prostaglandinas, tromboxano y leucotrienos▪ Metales de transición: El cobre y el hierro actúan como catalizadores en múltiples reacciones de oxidación
SISTEMAS EXTRACELULARES
<ul style="list-style-type: none">▪ Humo del cigarrillo▪ Radiación ultravioleta▪ Oxidación de fármacos (paracetamol)▪ Quimioterapia▪ Radiaciones ionizantes▪ Pesticidas (organofosforados y clorados)▪ Ozono

Figura 1.1.2. Fuentes celulares de RLO. Las fuentes mitocondriales de RLO (Radicales Libres de Oxígeno) incluyen Cadena de Transporte electrónico (CTE), Ciclo de Krebs (CK) y fuera de la membrana la Monoamino oxidasa (MAO). El superóxido ($O_2^{\cdot-}$) por sí solo no atraviesa las membranas, pero la manganeso-superóxido dismutasa (Mn-SOD) lo convierte en peróxido de hidrógeno (H_2O_2), el cual sí difunde a través de las mismas. El ($O_2^{\cdot-}$) citosólico es dismutado por la Cobre-ZincSOD (Cu/ZnSOD), en H_2O_2 . Las fuentes citosólicas de RLO son xantina oxidasa (XO) y citocromo P450 reductasas. La óxido nítrico sintetasa (NOS) actúa como catalizador en la síntesis de óxido nítrico (NO^{\cdot}), el cual reacciona con $O_2^{\cdot-}$ formándose peroxinitrito ($ONOO^{\cdot}$). Mieloperoxidasa (MPO, y también EPO) usa H_2O_2 y haluros (X) para formar ácidos hidrohalogenados (HOX). A su vez, el H_2O_2 , por medio de la reacción Fenton, genera radical hidroxil (HO^{\cdot}). Enzimas de membrana productoras de RLO incluyen la NADPH oxidasas (NOx), y la citP450. Lipoxigenasa (LOX), ciclooxigenasa (COX), y RLO generan lípidos oxidados (LOX) dentro de las membranas. Irradiación ultravioleta (UV), Ozono ambiental (O_3), poluciones, humo de cigarrillos también pueden originar RLO. Sustancias químicas, como quinolonas (Q) y nitroaromáticos pueden formar RLO, en condiciones redox por medio de NAD(P)H deshidrogenadas intracelulares. RLN: radicales libres de nitrógeno. Tomado de Sheu S-S y col.; 2006.



1.1.3. Daño celular: Efecto de las especies reactivas de oxígeno sobre las estructuras celulares

Esta “Normal” producción de especies reactivas se mantiene en un mínimo gracias a sistemas eficientes de transporte de electrones, tránsito enzimático, depuración y un mantenimiento en la transición de metales (Chabot F y col.; 1998). Estos sistemas están coordinados para proveer mecanismos biológicos importantes de defensa antioxidante, de los cuales hablaremos más adelante.

Estas ERO son capaces de alterar químicamente la mayoría de las biomoléculas (lípidos, proteínas y ácidos nucleicos), cambiando su estructura y/o su función, llegando a ser en algunos casos de forma irreversible (Thérond P y col.; 2000). Además, pueden actuar como segundos mensajeros y tener un efecto en la señal de las vías de transducción, influyendo así en la expresión génica (Crimi E y col.; 2006). En la Tabla 1.1.3.a. se resumen los daños causados por las ERO.

Tabla 1.1.3.a. Resumen de los daños celulares causados por especies reactivas de oxígeno (ERO).

BLANCO	DAÑOS CELULARES
Membranas	Oxidación de ácidos grasos poliinsaturados alterando directamente las propiedades físicas y químicas de las membranas celulares con su consecuente efecto.
DNA	Modificación de bases, rotura de cadenas, mutaciones génicas, pudiendo todo esto terminar con muerte celular o cáncer.
Proteínas	Modificaciones de aminoácidos con la consecuente inactivación o no síntesis de enzimas, pudiendo frenarse procesos celulares o generando autoanticuerpos.
Señales redox	Aumento de los ERO pueden causar cambios en las señales alterando actividades como ser: proliferación celular, apoptosis, regulación génica y necrosis.

(Adaptado de Goodyear-Bruch C y col.; 2002).

1.1.3.1. Membranas celulares

Las ERO son altamente reactivas y cuando se encuentran cerca de las membranas atacan los fosfolípidos de las mismas provocando su oxidación. Este proceso se lo conoce como lipoperoxidación, y puede generar una reacción en cadena (Halliwell B; 2006).

La lipoperoxidación consiste en 3 etapas: a) Iniciación, b) Propagación y, c) Terminación. (Figura 1.1.3.1)

- a) Es causada generalmente por el ataque de un radical (R^{\bullet}) a los ácidos poli-insaturados (L) o PUFA (*polyunsaturated fatty acid*) de los fosfolípidos de membrana. En términos químicos se trata de una reacción de reducción: el radical extrae un átomo de Hidrógeno de un metileno ($-CH_2-$) perteneciente a los PUFA. Como producto se forma un radical de ácido graso (L^{\bullet}).
- b) Ese radical lipídico formado reacciona rápidamente con oxígeno y se produce un radical peroxil (LO_2^{\bullet}). Este radical peroxil puede reaccionar con otro lípido insaturado vecino y abstraerle un átomo de H_2 y formar otro LO_2^{\bullet} más un hidroperóxido (LOOH).

Como puede verse, siempre habrá un nuevo radical peroxil para continuar la cadena. Si las cadenas de los PUFA son lo suficientemente largas, los radicales peroxil pueden extraer más de un átomo de H_2 de la cadena de carbonos y formar peróxidos cíclicos

- c) La reacción culmina cuando dos radicales peroxil reaccionan entre sí y forman un compuesto no radical.

Figura 1.1.3.1. Esquema de las etapas de la lipoperoxidación (tomado de Oldham KH y col.; 1998).

INICIACIÓN	PROPAGACIÓN	TERMINACIÓN
$L + R^{\bullet}$ \downarrow $L^{\bullet} + RH$	$L^{\bullet} + O_2$ \downarrow LOO^{\bullet} $LOO^{\bullet} + L$ \downarrow $L^{\bullet} + LOOH$	$LOO^{\bullet} + LOO^{\bullet}$ \downarrow No radical

El hierro actúa de catalizador en la lipoperoxidación por medio de la reacción de Fenton: los compuestos originados en la etapa de propagación (LOOH) son inestables, pudiendo así reaccionar con iones metálicos como el Fe, formando radicales alcoxil (LO[•]) y más radicales peroxil (LOO[•]). El superóxido y el peróxido de hidrógeno son los sustratos en otra reacción catalizada por el Fe, en la cual se forman también OH⁻ y OH[•] llamada Reacción de Haber-Weiss (apartado 1.1.1.).

Figura 1.1.3.1.a. Reacción de Fenton



De esta manera, a través de la reacción de Fenton la reacción en cadena de la lipoperoxidación no sólo continúa sino que se amplifica.

También, como resultado de la fragmentación de las cadenas hidrocarbonadas de los PUFA, se pueden producir aldehídos e hidrocarburos (etano y pentano), los cuales eventualmente pueden provocar pérdida en la integridad de la membrana (ruptura de la membrana vacuolar central y lisosomal). Otros subproductos de la lipoperoxidación que tienen efecto directo sobre la membrana son los isoprostanos y peróxidos cíclicos (ácidos linoleico, araquidónico, eicopentanoico y docosahexanoico). Entre los aldehídos tóxicos formados por peroxidación de algunos de estos peróxidos cíclicos se encuentran el malondialdehído (a partir del ácido linoleico, araquidónico o docosahexanoico) y el 4-hidroxi-nonenal (a partir de los peroxiácidos linoleico y araquidónico). Estos aldehídos tóxicos tienen la propiedad de difundir a través de la membrana, lo cual sumado a su elevada reactividad los hace sumamente peligrosos para la integridad de la misma. (MacNee W; 2001)

El principal efecto de la lipoperoxidación es la alteración en la permeabilidad, disminución de la fluidez e integridad de la membrana, lo cual conlleva múltiples desórdenes biológicos. Esta alteración de las propiedades de la membrana provoca mayor facilidad de los fosfolípidos para intercambiarse dentro de la bicapa, aumenta la filtración de ésta a sustancias

que normalmente no pueden cruzarla (sólo a través de los canales de potasio y calcio por ejemplo), provocando así un daño mayor a la estructura, sus proteínas (inhibiendo su función de transporte de membrana), canales iónicos, inactivación de receptores de membrana y enzimas, afectando finalmente sus funciones de barrera (Halliwell B; 2006).

1.1.3.2. DNA

En todos los organismos aeróbicos se generan pequeños daños en la estructura del DNA, pero existen sistemas de reparación molecular que restauran esas lesiones producidas.

Los radicales libres atacan las moléculas de DNA (en la posición deoxiribosa o cualquiera de las bases purina o pirimidínica) siendo éstos extremadamente vulnerables sobre todo a los radicales OH^{\bullet} . Algunas de las consecuencias de estos ataques son las rupturas de las cadenas y modificaciones de bases nucleotídicas (Oldham KM y col.; 1998).

Una de las bases más frecuentemente oxidadas es la guanina dando lugar a la 8-oxo-2'-deoxiguanina (8-oxo-dG), la cual tiene importancia por su poder mutagénico. La presencia de esta molécula en la cadena de DNA puede llevar a errores en la replicación del mismo con las consecuentes lesiones irreversibles (p.ej. mutaciones) pudiendo llevar a un proceso neoplásico y/o apareamiento de bases no complementarias. La timina y citosina son atacadas por los OH^{\bullet} en las posiciones C5 y C6 generando los radicales C5-OH y C6-OH respectivamente, los cuales siguen un proceso de oxidación hasta convertirse en timina y citosina glicol (Dizdaroglu M y col.; 2002).

Existen sistemas enzimáticos reparadores de este compuesto, que provocan la eliminación por orina en forma de bases libres o como derivados nucleótidos timidina glicol y 8-hidroxi-guanina. Así, estos productos pueden medirse en orina y utilizarse como parámetro del daño producido en el DNA por los radicales libres.

En el DNA mitocondrial, hay un acúmulo de mutaciones, por el ataque de los radicales libres (RL) a nivel de codificadores génicos, que provoca una alteración en la eficiencia del transporte electrónico (ya que involucra a los sistemas enzimáticos responsables del mismo, NADPH deshidrogenada, citocromos, etc.), generando, finalmente, más producción de radicales libres y una disminución en la producción de ATP.

1.1.3.3. Proteínas

Las proteínas (enzimáticas y no enzimáticas) son otro grupo de moléculas susceptible de ser diana de los radicales libres. Además de los residuos de aminoácidos, los grupos prostéticos oxidables como las agrupaciones de metal-sulfuro, contribuyen a la sensibilidad de las proteínas al daño por los radicales libres (Castro L y col.; 2001).

Uno de los principales blancos de los radicales libres son los sulfhidrilos de los residuos de cisteína, dando como resultado inactivación de las enzimas y alteración de uno de los mecanismos biológicos más importantes como es la glicólisis celular.

Otros aminoácidos fáciles de ser oxidados y modificados son: arginina, metionina, histidina, fenilalanina, triptofano, prolina y tirosina.

La modificación más importante es el aumento en la cantidad de carbonilos de las proteínas. Por esta razón, son utilizados como marcadores de daño oxidativo (Dalle-Donnes I y col.; 2003).

También sufren otros tipos de modificaciones en su estructura, dependiendo del tipo de radical libre que los ataque, eso conlleva a una funcionalidad distinta de la original. Es el caso de las proteínas con contenido en tirosina, si son atacadas por óxido nítrico se forma una proteína "modificada" que ha sido identificada en varias patologías.

También las proteínas pueden estar modificadas desde su estructura "nova" (por el ataque radicalar), ya que pueden estar alterados algunos de los componentes que están implicados en la síntesis proteica, provocando errores en la misma, siendo el origen de todas esas alteraciones los radicales libres. Todo ello provoca como consecuencia final alteraciones en la funcionalidad de las proteínas, inclusive llegando a la inactivación total de las mismas, con las repercusiones biológicas que eso conlleva dependiendo de la función específica de las proteínas.

1.2. SISTEMAS DE DEFENSA FRENTE AL ATAQUE DE RADICALES LIBRES

Como mencionamos previamente, los radicales libres se forman de manera continua en el organismo. Además, tienen roles importantes en procesos fisiológicos y en sistemas que incluyen muerte de microorganismos invasores, control de la tensión arterial, intervención en funciones endoteliales, señales celulares, apoptosis, división celular y transcripción génica (Benzie IF; 2003). A pesar de la importancia que tienen los radicales libres en ciertos procesos biológicos, es necesario que existan mecanismos que controlen la producción y eliminación de los mismos, para prevenir los efectos adversos de estas moléculas (apartado 1.1.3.) y para ello el organismo humano ha desarrollado sistemas de defensa antioxidantes.

Un antioxidante puede definirse, en términos simples, como una sustancia que, presente en muy bajas concentraciones, inhibe o previene la oxidación de un sustrato susceptible.

1.2.1. Mecanismo de acción

Los sistemas antioxidantes son complejos, no actúan aisladamente sino de forma sinérgica para, entre otras cosas, disminuir la carga de RLO, desviar algunos RLO hacia otras vías de reacción que tengan menos productos reactivos para inactivar selectivamente (en términos redox) iones metálicos de transición. Si fallase algo, estos sistemas proveen moléculas “de sacrificio”, encargadas de absorber el impacto oxidativo y el exceso de energía generados (Benzie IF; 2003). Tabla 1.2.1.a.

Existen dos líneas de defensa, la función de la primera es prevenir la formación de RLO, ya sea por medio de la eliminación de sus precursores o inhibiendo la catálisis (p.e. catalasa, superóxido dismutasa). Los antioxidantes secundarios inhiben o suprimen RLO que ya han sido formados (p.e. vitamina C) (Víctor VM y col.; 2004).

Tabla 1.2.1.a. Mecanismos de acción de antioxidantes.

Mecanismos de acción	Ejemplos
Barreras físicas que impiden el acceso o producción de RLO a sitios biológicos importantes.	- Filtros UV - Membranas celulares
Neutralizadores de RLO, atrapadores químicos, sustancias que absorben energía y electrones	- Carotenoides - Antocianidinas
Sistemas catalíticos que neutralizan o desvían RLO	- Enzimas antioxidantes: SOD, GPx/GR, CAT
Inactivación/unión de iones metálicos por medio de reacción de Haber-Weiss, que previenen la generación de RLO	- Ferritina - Ceruloplasmina - Catequizas
Rompedores de cadenas de formación de RLO eliminándolos	- Vitamina C - Tocoferoles, - Flavonoides - GSH

SOD: Superóxido Dsimutasa; GPx: Glutati6n Peroxidasa; GR: Glutati6n Reductasa; CAT: Catalasa; GSH: Glutati6n reducido. Adaptado de Benzie IF; 2003.

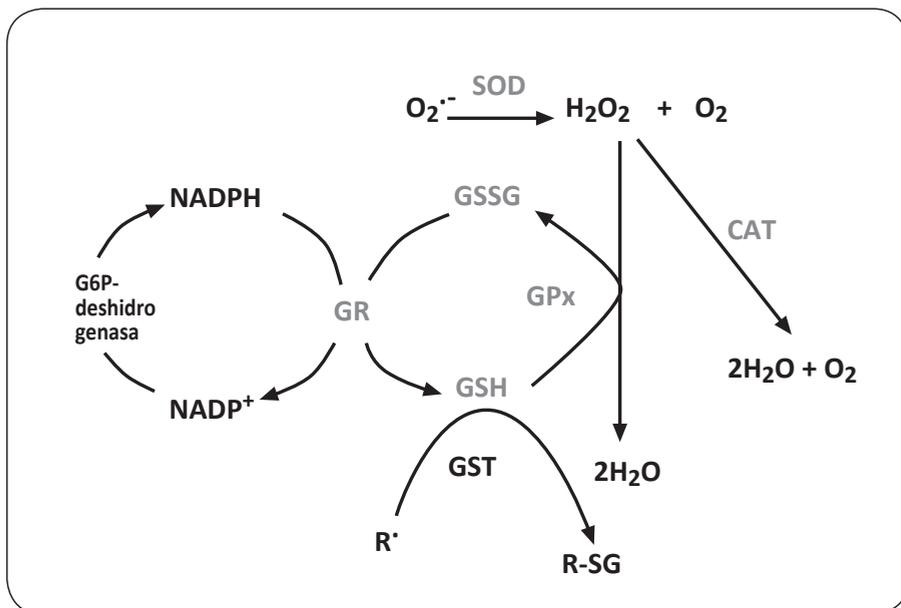
A su vez, los antioxidantes pueden dividirse en dos categorías seg6n su naturaleza: enzimáticos y no enzimáticos (Roth E y col.; 2004). Tabla 1.2.1.b.

Tabla 1.2.1.b. Sistemas antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos.

ENZIMÁTICOS	NO ENZIMÁTICOS
- Superóxido dismutasa (SOD)	-Glutati6n (GSH) - Hemopexina
- Catalasa (CAT)	- Albúmina - β-caroteno
- Glutati6n peroxidasa (GPx)	- Coenzima Q - Transferrina
- Glutati6n Reductasa (GR)	- Ceruloplasmina - Bilirrubina
- Glutati6n S-transferasa (GST)	- Lactoferrina - Acido Úrico
	- Haptoglobinas - Glucosa
	- Ácido Ascórbico - Vitaminas C, E
	- Microelementos (Zn, Se, Mn, Cu, Fe)

La diferencia que existe entre los antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos radica en que los primeros, dada su naturaleza, no son consumidos durante sus funciones protectoras (eliminación de O_2^- , radicales superóxido, peróxido de hidrógeno, etc.) (Figura 1.2.1.) mientras que los segundos (antioxidantes rompedores de cadenas, quelantes de metales, neutralizadores de oxígeno singulete) sí son consumidos durante su acción antioxidante, con lo cual tienen que ser reemplazados (Gutteridge JMC; 1995). Además, los antioxidantes enzimáticos son principalmente de producción endógena, mientras que los no enzimáticos provienen de fuente exógena (principalmente de vitaminas aportadas por la dieta), aunque algunos son de producción endógena como el glutatión reducido (GSH), etc. Por otra parte, los de naturaleza enzimática necesitan, en general, ayuda de cofactores para realizar sus acciones, como pueden ser la presencia de metales (cobre, hierro, magnesio, selenio o zinc).

Figura 1.2.1. Diagrama esquemático mostrando la interacción entre antioxidantes enzimáticos (con la intervención del GSH). SOD: superóxido dismutasa; CAT: catalasa; GSH: glutatión reducido; GSSG: glutatión oxidado; GST: glutatión s-transferasa; GPx: glutatión peroxidasa, Glutatión reductasa (GR); R': radical; R-SG: éster de R' (Adaptado de Macdonald J y col.; 2003).



1.2.2. Localización de los diferentes antioxidantes

Los antioxidantes se encuentran en compartimentos diferentes: a) intracelular, b) membrana celular y, c) extracelular (Macdonald J y col.; 2003; Gutteridge JMC; 1995). Tabla 1.2.2.

Tabla 1.2.2. Compartimentalización de los diferentes antioxidantes

Antioxidantes Intracelulares	Mecanismo de acción
SOD (Cu, Zn, Mn)*	Elimina $O_2^{\cdot -}$ catalíticamente.
CAT, contiene 4 grupos prostéticos hemínicos (Fe)*	Elimina el H_2O_2 cuando está presente en altas concentraciones
GPx (Fe)*	-Elimina el H_2O_2 cuando está presente en bajas concentraciones. -Puede quitar hidroperóxidos orgánicos
GSH	<i>Scavenger</i> de radicales libres, detoxifica xenobióticos vía GST, reduce H_2O_2 y lípidos vía GPx.
Antioxidantes de Membrana	Mecanismo de acción
Vitamina E (α -tocoferol)	Liposoluble. Rompe la cadena de propagación de lipoperoxidación de los PUFA. Importante captador de RLO
β -caroteno	Liposoluble. Actúa como <i>scavenger</i> (limpiador) de radicales y <i>quencher</i> (neutralizador) de oxígeno singulete.
Coenzima-Q	Inhibidor de la iniciación y propagación de la lipoperoxidación.
Organización estructural de la membrana	Relación fosfolípidos:colesterol, PUFA Importantes para la integridad de la membrana
Antioxidantes Extracelulares	Mecanismo de acción
Transferrina	Se une a iones férricos
Lactoferrina	Se une a iones férricos a pH bajos
Haptoglobina	Se une a hemoglobina previniendo la descomposición de lipoperóxidos.
Hemopexina	Se une a grupos hemo previniendo la descomposición de lipoperóxidos.
Albúmina	Se une a Cu, Hemo y es <i>scavenger</i> de HOCl.
Ceruloplasmina	Actividad ferroxidasa: cataliza oxidación de Fe^{2+} a Fe^{3+} por unión con transferrina).
SOD extracelular	Elimina radical superóxido catalíticamente.
GPx extracelular	Elimina peróxido de hidrógeno e hidroperóxidos.
Bilirrubina	<i>Scavenger</i> de radicales hidroxilo.
Acido Úrico	<i>Scavenger</i> de radicales y se une a metales.
Glucosa	<i>Scavenger</i> de radicales hidroxilo.
Vitamina C (ácido ascórbico)	<i>Scavenger</i> de radicales hidroxilo.
Eritrocitos	Difusión de H_2O_2 dentro de la célula y transporte de radical superóxido a través del canal de anión (los eritrocitos contienen SOD y CAT).

*Metales pertenecientes al centro activo.

1.2.3. Características del sistema de defensa enzimático

1.2.3.1. SOD

La superóxido dismutasa pertenece a una familia de metaloenzimas que rápidamente promueven la dismutación del anión superóxido en peróxido de hidrógeno:

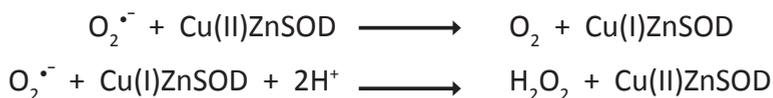


Las bacterias poseen frecuentemente (en el espacio periplásmico) CuZn-SOD, Mn-SOD y/o FeSOD. Inclusive, algunas SOD contienen níquel (Halliwell B; 2006).

En los organismos eucariotas existen tres formas de SOD:

- a) CuZn-SOD: Presente en todas las células pero principalmente en citosol. Algunas tienen actividad en lisosomas, peroxisomas y núcleos.

Cada monómero se une a un ión de cobre y uno de zinc. El mecanismo de la reacción involucra una reducción y re-oxidación secuencial del Cu^{2+} . Estas dos reacciones son pH-independientes (Alvarez B y col.; 2004):



El Cu^{2+} está unido a cuatro residuos de histidina. Uno de ellos también coordina el ión Zn^{2+} , junto con dos histidinas más y un aspartato.

- b) Mn-SOD: Se encuentra principalmente en la mitocondria. Contribuye aproximadamente al 10% de la actividad celular total. Es resistente al cianuro. Presente en todos los tejidos menos en los eritrocitos.

c) EC-SOD o SOD extracelular: Es una forma extracelular de la enzima.

Las actividades de las diferentes SOD son de interés clínico en varias patologías, ya que parecen estar relacionadas con algunas de sus alteraciones. Algunos ejemplos son los siguientes:

- Síndrome de Down: se ha visto un aumento en eritrocitos de la actividad de la CuZn-SOD (Baret A y col.; 1981).
- Esclerosis amiotrófica lateral familiar: presencia de algunas mutaciones puntuales de CuZn-SOD implicadas en dicha patología (Rosen D; 1993).
- Distrofia muscular de Duchenne: se ha visto una disminución en la actividad eritrocitaria de CuZn-SOD (Burri BJ y col.; 1980).
- Anemia de Fanconi: actividad disminuida de CuZn-SOD en eritrocitos (Yoshimitsu K y col.; 1984).

También se han relacionado los niveles alterados de la actividad y ciertos polimorfismos de la SOD en patologías crónicas como pueden ser: cáncer de ovarios (Senthil K y col.; 2004), enfermedad de Crohn (Geerling BJ y col.; 1999), cirrosis (Sutton A y col.; 2006), artritis reumatoidea (Ugur M y col.; 2004), menopausia (Gurdol F y col.; 1997), enfermedad coronaria arterial (Kotur-Stevuljevic J y col.; 2007), diabetes tipo I (Gil-del Valle L y col.; 2005), apendicitis agudas (Koltuksuz U y col.; 2000).

Observando la estrecha relación que existe entre diferentes patologías y SOD, no sólo son de interés los niveles de la actividad de esta enzima como biomarcador de defensa antioxidante sino que su alteración puede contribuir a una muerte neuronal sobre todo en enfermedades neurodegenerativas (síndrome de Down).

Las actividades de las CuZn-SOD y Mn-SOD dependen del tejido donde se encuentren y de la presencia y número de mitocondrias, en este caso en particular para la Mn-SOD, ya que los eritrocitos eucarióticos no presentan mitocondrias (Thérond P y col.; 2000).

1.2.3.2. CAT

La catalasa descompone directamente el peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno molecular:



La diferencia con la enzima glutatión peroxidasa es que ésta descompone también el H_2O_2 pero en presencia de un sustrato, mientras que la CAT no.

La CAT actúa como enzima de segunda línea de defensa, pero sólo se encuentra en los peroxisomas, con lo cual al no encontrarse en mitocondrias (donde se genera cantidades importantes de radical superóxido), no adquiere la importancia necesaria en la eliminación del H_2O_2 .

Estructuralmente, la CAT es una enzima homotetramérica (PM: 240000) y contiene cuatro grupos prostéticos hemínicos, donde el hierro se encuentra bajo la forma férrica.

1.2.3.3. GPx/GR

La GPx coopera con la CAT en la eliminación del H_2O_2 (y también de hidroperóxidos orgánicos), pero en presencia del glutatión reducido (GSH) como sustrato reductor, siendo la reacción la siguiente:



El glutatión oxidado (GSSG) consiste en dos GSH unidos por un puente disulfuro, y puede reconvertirse en GSH por medio de la enzima glutatión reductasa (GR).

La GPx es una enzima tetramérica que contiene y requiere selenio para su actividad. Existen, por lo menos, cuatro tipos de peroxidasa selenio dependientes: GPx citosólica (GPx clásica), GPx hidroperóxida fosfolipídica, GPx plasmática y la forma gastrointestinal. Todas reducen H_2O_2 y alquil hidroperóxidos pero las especificidades por los sustratos hidroperóxidos difieren una de otra.

La GPx citosólica reduce H_2O_2 , hidroperóxidos de ácidos grasos y varios hidroperóxidos sintéticos; la GPx hidroperóxida fosfolipídica y la GPx plasmática también reducen otros complejos lipídicos como pueden ser hidroperóxidos de tipo fosfolipídicos y ésteres de colesterol. La forma gastrointestinal está involucrada principalmente en la detoxificación de peróxidos dietarios (Stocker R y col.; 2004; Théron P y col.; 2000).

La GPx opera de manera conjunta con la glutatión reductasa (GR), la cual cataliza la reducción del GSSG, a expensas de NADPH, siendo la reacción la siguiente:



El NADPH es aportado primariamente por la vía pentosa fosfato, que es iniciada por la glucosa 6- fosfato deshidrogenada, manteniéndose el estado redox NADPH/NADP⁺ balanceado.

1.2.4. Características del sistema de defensa no enzimático

Los antioxidantes no enzimáticos se pueden clasificar en: antioxidantes de bajo peso molecular (PM) y proteínas de alto PM (Tabla 1.2.4.). Están presentes en los fluidos extra e intracelular y algunos de ellos provienen de la dieta.

Los antioxidantes de bajo PM, además, pueden dividirse en liposolubles e hidrosolubles, pero hay que señalar que los flavonoides y polifenoles son absorbidos muy poco, y tienen una capacidad antioxidante *in vitro* muy modesta, al igual que los carotenoides.

Tabla 1.2.4. Clasificación de antioxidantes no enzimáticos

PROTEÍNAS DE ALTO PM	ANTIOXIDANTES DE BAJO PM
<ul style="list-style-type: none"> *Albúmina *Ceruloplasmina *Transferrina *Haptoglobina *Lactoferrina 	<p><i>LIPOSOLUBLES:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> * Vitamina E * Carotenoides * Bilirrubina * Quinonas * Algunos polifenoles <p><i>HIDROSOLUBLES:</i></p> <ul style="list-style-type: none"> * Vitamina C * Acido Úrico * Algunos polifenoles y flavonoides * GSH

1.2.4.1. GSH

El GSH es un tripéptido (L- γ -glutamil-L- cisteína 1-glicina). Representa el tior intracelular más abundante, con aproximadamente el 90% de tioles no proteicos dentro de la célula. El hígado es el órgano central encargado de la síntesis del GSH, mientras que su concentración en el plasma y eritrocitos parece ser un reflejo de la capacidad de síntesis hepática (Wernerman J y col.; 1999).

La pareja redox representada por GSH: 2GSSG es el principal buffer redox tior-disulfuro celular. Como mencionamos en el apartado 1.2.3.3., esta relación se mantiene por acción de la glutatión reductasa (GR) NADPH-dependiente y la glutatión peroxidasa (GPx).

El GSH está implicado en muchos procesos biológicos. El papel funcional del GSH intracelular consiste en la detoxificación de xenobiótico y radicales libres de oxígeno. También es cofactor de muchas enzimas, como por ejemplo la GPx. Se considera al GSH el antioxidante intracelular más potente.

Cuando existe un aumento en la actividad de los radicales libres, puede producirse una saturación del sistema GPx-GR, entre otras cosas, por la activación del mecanismo protector del GSH con el consecuente aumento del GSSG intracelular y su expulsión del interior de la célula para mantener un estado redox adecuado. Así, puede considerarse el ratio GSSG/GSH extracelular un buen índice de estrés oxidativo intracelular (Victor VM y col.; 2004), siendo el GSH un excelente regulador del estado redox intracelular.

Por lo tanto, se desprende así la importancia de la biodisponibilidad del GSH como detoxificador de sustancias endógenas y exógenas tóxicas para el organismo así como su papel protector frente al daño oxidativo a causa de las acciones de los RLO y ERO.

1.2.4.2. Vitamina E

La vitamina E es un potente captador de radicales libres gracias a su estructura molecular que le permite captarlos ya sea en la zona lipofílica de la membrana como en plasma.

Existen ocho sustancias naturales diferentes de origen animal que tienen actividad vitamina E: *d*- α , *d*- β , *d*- γ y *d*- δ -tocoferoles y *d*- α , *d*- β , *d*- γ y *d*- δ -tocotrienoles.

Los tocoferoles poseen tres carbonos asimétricos, generando hasta ocho isómeros, siendo *d*-alfa-tocoferol la forma activa más importante de Vitamina E (Stocker R y col.; 2004).

El α -tocoferol tiene una relación esencial con el ácido ascórbico, ya que éste regenera la forma oxidada del tocoferol. Esta interacción se debe a que el sitio activo de la vitamina E se encuentra en la cara interna de la membrana, con lo cual está en contacto permanente con el citosol.

1.2.4.3. Vitamina C

La Vitamina C es considerada un potente agente reductor y provee la principal línea de defensa antioxidante de los lípidos en plasma, frente a la acción de diferentes oxidantes como pueden ser radicales hidroxilo y ácido hipocloroso, entre otros.

A pH fisiológico, la vitamina C se encuentra en forma de ascorbato, siendo cofactor de múltiples enzimas involucradas en reacciones de hidroxilación. Esto tiene su importancia en la pared vascular, ya que en ausencia de ascorbato, el colágeno no es lo suficientemente hidroxilado, con lo cual no se forman fibras apropiadas, resultando entonces capilares sanguíneos frágiles (Stocker R y col.; 2004). También posee capacidad pro-oxidante ya que en concentraciones elevadas puede actuar como oxidante de radicales libres (p.e. el radical hidroxilo).

En concentraciones fisiológicas, la vitamina C inhibe la peroxidación de las LDL, iniciada por radicales peroxil y radicales de proteínas. También puede atenuar (no prevenir completamente), la oxidación de proteínas y LDL plasmáticas, inducida por el HOCl.

Otro de sus efectos antioxidantes es el mantenimiento del GSH celular a través de la reducción del radical tiol del glutatión, reacción favorecida por factores termodinámicos y cinéticos.

1.2.4.4. Ácido Úrico

El ácido úrico se produce por oxidación de la hipoxantina en xantina, reacción catalizada por la xantina deshidrogenada y oxidasa.

Se encuentra en muy bajas concentraciones a nivel intracelular en forma

de urato, pero en plasma puede alcanzar concentraciones elevadas, ya que los humanos carecen de la enzima urato oxidasa.

El urato actúa como captador de diferentes radicales libres, oxígeno singulete, hidroxilos, radicales peroxil y radicales derivados del peroxinitrito. Además, el urato se une a metales de transición, siendo éste de relevancia en la lipoperoxidación de las LDL en la pared vascular.

1.2.4.5. Proteínas quelantes de iones metálicos

Son proteínas plasmáticas transportadoras de ciertos metales, como transferrina, lactoferrina (se unen al hierro) y ceruloplasmina (se une al cobre) previniendo la lipoperoxidación catalizada por dichos iones metálicos. También están implicados en reacciones de formación de radicales hidroxilo. En el caso del cobre, en la reacción Haber-Weiss, y en el caso del hierro, la reacción de Fenton.

La haptoglobina se une a hemoglobina libre, impidiendo la actividad prooxidante de ésta. De forma paralela sucede con la hemopexina al unirse con el grupo hemo de la hemoglobina.

1.3. ESTRÉS OXIDATIVO

1.3.1. Introducción

El metabolismo del oxígeno molecular genera, inevitablemente y de forma continua, pequeñas cantidades de RLO. Fundamentalmente, se producen durante los mecanismos de defensa anti-inflamatorios (activación de polimorfonucleares) y respiración celular, entre otros procesos.

El organismo está preparado para “neutralizar” estas cantidades de RLO, a través de sistemas intrínsecos de defensa (detallados en el apartado 1.2.). Estos sistemas son capaces de aumentar su concentración de igual manera (se adaptan a las necesidades de cambio) siendo absolutamente eficaces en la neutralización, con lo cual el balance entre ellos se mantiene en equilibrio.

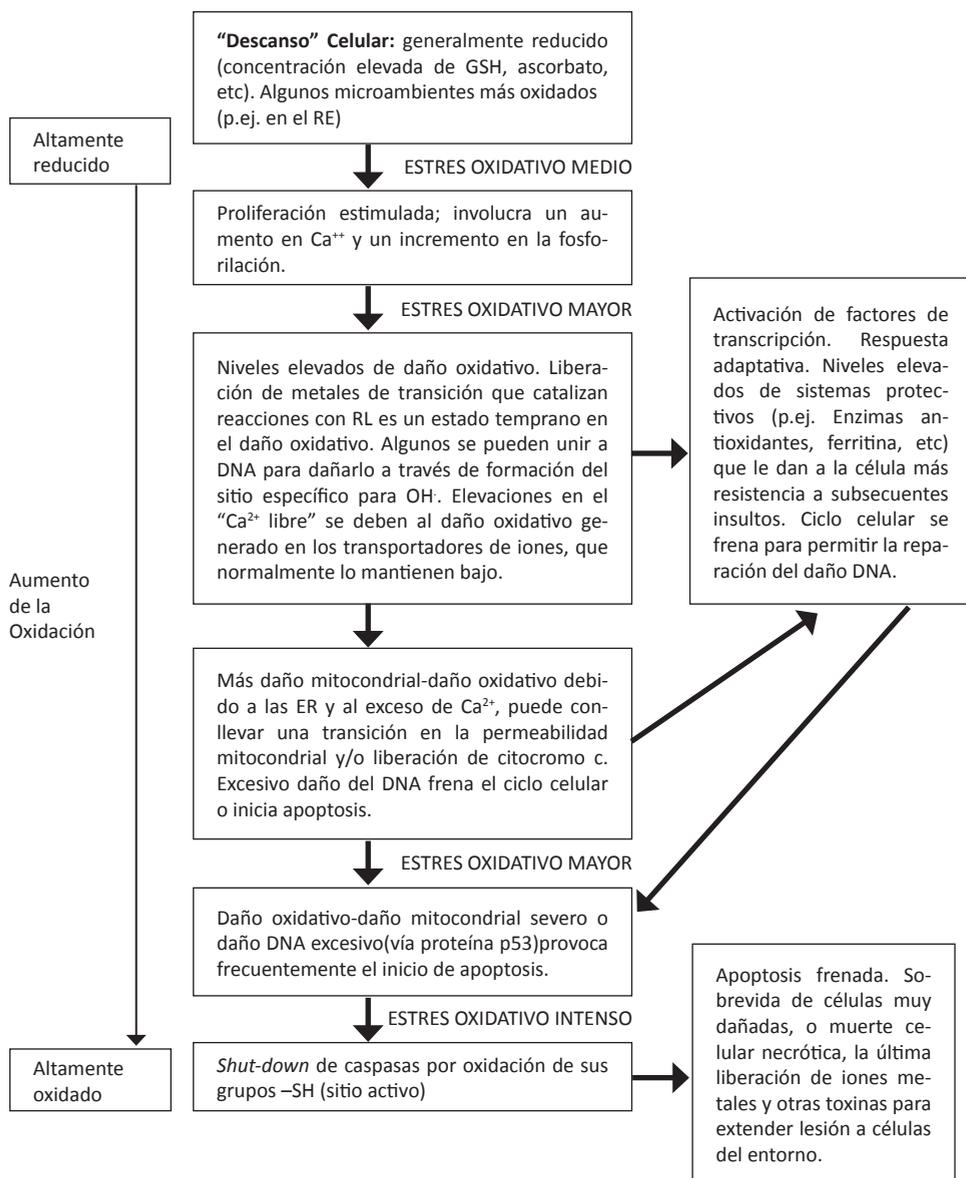
El problema se inicia cuando hay una afectación en el balance entre la producción de RLO y los sistemas antioxidantes, generando como consecuencia final daño oxidativo.

El daño oxidativo ha sido definido como el daño biomolecular causado por el ataque de especies reactivas sobre constituyentes de los organismos vivos (Halliwell B y col.; 2004).

En el año 1985, Sies y col. describen que una “alteración en el balance pro-oxidante/antioxidante a favor de los primeros” se denomina estrés oxidativo. Este concepto ha sido redefinido por el mismo autor en el año 1991 como una “alteración entre oxidantes y antioxidantes a favor de los oxidantes, destacando su potencial efecto dañino. Esta nueva definición mucho más cuidada, tiene en cuenta algunas consideraciones importantes. Por ejemplo, un ataque oxidativo o una pérdida de antioxidantes por separado, no constituye un estado de estrés oxidativo. Ahora bien, si un aumento en la formación de oxidantes está acompañado de una pérdida de antioxidantes y/o acumulación de formas oxidadas de éstos, nos encontramos entonces, en presencia de un estado que consideraremos de estrés oxidativo.

Pero, ¿cómo responde el organismo frente a una situación de estrés oxidativo? La respuesta depende de la célula atacada y del grado de agresión (estrés) de los RLO (Halliwell B; 2006). Figura 1.3.1.

Figura 1.3.1. Esquema del comportamiento celular frente al estrés oxidativo. La estimulación de la proliferación debido a bajos niveles de ER (especies reactivas de oxígeno y/o nitrógeno) está asociada con la red de fosforilación incrementada de múltiples proteínas. La célula es, generalmente un ambiente reducido, en especial la mitocondria ($GSH/GSSG > 100$) y el citosol ($GSH/GSSG > 100$), pero menos que el lumen del retículo endoplásmico (RE) ($GSH/GSSG = 3$), ya que un entorno más oxidado se requiere para un óptimo plegamiento de proteínas y formación de puentes disulfuro (Extraído de Halliwell B; 2006).



1.3.2a. Estrés oxidativo en la neumonía grave

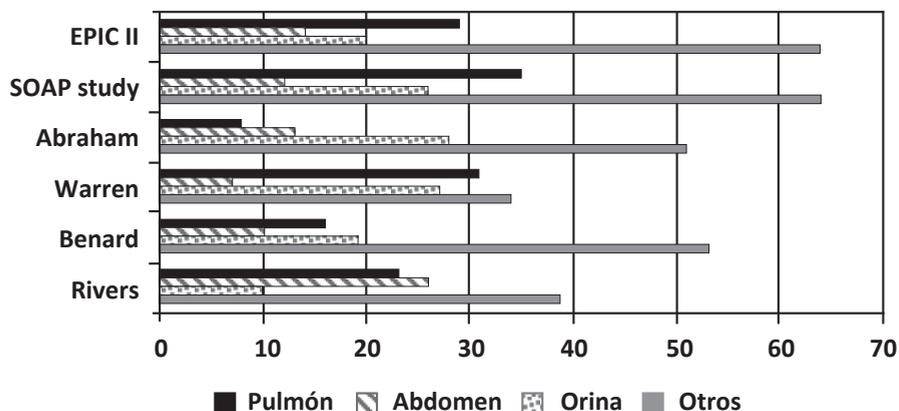
El estrés oxidativo es considerado un mecanismo de lesión básico en muchos tipos de enfermedades. La neumonía, la sepsis, el síndrome de distrés respiratorio agudo (SRDA), la lesión pulmonar aguda (ALI), el shock, la disfunción multiorgánica, etc. involucran en su génesis un estado de oxidación aumentado y todas ellas son causas comunes de morbimortalidad en las Unidades de Cuidados Intensivos (UCI).

Estas patologías se caracterizan por una elevada producción de RLO y otras especies reactivas, ya que en el transcurso de las mismas existe activación de fagocitos (neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos) con la consecuente liberación de RL, enzimas anti-inflamatorias, activación de NO y liberación de iones metálicos y metaloproteínas. Esto se traduce en una lesión grave sobre los tejidos, desde peroxidación de las membranas celulares pasando por la oxidación de proteínas, fragmentación del DNA, necrosis celular y apoptosis (Chandra J y col.; 2000; Lucas R y col.; 2009; Chou HC y col.; 2010). Paralelamente a estos eventos, se ha observado en diferentes estudios (Goode HF y col.; 1995; Alonso DV y col.; 1996; Rinaldi S y col.; 2009; Manzanares W y col.; 2009) que los pacientes críticos presentan disminución en sus niveles de antioxidantes endógenos, empeorando aún más el cuadro de estrés y daño oxidativo.

A su vez, hay que tener en cuenta que en los pacientes de UCI es frecuente la aplicación de oxigenoterapia. Este incremento en el aporte de oxígeno con niveles potencialmente altos de oxemia puede condicionar que, siendo el oxígeno molecular la principal fuente de RLO, este tipo de pacientes estén más expuestos a un proceso de estrés oxidativo.

La neumonía grave es una entidad frecuente de asistencia en las UCIs. Diversos autores han evidenciado que más del 40% de las sepsis se originan en el pulmón (Abraham E y col.; 2003; Warren MM y col.; 2005; Bernard GR y col.; 2003; Rivers EP; 2006; Vincent JL y col.; 2009; Vincent J-L t col.; 2006).
Figura 1.3.2.a.

Figura 1.3.2.a. En la figura se puede apreciar que la infección de origen pulmonar es la más frecuente según lo evidenciaron diferentes autores.



A pesar de los años y del avance de las técnicas de soporte cardiorespiratorio, la neumonía grave en UCI tiene una mortalidad superior al 40% ya se trate de origen comunitario o nosocomial (Luna C y col.; 1997; Rello J y col.; 2003). La neumonía comunitaria grave se define como una infección aguda del tracto respiratorio bajo caracterizada por: (1) un infiltrado pulmonar agudo evidente en radiografía de tórax y compatible con neumonía, (2) hallazgos confirmatorios en una exploración clínica, y (3) adquisición de la infección fuera del ámbito hospitalario, o de centros de asistencia permanente (Bodi M y col.; 2005). La neumonía asociada a la ventilación mecánica es la forma principal de la neumonía nosocomial. Se define como una infección del tracto respiratorio inferior que aparece después de al menos 48 hs de ventilación mecánica y está caracterizada por: (1) nuevos o persistentes infiltrados en la radiografía de tórax asociados con al menos uno de las siguientes: a) secreciones traqueales purulentas, b) temperatura $> 38,3$ °C y c) leucocitosis $> 10000/\text{mm}^3$; 2) cultivo cuantitativo positivo de secreción respiratoria de acuerdo a los puntos de corte estándar (Chastre J y col.; 2003).

Después del ingreso de microorganismos al pulmón, los neutrófilos y macrófagos pulmonares juegan un papel fundamental como sistema de defensa primario, intentando prevenir o disminuir el crecimiento de patógenos en el parénquima pulmonar a través de su activación, adhesión y migración al espacio alveolar y finalmente la destrucción de los microorganismos. Para

dicha función, las células activadas deben producir, mediante su “estallido respiratorio”, importantes cantidades de RL que son liberados al medio como producto final de su actividad. Como se desprende de lo anterior, los polimorfonucleares (PMN) juegan un doble papel, defensivo (anti-inflamatorio) por una parte y pro-inflamatorio por otra. Del balance entre la actividad oxidante / antioxidante dependerán la manifestaciones clínicas de la enfermedad pulmonar y posiblemente la evolución posterior. Varios estudios (Chieh-Liang W y col.; 2006; Fernández-Serrano S y col.; 2003; Puren AJ y col.; 1995; Bauer TT y col.; 2000) han relacionado un nivel elevado de sustancias proinflamatorias (IL-1; FNT, IL-6) con una mayor severidad de la neumonía. Sólo pocos estudios han valorado el nivel de estrés oxidativo en la neumonía (Nowak D y col.; 1996; Dalhoff K y col.; 1994; Duflo F y col.; 2002; Romero PV y col.; 2006) o la capacidad total antioxidante (Katsoulis K y col.; 2005). Todos ellos evidencian una mayor actividad oxidante y una disminución en la capacidad antioxidante sin investigar sobre su relación con diversos factores relacionados con el pronóstico.

1.3.2b. Estrés oxidativo en la neumonía viral por influenza A (H1N1)v

Durante la segunda mitad del año 2009 España fue uno de los países más afectados de Europa por la neumonía por la pandemia 2009 de gripe A (H1N1)v. Esta patología se caracteriza por un compromiso respiratorio progresivo y rápido que requiere intubación orotraqueal y ventilación mecánica en menos de 24 hs (Rodríguez A y col.; 2010). Los virus Influenza son patógenos responsables de un número significativo de casos de neumonías anualmente, provocando pandemias impredecibles, como las ocurrida en el año 1918 provocando más de 50 millones de muertes en el mundo (Taubenberger JK y col.; 2008).

La invasión del virus influenza se ha visto concentrada a las vías aéreas y los pulmones provocando inflamación masiva de estos a nivel epitelial, apoptosis celular etc. Estudios recientes como el de Bermejo-Martín JF y col. (2009) sugiere un papel fundamental de ciertas citoquinas (Th1 y Th17) liberadas durante la infección, asociadas a la inmunidad celular y vinculadas a la patogenia de las enfermedades autoinmunes / inflamatorias pero que su papel requiere mayor investigación para dilucidar su beneficio o perjuicio en la enfermedad grave. Otro estudio de este mismo autor (2010) sugiere

una alteración del desarrollo de la inmunidad adaptativa provocando un ciclo incesante de la replicación viral y la liberación de citoquinas. Los autores concluyen que una interrupción de este ciclo podría mejorar la evolución de la enfermedad. En algunos estudios se ha relacionado la activación de síntesis y posterior liberación de ERO, entre otras sustancias, los cuales podrían jugar un rol en la sintomatología y patología del virus influenza (Peterhans E y col.; 1987; Peterhans E.; 1997). Entre ellos el supéroxido y el peróxido de oxígeno juegan un papel fundamental como moléculas patogénicas en la neumonía por influenza en ratones (Oda T y col.; 1989, Maeda H y col.; 1991; Akaike T y col.; 1996).

En un estudio en cultivos celulares de la vías respiratorias humanas (Jacoby D y col.; 1994) se ha observado que el virus activa la expresión de los genes de la enzima Mn-SOD y del indolamino dioxigenasa, pero no afecta la expresión del gen correspondiente a la CuZn-SOD y además provoca una disminución de la expresión del gen de la CAT. Sin embargo, en otro estudio con líneas celulares se ha evidenciado que en la inducción selectiva de ARNm de antioxidantes específicos con diferentes oxidantes existe una inducción significativa y positiva en el gen correspondiente a la CAT, mientras que en el gen de la CuZn-SOD no hay cambios en su expresión y en el gen de la GPx sí se aprecia inducción detectable pero frente a elevadas concentraciones de oxidante (Shull S y col.; 1991).

En relación a estudios en seres humanos no hay evidencia bibliográfica relacionada con el estrés oxidativo en la neumonía por este nuevo virus. Sin embargo, se han realizado estudios en ratones inoculados con el virus Influenza A, en los cuales se ha observado que este virus aumenta la expresión de ciertos genes antioxidantes en el pulmón, como el ARNm de la enzima GPx. Por el contrario, no se observó ningún cambio en los genes activadores de la CAT y la CuZn-SOD (Choi AM y col.; 1996). En otro estudio en el cual se utilizaron modelos de ratones inyectados con virus influenza A se observó que no hubo alteraciones significativas en las actividades de CAT, CuZn-SOD ni GPx así como tampoco se evidenciaron cambios en los niveles de GSH total, GSH reducido ni GSSG (Suliman HB y col.; 2001). Hennem T y col. (1992) han observado también que los niveles de la relación GSSG/GSH no variaban durante el periodo de infección. Por otra parte, un estudio (Shi XL y col.; 2010) sugiere que el tratamiento con CAT humana recombinante en ratones inoculados con el virus Influenza (H1N1)v podría ser potencialmente efectivo para tratar la neumonía.

La acción del virus de la influenza A en la patogénesis de la infección pulmonar en humanos aún no está completamente aclarada. Por ello, el conocimiento del comportamiento de los diferentes componentes de los sistemas antioxidantes y el grado de daño oxidativo que pueden producir los RLO en una situación de estrés oxidativo, podría ayudar a dilucidar mejor la presentación clínica de esta grave enfermedad.

1.3.3. Estrés oxidativo en el infarto agudo de miocardio

El infarto agudo de miocardio (IAM) se caracteriza por una inadecuada o nula perfusión del tejido miocárdico, con la consecuente isquemia o necrosis tisular. Si se restaura el flujo después de la isquemia, se produce una fase de reperfusión de la zona isquémica y es durante esta etapa, en la que se produce una restauración parcial o completa de flujo de sangre oxigenada. La llegada de oxígeno al tejido previamente isquémico conlleva una producción elevada de superóxido, fuente principal de RLO que provoca un desbalance en los procesos oxidante/antioxidante, siendo el resultado final un estado de estrés oxidativo (Loeper J y col.; 1991; Surekha RH y col.; 2007; Garelnabi M y col.; 2010) con evidente daño oxidativo, debido a una disminución del sistema protector antioxidante y a un aumento en la peroxidación lipídica (Mužáková V y col.; 2000; Giordano FJ y col.; 2005; Loeper J y col.; 1991; Rebrotá TY y col.; 2008), ésta última como consecuencia de la acción de los radicales libres sobre las membranas biológicas. Otro estudio (Bagatini MD y col.; 2011) midió las defensas antioxidantes enzimáticas y no enzimáticas en tres grupos de pacientes (con IAM, con riesgo de IAM y grupo control de individuos sanos) observando un aumento de las enzimas SOD y la CAT en los grupos con IAM y con riesgo al compararlos con el grupo control. De forma contraria, encontraron una disminución en los niveles del sistema antioxidante no enzimático.

Existen estudios, como el de Zhu MT y col. (2010), donde han observado que el estrés oxidativo también actúa como mecanismo importante de participación en el proceso de apoptosis de las células endoteliales, las cuales tienen un papel clave en las enfermedades vasculares, como es el infarto de miocardio.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

HIPÓTESIS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

2. HIPÓTESIS

La producción de radicales libres es uno de los mecanismos de acción implicados en la patogenia de la neumonía grave, así como en otras patologías no infecciosas (en nuestro caso en particular el IAM). La diferente magnitud que alcanza la inflamación sistémica y la oxidación en los pacientes, surge como consecuencia de los distintos niveles de agresión existentes entre la patología infecciosa y no infecciosa. Es probable, que entre las etiologías de infección bacteriana o viral y el infarto agudo de miocardio, los niveles de oxidación sean también diferentes por las bases fisiopatológicas involucradas en estas entidades. Evidenciar que existe una clara asociación entre el aumento de la producción de RLO y/o disminución de los componentes del sistema de defensa (estrés oxidativo) con el curso clínico de estas patologías, posibilita un mejor conocimiento de las mismas para intentar influir positivamente en la evolución clínica de los pacientes severamente afectados.

Por lo tanto, la hipótesis de nuestro trabajo es:

El nivel de estrés oxidativo, medido a través de diferentes biomarcadores en sangre, se asocia con la evolución de los pacientes con neumonía grave ingresados en UCI.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

OBJETIVOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

3. OBJETIVOS

■ **Objetivo primario**

1. Determinar el comportamiento de estrés oxidativo, valorado mediante diferentes biomarcadores antioxidantes y de daño celular en sangre, en tres momentos de la evolución de la patología (a las 24 hs de ingreso a UCI, a las 72 horas de tratamiento y al alta de UCI) y su relación con la evolución de la enfermedad en pacientes de UCI con neumonía grave. Se compara este comportamiento con el observado en pacientes con estrés oxidativo secundario a patología no infecciosa (infarto agudo de miocardio).

■ **Objetivos secundarios**

2. Determinar si los valores de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo en sangre (al ingreso en UCI, a las 72 horas de tratamiento y al alta de UCI) son diferentes entre los pacientes que sobreviven respecto de aquellos que fallecen.
3. Estudiar la relación entre el nivel de biomarcadores de estrés oxidativo en sangre y el síndrome de disfunción multiorgánica mediante el SOFA score como expresión del grado de estrés oxidativo en diferentes órganos.
4. Estudiar la relación entre el nivel de biomarcadores de estrés oxidativo y la magnitud de la gravedad general mediante el APACHE II score.
5. Estudiar la relación entre el nivel de biomarcadores de estrés oxidativo y la magnitud del síndrome de respuesta inflamatoria sistémica mediante el SIRS score.
6. Determinar si los valores de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo en sangre (al ingreso en UCI, a las 72 horas de tratamiento y al alta de UCI) son diferentes según la etiología bacteriana o viral de la neumonía y respecto de los pacientes considerados controles (infarto agudo de miocardio).

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

MATERIAL Y MÉTODOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

4. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1. DESCRIPCIÓN DE LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

Se realizó un estudio prospectivo, observacional, de cohorte, no ciego, que incluyó a pacientes admitidos en la Unidad de Cuidados Intensivos (UCI) del Hospital Universitario Joan XXIII que cumplieron los criterios de inclusión establecidos. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del hospital y cumplió las guías éticas de Declaración de Helsinki de 1975.

Criterios de Inclusión

Los pacientes fueron incluidos si cumplían los siguientes criterios:

- a. Evidencia de neumonía [neumonía grave comunitaria (NGC) y/o neumonía asociada a ventilación Mecánica (NAV)] con menos de 24 hs desde la sospecha en el diagnóstico o evidencia de Infarto Agudo de Miocardio (IAM) con menos de 24 hs de inicio de los síntomas.
- b. Edad entre 18 y 80 años.
- c. Expectativa de vida superior a 3 meses.
- d. Firma del consentimiento informado. (Apéndice)

Criterios de Exclusión

Los siguientes pacientes fueron excluidos del estudio:

- a. Menores de 18 años o mayores de 80 años.
- b. Embarazo
- c. Foco de sepsis oculto
- d. Muerte inminente
- e. Patologías crónicas en estado terminal
- f. Falta de consentimiento informado.

- g. Tratamientos concomitantes que interfieran en la producción o metabolización de radicales libres, como N-acetil-cisteína, Vitamina C, Vitamina E, etc., así como drogas con propiedades antioxidantes conocidas.
- h. Ausencia de alguno de los criterios de inclusión.

Una vez incluidos en el protocolo, los pacientes fueron asignados al **GRUPO DE ESTUDIO** (neumonía grave) o al **GRUPO CONTROL** (Infarto Agudo de Miocardio) de acuerdo a su diagnóstico de ingreso. Ambos grupos se incluyeron dentro del término definido "**POBLACIÓN DE ESTUDIO**".

Criterios de elección del grupo control

En el presente trabajo elegimos a pacientes con IAM como controles ya que los mismos presentan una patología aguda no infecciosa, de origen vascular isquémico, que condiciona una respuesta sistémica inflamatoria con producción de RLO y daño secundario emparejados por la edad (± 5 años), el sexo y el tiempo de inicio de la patología aguda considerada (24 hs). Diversos estudios (Stepovaya EA y col; 2010; Fabian E y col.; 2011) han considerado a los individuos sanos como el grupo control. A nuestro entender, los individuos sanos no parecen ser el mejor grupo control para nuestros objetivos, ya que en ellos el estrés oxidativo es mínimo, y la comparación con pacientes con neumonía en la cual se evidencia un aumento de los niveles de estrés oxidativo, no aportará datos de interés. Así, en el presente estudio se intenta valorar diferentes grados de intensidad del estrés oxidativo (infeccioso o no infeccioso) y su relación con la evolución posterior.

4.2. VARIABLES DETERMINADAS

Se registraron los siguientes datos en todos los pacientes incluidos en el estudio:

- a. Variables clínicas: edad, sexo, motivo de ingreso a UCI, comorbilidades, APACHE II -*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*- (Knaus W y col.; 1985) a las 24 hs de ingreso en UCI, Systemic Organ Failure Assessment (SOFA-Vincent JL y col.; 1996), Systemic Inflammatory Response Syndrome (SIRS- Levy MM y col.; 2003).
- b. Variables de laboratorio: hematocrito y hemoglobina. Determinación en plasma de: glutatión oxidado (GSSG P), glutatión reducido (GSH P), productos de la peroxidación lipídica (TBARS P). Determinación en eritrocitos de: superóxido dismutasa (SOD), catalasa (CAT), glutatión oxidado (GSSG E), glutatión reducido (GSH E), glutatión reductasa (GR), glutatión peroxidasa (GPx) y productos de lipoperoxidación (TBARS E). Además, se determinaron las relaciones GSSG/GSH, SOD/CAT y SOD/(CAT+GPx) por considerarse formas adecuadas de valorar el sistema antioxidante.

Debido a la actuación sinérgica entre las enzimas GPx y GR, y que la actividad de ambas requiere de la presencia de los sustratos GSH y GSSG, definimos a estos cuatro componentes como sistema glutatión redox.

Metodología para el cálculo de los scores clínicos:

SOFA score

SOFA (*Systemic Organ Failure Assessment*): indicador de la funcionalidad orgánica que considera seis parénquimas para su control (respiratorio, coagulación, hepático, cardiovascular, sistema nervioso central y renal) con un rango de puntuación de 1 a 4 puntos para cada variable, según se alejen de modo más notorio de los valores normales. La mortalidad se incrementa a medida que lo hace el SOFA (Vincent JL y col.; 1996). La utilización de este score nos permitirá realizar (dentro de las limitaciones de cualquier score) una valoración más objetiva del daño oxidativo en los diferentes órganos considerados.

Variables	SOFA score			
	1	2	3	4
Respiración PaO ₂ /FiO ₂	< 400	300	< 200*	< 100*
Coagulación Plaquetas,10 ³ /μl	< 150	< 100	< 50	< 20
Hígado:Bilirrubina mg/dl μmol/L	1,2-1,9 20-32	2,0-5,9 33-101	6,0-11,9 102-204	> 12,0 > 204
Cardiovascular** Hipotensión	TAM < 70	Dopa ≤ 5, ó Dobutam cualquier dosis	Dopa > 5, ó Adrenalina ≤ 0,1 ó Norad ≤ 0,1	Dopa > 15 ó Adren < 0,1 ó Norad > 0,1
SNC Glasgow coma scale	13-14	10-12	6-9	< 6
Renal: creatinina mg/ dl μmol/L	1,2-1,9 110-170	2,0-3,4 171-299	3,5-4,9 300-440	> 5 > 440

TAM: Tensión arterial media. * Con soporte respiratorio; ** Agentes adrenérgicos administrados al menos 1 hora (las dosis son en μg/Kg/min). Dopa: dopamina; Norad: noradrenalina; SNC: sistema nervioso central; PaO₂: presión arterial de oxígeno; FiO₂: fracción inspiratoria de oxígeno.

APACHE II score

APACHE II (*Acute Physiology and Chronic Health Evaluation*): indicador inespecífico de gravedad, que se obtiene de considerar el peor valor de las primeras 24 hs de parámetros fisiológicos, al cual se suma un puntaje por enfermedades y edad. A medida que aumenta el valor de este indicador se incrementa de igual manera la mortalidad (Knaus W y col.; 1985).

APS: *Acute Physiology Score*: Se evalúan los peores valores de las primeras 24 horas de ingreso en UCI, o desde el ingreso al Hospital o a Urgencias.

Variable fisiológica	4	3	2	1	0	1	2	3	4
Temperatura	>40,9	39-40,9		38,5-38,9	36-38,4	34-35,9	32-33,9	30-31,9	< 30
TA media	> 159	130-159	110-129		70-109		50-69		< 50
Frecuencia cardiaca	> 179	140-179	110-139		70-109		55-69	40-54	< 40
Frecuencia respiratoria	>49	35-49		25-34	12-24	10-11	6-9		< 6
$D_{A-a}O_2$ a $FiO_2 \geq 0,5$	> 500	350-499	200-349		< 200				
P_aO_2 $FiO_2 < 0,5$					≥ 70	61-70		55-60	< 55
pH arterial	> 7,69	7,6-7,69		7,5-7,59	7,33-7,49		7,25-7,32	7,15-7,24	< 7,15
Sodio sérico	> 179	169-179	155-159	150-154	130-149		120-129	111-119	< 111
Potasio sérico	> 6,9	6-6,9		5,5-5,9	3,5-5,4	3-3,4	2,5-2,9		< 2,5
Creatinina Sérica	> 3,45	1,92-3,43	1,46-1,91		0,59-1,45		< 0,59		
Hematocrito	> 60		50-59,9	46-49,9	30-45,9		20-29,9		< 20
Leucocitos (10^3)	> 40		20-39,9	15-19,9	3-14,9		1-2,9		< 1
Glasgow Coma Score Puntos= 15-GCS									
HCO_3 (si no GA)	> 52	41-51,9		32-40,9	23-31,9		18-21,9	15-17,9	< 15

Puntuación APS:..... puntos

ECS: Evaluación del estado crónico de salud:

- a. Pacientes no quirúrgicos o con emergencia post-operatoria= **5 puntos**
- b. Pacientes en post-operatorio electivo = **2 puntos**

1. HEPATOPATÍAS: Cirrosis hepática demostrada por biopsia o hipertensión portal bien documentada. Episodio de hemorragia digestiva por hipertensión portal. Episodios previos de fallo hepático/encefalopatía/coma.
2. CARDIOVASCULAR: New York Heart Association Class IV

3. RESPIRATORIO: Enfermedad obstructiva, restrictiva o vascular crónica que produce restricción física grave (incapacidad para subir escaleras o realizar trabajos domésticos) o estado crónico documentado de hipoxia, hipercapnia, policitemia secundaria, hipertensión pulmonar grave ($> 40\text{mmHg}$) o dependencia de un respirador.
4. RENAL: Paciente sometido a hemodiálisis crónica.
5. INMUNOCOMPROMISO: El paciente ha recibido tratamiento que suprime la resistencia a la infección: inmunosupresión, quimioterapia, radiación, altas dosis recientes de esteroides o durante periodos prolongados o presenta una enfermedad suficientemente avanzada para suprimir la resistencia a la infección (leucemia, linfoma, SIDA)

Puntuación ECS:..... puntos

Puntuación por edad:

0	2	3	5	6
<45 años	45-54 años	55-64 años	65-74 años	> 75 años

Puntuación edad:..... puntos

PUNTUACIÓN TOTAL APACHE II (APS + ECS + EDAD):..... PUNTOS

SIRS score

SIRS (*Systemic Inflammatory Response Syndrome*): respuesta sistémica inespecífica ante una agresión que se manifiesta por dos o más de las siguientes condiciones (Levy MM y col.; 2003):

Criterios diagnósticos		Puntos
Temperatura central (°C)	>38 o < 36	1
Frecuencia cardiaca (L/min)	> 90	1
Frecuencia respiratoria (r/min)	> 20 ó PaCO ₂ < 32mmHg	1
Leucocitos	> 12.000/mm ³ ó < 4.000/mm ³ ó > 10% formas inmaduras	1

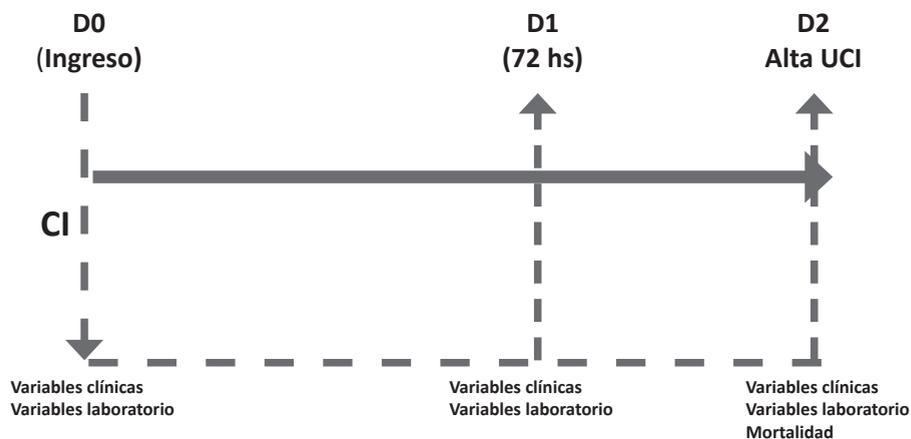
(Bone RC y col.; 1995). °C: Grados centígrados; L/min: latidos por minuto;
r/min: respiraciones por minuto.

4.3. PLAN DE TRABAJO

Una vez que el paciente (ó familiar ó representante legal) firmó el consentimiento informado y fue asignado al grupo *de estudio* o al grupo *control*, se determinaron las variables clínicas antes mencionadas y luego se extrajeron muestras de sangre al ingreso a UCI (D0), a las 72 hs (D1) y al alta de UCI (D2) para la posterior determinación de los parámetros de estrés oxidativo así como los correspondientes hematocrito y hemoglobina.

El seguimiento de los pacientes se realizó hasta el alta de UCI. Figura 4.3.

Figura 4.3. Plan de Trabajo.



CI: Consentimiento Informado

4.4. OBTENCIÓN, PROCESAMIENTO Y CONSERVACIÓN DE LAS MUESTRAS

4.4.1. Sangre total obtenida con tubo con Heparina-Litio

Se extraen 5 ml de sangre en un tubo heparinizado, se centrifugan durante 15 minutos a 850 xg y a 4 °C con el fin de separar los eritrocitos del plasma. A continuación se extrae la fase leucocitaria (la cual se descarta) del paquete globular. Sobre éste último se realizan 2 lavados con suero fisiológico centrifugando a 1300 xg durante 5 minutos a 4 °C cada ciclo de lavado.

Una cuarta parte de los eritrocitos lavados se resuspenden en PBS en una dilución 1:20 (PBS: 8 g/L NaCl Prolabo-ref. 27810295, 0,2 g/L KCl Panreac-ref. 141494, 2 g/L Na₂HPO₄ Panreac-ref.131679, 0,15 g/L KH₂PO₄ Panreac-ref.131509, pH: 7,4).

El volumen restante de los eritrocitos lavados se lisan con 20 volúmenes de Tampón Na₃PO₄ 10 mM (Na₂HPO₄ Panreac-ref.131679, NaH₂PO₄ Panreac-ref.131677) pH: 6,25 EDTA 1 mM. Una parte de la solución hemolizada se utiliza para obtener las fracciones de GSH, GSSG y TBARS. Se recogen 3 ml de esa solución, se le añade TCA frío al 70%(Ácido Tricloroacético Panreac-ref. 131067), y después de 20 minutos a 4 °C se centrifuga durante 10 minutos a 850 xg a 4 °C. El sobrenadante se conserva a -20 °C para la posterior determinación de los TBARS eritrocitarios y los glutatión reducido y oxidado eritrocitarios.

Se precipitan 2 ml de plasma con TCA frío al 70%, con el fin de extraer las proteínas de la muestra, mantenerlas en un medio ácido y evitar su oxidación. Después de 20 minutos a 4 °C, se centrifuga durante 10 minutos a 850 xg a 4 °C. Se conserva el sobrenadante a -20 °C para la posterior determinación de los glutatión reducido y oxidado plasmáticos.

La sangre entera de este tubo también se utiliza para la determinación de hematocrito y hemoglobina correspondiente.

4.4.2. Sangre total obtenida con tubo con EDTA

Los procedimientos para separar el plasma y eritrocitos de las muestras son los mismos que los explicados en el apartado 4.4.1. , al igual que los lavados de los glóbulos rojos.

Del plasma se toma una alícuota pequeña (80µl), se coloca en tubo tipo *ependorf* y se congela a -20 °C. De aquí se determinarán los TBARS plasmáticos.

De la fracción eritrocitaria lavada, se toman 250 µl y se le añade agua destilada en una dilución 1:20 con el fin de hemolizar los glóbulos rojos y liberar así las enzimas CAT, GPx y GR. Luego, se toman 100µl y se guardan en un *ependorf* conservándolo a -20 °C hasta el momento de la determinación de la CAT. Por otro lado, la GPx y la GR se guardan juntas en un tubo de plástico y conservan también a -20 °C hasta el momento de su determinación.

Del resto de la fracción eritrocitaria, se toman 500 µl, se colocan en un tubo y se congela y descongela 2 veces a -20 °C. Luego se le agregan 2 ml de agua destilada fría para completar la lisis. Posteriormente, se le añade una solución de etanol/cloroformo (en una proporción 6,25: 3,75) con el fin de extraer la hemoglobina, a continuación mezclar vigorosamente y centrifugar durante 5 minutos a 1900 xg a 4 °C. Se conserva el sobrenadante (contiene la superóxido dismutasa) hasta su posterior análisis a una temperatura de 4 °C.

4.5. MÉTODOS UTILIZADOS

4.5.1. Determinación de hematocrito y hemoglobina

Se llenan capilares (por duplicado) con sangre entera, luego se centrifugan durante 2 minutos a temperatura ambiente.

Luego, los resultados se expresan como porcentaje de eritrocitos en sangre total.

El objetivo de la determinación de la Hb es referir los valores de los demás parámetros por gramo de Hb.

Para la determinación de hemoglobina se toman 20 μ l de sangre entera y se le añade 5 ml de reactivo de Drabkin (QCA ref. 994933). Se deja la mezcla reposar durante 20 minutos a temperatura ambiente. Pasado ese tiempo se leen las muestras (por duplicado) en un espectrofotómetro (Perkin Elmer Lambda 2) a una longitud de onda de 540 nm. Se realiza una recta estándar como fuente de extrapolación.

El resultado se expresa como gramos de hemoglobina por cada 100 ml de sangre total.

4.5.2. Metodología para la determinación de daño oxidativo

4.5.2.1. Determinación de los productos de peroxidación lipídica

Los TBARS se determinan con el método de Buege JA y col. (1978) pero con la variación de la técnica de Richard MJ y col. (1992) en su determinación a través de la fluorimetría con un espectrofluorímetro Perkin Elmer LS 50B a 515 nm (longitud de onda de excitación) y 548 nm como longitud de onda de emisión.

El primer paso es diluir todas las muestras con suero fisiológico. Para los eritrocitos se hace una dilución 1:2 mientras que para el plasma es 1:50. En segundo lugar se añade a 1 ml de la muestra diluida 2 ml de una solución TCA-TBA-HCl (ácido tricloroacético 15%, ácido tiobarbitúrico al 0,375%- Merck ref.8180, y ácido clorhídrico 0,25 N Probus ref. 17750 35%), se mezcla en vortex y luego se deja 15 minutos con agua a ebullición, pasado ese tiempo se enfría rápidamente con hielo. Luego se centrifuga durante 10 minutos a 1900 xg a 4 °C. Como paso final se recoge el sobrenadante y se lee en el fluorímetro.

De forma paralela al de las muestras, se realiza una recta patrón a diferentes concentraciones (estándar utilizado: bis-dietilacetal malonaldehído; $d=0,92$ kg/L). De esta manera se determinan después las concentraciones de las muestras.

Los resultados se expresan en nmol/g Hb y nmol/ml plasma (TBARS eritrocitarios y plasmáticos respectivamente).

4.5.3. Metodología para la determinación de los sistemas antioxidantes

4.5.3.1. Superóxido Dismutasa

La técnica utilizada para medir la actividad enzimática de la SOD se basa en la autooxidación de la epinefrina (Misra HP y col.; 1972).

La epinefrina en un medio alcalino se autooxida formándose los superóxidos. Estos oxidan la epinefrina generando así el adenocromo como producto final. Esta reacción puede seguirse en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 480 nm.

La superóxido dismutasa transforma los superóxidos en peróxido de hidrógeno y oxígeno inhibiendo así la formación de los adenocromos.

Lo que se debe evaluar en primer término es la curva de autooxidación de la epinefrina. Para esto se deben seguir los siguientes pasos: se mezclan 2,5 ml de tampón Na_2CO_3 (Merck-ref.6392) con NaHCO_3 50 mM pH: 10,2 (Probus-ref.2030) más EDTA (Titriplex® III Merck-ref.8418.0100) 0,1 mM con 300 μl de agua bidestilada y 200 μl de epinefrina 6 mM (Sigma-ref.E-4375) en HCl 1 mM. La lectura se hace cada 40 segundos durante 23 minutos a 30 °C en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 2 a 480 nm.

A continuación, se preparan las diluciones convenientes de la muestra para lograr una concentración tal que inhiba el 50% de la formación de adenocromo (IC_{50}). Las mezclas para la lectura en el espectrofotómetro se preparan de la siguiente manera: 2,5 ml de tampón más 300 μl de las diluciones correspondientes más 200 μl de epinefrina. El procedimiento de lectura es el descrito anteriormente.

Los resultados se expresan en UI/g Hb.

IC_{50} : es la cantidad de hemolizado que inhibe (en medio alcalino) en un 50% la transformación de epinefrina en adenocromo. La Hb correspondiente

a esa cantidad de hemolizado sirve para definir la actividad de la SOD, y se toma como unidad. Así, una unidad de enzima (U) es la cantidad equivalente de Hb que puede inhibir en un 50% la reacción.

4.5.3.2. Catalasa

La actividad enzimática de la catalasa se determina a través del Método de Cohen G (1970).

Antes de comenzar la técnica se hace una segunda dilución (la primera era 1:20 hecha previo a congelar la muestra) de 1:5 con agua destilada.

Se mezcla en una cubeta de cuarzo: 2,98 ml de peróxido de hidrógeno 19 mM (H_2O_2 Merck-ref.8599) y tampón fosfato potásico 100 mM ($KH_2PO_4 - K_2HPO_4$) pH: 7,5 con 20 μ l de muestra.

Se hacen las lecturas en un espectrofotómetro (Perkin Elmer Lambda 2) a 240 nm. Lo que interesa es ver grado de desaparición del H_2O_2 a los 30 segundos (disminución de la densidad óptica; coeficiente de extinción molar $0,0436 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

En base a esto se calcula la disminución/minuto, expresando los resultados en mmol/min/g Hb (como referencia a los mmol de H_2O_2 transformados).

4.5.3.3. Glutación Peroxidasa

La determinación de esta enzima se basa en la valoración del nivel de desaparición del NADPH o $NADP^+$. El método ha sido descrito por Wheeler CR y col. (1990). También se determina la actividad de la GR con este método.

Se prepara la siguiente mezcla de lectura en una cubeta de 3 ml: 1,8 ml de tampón fosfato potásico (KH_2PO_4 Panreac-ref. 131509 / K_2HPO_4 Probus-ref. 1461) 100 mM pH: 7,5 EDTA 0,5 Mm con 120 μ l de hemolizado 1:20. Después se agregan 30 μ l de NADPH (Sigma ref.N-7505) 20 mM y 100 μ l de GSH 60 mM más 4 μ l de GR (GR Fluka re.49755) que aportan 1U de GR por cubeta.

Se deja incubar la mezcla durante 5 minutos a 37 °C y a continuación se agregan 100 μ l de hidroperóxido de Cumeno (Sigma ref.B-2633) 36 mM.

A continuación se hacen las lecturas en un espectrofotómetro (Perkin Elmer Lambda 2) a una longitud de onda de 340 nm, siendo las mismas cada

minuto durante 5 minutos. Esto permite medir la desaparición del NADPH (coeficiente de extinción molar $6,22 \text{ mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$).

Los cálculos se basan en la disminución/minuto y los resultados se expresan en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$ (μmol de NADPH transformados).

4.5.3.4. Glutación Reductasa

Se prepara la siguiente mezcla de lectura en una cubeta: 1,8 ml de tampón fosfato potásico (KH_2PO_4 Panreac-ref. 131509 / K_2HPO_4 Probus-ref. 1461) 100 mM pH: 7,5 EDTA 0,5 Mm más 120 μl del hemolizado 1:20 y 100 μl de GSSG 75 mM.

Se deja incubar la mezcla durante 5 minutos a 37 °C. Pasado este tiempo, se agregan 30 μl de NADPH, a lo cual se lee en el espectrofotómetro en iguales condiciones que para la glutación peroxidasa.

Se mide la formación de NADP^+ . Este se forma a partir de NADPH durante la reducción del GSSG (Goldberg DM y col.; 1983).

Se calcula el incremento/minuto y los resultados se expresan en $\mu\text{mol}/\text{min}/\text{g Hb}$ (μmol de NADP^+ generados).

4.5.3.5. Glutación reducido/oxidado

En base al método de Hissin PJ y col. (1976), se miden fluorimétricamente (espectrofluorímetro Perkin Elmer LS 50B) GSSG y GSH. Las longitudes de onda utilizadas son: longitud de onda de excitación: 350 nm, longitud de onda de emisión: 420 nm.

GSH:

El GSH reacciona con O-phtalaldehído (OPT Merck-ref.11452) a un pH igual a 8. Se diluye la muestra (congelada en medio ácido) 1:10 con tampón fosfato sódico (Na_2HPO_4 Panreac -ref.131679/ NaH_2PO_4 Panreac-ref.131677) pH: 8 100 mM y EDTA 5 mM. Se hace una segunda dilución (1:20) en la cubeta de reacción (100 μl de muestra más 1,8 μl de tampón fosfato sódico) y se mezcla 100 μl de OPT. Se deja incubar la mezcla durante 15 minutos a temperatura ambiente, y por último se realiza la lectura en espectrofluorímetro en las condiciones antes detalladas.

GSSG:

El GSSG reacciona también con OPT, pero en este caso es a un pH de 12. Pero hay que tener una cosa muy en cuenta y es que el GSH en condiciones alcalinas, pH mayores de 8, se oxida y provoca así un aumento en el valor de GSSG. Por tanto, se incuba previamente la muestra en la cual mediremos el GSSG, con N-etil-maleimida (NEM Merck-re.1308) durante 25 minutos, el cual impide la oxidación del GSH. Seguidamente, para aportar el medio alcalino necesario, se diluye la muestra 1:10 con tampón NaOH 0,1 N. El paso siguiente es volver a diluir la muestra, 1:20. Se le agrega OPT. A partir de aquí los pasos a seguir son los mismos que los hechos para el GSH.

Se realiza en paralelo una recta estándar (GSH: Sigma G-4251, PM: 307,3; GSSG: Sigma G-4501, PM: 612,6) para validar los resultados obtenidos, y poder así determinar la concentración de las muestras.

Los resultados se expresan en $\mu\text{mol/g Hb}$ y nmol/ml . Si se hace el cociente entre GSSG y GSH se obtiene la relación de ambos.

4.6. CÁLCULO DEL TAMAÑO MUESTRAL

Dado que en la búsqueda bibliográfica realizada no he encontrado datos sobre poblaciones similares a la del presente trabajo y, con la finalidad de realizar un cálculo aproximado del tamaño de la muestra de la población a incluir para obtener significación, he considerado el estudio de Duflo F y col. (2002), quienes evidenciaron al comparar pacientes post-operatorios con pacientes que desarrollan neumonía asociada a la ventilación mecánica, una diferencia de TBARS plasmáticos de $1,6 \pm 1,0 \mu\text{mol/L}$ a favor de la patología infecciosa. Considerando esta diferencia de medias y un error alfa de 0,05 para un poder del 80%, el número de pacientes necesarios de incluir para obtener significación es de 8 por cada brazo.

4.7. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados se trataron de forma estadística con el Programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) 11.0 para Windows. Se realizaron los siguientes análisis:

- **Descriptivos:** las variables dicotómicas se expresan como porcentajes y las variables continuas como medias con su correspondiente desviación estándar (DE), medianas, mínimos, máximos y percentiles 25% y 75%.
- **Prueba “chi” cuadrado:** la comparación de variables categóricas entre los grupos fueron valoradas mediante “chi” cuadrado o Test exacto de Fisher según corresponda, estableciéndose un nivel de significación $\leq 0,05$.
- **Prueba “t” de Student:** la comparación de variables continuas entre los grupos fue valorada mediante la prueba de “t” o “U” de Mann-Whitney según corresponda, estableciéndose un nivel de significación $\leq 0,05$.
- **Correlaciones bivariadas:** para evaluar la fuerza de asociación entre las variables se realizó la correlación de Pearson (r) o Spearman (Rho). Para una aproximación visual del grado de correlación entre las dos variables, se realizó el gráfico de dispersión o nube de puntos. Si el valor de “r” fue menor de 0,30 la asociación se consideró débil, si se obtuvo un valor entre 0,30 y 0,70 la asociación se consideró moderada y si fue superior a 0,70 la asociación se consideró como fuerte.

La prueba de significación ha sido bilateral ya que no se conocía previamente la dirección de asociación entre variables.

- **Regresión Lineal Simple:** con la finalidad de valorar si la relación existente entre dos variables observadas mediante la correlación tiene un comportamiento lineal, se realizó regresión lineal simple, la cual proporciona coeficientes para ajustar una línea recta a los diversos pares de valores que proporcionan cada individuo de la muestra. Se determinó el coeficiente beta 1 como la pendiente de la recta y se valoró el ajuste del modelo lineal mediante el llamado coeficiente de determinación (R^2).
- **Análisis Multivariante de la varianza (MANOVA):** es una extensión de ANOVA para cubrir los casos donde hay más de una variable

dependiente que no pueden ser combinada de manera simple. Además de identificar si los cambios en las variables independientes tienen efectos significativos en las variables dependientes, la técnica también intenta identificar las interacciones entre las variables independientes y su grado de asociación con las dependientes.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

RESULTADOS

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

5. RESULTADOS

5.1. CARACTERÍSTICAS GENERALES DE LOS PACIENTES QUE INGRESAN A UCI INCLUIDOS EN EL ESTUDIO (población de estudio)

Se incluyeron un total de 33 pacientes en la población de estudio (27 hombres y 6 mujeres,) de los cuales 21 corresponden al grupo de estudio (neumonía grave) y 12 al grupo control (IAM). Las características generales de la población de estudio al ingreso en UCI se detallan en la Tabla 5.1.

Tabla 5.1. Características generales de los pacientes incluidos en el estudio (n=33).

VARIABLES	VALORES
Edad en años, media (DE)	58,9 (15,7)
APACHE II, media (DE)	13,3 (6,0)
SOFA, media (DE)	4,9 (3,6)
SIRS, media (DE)	2,2 (1,2)
Mortalidad UCI, n (%)	6 (18,2)
Mortalidad Hospital, n (%)	8 (24,2)
Sexo Masculino, n (%)	27 (81,8)
Neumonía grave, n (%)	21 (63,6)
IAM, n (%)	12 (36,4)

Los valores están expresados en medias (DE: desviaciones estándares) y porcentajes (%) correspondientes a las características generales de la población de estudio (grupo de pacientes con neumonía grave y grupo de pacientes con infarto agudo de miocardio-IAM-) al ingreso a UCI; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome; n: número de individuos.

5.1.1. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes incluidos en el estudio

La Tabla 5.1.1. resume los valores medios de los principales marcadores biológicos de estrés oxidativo hallados en los grupos de estudio y control al ingreso en UCI.

Tabla 5.1.1. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes incluidos en el estudio al ingreso en UCI (n=33).

BIOMARCADORES	MEDIA (DE)
ERITROCITOS	
TBARS (nmol/g Hb)	2,1 (1,4)
GSH (μ mol/g Hb)	2,8 (1,2)
GSSG (μ mol/g Hb)	1,3 (0,5)
GSSG/GSH	0,8 (0,9)
GR (μ mol/min/g Hb)	4,0 (2,9)
GPx (μ mol/min/g Hb)	27,1 (10,7)
SOD (U/g Hb)	1881,8 (798,0)
CAT (mmol/min/g Hb)	224,0 (56,7)
SOD/CAT	9,1 (4,9)
SOD/(CAT+GPx)	8,2 (4,6)
PLASMA	
TBARS (nmol/ml)	1,5 (0,8)
GSH (nmol/ml)	23,1 (10,7)
GSSG (nmol/ml)	16,6 (9,9)
GSSG/GSH	1,0 (0,9)

Los valores de los biomarcadores de la población de estudio (grupo de pacientes con neumonía grave y grupo de pacientes con infarto agudo de miocardio- IAM-) al ingreso a UCI. DE: desviación estándar; n: número de individuos.

5.2. ANÁLISIS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE vs. GRUPO CONTROL

5.2.1. Características generales

Las características generales al ingreso de los pacientes de acuerdo a su pertenencia al grupo de estudio (neumonía grave) y al considerado como control (IAM), se evidencian en la Tabla 5.2.1.

Tabla 5.2.1. Características generales al ingreso en UCI de los pacientes con neumonía grave y los pacientes con IAM.

VARIABLES	NG (n=21)	IAM (n=12)	Valor <i>p</i>
Edad en años, media (DE)	56 (17,6)	64,3 (10,7)	0,10
APACHE II, media (DE)	16,1 (4,4)	8,4 (5,3)	<0,001
SOFA, media (DE)	6,8 (2,8)	1,5 (1,9)	<0,001
SIRS, media (DE)	2,9 (0,7)	0,9 (1,0)	<0,001
Mortalidad UCI, n (%)	6 (28,6)	0 (0)	0,04
Mortalidad Hospital, n (%)	8 (38,1)	0 (0)	0,03
Sexo Masculino, n (%)	17 (81,0)	10 (83,3)	1,02
HÁBITOS Y COMORBILIDADES, n (%)			
Fumador activo	7 (33,3)	3 (12,0)	0,71
Hipertensión arterial	4 (19,0)	6 (50)	0,11
Diabetes Mellitas	4 (19,0)	6 (50)	0,11
Dislipemia	3 (14,3)	6 (50)	0,04
Enfermedad pulmonar crónica	4 (19,0)	2 (16,6)	0,99
Asma	1 (4,7)	0 (0,0)	1,0
Hipotiroidismo	1 (4,7)	0 (0,0)	1,0
Insuficiencia Renal Crónica	1 (4,7)	1 (8,3)	0,99

Medias, desviaciones estándares (DE) y porcentajes (%) correspondientes a las características generales del grupo en estudio (pacientes con neumonía grave-NG) y grupo control (infarto agudo de miocardio-IAM-)al ingreso a UCI; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome; n: número de individuos; p: valor significativo $\leq 0,05$.

Como era de esperar, los pacientes con neumonía grave presentaron características asociadas con una mayor gravedad, las cuales se ponen en evidencia por un mayor compromiso general (valorado mediante el APACHE II score) y con un mayor número de disfunciones orgánicas (valorado mediante el SOFA score). Asimismo, estos pacientes presentaron una mayor respuesta inflamatoria sistémica (SIRS score) que aquellos con IAM. No se observaron diferencias significativas en los criterios utilizados para el emparejamiento (edad y sexo) ni en los hábitos o comorbilidades, a excepción de la dislipemia, que se encontró con mayor frecuencia en el grupo control.

Como se puede observar, la mortalidad al alta de UCI fue superior en el grupo de estudio respecto del grupo control. Así, la neumonía grave se asoció con un 40% más de riesgo de mortalidad (OR= 1,4; 95%IC 1,08-1,83) que el IAM no complicado. La mortalidad al alta del hospital también fue superior en el grupo de estudio con un riesgo superior al 60% (OR= 1.6; 95%IC 1,15-2,25).

5.2.2. Biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso a UCI

Los valores medios de los biomarcadores de estrés oxidativo en los pacientes con neumonía grave (grupo de estudio) y con IAM (grupo control) al ingreso a UCI se muestran en la Tabla 5.2.2.

Tabla 5.2.2. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con neumonía grave y con IAM al ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	NG (n=21)	IAM (N=12)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	2,2 (1,4)	1,7 (1,1)	0,20
GSH E (μmol/g Hb)	2,5 (1,1)	3,3 (1,3)	0,81
GSSG E (μmol/g Hb)	1,3 (0,4)	1,3 (0,7)	0,85
GSSG/GSH E	0,9 (1,0)	0,7 (0,8)	0,43
GR E (μmol/min/g Hb)	4,4 (3,5)	3,3 (1,3)	0,21
GPx E (μmol/min/g Hb)	27,9 (10,5)	26,0 (11,0)	0,52
SOD E (U/g Hb)	1602,3 (598,1)	2370,5 (889,9)	0,006
CAT E (mmol/min/g Hb)	217,6 (51,1)	236,5 (64,8)	0,30
SOD/CAT E	7,9 (3,9)	11,0 (5,0)	0,05
SOD/(CAT+GPx) E	7,2 (3,8)	10 (5,0)	0,08
TBARS P (nmol/ml)	1,6 (0,8)	1,2 (0,5)	0,09
GSH P (nmol/ml)	19,4 (8,4)	29,6 (11,3)	0,007
GSSG P (nmol/ml)	16,2 (8,0)	17,3 (13,1)	0,73
GSSG/GSH P	1,1 (0,8)	0,8 (1,0)	0,34

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n: número de individuos; E: eritrocitario; P: plasmático; IAM: pacientes con Infarto Agudo de Miocardio; NG: pacientes con neumonía grave *p*: valor significativo $\leq 0,05$.

Se ha observado una diferencia significativa en la SOD, un biomarcador importante del sistema antioxidante, presentando valores inferiores en el grupo de los pacientes con neumonía grave con respecto a los controles. A su vez, la relación SOD/CAT evidenció también una disminución significativa en el grupo de estudio. El mismo comportamiento se observó en la relación [SOD/(CAT + GPx)] pero sin alcanzar significancia estadística ($p=0,08$).

También se ha observado una disminución estadísticamente significativa en los niveles de GSH P en el grupo de pacientes con neumonía grave.

5.2.3. Biomarcadores de estrés oxidativo al día 3

Los valores obtenidos de los biomarcadores de los pacientes del grupo de estudio y grupo control IAM, correspondientes al día 3 del ingreso a UCI se detallan en la Tabla 5.2.3.

Tabla 5.2.3. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con neumonía grave y con IAM al día 3 del ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	NG (n=21)	IAM (N=12)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	2,5 (1,6)	2,0 (0,9)	0,33
GSH E (μmol/g Hb)	2,4 (1,3)	3,4 (1,5)	0,08
GSSG E (μmol/g Hb)	1,3 (0,4)	1,3 (0,7)	0,90
GSSG/GSH E	0,9 (1,0)	0,7 (0,8)	0,36
GR E (μmol/min/g Hb)	4,2 (3,5)	2,8 (0,9)	0,08
GPx E (μmol/min/g Hb)	26,1 (10,7)	25,0 (12,0)	0,83
SOD E (U/g Hb)	1764,0 (517,4)	2203,2 (571,4)	0,03
CAT E (mmol/min/g Hb)	245,4 (43,2)	231,3 (44,4)	0,41
SOD/CAT E	7,3 (2,1)	10,1 (3,5)	0,01
SOD/(CAT+GPx) E	6,5 (1,8)	9,1 (3,3)	0,008
TBARS P (nmol/ml)	1,9 (1,0)	1,4 (0,7)	0,11
GSH P (nmol/ml)	20,0 (9,2)	28,0 (10,0)	0,03
GSSG P (nmol/ml)	15,4 (7,1)	16,1 (8,3)	0,72
GSSG/GSH P	1,1 (0,7)	0,7 (0,5)	0,13

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n: número de individuos; E: eritrocitario; P: plasmático; IAM: pacientes con Infarto Agudo de Miocardio; NG: pacientes con neumonía grave *p*: valor significativo $\leq 0,05$.

Como puede observarse, hubo diferencia significativa en los niveles del GSH plasmático, siendo más bajo en los pacientes con neumonía grave con respecto al grupo control, una diferencia que ya se evidenció en el ingreso a

UCI. También hay una tendencia ($p= 0,08$) a la baja del GSH eritrocitario en el grupo de estudio.

A su vez, resultó significativamente diferente el valor de la actividad enzimática de la SOD, observándose valores más bajos en el grupo de estudio. Esta disminución también se observó al estudiar las relaciones SOD/CAT y [SOD/(CAT+GPx)].

La actividad de la GR también está disminuida aunque no de forma significativa ($p= 0,08$), pero esta tendencia en el comportamiento podría explicar la disminución del GSH P.

5.2.4. Biomarcadores de estrés oxidativo al alta de UCI

Los valores obtenidos de los biomarcadores de los pacientes con neumonía grave y los pacientes con IAM, correspondientes al alta UCI se detallan en la Tabla 5.2.4.

Tabla 5.2.4. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes con neumonía grave y con IAM al alta de UCI.

BIOMARCADORES	NG (n=21)	IAM (N=12)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	2,5 (1,6)	2,1 (1,4)	0,62
GSH E (μmol/g Hb)	2,6 (1,4)	3,4 (1,8)	0,30
GSSG E (μmol/g Hb)	1,2 (0,5)	1,3 (0,5)	0,65
GSSG/GSH E	1,0 (1,3)	0,8 (1,0)	0,63
GR E (μmol/min/g Hb)	4,7 (3,7)	2,9 (0,9)	0,08
GPx E (μmol/min/g Hb)	29,4 (10,7)	30 (14,0)	0,92
SOD E (U/g Hb)	2014,7 (774,2)	1846,9 (462,2)	0,52
CAT E (mmol/min/g Hb)	247,1 (72,5)	258,2 (32,8)	0,60
SOD/CAT E	8,5 (3,4)	7,4 (2,7)	0,44
SOD/(CAT+GPx) E	7,6 (3,1)	6,7 (2,6)	0,51
TBARS P (nmol/ml)	1,6 (0,7)	1,3 (0,4)	0,32
GSH P (nmol/ml)	19,6 (8,0)	37,2 (17,0)	0,003
GSSG P (nmol/ml)	14,7 (8,7)	15,0 (7,4)	0,91
GSSG/GSH P	0,9 (0,6)	0,6 (0,6)	0,33

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE) n: número de individuos; E: eritrocitario; P: plasmático; IAM: pacientes con Infarto Agudo de Miocardio; NG: pacientes con neumonía grave *p*: valor significativo ≤ 0,05.

No se han observado diferencias significativas entre los biomarcadores de ambos grupos, salvo en los niveles del GSH plasmático, siendo menor en el grupo de estudio. Además, persiste la misma tendencia a la baja de la GR (*p*= 0,08) que la observada al día 3.

5.3. VARIACIÓN TEMPORAL DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO DE LOS PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE

La comparación entre los valores del primer y tercer día y alta de UCI de los diferentes parámetros de estrés oxidativo en el grupo de estudio se evidencian en la Tabla 5.3.

Tabla 5.3. Tabla comparativa de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso, día 3 y alta de UCI de los pacientes con neumonía grave.

BIOMARCADORES	D0 (n=21) media (DE)	D1 (n=21) media (DE)	ALTA UCI (n=21) media (DE)	Valor <i>p</i>
SISTEMA ENZIMÁTICO				
SOD E(U/g Hb)	1602,3 (598,1)	1764,0 (517,4)	2014,7 (774,2)	0,05
CAT E(mmol/min/g Hb)	217,6 (51,1)	245,4 (43,2)	247,1 (72,5)	< 0,001
SOD/CAT	7,9 (3,9)	7,3 (2,1)	8,5 (3,4)	0,26
SOD/(CAT+GPx)	7,2 (3,8)	6,5 (1,8)	7,6 (3,1)	0,47
GR E(μmol/min/g Hb)	4,4 (3,5)	4,2 (3,5)	4,7 (3,7)	0,83
GPx E(μmol/min/g Hb)	27,9 (10,5)	26,1 (10,7)	29,4 (10,7)	0,07
SISTEMA NO ENZIMÁTICO				
GSH E (nmol/ml)	2,5 (1,1)	2,4 (1,3)	2,6 (1,4)	0,16
GSSG E (μmol/g Hb)	1,3 (0,4)	1,3 (0,4)	1,2 (0,5)	0,09
GSSG/GSH E	0,9 (1,0)	0,9 (1,0)	1,0 (1,3)	0,68
GSH P(nmol/ml)	19,4 (8,4)	20,0 (9,2)	19,6 (8,0)	0,85
GSSG P(nmol/ml)	16,2 (8,0)	15,4 (7,1)	14,7 (8,7)	0,06
GSSG/GSH P	1,1 (0,8)	1,1 (0,7)	0,9 (0,6)	0,02
MARCADORES DE LIPOPEROXIDACIÓN				
TBARS E (nmol/g Hb)	2,2 (1,4)	2,5 (1,6)	2,5 (1,6)	0,30
TBARS P (nmol/ml)	1,6 (0,8)	1,9 (1,0)	1,6 (0,7)	0,93

Medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores en el grupo de estudio (neumonía grave) al ingreso a UCI (D0), 72horas (D1) y al alta de UCI. E: eritrocitos; P: plasma. La n es el número de individuos. Valor significativo $p \leq 0,05$ MANOVA Test.

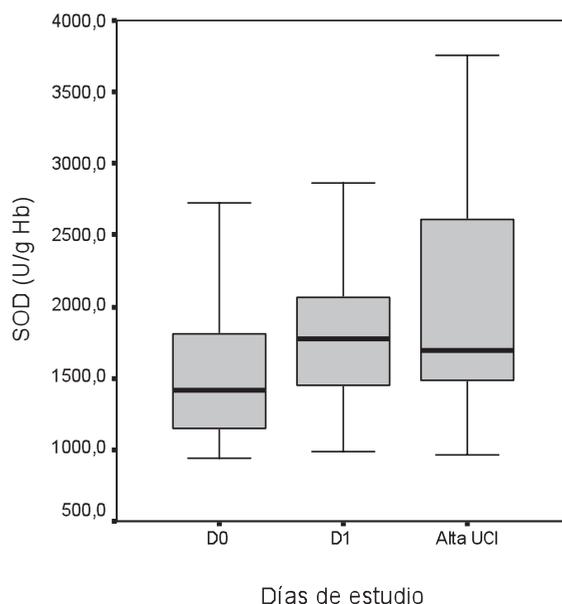
Se evidenciaron diferencias significativas en las actividades de las enzimas SOD y CAT y en la relación GSSG/GSH P. Paralelamente a la disminución de esta relación, se observó una tendencia a la baja de los niveles plasmático ($p=0,06$) y eritrocitario ($p=0,09$) del GSSG.

A continuación, mostraremos, de forma gráfica, las variaciones temporales de los biomarcadores que lograron significación estadística para una mejor comprensión visual de su comportamiento.

5.3.1. Variación temporal de la SOD

La actividad de la SOD evidenció un incremento significativo desde el día de ingreso hasta el alta de UCI (Figura 5.3.1.).

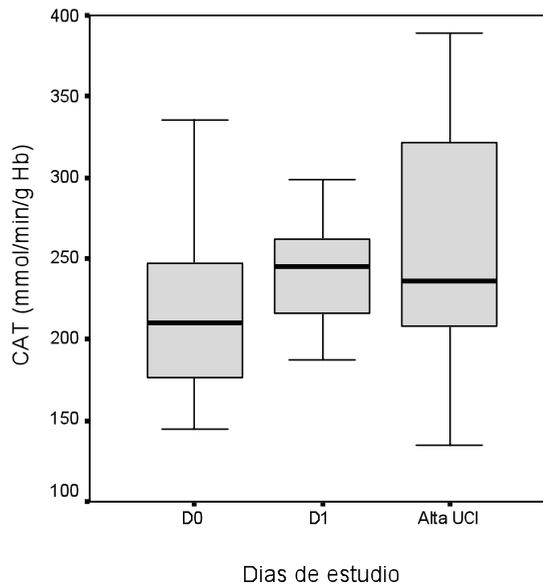
Figura 5.3.1. Variación temporal desde el ingreso (D0) hasta el alta de UCI de la SOD en el grupo de pacientes con neumonía grave. Los valores están expresados en medianas (p50), máximos, mínimos y percentiles (p25; p75). D1: día 3 del ingreso. MANOVA Test; $p \leq 0,05$.



5.3.2. Variación temporal de la CAT

La actividad de la CAT mostró un aumento significativo desde el ingreso hasta el alta de UCI (Figura 5.3.2.).

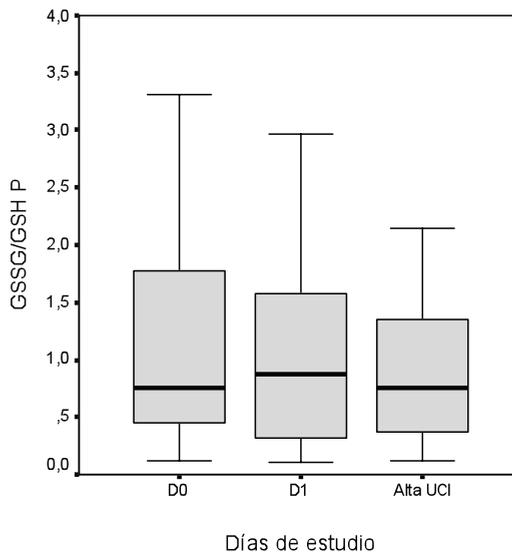
Figura 5.3.2. Variación temporal desde el ingreso (D0) hasta el alta de UCI de la CAT en el grupo de pacientes con neumonía grave. Los valores están expresados en medianas (p50), máximos, mínimos y percentiles (p25; p75). D1: día 3 del ingreso. MANOVA Test; $p \leq 0,05$.



5.3.3. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P

La actividad de la relación GSSG/GSH P mostró una disminución significativa desde el ingreso hasta el alta de UCI (Figura 5.3.3.).

Figura 5.3.3. Variación temporal desde el ingreso (D0) hasta el alta de UCI de la relación GSSG/GSH plasmático en el grupo de pacientes con neumonía grave. Los valores están expresados en medianas (p50), máximos, mínimos y percentiles (p25; p75). D1: día 3 del ingreso. MANOVA Test; $p \leq 0,05$.



5.4. VARIACIÓN TEMPORAL DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO DE LOS PACIENTES CON INFARTO AGUDO DE MIOCARDIO (grupo control)

La comparación entre los valores del primer y tercer día y alta de UCI de los diferentes parámetros de estrés oxidativo se evidencian en la Tabla 5.4.

Tabla 5.4. Tabla comparativa de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso, día 3 y alta de UCI de los pacientes del grupo control (IAM).

BIOMARCADORES	D0 (n=12)	D1 (n=12)	ALTA UCI (n=12)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	media (DE)	
SISTEMA ENZIMÁTICO				
SOD E(U/g Hb)	2371,3 (888,2)	2203,2 (571,4)	1846,8 (462,0)	0,27
CAT E(mmol/min/g Hb)	236,1 (64,0)	231,1 (44,6)	258,5 (32,1)	0,30
SOD/CAT	11,0 (5,0)	10,1 (3,5)	7,4 (2,7)	0,16
SOD/(CAT+GPx)	10 (5,0)	9,1 (3,3)	6,7 (2,6)	0,17
GR E(μmol/min/g Hb)	3,3 (1,3)	2,8 (0,9)	2,9 (0,9)	0,21
GPx E(μmol/min/g Hb)	26,0 (11,0)	25,0 (12,0)	30,0 (14,0)	0,36
SISTEMA NO ENZIMÁTICO				
GSH E (nmol/ml)	3,3 (1,3)	3,4 (1,5)	3,4 (1,8)	0,81
GSSG E(μmol/g Hb)	1,3 (0,7)	1,3 (0,7)	1,3 (0,5)	0,91
GSSG/GSH E	0,7 (0,8)	0,7 (0,8)	0,8 (1,0)	0,72
GSH P(nmol/ml)	29,6 (11,3)	28,0 (10,0)	37,2 (17,0)	0,15
GSSG P(nmol/ml)	17,3 (13,1)	16,1 (8,3)	15,0 (7,4)	0,77
GSSG/GSH P	0,8 (1,0)	0,7 (0,5)	0,6 (0,6)	0,27
MARCADORES DE LIPOPEROXIDACIÓN				
TBARS E(nmol/g Hb)	1,7 (1,1)	2,0 (0,9)	2,1 (1,4)	0,39
TBARS P (nmol/ml)	1,2 (0,5)	1,4 (0,7)	1,3 (0,4)	0,14

Medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores en el grupo control (pacientes con Infarto Agudo de Miocardio) al ingreso a UCI (D0), 72horas (D1) y al alta de UCI. E: eritrocitos; P: plasma. La n es el número de individuos. Valor significativo $p \leq 0,05$ MANOVA Test.

Como puede observarse, no se evidenciaron diferencias significativas al analizar las variaciones temporales de los biomarcadores en el grupo control.

Sin embargo, si analizáramos en números absolutos, se observaría que la actividad de la SOD y sus relaciones SOD/CAT y $[SOD/(CAT + GPx)]$ tenderían a disminuir, así como la actividad de la GPx lo haría de forma contraria.

5.5. BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO Y MORTALIDAD EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

5.5.1. Características generales de los pacientes según viven o no considerando su evolución al alta de UCI.

Las características generales al ingreso a UCI de los pacientes agrupados de acuerdo a su evolución final (vivos y no vivos) al alta de UCI se observan en la Tabla 5.5.1.

Tabla 5.5.1. Características generales al ingreso a UCI de los pacientes vivos y no vivos.

VARIABLES	Vivos (n=27)	No Vivos (n=6)	Valor <i>p</i>
Edad en años, media (DE)	58,4 (16,4)	61,5 (13,2)	0,62
APACHE II, media (DE)	12,4 (6,2)	17,3 (2,3)	0,003
SOFA, media (DE)	4,5 (3,7)	7,0 (2,2)	0,04
SIRS, media (DE)	2,0 (1,3)	3,0 (0)	<0,001
Sexo Masculino, n (%)	21 (77,8)	6 (100)	0,52

Medias, desviaciones estándares (DE) y porcentajes (%) correspondientes a las características generales de los pacientes vivos y no vivos al ingreso a UCI; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome; n: número de individuos; p: valor significativo $\leq 0,05$.

Como puede observarse, se encontraron diferencias significativas en las escalas SIRS, APACHE II y SOFA, reflejando un estado inflamatorio mayor, más gravedad general y un número mayor de disfunciones orgánicas, respectivamente, en los pacientes que no sobreviven.

5.5.2. Biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso a UCI

Los valores medios de los biomarcadores de estrés oxidativo al momento del ingreso a UCI en los pacientes vivos y no vivos se muestran en la Tabla 5.5.2.

Tabla 5.5.2. Biomarcadores de estrés oxidativo al ingreso a UCI de los pacientes vivos y no vivos.

BIOMARCADORES	Vivos (n=27)	No Vivos (n=6)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	2,4 (1,6)	1,9 (0,9)	0,76
GSH E (μmol/g Hb)	2,4 (1,1)	2,6 (1,0)	0,73
GSSG E (μmol/g Hb)	1,3 (0,4)	1,3 (0,3)	0,88
GSSG/GSH E	1,0 (1,1)	0,8 (0,9)	0,94
GR E (μmol/min/g Hb)	4,7 (4,1)	3,7 (0,8)	0,51
GPx E (μmol/min/g Hb)	27,2 (11,3)	29,5 (8,4)	0,42
SOD E (U/g Hb)	1476,3 (531,0)	1918,5 (688,8)	0,95
CAT E (mmol/min/g Hb)	218,1 (55,3)	213,4 (45,2)	0,54
SOD/CAT E	7,2 (3,4)	9,6 (4,9)	0,72
SOD/(CAT+GPx) E	6,8 (3,8)	8,3 (3,9)	0,93
TBARS P (nmol/ml)	1,7 (0,8)	1,5 (0,9)	0,97
GSH P (nmol/ml)	18,9 (7,3)	21,0 (11,4)	0,55
GSSG P (nmol/ml)	16,2 (7,2)	16,2 (10,0)	0,96
GSSG/GSH P	1,0 (0,9)	1,2 (0,9)	0,76

Los valores se expresan como medias y desviaciones estándares (DE); n: número de individuos; E: eritrocitario; P: plasmático; *p*: valor significativo $\leq 0,05$.

Al analizar los diferentes biomarcadores, no se observaron diferencias significativas de los mismos entre ambos grupos de pacientes al ingreso a UCI.

5.5.3. Biomarcadores de estrés oxidativo al día 3

Los valores medios obtenidos de los biomarcadores de los pacientes vivos respecto de los que no sobreviven al tercer día de su ingreso en UCI se observan en la Tabla 5.5.3.

Tabla 5.5.3. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes según evolución a las 72 horas de admitidos en UCI.

BIOMARCADORES	Vivos (n=27)	No vivos (N=6)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	2,4 (1,7)	2,5 (1,4)	0,82
GSH E (μmol/g Hb)	2,4 (1,3)	2,5 (1,4)	0,63
GSSG E (μmol/g Hb)	1,2 (0,4)	0,9 (0,5)	0,33
GSSG/GSH E	1,0 (1,1)	0,8 (1,0)	0,83
GR E (μmol/min/g Hb)	4,5 (4,1)	3,5 (0,7)	0,74
GPx E (μmol/min/g Hb)	26,2 (10,3)	25,8 (12,7)	0,92
SOD E (U/g Hb)	1797,3 (488,6)	1681,0 (623,4)	0,22
CAT E (mmol/min/g Hb)	238,1 (34,3)	260,2 (61,2)	0,23
SOD/CAT E	7,5 (1,5)	6,8 (3,1)	0,12
SOD/(CAT+GPx) E	6,7 (1,4)	6,2 (2,7)	0,25
TBARS P (nmol/ml)	2,0 (1,0)	1,7 (0,9)	0,94
GSH P (nmol/ml)	18,6 (8,3)	23,4 (11,2)	0,92
GSSG P (nmol/ml)	15,0 (6,5)	16,5 (8,7)	0,75
GSSG/GSH P	0,9 (0,7)	1,1 (0,9)	0,60

Los valores se expresan como medias y desviaciones estándares (DE); n: número de individuos; E: eritrocitario; P: plasmático; *p*: valor significativo $\leq 0,05$.

Al analizar los diferentes biomarcadores de los pacientes vivos y los que no sobrevivieron a las 72 horas de ingresar a UCI, no se observaron diferencias significativas en ninguno de ellos.

5.5.4. Biomarcadores de estrés oxidativo al alta de UCI

Los valores medios, obtenidos al alta de UCI, de los biomarcadores de los pacientes vivos y no vivos se observan en la Tabla 5.5.4.

Tabla 5.5.4. Biomarcadores de estrés oxidativo al alta de UCI de los pacientes vivos y no supervivientes.

BIOMARCADORES	Vivos (n=27)	No vivos (N=6)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	2,3 (1,5)	3,3 (2,7)	0,33
GSH E (μmol/g Hb)	2,6 (1,5)	3,5 (0,4)	0,50
GSSG E (μmol/g Hb)	1,1 (0,5)	1,3 (0,9)	0,81
GSSG/GSH E	1,1 (1,3)	0,5 (0,3)	0,22
GR E (μmol/min/g Hb)	4,7 (3,9)	4,8 (2,6)	0,43
GPx E (μmol/min/g Hb)	27,5 (10,9)	26,2 (8,4)	0,70
SOD E (U/g Hb)	196,3 (773,1)	2348,0 (990,0)	0,42
CAT E (mmol/min/g Hb)	241,5 (65,2)	294,8 (132,7)	0,33
SOD/CAT E	8,6 (3,7)	8,0 (0,2)	0,76
SOD/(CAT+GPx) E	7,6 (3,3)	7,4 (0,1)	0,81
TBARS P (nmol/ml)	1,5 (0,8)	2,0 (1,7)	0,32
GSH P (nmol/ml)	20,0 (8,2)	16,4 (8,0)	0,35
GSSG P (nmol/ml)	13,3 (7,7)	24,1 (12,8)	0,09
GSSG/GSH P	0,8 (0,5)	0,9 (0,6)	0,60

Los valores se expresan como medias y desviaciones estándares (DE); n: número de individuos; E: eritrocitario; P: plasmático; *p*: valor significativo ≤ 0,05.

No se observaron diferencias significativas en ninguno de los biomarcadores entre los grupos de supervivientes y fallecidos en el momento del alta de UCI.

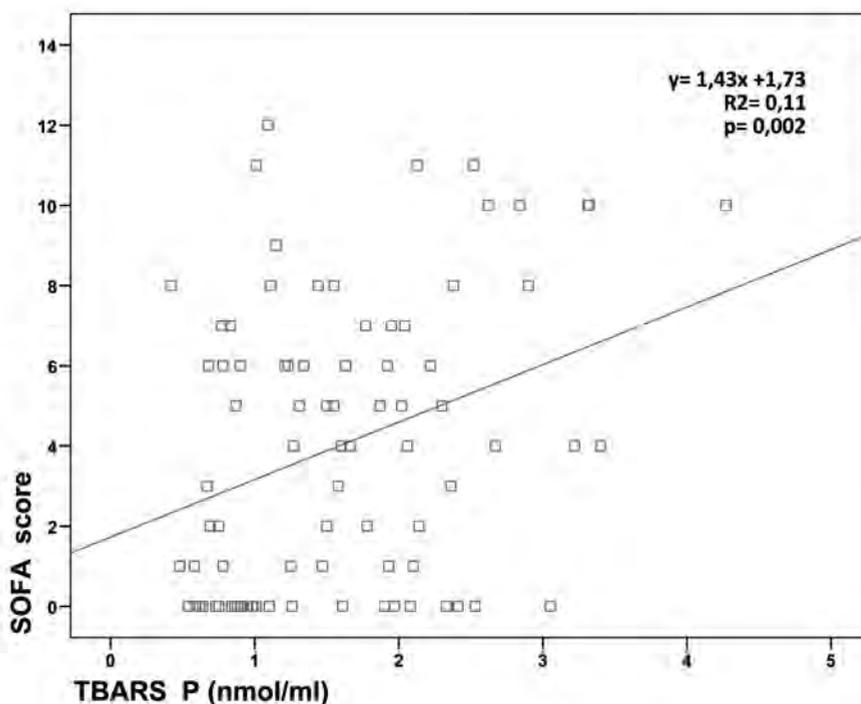
CORRELACIONES EN LA POBLACIÓN DE ESTUDIO

5.6. CORRELACIÓN DEL DAÑO OXIDATIVO (LIPOPEROXIDACIÓN) CON LAS TRES ESCALAS DE GRAVEDAD

5.6.1. Escala SOFA

Al analizar en la población de estudio (grupo de pacientes con neumonía grave y grupo control), mediante correlación lineal de Pearson, la relación entre el nivel de daño oxidativo (valorado mediante los TBARS P) y el síndrome de disfunción multiorgánica (SOFA score) se evidenció que la misma resultó positiva ($r= 0,33$) y significativa ($p= 0,002$) aunque con una considerable dispersión de los datos. (Figura 5.6.1).

Figura 5.6.1. Correlación entre el nivel de daño oxidativo (TBARS P) y disfunción orgánica (SOFA score) en la población de estudio. ($r= 0,33$; $p= 0,002$)



Al valorar si esta relación observada entre SOFA y TBARS P es lineal mediante Regresión lineal simple observamos que el coeficiente Beta 1, el cual expresa la pendiente de la recta, tiene un valor de 1,434 logrando significación estadística ($p=0,02$). Esto expresa que por cada 1,434 nmol/ml que se incremente las concentraciones de TBARS P se evidenciará un incremento de 1 punto en la escala SOFA. Al estudiar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado mediante el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor bajo de $R^2 = 0,107$ ($p=0,02$), lo cual sugiere que sólo un 10% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

Al estudiar los TBARS E no se evidenció una correlación significativa con el SOFA score, obteniéndose una $r= 0,09$ con una $p= 0,40$ a través de la correlación de Pearson, y lo mismo sucedió cuando se analizó por medio de la correlación de Spearman, dando un coeficiente de correlación (Rho)= 0,10 y una $p= 0,32$.

5.6.2. Escala APACHE II

No se observó ninguna correlación significativa al estudiar, mediante la correlación lineal de Pearson y la correlación no paramétrica de Spearman, la relación entre el grado de daño oxidativo, medido a través de los TBARS P y TBARS E, y la gravedad general valorado por la escala APACHE II. Los resultados se observan en la Tabla 5.6.2.

Tabla 5.6.2. Correlación del daño oxidativo (TBARS) con la escala APACHE II en la población de estudio.

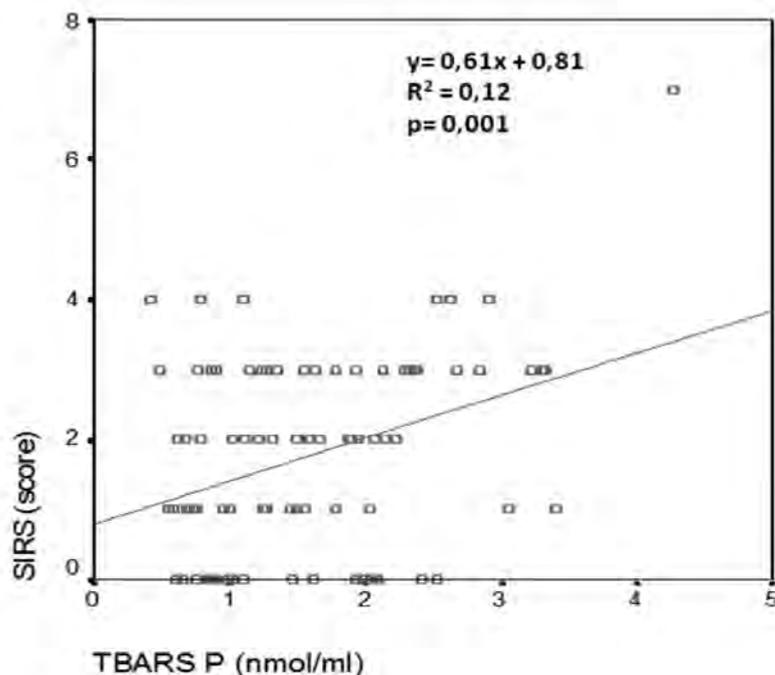
CORRELACIÓN	Pearson (r; p)	Spearman (Rho; p)
APACHE II- TBARS E	(-0,03; 0,72)	(-0,03 ; 0,78)
APACHE II- TBARS P	(0,02; 0,85)	(-0,05; 0,63)

r: coeficiente de correlación de Pearson; Rho: coeficiente de correlación de Spearman. p= Valor de p. APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation).

5.6.3. Escala SIRS

Al estudiar, mediante correlación lineal de Pearson, la relación entre el grado de daño oxidativo a través de los TBARS P y la intensidad de la respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) se observó una correlación positiva ($r = 0,35$) y significativa ($p = 0,001$) aunque se evidencia una gran dispersión de los datos. Figura 5.6.3.a.

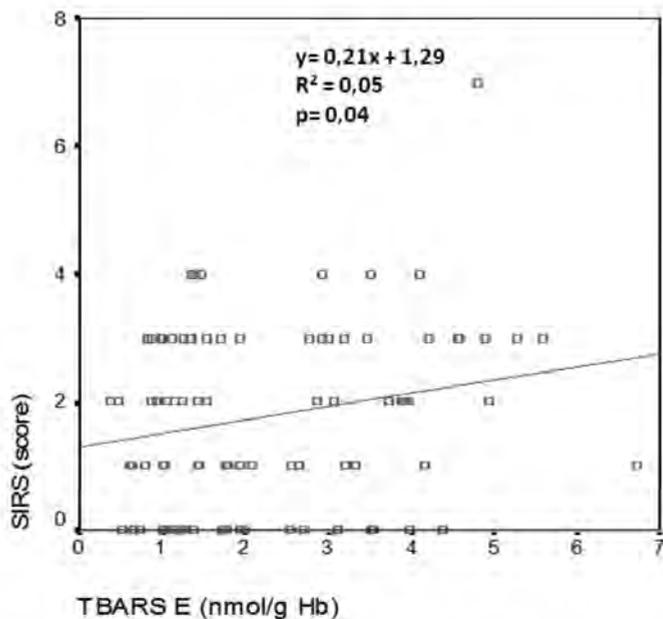
Figura 5.6.3.a. Correlación entre nivel de daño oxidativo (TBARS P) y SIRS score en la población de estudio. ($r = 0,35$; $p = 0,001$)



Al valorar si esta relación observada entre la escala SIRS y TBARS P es lineal mediante el análisis de Regresión lineal simple observamos que el coeficiente Beta 1, el cual expresa la pendiente de la recta, tiene un valor de 0,609 logrando significación estadística ($p = 0,01$). Esto expresa que por cada 0,609 nmol/ml que se incremente la concentración de TBARS P se evidenciará un incremento de 1 punto en la escala SIRS. Al estudiar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado mediante el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor bajo de $R^2 = 0,123$ ($p = 0,01$), lo cual sugiere que sólo alrededor de un 12% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

Cuando estudiamos, mediante el modelo de correlación lineal de Pearson, la relación entre el grado de daño oxidativo a través de los TBARS E y la intensidad de la respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) se observó una correlación positiva ($r= 0,22$) y significativa ($p= 0,04$) pero con una dispersión importante de los datos. Figura 5.6.3.b.

Figura 5.6.3.b. Correlación entre nivel de daño oxidativo (TBARS E) y SIRS score en la población de estudio. ($r= 0,22$; $p= 0,04$).



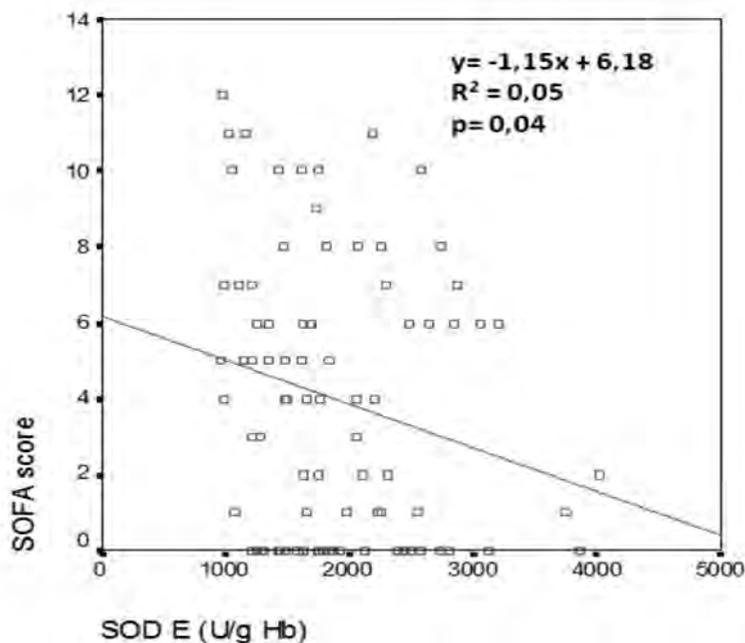
Al valorar si esta relación observada entre la escala SIRS y TBARS E es lineal mediante análisis de Regresión lineal simple observamos que el coeficiente Beta 1 (pendiente de la recta), tiene un valor de 0,211 logrando un valor estadísticamente significativo ($p=0,04$). Esto expresa que por cada 0,211 nmol/g Hb que se incremente la concentración de TBARS E se evidenciará un incremento de 1 punto en la escala SIRS. Sin embargo, al analizar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado mediante el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor muy bajo de $R^2 = 0,046$ ($p=0,04$), lo cual sugiere que solamente un 4% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

5.7. CORRELACIÓN DEL SISTEMA ENZIMÁTICO ANTIOXIDANTE CON LAS TRES ESCALAS DE GRAVEDAD

5.7.1. Escala SOFA

Al valorar las correlaciones entre la escala SOFA y los diferentes biomarcadores del sistema enzimático antioxidante, solamente la enzima SOD alcanzó diferencia significativa ($r = -0,22$; $p = 0,04$) (Figura 5.7.1.). Los valores de las correlaciones del resto de los biomarcadores pueden observarse en la Tabla 5.7.1.

Figura 5.7.1. Correlación entre la superóxido dismutasa (SOD) y SOFA score en la población de estudio. ($r = -0,22$; $p = 0,04$).



Al valorar si esta relación observada entre la escala SOFA y SOD es lineal mediante el análisis de Regresión lineal simple observamos que el coeficiente Beta 1 (pendiente de la recta), tiene un valor de $-1,15 \times 10^{-3}$ logrando un valor

estadísticamente significativo ($p=0,04$). Al analizar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado mediante el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor muy bajo de $R^2 = 0,048$ ($p=0,04$), lo cual sugiere que solamente un 4% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

Tabla 5.7.1. Correlaciones de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante con la escala SOFA que no alcanzaron significancia estadística.

CORRELACIÓN	Pearson (r; p)	Spearman (Rho; p)
SOFA-CAT	(0,02; 0,84)	(0,03 ; 0,77)
SOFA-GR	(-0,09; 0,38)	(0,07; 0,51)
SOFA- GPx	(0,09; 0,38)	(0,14; 1,00)
SOFA-(SOD(CAT)	(-0,20; 0,06)	(-0,17; 0,10)
SOFA-[SOD/(CAT+GPx)]	(-0,19; 0,08)	(-0,17; 0,11)

r: coeficiente de correlación de Pearson; Rho: coeficiente de correlación de Spearman.
p= Valor de p. SOFA (Systemic Organ Failure Assessment).

5.7.2. Escala SIRS

Ninguna de las correlaciones (Pearson y Spearman) entre los biomarcadores enzimáticos y la escala SIRS lograron valores significativos. Tabla 5.7.2.

Tabla 5.7.2. Correlaciones de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante con la escala SIRS.

CORRELACIÓN	Pearson (r; p)	Spearman (Rho; p)
SIRS- SOD	(-0,12; 0,25)	(-0,15 ; 0,16)
SIRS-CAT	(0,01; 0,92)	(-0,01; 0,87)
SIRS-GR	(0,04; 0,71)	(0,10; 0,32)
SIRS- GPx	(-0,006; 0,96)	(0,02; 0,80)
SIRS-(SOD(CAT)	(-0,15; 0,16)	(-0,11; 0,28)
SIRS-[SOD/(CAT+GPx)]	(-0,12; 0,26)	(-0,10; 0,32)

r: coeficiente de correlación de Pearson; Rho: coeficiente de correlación de Spearman. p= Valor de p. SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome).

5.7.3. Escala APACHE II

Las correlaciones (Pearson y Spearman) de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante con la escala APACHE II no lograron valores significativos, como puede observarse en la Tabla 5.7.3.

Tabla 5.7.3. Correlaciones de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante con la escala APACHE II.

CORRELACIÓN	Pearson (r; p)	Spearman (Rho; p)
APACHE II- SOD	(-0,17; 0,12)	(-0,17 ; 0,11)
APACHE II-CAT	(-0,14; 0,19)	(-0,15; 0,18)
APACHE II-GR	(-0,06; 0,57)	(0,07; 0,53)
APACHE II- GPx	(0,003; 0,97)	(0,03; 0,77)
APACHE II-(SOD(CAT)	(-0,10; 0,36)	(-0,08; 0,45)
APACHE II-[SOD/(CAT+GPx)]	(-0,07; 0,55)	(-0,08; 0,47)

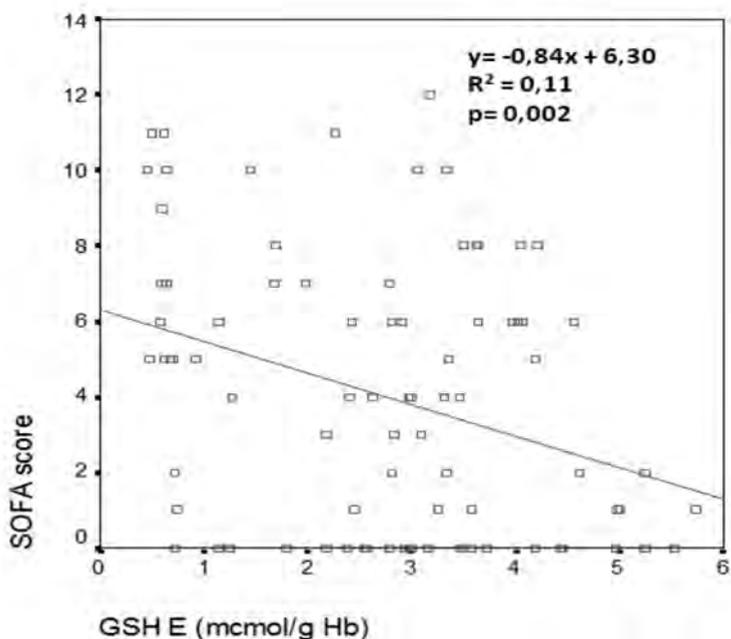
r: coeficiente de correlación de Pearson; Rho: coeficiente de correlación de Spearman. p= Valor de p. APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation).

5.8. CORRELACIÓN DEL SISTEMA NO ENZIMÁTICO ANTIOXIDANTE CON LAS TRES ESCALAS DE GRAVEDAD

5.8.1. Escala SOFA

Al valorar las correlaciones entre la escala SOFA y los diferentes biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante, alcanzaron diferencias significativas el GSH E ($r = -0,33$; $p = 0,002$) (Fig. 5.8.1.a.) y la relación GSSG/GSH E ($r = 0,27$; $p = 0,01$) (Figura 5.8.1.b.). Los valores de las correlaciones del resto de los biomarcadores pueden observarse en la Tabla 5.8.1.

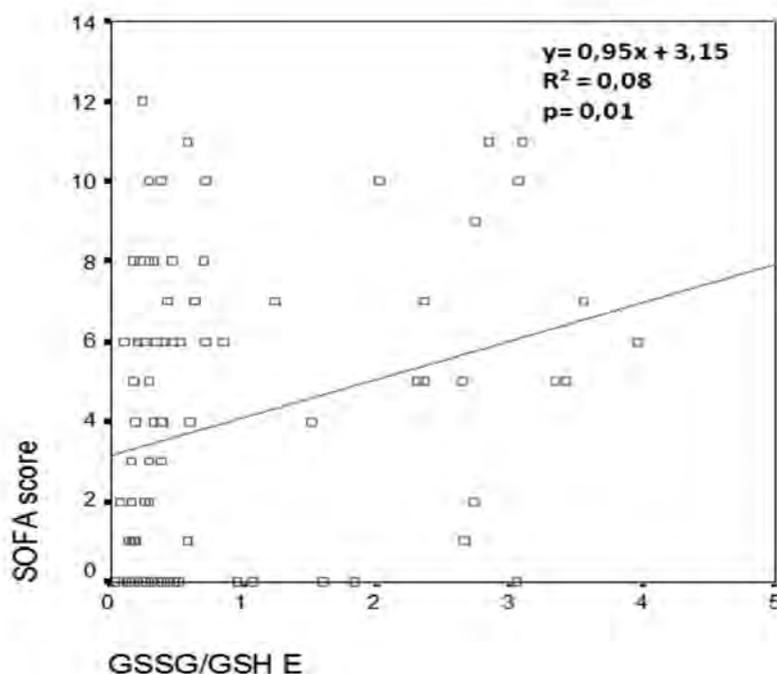
Figura 5.8.1.a. Correlación entre el nivel de GSH E y SOFA score en la población de estudio. ($r = -0,33$; $p = 0,002$).



Al valorar si esta relación observada entre la escala SOFA y GSH E es lineal mediante el análisis de Regresión lineal simple observamos que el

coeficiente Beta 1 (pendiente de la recta), tiene un valor de $-0,837$ logrando un valor estadísticamente significativo ($p=0,002$). Esto expresa que por cada $0,837$ nmol/g Hb que disminuya la concentración de GSH E se evidenciará un incremento de 1 punto en la escala SOFA. Al analizar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado mediante el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor bajo de $R^2 = 0,109$ ($p=0,002$), lo cual sugiere que aproximadamente sólo el 11% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

Figura 5.8.1.b. Correlación entre la relación GSSG/GSH E y SOFA score en la población de estudio. ($r = 0,27$; $p = 0,01$).



Al valorar si esta relación observada entre la escala SOFA y GSSG/GSH E es lineal mediante el análisis de Regresión lineal simple observamos que el coeficiente Beta 1 (pendiente de la recta), tiene un valor de $0,951$ ($p=0,001$). Sin embargo, al analizar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado

mediante el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor muy bajo de $R^2 = 0,074$ ($p=0,001$), lo cual sugiere que sólo el 7% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

Tabla 5.8.1. Correlaciones de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante con la escala SOFA que no alcanzaron significancia estadística.

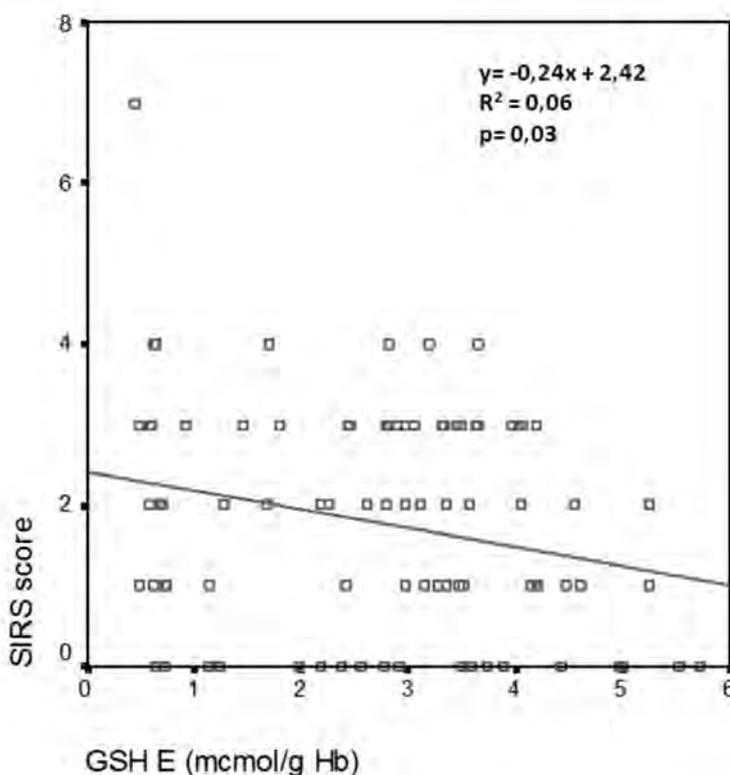
CORRELACIÓN	Pearson (r; p)	Spearman (Rho; p)
SOFA-GSSG E	(0,14; 0,18)	(0,14; 0,19)
SOFA-GSH P	(-0,06; 0,57)	(-0,03; 0,78)
SOFA-GSSG P	(-0,06; 0,57)	(-0,08; 0,42)
SOFA-(GSSG/GSH P)	(-0,03; 0,75)	(-0,02; 0,81)

r: coeficiente de correlación de Pearson; Rho: coeficiente de correlación de Spearman. p= Valor de p . SOFA (Systemic Organ Failure Assessment).

5.8.2. Escala SIRS

Al valorar las correlaciones entre la escala SIRS y los diferentes biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante, alcanzaron diferencias significativas el GSH E ($r = -0,23$; $p = 0,02$) (Fig. 5.8.2.a.) y el GSH P ($r = -0,21$; $p = 0,04$) (Fig. 5.8.2.b.). Los valores de las correlaciones del resto de los biomarcadores pueden observarse en la Tabla 5.8.2.

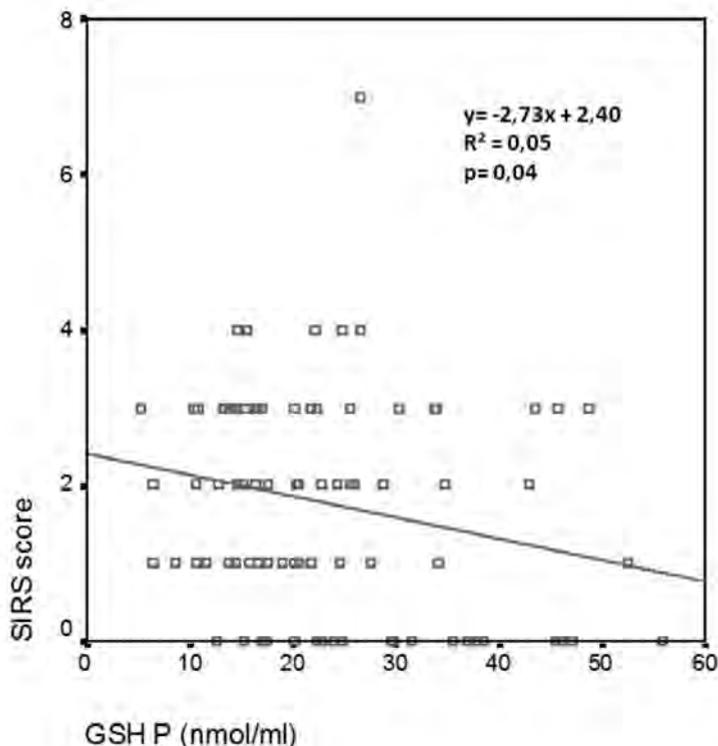
Figura 5.8.2.a. Correlación entre nivel de GSH E y SIRS score en la población de estudio. ($r = -0,23$; $p = 0,02$).



Al valorar si esta relación observada entre la escala SIRS y el GSH E es lineal mediante el análisis de Regresión lineal simple observamos que el coeficiente Beta 1 (pendiente de la recta), tiene un valor de $-0,235$ ($p = 0,02$). Al analizar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado mediante

el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor muy bajo de $R^2 = 0,056$ ($p=0,02$), lo cual sugiere que sólo el 5% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

Figura 5.8.2.b. Correlación entre nivel de GSH P y SIRS score en la población de estudio. ($r = -0,21$; $p = 0,04$).



Al valorar si esta relació observada entre la escala SIRS y el GSH P es lineal mediante el análisis de Regresión lineal simple observamos que el coeficiente Beta 1 (pendiente de la recta), tiene un valor de $-2,73$ ($p=0,04$). Sin embargo, al analizar el ajuste del modelo entre la predicción y lo observado mediante el ajuste de bondad (R^2) se evidenció un valor muy bajo de $R^2 = 0,047$ ($p=0,04$), lo cual sugiere que sólo el 5% de los casos son correctamente pronosticados con este modelo.

Tabla 5.8.2. Correlaciones de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante con la escala SIRS que no alcanzaron significancia estadística.

CORRELACIÓN	Pearson (r; p)	Spearman (Rho; p)
SIRS-GSSG E	(-0,10; 0,92)	(-0,08 ; 0,94)
SIRS-(GSSG/GSH E)	(0,12; 0,27)	(-0,10; 0,34)
SIRS-GSSG P	(-0,75; 0,49)	(-0,06; 0,58)
SIRS-(GSSG/GSH P)	(0,07; 0,52)	(0,12; 0,25)

r: coeficiente de correlación de Pearson; Rho: coeficiente de correlación de Spearman.
p= Valor de p. SIRS (Systemic Inflammatory Response Syndrome).

5.8.3. Escala APACHE II

Las correlaciones (Pearson y Spearman) de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante con la escala APACHE II no lograron valores significativos, como puede observarse en la Tabla 5.8.3.

Tabla 5.8.3. Correlaciones de los biomarcadores del sistema no antioxidante con la escala APACHE II.

CORRELACIÓN	Pearson (r; p)	Spearman (Rho; p)
APACHE II-GSH E	(-0,09; 0,39)	(-0,09; 0,42)
APACHE II-GSSG E	(0,01; 0,92)	(0,03; 0,83)
APACHE II-GSSG/GSH E	(0,02; 0,83)	(0,06; 0,57)
APACHE II-GSH P	(-0,10; 0,35)	(-0,08; 0,44)
APACHE II-GSSG P	(0,55; 0,61)	(0,06; 0,58)
APACHE II-(GSSG/GSH P)	(0,06; 0,56)	(0,10; 0,36)

r: coeficiente de correlación de Pearson; Rho: coeficiente de correlación de Spearman.
p=Valor de p. APACHE II (Acute Physiology and Chronic Health Evaluation).

5.9. ANÁLISIS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA BACTERIANA (NOSOCOMIAL Y COMUNITARIA) vs. VIRAL

5.9.1. Clasificación de la población

Del grupo de estudio (neumonía grave), 18 de 21 pacientes presentaron neumonía grave bacteriana, de los cuales 6 correspondieron a neumonía nosocomial y 12 a neumonía comunitaria. A este subgrupo de 18 pacientes lo denominaremos “*Grupo neumonía bacteriana (NB)*”. Los 3 pacientes restantes del grupo de estudio correspondieron a neumonía comunitaria por virus [Influenza A (H1N1)v], y a este subgrupo lo denominaremos “*Grupo Gripe A*”.

5.9.2. Características Generales de ambos subgrupos

Las características generales al ingreso a UCI de los pacientes de acuerdo a su pertenencia al grupo de neumonías bacterianas (*NB*) y al grupo de neumonía viral (*Gripe A*), se evidencian en la Tabla 5.9.2.

Tabla 5.9.2. Características generales al ingreso a UCI de los pacientes pertenecientes a los grupos Gripe A y NB.

VARIABLES	Gripe A (n=3)	NB (n=18)	Valor <i>p</i>
Edad en años, media (DE)	29,3(10,0)	60,3 (14,3)	0,01
APACHE II, media (DE)	14,7 (4,0)	16,3 (4,4)	0,50
SOFA, media (DE)	3,7 (3,0)	7,3 (2,5)	0,03
SIRS, media (DE)	2,7 (0,5)	2,9 (0,6)	0,51
Sexo Masculino, n (%)	2(66,7)	15 (83,2)	0,48
Mortalidad UCI, n (%)	1 (33,0)	5 (27,8)	1,00
Mortalidad Hospital, n(%)	1 (33,0)	7 (38,9)	1,00

Medias, desviaciones estándares (DE) y porcentajes (%) correspondientes a las características generales de los grupos de pacientes según etiología: grupo Gripe A (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v y grupo NB (pacientes con neumonía bacteriana) al ingreso a UCI; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome; n: número de individuos; p: valor significativo $\leq 0,05$.

Como puede observarse, los pacientes del grupo *Gripe A* fueron significativamente más jóvenes que el grupo de *NB*.

Por otro lado, no se encontraron diferencias significativas en el resto de las características clínicas entre ambos grupos a excepción de la escala SOFA, la cual fue significativamente menor en el grupo *Gripe A*, evidenciando un menor compromiso de disfunciones orgánicas en estos pacientes.

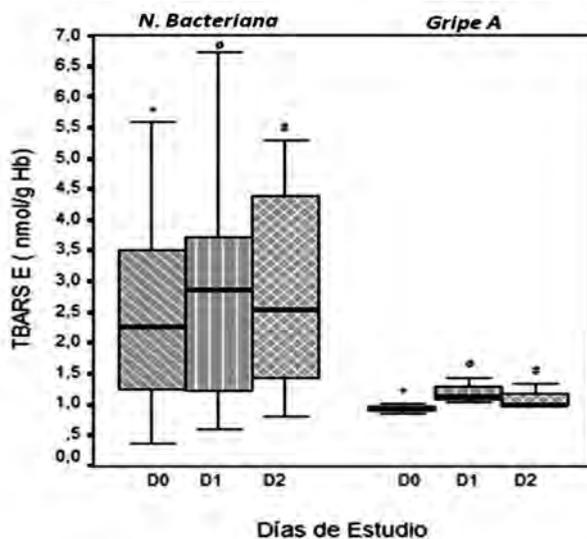
5.10. VARIACIÓN TEMPORAL DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO QUE LOGRAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE PACIENTES CON NEUMONÍA BACTERIANA (*Grupo NB*) vs. NEUMONÍA VIRAL (*Grupo Gripe A*)

En los siguientes gráficos se describe la variación temporal de los biomarcadores de estrés oxidativo que obtuvieron diferencias significativas entre el grupo *NB* y el grupo *Gripe A* durante todo el periodo de estudio.

5.10.1. Variación temporal de los TBARS E

Los niveles de TBARS E han sido significativamente superiores en los pacientes del grupo *NB* al ingreso a UCI, al tercer día y al alta de UCI respecto de los pacientes del grupo *Gripe A*. Figura 5.10.1.

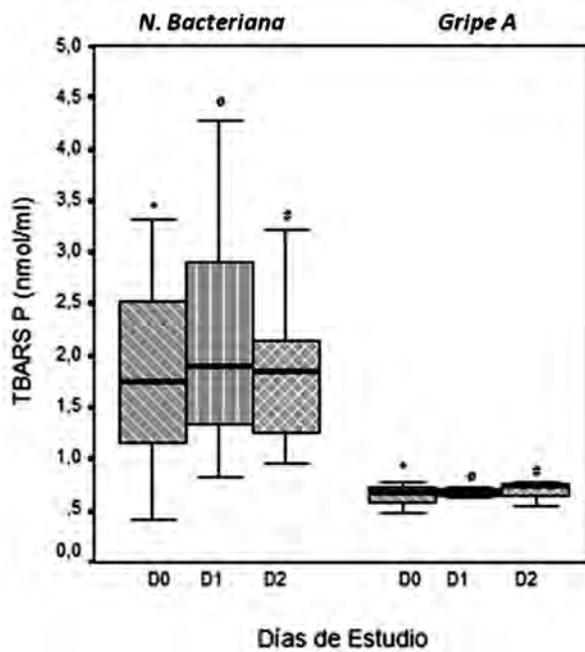
Figura 5.10.1. Variación temporal de los niveles de TBARS eritrocitarios (E) en los grupos analizados: grupo *Neumonía Bacteriana* y grupo *Gripe A*. Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (* $p \leq 0,001$; [#] $p = 0,002$; [#] $p = 0,005$)



5.10.2. Variación temporal de los TBARS P

De forma similar, los niveles de los TBARS P han sido más elevados en el grupo NB al ingreso, al tercer día y al alta de UCI respecto del grupo *Gripe A*. Figura 5.10.2.

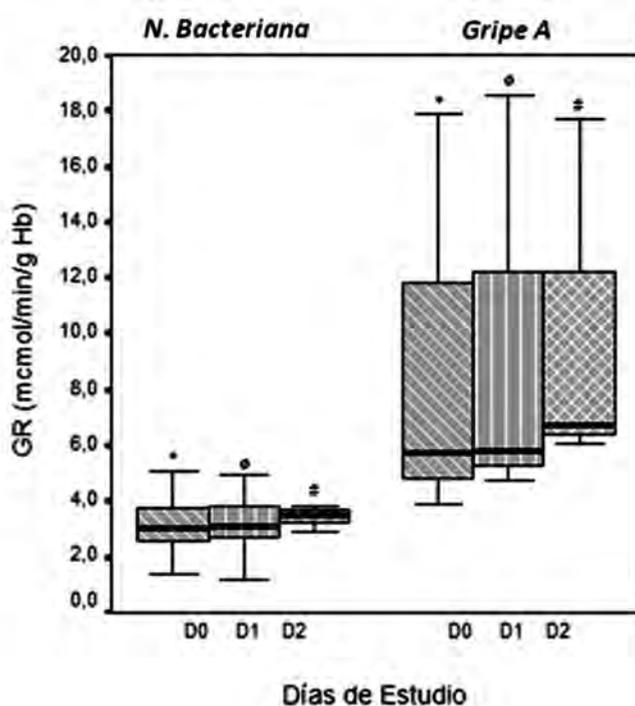
Figura 5.10.2. Variación temporal de los niveles de TBARS plasmáticos (P) en los grupos analizados: grupo *Neumonía Bacteriana* y grupo *Gripe A*. Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,02; °p= 0,02; #p= 0,02).



5.10.3. Variación temporal de la GR

Los valores de la actividad de la GR han sido significativamente superiores en el grupo *Gripe A* al ingreso, al tercer día y al alta de UCI respecto de los pacientes con *NB*. Figura 5.10.3.

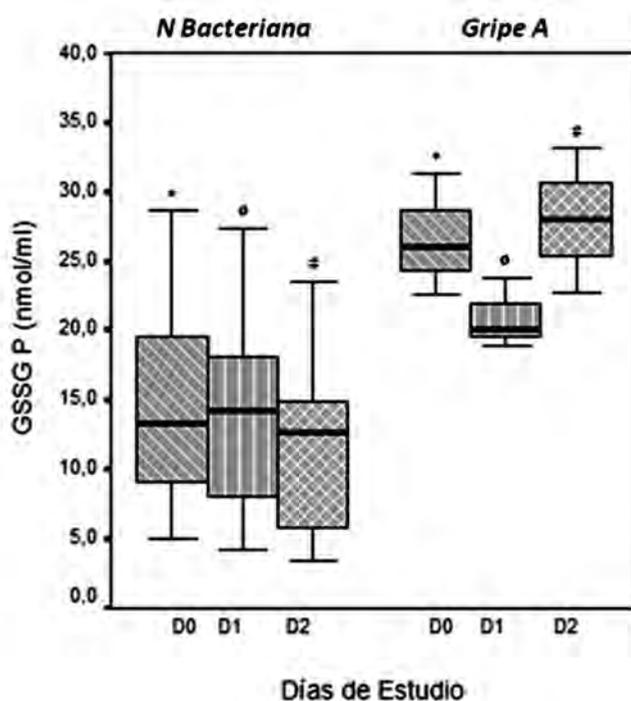
Figura 5.10.3. Variación temporal de la actividad de la glutatión reductasa (GR) en los grupos analizados: grupo *Neumonía Bacteriana* y grupo *Gripe A*. Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,007; °p= 0,001; #p= 0,001).



5.10.4. Variación temporal del GSSG P

Los niveles del GSSG P también han sido significativamente superiores en los pacientes del grupo *Gripe A* tanto al ingreso, al día 3 como al alta de UCI respecto de los pacientes del grupo *NB*. Figura 5.10.4.

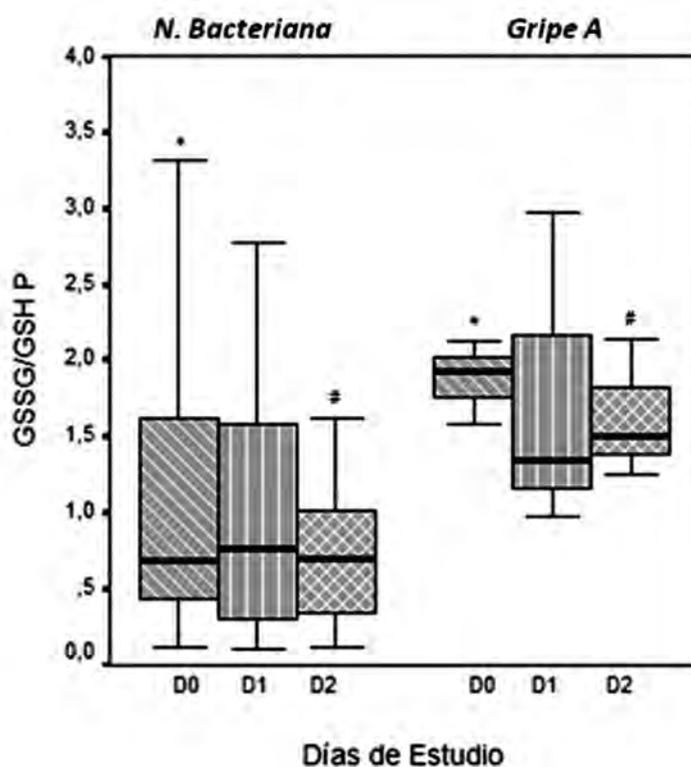
Figura 5.10.4. Variación temporal de los niveles del GSSG plasmático (P) en los grupos analizados: grupo *Neumonía Bacteriana* y grupo *Gripe A*. Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,01; °p = 0,01; #p= 0,001).



5.10.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P

Los niveles de la relación GSSG/GSH P también han sido más elevados en el grupo de pacientes con *Gripe A*, aunque sólo han alcanzado significación al ingreso y al alta de UCI respecto de los pacientes del grupo *NB*. Figura 5.10.5.

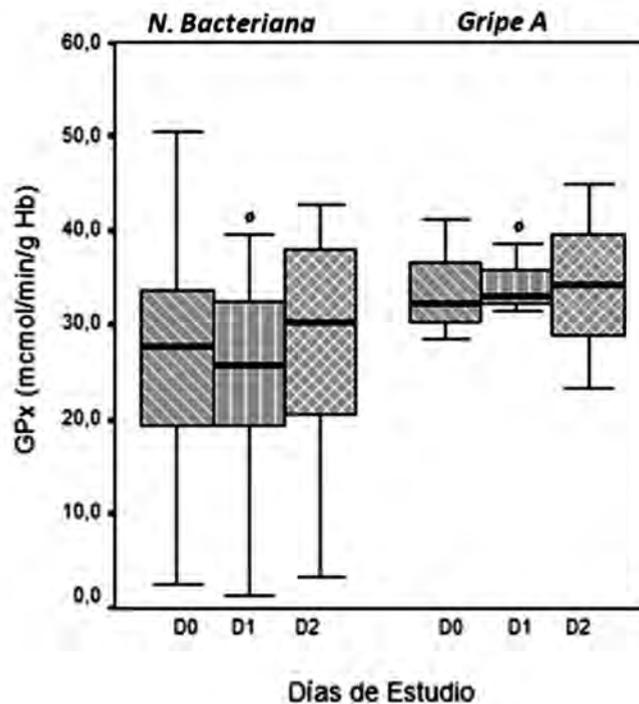
Figura 5.10.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH plasmático (P) en los grupos analizados: grupo *Neumonía Bacteriana* y grupo *Gripe A*. Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,007; #p= 0,001).



5.10.6. Variación temporal de la GPx

Los valores de la actividad de la GPx han sido más elevados en los pacientes con *Gripe A*, aunque esta diferencia sólo ha logrado significación estadística al día 3 respecto del grupo *NB*. Figura 5.10.6.

Figura 5.10.6. Variación temporal de la actividad de la GPx (glutatión peroxidasa) en los grupos analizados: grupo *Neumonía Bacteriana* y grupo *Gripe A*. Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p = 0,01).



5.11. BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO DEL *Grupo NB vs. Grupo Gripe A*

Las tablas 5.11.1; 5.11.2 y 5.11.3 muestran los valores medios de los biomarcadores de estrés oxidativo analizados en el grupo de pacientes con neumonía bacteriana (*NB*) y el grupo de pacientes con neumonía viral (*Gripe A*) al ingreso en UCI, al día 3 y al alta de UCI respectivamente. En dichas tablas se incluyen también los biomarcadores que lograron diferencias significativas, los cuales fueron representados mediante diagramas de cajas en el apartado 5.10.

Tabla 5.11.1. Biomarcadores de estrés oxidativo en los pacientes pertenecientes a los grupos *Gripe A* y *NB* al ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	Gripe A (n=3) media (DE)	NB (n=18) media (DE)	Valor <i>p</i>
TBARS E (nmol/g Hb)	0,9 (0,1)	2,4 (1,4)	< 0,001
GSH E (μmol/g Hb)	2,8 (0,3)	2,4 (1,1)	0,33
GSSG E (μmol/g Hb)	1,5 (0,2)	1,3 (0,4)	0,39
GSSG/GSH E	0,5(0,1)	0,9 (1,0)	0,10
GR E (μmol/min/g Hb)	9,2 (7,5)	3,5 (1,7)	0,007
GPx E (μmol/min/g Hb)	33,9 (6,5)	26,8 (10,7)	0,11
SOD E (U/g Hb)	1158,4 (81,8)	1676,5 (616,3)	0,14
CAT E (mmol/min/g Hb)	191,1 (40,6)	221,0 (53,2)	0,30
SOD/CAT E	6,2 (1,7)	8,1 (4,1)	0,24
SOD/(CAT+GPx) E	5,3 (1,3)	7,6 (4,0)	0,36
TBARS P (nmol/ml)	0,6 (0,1)	1,8(0,8)	0,02
GSH P (nmol/ml)	14,4(3,2)	20,3 (8,8)	0,06
GSSG P (nmol/ml)	26,6 (4,3)	14,7(7,1)	0,01
GSSG/GSH P	1,8 (0,2)	1,0 (0,8)	0,007

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo *Gripe A* (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v y grupo *NB* (pacientes con neumonía bacteriana). *p*: valor significativo $\leq 0,05$.

Tabla 5.11.2. Biomarcadores de estrés oxidativo en los pacientes pertenecientes a los grupos *Gripe A* y *NB* al tercer día del ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	Gripe A (n=3)	NB (n=18)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	1,2 (0,2)	2,7 (1,7)	0,002
GSH E (μmol/g Hb)	2,4 (1,1)	2,4 (1,4)	0,97
GSSG E (μmol/g Hb)	1,2(0,2)	1,1 (0,5)	0,60
GSSG/GSH E	0,5(0,2)	1,0 (1,2)	0,11
GR E (μmol/min/g Hb)	9,7 (7,6)	3,2 (1,1)	0,001
GPx E (μmol/min/g Hb)	34,4 (3,7)	24,7 (11,0)	0,01
SOD E (U/g Hb)	1435,3 (346,1)	1818,7 (527,4)	0,12
CAT E (mmol/min/g Hb)	266,4 (94,7)	241,0 (32,5)	0,34
SOD/CAT E	5,8 (2,1)	7,5 (2,0)	0,10
SOD/(CAT+GPx) E	5,1 (1,8)	6,8 (1,7)	0,18
TBARS P (nmol/ml)	0,6 (0,1)	2,0 (0,9)	0,02
GSH P (nmol/ml)	14,9 (7,4)	20,8(9,3)	0,34
GSSG P (nmol/ml)	20,9 (2,5)	14,5 (7,1)	0,01
GSSG/GSH P	1,8 (1,0)	0,9 (0,7)	0,14

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo Gripe A (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v y grupo NB (pacientes con neumonía bacteriana). p: valor significativo $\leq 0,05$.

Tabla 5.11.3. Biomarcadores de estrés oxidativo en los pacientes pertenecientes a los grupos *Gripe A* y *NB* al alta de UCI.

BIOMARCADORES	Gripe A (n=3)	NB (n=18)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	1,1 (0,2)	2,8 (1,7)	0,005
GSH E (μmol/g Hb)	3,0 (0,4)	2,6 (1,5)	0,32
GSSG E (μmol/g Hb)	1,6 (0,3)	1,1(0,5)	0,11
GSSG/GSH E	0,5 (0,1)	1,1 (1,4)	0,10
GR E (μmol/min/g Hb)	10,2 (6,5)	3,5 (1,0)	0,001
GPx E (μmol/min/g Hb)	34,3 (10,7)	28,2 (10,9)	0,42
SOD E (U/g Hb)	1988,3 (934,3)	2019,5 (778,4)	0,97
CAT E (mmol/min/g Hb)	288,5 (86,7)	238,3 (69,1)	0,34
SOD/CAT E	6,7 (1,2)	8,9 (3,7)	0,13
SOD/(CAT+GPx) E	5,9 (1,4)	7,9 (3,3)	0,16
TBARS P (nmol/ml)	0,7 (0,1)	1,8 (0,6)	0,02
GSH P (nmol/ml)	18,3 (6,6)	19,9 (8,5)	0,77
GSSG P (nmol/ml)	27,9 (5,2)	11,5 (6,0)	0,001
GSSG/GSH P	1,6 (0,4)	0,7 (0,4)	0,01

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo *Gripe A* (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v) y grupo *NB* (pacientes con neumonía bacteriana). *p*: valor significativo ≤ 0,05.

5.12. ANÁLISIS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA NOSOCOMIAL vs. VIRAL

5.12.1. Características generales de ambos grupos

Las características generales al ingreso de los pacientes de acuerdo a su pertenencia al grupo de neumonía nosocomial (NN) y al grupo de neumonía viral (NV), se evidencian en la Tabla 5.12.1.

Tabla 5.12.1 Características generales al ingreso a UCI de los pacientes pertenecientes a los grupos neumonía viral (NV) y neumonía nosocomial (NN).

VARIABLES	NV (n=3)	NN (n=6)	Valor <i>p</i>
Edad en años, media (DE)	29,3(10,0)	57,5 (5,8)	0,01
APACHE II, media (DE)	14,7 (4,0)	16,3 (5,8)	0,60
SOFA, media (DE)	3,7 (3,0)	7,8 (2,2)	0,05
SIRS, media (DE)	2,7 (0,5)	2,7 (0,5)	1,02
Sexo Masculino, n (%)	2(66,7)	5 (83,3)	1,06
Mortalidad UCI, n (%)	1 (33,0)	2 (33,3)	1,00
Mortalidad Hospital, n (%)	1 (33,0)	3 (50,0)	1,00

Medias, desviaciones estándares (DE) y porcentajes (%) correspondientes a las características generales de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía nosocomial (NN) y neumonía viral (NV) al ingreso a UCI; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome; n: número de individuos; p: valor significativo $\leq 0,05$.

Como puede observarse, los pacientes con neumonía viral fueron significativamente más jóvenes que los del grupo de neumonía nosocomial. También se evidenció un nivel significativamente superior en la escala SOFA en el grupo de pacientes con NN respecto de los pacientes con neumonía viral.

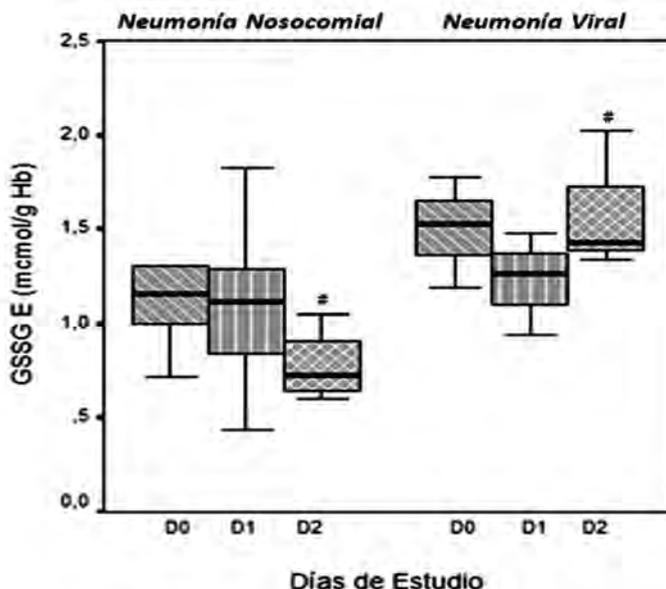
5.13. VARIACIÓN TEMPORAL DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO QUE LOGRAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE PACIENTES CON NEUMONÍA NOSOCOMIAL vs. NEUMONÍA VIRAL

Se analizaron las variaciones temporales de los biomarcadores de estrés oxidativo que obtuvieron diferencias significativas entre el grupo de pacientes con neumonía nosocomial (NN) y el grupo de pacientes con neumonía viral (NV) durante todo el periodo de estudio. A continuación, se mostrarán en gráficos de manera individual cada uno de los biomarcadores.

5.13.1. Variación temporal del GSSG E

Los niveles del GSSG E fueron superiores en el grupo de pacientes con NV respecto de NN pero esta diferencia sólo ha logrado significación estadística al alta de UCI. Figura 5.13.1.

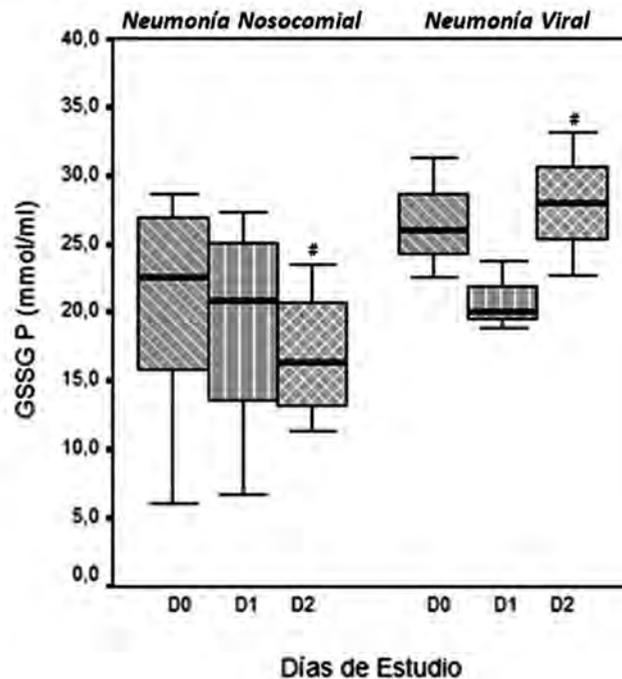
Figura 5.13.1. Variación temporal de los niveles del GSSG eritrocitario (E) en los grupos analizados: grupo neumonía nosocomial (NN); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. #p= 0,01.



5.13.2. Variación temporal del GSSG P

Los niveles del GSSG P han mostrado diferencias significativas al alta de UCI entre los pacientes con neumonía nosocomial y los pacientes con neumonía viral. Figura 5.13.2.

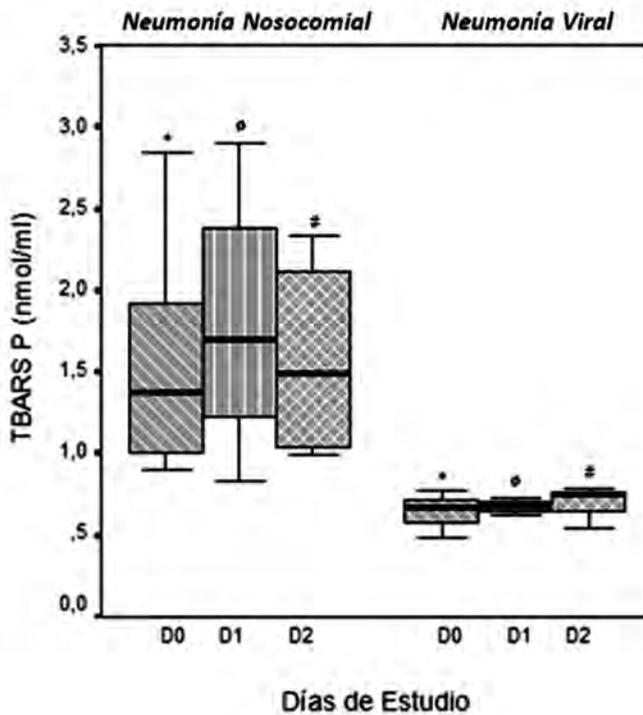
Figura 5.13.2. Variación temporal de los niveles de GSSG plasmático (P) en los grupos analizados: grupo neumonía nosocomial (NN); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. #p= 0,03.



5.13.3. Variación temporal de los TBARS P

Los niveles de los TBARS P fueron significativamente superiores al ingreso, al día 3 y al alta de UCI en los pacientes con neumonía nosocomial respecto de los pacientes con neumonía viral. Figura 5.13.3.

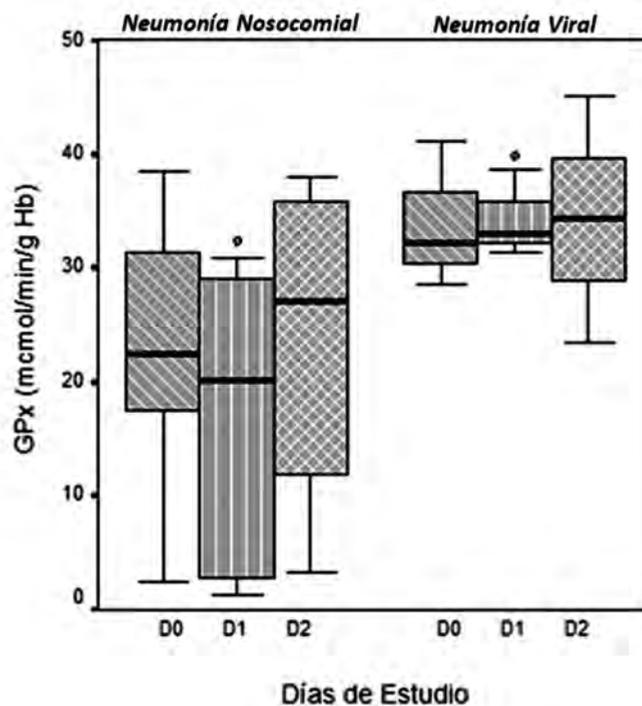
Figura 5.13.3. Variación temporal de los niveles de TBARS plasmático (P) en los grupos analizados: grupo neumonía nosocomial (NN); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,02; ^op = 0,01; #p= 0,05).



5.13.4. Variación temporal de la GPx

La actividad de la GPx fue superior en los pacientes con neumonía viral respecto de la neumonía nosocomial pero esta diferencia sólo logró significación estadística al día 3 del ingreso a UCI. Figura 5.13.4.

Figura 5.13.4. Variación temporal de la actividad de la GPx (glutatión peroxidasa) en los grupos analizados: grupo neumonía nosocomial (NN); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. *p= 0,02.



5.14. BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN NEUMONÍA NOSOCOMIAL vs. NEUMONÍA VIRAL

En las Tablas 5.14.1; 5.14.2 y 5.14.3 se muestran los valores medios de los biomarcadores de estrés oxidativo en el grupo de pacientes con Neumonía Nosocomial (NN) y el grupo de pacientes con Neumonía Viral (NV) al ingreso a UCI, al día 3 y al alta de UCI respectivamente. En dichas tablas se incluyen también los biomarcadores que lograron diferencias significativas, los cuales fueron representados mediante diagramas de cajas en el apartado 5.13.

Tabla 5.14.1. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo Neumonía Nosocomial (NN) y de los pacientes del grupo Neumonía Viral (NV) al ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	NV (n=3)	NN (n=6)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	0,9 (0,08)	1,5 (1,0)	0,21
GSH E (μmol/g Hb)	2,8 (0,3)	2,8 (0,9)	0,98
GSSG E (μmol/g Hb)	1,5 (0,2)	1,2 (0,3)	0,20
GSSG/GSH E	0,5(0,1)	0,5 (0,1)	0,55
GR E (μmol/min/g Hb)	9,2 (7,5)	3,2 (0,9)	0,08
GPx E (μmol/min/g Hb)	33,9 (6,5)	22,4 (12,6)	0,10
SOD E (U/g Hb)	1158,4 (81,8)	1750,0 (768,1)	0,13
CAT E (mmol/min/g Hb)	191,1 (40,6)	188,2 (33,1)	0,87
SOD/CAT E	6,2 (1,7)	9,6 (4,7)	0,11
SOD/(CAT+GPx) E	5,3 (1,3)	8,3 (3,6)	0,14
TBARS P (nmol/ml)	0,6 (0,1)	1,6 (0,7)	0,02
GSH P (nmol/ml)	14,4(3,2)	17,8 (5,2)	0,24
GSSG P (nmol/ml)	26,6 (4,3)	20,4 (8,4)	0,11
GSSG/GSH P	1,8 (0,2)	1,3 (0,7)	0,17

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo NV (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v y grupo NN (pacientes con neumonía nosocomial). p: valor significativo $\leq 0,05$.

Tabla 5.14.2. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo Neumonía Nosocomial (NN) y de los pacientes del grupo Neumonía Viral (NV) al día 3 del ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	NV (n=3)	NN (n=6)	Valor p
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	1,2 (0,2)	1,8 (0,8)	0,21
GSH E (μmol/g Hb)	2,4 (1,1)	3,0 (1,0)	0,44
GSSG E (μmol/g Hb)	1,2(0,2)	1,1 (0,5)	0,67
GSSG/GSH E	0,5(0,2)	0,4 (0,1)	0,20
GR E (μmol/min/g Hb)	9,7 (7,6)	3,8 (1,2)	0,08
GPx E (μmol/min/g Hb)	34,4 (3,7)	17,4 (12,7)	0,02
SOD E (U/g Hb)	1435,3 (346,1)	1765,8 (563,9)	0,34
CAT E (mmol/min/g Hb)	266,4 (94,7)	230,1 (27,5)	0,30
SOD/CAT E	5,8 (2,1)	7,7 (2,6)	0,31
SOD/(CAT+GPx) E	5,1 (1,8)	7,1 (2,2)	0,25
TBARS P (nmol/ml)	0,6 (0,05)	1,8 (0,8)	0,01
GSH P (nmol/ml)	14,9 (7,4)	18,7 (4,5)	0,32
GSSG P (nmol/ml)	20,9 (2,5)	19,1 (7,9)	0,65
GSSG/GSH P	1,8 (1,0)	1,1 (0,6)	0,20

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo NV (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v) y grupo NN (pacientes con neumonía nosocomial). p: valor significativo $\leq 0,05$.

Tabla 5.14.3. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo Neumonía Nosocomial (NN) y de los pacientes del grupo Neumonía Viral (NV) al alta de UCI.

BIOMARCADORES	NV (n=3)	NN (n=6)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	1,1 (0,2)	2,3 (1,8)	0,21
GSH E (μmol/g Hb)	3,0 (0,4)	3,3 (1,4)	0,77
GSSG E (μmol/g Hb)	1,6 (0,3)	0,8 (0,2)	0,01
GSSG/GSH E	0,5 (0,2)	0,3 (0,1)	0,06
GR E (μmol/min/g Hb)	10,2 (6,5)	4,2 (1,1)	0,11
GPx E (μmol/min/g Hb)	34,3 (10,7)	23,9 (15,6)	0,35
SOD E (U/g Hb)	1988,3 (934,3)	1730,7 (739,5)	0,60
CAT E (mmol/min/g Hb)	288,5 (86,)	208,2 (49,2)	0,12
SOD/CAT E	6,7 (1,3)	8,1 (2,2)	0,30
SOD/(CAT+GPx) E	5,9 (1,5)	7,2 (1,9)	0,36
TBARS P (nmol/ml)	0,7 (0,1)	1,6 (0,6)	0,05
GSH P (nmol/ml)	18,3 (6,6)	19,7 (9,6)	0,80
GSSG P (nmol/ml)	27,9 (5,2)	16,9 (5,1)	0,03
GSSG/GSH P	1,6 (0,5)	1,0 (0,5)	0,14

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo NV (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v y grupo NN (pacientes con neumonía nosocomial). p: valor significativo $\leq 0,05$.

5.15. ANÁLISIS DE ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA COMUNITARIA BACTERIANA vs. VIRAL

5.15.1. Características generales de ambos grupos

Las características generales al ingreso a UCI de los pacientes de acuerdo a su pertenencia al grupo de neumonía comunitaria bacteriana (NCB) y al grupo de neumonía viral (NV), se evidencian en la Tabla 5.15.1.

Tabla 5.15.1 Características generales al ingreso a UCI de los pacientes pertenecientes a los grupos neumonía viral (NV) y neumonía comunitaria bacteriana (NCB)

VARIABLES	NV (n=3)	NCB (n=12)	Valor <i>p</i>
Edad en años, media (DE)	29,3 (10,0)	61,8 (14,8)	0,004
APACHE II, media (DE)	14,7 (4,0)	16,3 (3,9)	0,50
SOFA, media (DE)	3,7 (3,0)	7,0 (2,7)	0,08
SIRS, media (DE)	2,7 (0,5)	3,0 (0,7)	0,42
Sexo Masculino, n (%)	2(66,7)	10 (83,3)	0,51
Mortalidad UCI, n (%)	1 (33,0)	3 (25,0)	1,00
Mortalidad, Hospital, n (%)	1 (33,0)	4 (33,3)	1,00

Medias, desviaciones estándares (DE) y porcentajes (%) correspondientes a las características generales de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía viral (NV) y neumonía comunitaria bacteriana (NCB) al ingreso a UCI; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: Sequential Organ Failure Assessment; SIRS: Systemic Inflammatory Response Syndrome; n: número de individuos; p: valor significativo $\leq 0,05$.

Como puede observarse, los pacientes con neumonía viral fueron significativamente más jóvenes que el grupo de neumonía comunitaria bacteriana.

En el resto de características generales no hubieron diferencias significativas pero se evidenció una tendencia en los pacientes con NV a tener un menor compromiso de disfunciones orgánicas ($p=0,08$) con respecto a los pacientes con NCB.

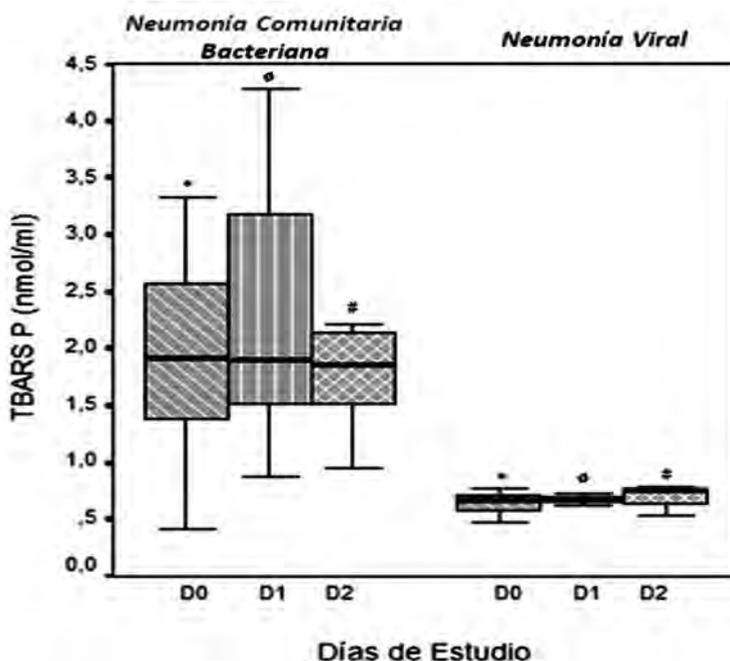
5.16. VARIACIÓN TEMPORAL DE LOS BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO QUE LOGRAN DIFERENCIAS SIGNIFICATIVAS ENTRE PACIENTES CON NEUMONÍA COMUNITARIA BACTERIANA Y NEUMONÍA VIRAL

En los siguientes gráficos se describen las variaciones temporales de los biomarcadores de estrés oxidativo que obtuvieron diferencias significativas entre el grupo de pacientes con neumonía comunitaria bacteriana (NCB) y el grupo de pacientes con neumonía viral (NV) durante todo el periodo de estudio.

5.16.1. Variación temporal de los TBARS P

Los niveles de los TBARS P han sido significativamente mayores en los pacientes con NCB al ingreso, al día 3 y al alta de UCI respecto de los pacientes con NV. Figura 5.16.1.

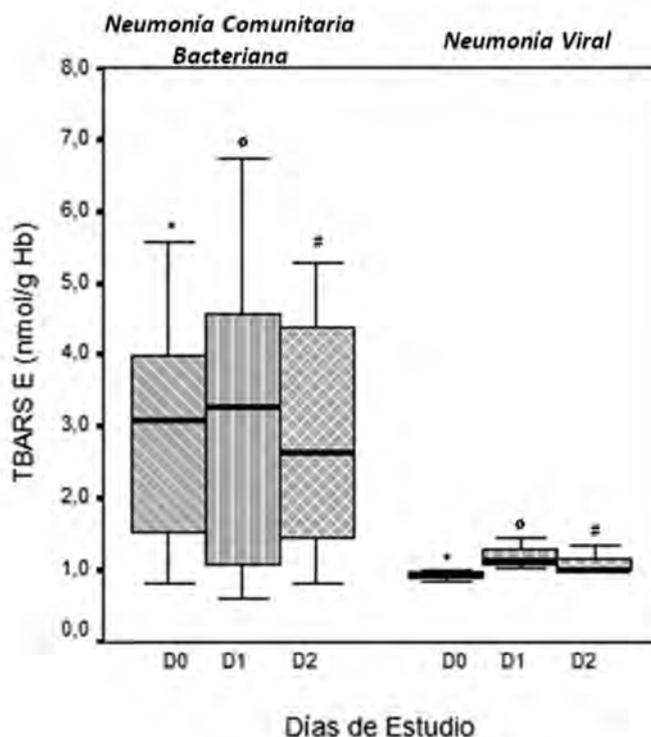
Figura 5.16.1. Variación temporal de los niveles de TBARS plasmáticos (P) en los grupos analizados: grupo neumonía comunitaria bacteriana (NCB); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,01; °p = 0,02; #p= 0,02).



5.16.2. Variación temporal de los TBARS E

Los valores de los niveles de los TBARS E también fueron más elevados en los pacientes con NCB al ingreso, al día 3 y al alta de UCI respecto de los pacientes con neumonía viral (NV). Figura 5.16.2.

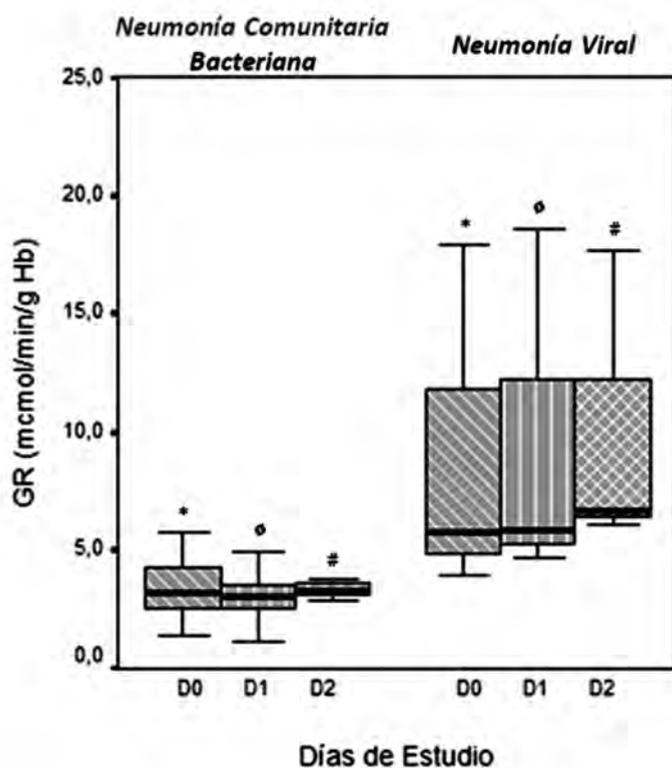
Figura 5.16.2. Variación temporal de los niveles de TBARS eritrocitarios (E) en los grupos analizados: grupo neumonía comunitaria bacteriana (NCB); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,001; #p = 0,005; #p = 0,01).



5.16.3. Variación temporal de la GR

Los valores de la actividad de la GR mostraron ser significativamente superiores en los pacientes con NV al ingreso, al día 3 y al alta de UCI respecto de los pacientes con NCB. Figura 5.16.3.

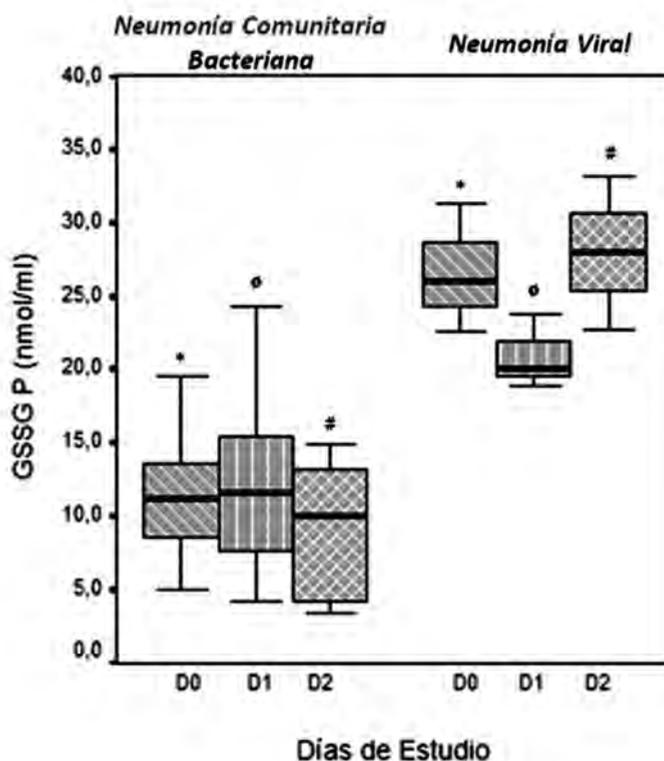
Figura 5.16.3. Variación temporal de la actividad de la glutatión reductasa (GR) en los grupos analizados: grupo neumonía comunitaria bacteriana (NCB); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p = 0,03; ^op = 0,006; #p = 0,006).



5.16.4. Variación temporal del GSSG P

De igual forma, los valores del GSSG P fueron significativamente superiores en los pacientes con NV al ingreso, al día 3 y al alta de UCI respecto de los pacientes con NCB. Figura 5.16.4.

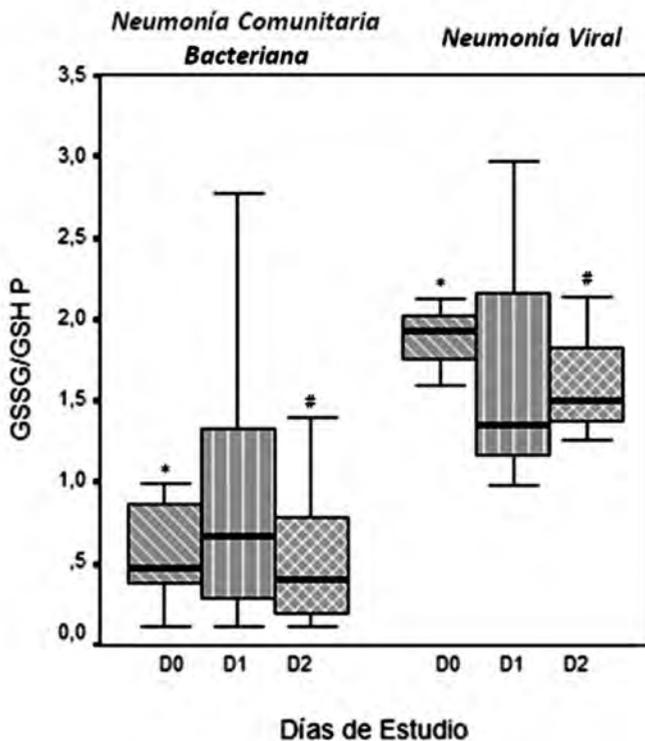
Figura 5.16.4. Variación temporal de los niveles del GSSG plasmático (P) en los grupos analizados: grupo neumonía comunitaria bacteriana (NCB); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (* $p=0,01$; $^{\circ}p=0,02$; # $p=0,01$).



5.16.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH P

Los valores de la relación GSSG/GSH P también fueron superiores en los pacientes con NV respecto de los pacientes con NCB, pero dicha diferencia sólo alcanzó significación estadística al ingreso y alta de UCI. Figura 5.16.5.

Figura 5.16.5. Variación temporal de la relación GSSG/GSH plasmático (P) en los grupos analizados: grupo neumonía comunitaria bacteriana (NCB); grupo neumonía viral (NV). Los valores se expresan en medianas (p50), mínimos, máximos y percentiles (p25; p75). D0: ingreso a UCI; D1: día 3; D2: alta de UCI. (*p= 0,009; #p= 0,03).



5.17. BIOMARCADORES DE ESTRÉS OXIDATIVO EN NEUMONÍA COMUNITARIA BACTERIANA vs. NEUMONÍA VIRAL

Las tablas 5.17.1; 5.17.2 y 5.17.3 muestran los valores medios de los biomarcadores de estrés oxidativo analizados en el grupo de pacientes con neumonía comunitaria bacteriana (NCB) y el grupo de pacientes con neumonía viral (NV) al ingreso a UCI, al día 3 y al alta de UCI respectivamente. En dichas tablas se incluyen también los biomarcadores que lograron diferencias significativas, los cuales fueron representados mediante diagramas de cajas en el apartado 5.16.

Tabla 5.17.1. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo Neumonía Viral (NV) y de los pacientes del grupo Neumonía Comunitaria Bacteriana (NCB) al ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	NV (n=3)	NCB (n=12)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	0,9 (0,08)	2,9 (1,4)	0,001
GSH E (μmol/g Hb)	2,8 (0,3)	2,3 (1,3)	0,52
GSSG E (μmol/g Hb)	1,5 (0,2)	1,4 (0,4)	0,50
GSSG/GSH E	0,5(0,1)	1,2 (1,2)	0,07
GR E (μmol/min/g Hb)	9,2 (7,5)	3,8 (2,0)	0,03
GPx E (μmol/min/g Hb)	33,9 (6,5)	29,0 (9,7)	0,31
SOD E (U/g Hb)	1158,4 (81,8)	1639,8 (560,7)	0,11
CAT E (mmol/min/g Hb)	191,1 (40,6)	277,5 (54,7)	0,10
SOD/CAT E	6,2 (1,7)	7,4 (3,8)	0,42
SOD/(CAT+GPx) E	5,3 (1,3)	7,2 (4,2)	0,20
TBARS P (nmol/ml)	0,6 (0,1)	1,9 (0,8)	0,01
GSH P (nmol/ml)	14,4(3,2)	21,6 (10,1)	0,23
GSSG P (nmol/ml)	26,6 (4,3)	11,5 (4,3)	0,01
GSSG/GSH P	1,8 (0,2)	0,9 (0,9)	0,009

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo NV (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v y grupo NCB (pacientes con neumonía comunitaria bacteriana). p: valor significativo ≤ 0,05.

Tabla 5.17.2. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo Neumonía Viral (NV) y de los pacientes del grupo Neumonía Comunitaria Bacteriana (NCB) al día 3 del ingreso a UCI.

BIOMARCADORES	NV (n=3)	NCB (n=12)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	1,2 (0,2)	3,1 (1,9)	0,005
GSH E (μmol/g Hb)	2,4 (1,1)	2,2 (1,5)	0,78
GSSG E (μmol/g Hb)	1,2(0,2)	1,1 (0,5)	0,75
GSSG/GSH E	0,5(0,2)	1,3 (1,3)	0,09
GR E (μmol/min/g Hb)	9,7 (7,6)	3,0 (1,0)	0,006
GPx E (μmol/min/g Hb)	34,4 (3,7)	28,4 (8,4)	0,11
SOD E (U/g Hb)	1435,3 (346,1)	1845,1 (532,0)	0,25
CAT E (mmol/min/g Hb)	266,4 (94,7)	246,5 (34,4)	0,50
SOD/CAT E	5,8 (2,1)	7,5 (1,7)	0,14
SOD/(CAT+GPx) E	5,1 (1,8)	6,7 (1,6)	0,10
TBARS P (nmol/ml)	0,6 (0,05)	2,2 (1,0)	0,02
GSH P (nmol/ml)	14,9 (7,4)	21,9 (11,1)	0,22
GSSG P (nmol/ml)	20,9 (2,5)	12,2 (5,8)	0,02
GSSG/GSH P	1,8 (1,0)	0,9 (0,8)	0,13

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo NV (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v y grupo NCB (pacientes con neumonía comunitaria bacteriana). p: valor significativo ≤ 0,05.

Tabla 5.17.3. Biomarcadores de estrés oxidativo de los pacientes del grupo Neumonía Viral (NV) y de los pacientes del grupo Neumonía Comunitaria Bacteriana (NCB) al alta de UCI.

BIOMARCADORES	NV (n=3)	NCB (n=12)	Valor <i>p</i>
	media (DE)	media (DE)	
TBARS E (nmol/g Hb)	1,1 (0,2)	3,0 (1,7)	0,01
GSH E (μmol/g Hb)	3,0 (0,4)	2,2 (1,6)	0,11
GSSG E (μmol/g Hb)	1,6 (0,3)	1,3 (0,6)	0,26
GSSG/GSH E	0,5 (0,1)	1,5 (1,5)	0,14
GR E (μmol/min/g Hb)	10,2 (6,5)	3,1 (0,8)	0,006
GPx E (μmol/min/g Hb)	34,3 (10,7)	30,2 (8,5)	0,50
SOD E (U/g Hb)	1988,3 (934,3)	2147,9 (802,3)	0,77
CAT E (mmol/min/g Hb)	288,5 (86,7)	251,7 (74,8)	0,43
SOD/CAT E	6,7 (1,2)	9,3 (4,3)	0,15
SOD/(CAT+GPx) E	5,9 (1,4)	8,3 (3,8)	0,20
TBARS P (nmol/ml)	0,7 (0,1)	1,9 (0,6)	0,02
GSH P (nmol/ml)	18,3 (6,6)	20,0 (8,6)	0,72
GSSG P (nmol/ml)	27,9 (5,2)	9,2 (5,4)	0,01
GSSG/GSH P	1,6 (0,4)	0,6 (0,4)	0,03

Los valores están expresados en medias y desviaciones estándares (DE); n= número de pacientes; E: eritrocitario; P: plasmático; grupo NV (pacientes con neumonía por virus Influenza A (H1N1)v) y grupo NCB (pacientes con neumonía comunitaria bacteriana). p: valor significativo ≤ 0,05.

5.18. ANÁLISIS COMPARATIVO DE ESTRÉS OXIDATIVO ENTRE PACIENTES CON NEUMONÍA BACTERIANA vs. CONTROLES (IAM)

Análisis entre pacientes con neumonía bacteriana vs. controles

Los valores obtenidos de los biomarcadores de lipoperoxidación, del sistema enzimático antioxidante y del sistema no enzimático antioxidante en el grupo de pacientes con neumonía bacteriana (comunitaria y nosocomial) y el grupo control (IAM), correspondientes al Día 1, día 3 y alta de UCI se detallan en las Tablas 5.18.a, 5.18.b, 5.18.c respectivamente.

Tabla 5.18.a. Biomarcadores de lipoperoxidación en los pacientes con neumonía bacteriana (NB) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.

BIOMARCADORES	Periodo Estudio	NB (n=18)	IAM (n=12)	Valor p
		n (media ± DE)	n (media ± DE)	
TBARS P (nmol/ml)	D0	18 (1,8 ± 0,8)	12 (1,2 ± 0,5)	0,02
	D1	18 (2,1 ± 0,9)	12 (1,4 ± 0,7)	0,04
	Alta UCI	18 (1,8 ± 0,6)	12 (1,3 ± 0,5)	0,11
TBARS E (nmol/g Hb)	D0	18 (2,5 ± 1,4)	12 (1,7 ± 1,1)	0,15
	D1	18 (2,7 ± 1,7)	12 (2,0 ± 0,9)	0,17
	Alta UCI	18 (2,8 ± 1,7)	12 (2,1 ± 1,4)	0,39

Valores de medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores de lipoperoxidación en plasma (P) y eritrocitos (E) de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía bacteriana (NB) y grupo control IAM: Infarto Agudo de Miocardio) durante el periodo de estudio: D0: Ingreso a UCI; D1: día 3 y alta de UCI; n: número de individuos; p: valor significativo $\leq 0,05$.

Al comparar los biomarcadores de lipoperoxidación entre los pacientes con NB y el grupo control, se encontraron valores significativamente más elevados de los TBARS plasmáticos en el grupo de pacientes con NB al ingreso a UCI y al día 3.

A pesar de que el resto de valores no fueron diferentes de forma significativa, se observó una tendencia, por parte del grupo de NB, a valores superiores con respecto al grupo control.

Tabla 5.18.b. Biomarcadores del Sistema Enzimático Antioxidante en los pacientes con neumonía bacteriana (NB) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.

BIOMARCADORES	Periodo Estudio	NB (n=18)	IAM (n=12)	Valor p
		n (media ± DE)	n (media ± DE)	
SOD E(U/g Hb)	D0	18 (1676,5 ± 616,3)	12 (2370,7 ± 889,9)	0,02
	D1	18 (1818,7 ± 527,4)	12 (2203,2 ± 571,3)	0,04
	Alta UCI	18 (2019,5 ± 778,4)	12 (1846,9 ± 462,2)	0,11
CAT E (mmol/min(g Hb))	D0	18 (221,0 ± 13,3)	12 (236,5 ± 64,8)	0,48
	D1	18 (241,0 ± 32,5)	12 (231,3 ± 44,5)	0,49
	Alta UCI	18 (238,3 ± 69,1)	12 (258,2 ± 32,0)	0,51
SOD/CAT	D0	18 (8,1 ± 4,1)	12 (11,1 ± 5,9)	0,17
	D1	18 (7,5 ± 2,0)	12 (10,0 ± 3,5)	0,02
	Alta UCI	18 (8,9 ± 3,7)	12 (7,4 ± 2,7)	0,39
SOD/(CAT+GPx)	D0	18 (7,5 ± 4,0)	12 (10,0 ± 5,3)	0,15
	D1	18 (6,8 ± 1,7)	12 (9,1 ± 3,3)	0,02
	Alta UCI	18 (7,9 ± 3,3)	12 (6,6 ± 2,6)	0,42
GR E (μmol/min/gHb)	D0	18 (3,6 ± 1,7)	12 (3,3 ± 1,3)	0,66
	D1	18 (3,3 ± 1,1)	12 (2,7 ± 0,8)	0,18
	Alta UCI	18 (3,5 ± 1,0)	12 (2,9 ± 0,9)	0,27
GPx E (μmol/min/gHb)	D0	18 (26,8 ± 10,7)	12 (27,5 ± 11,5)	0,78
	D1	18 (24,7 ± 11,0)	12 (25,0 ± 12,9)	0,93
	Alta UCI	18 (28,3 ± 10,9)	12 (30,0 ± 14,1)	0,76

Valores de medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante en eritrocitos (E) de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía bacteriana (NB) y grupo control IAM: Infarto Agudo de Miocardio) durante el periodo de estudio: D0: Ingreso a UCI; D1: día 3 y alta de UCI; n: número de individuos; p: valor significativo ≤ 0,05.

Al observar los resultados de las comparaciones del sistema enzimático antioxidante entre ambos grupos, se evidencian valores significativamente más bajos de la actividad de la SOD en el grupo de NB al momento del ingreso a UCI hasta el día 3 inclusive. Al alta de UCI este grupo mantiene un valor menor que el grupo control pero sin alcanzar significación estadística. Estos resultados se acompañan de niveles más bajos de las relaciones SOD/CAT y [SOD/(CAT + GPx)] en los pacientes con neumonía bacteriana al día 3.

Tabla 5.18.c. Biomarcadores del Sistema No Enzimático Antioxidante en los pacientes con neumonía bacteriana (NB) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.

BIOMARCADORES	Periodo Estudio	NB (n=18)	IAM (n=12)	Valor p
		n (media \pm DE)	n (media \pm DE)	
GSH E ($\mu\text{mol/g Hb}$)	D0	18 (2,4 \pm 1,2)	12 (3,2 \pm 1,3)	0,08
	D1	18 (2,4 \pm 1,4)	12 (3,3 \pm 1,6)	0,10
	Alta UCI	18 (2,5 \pm 1,6)	12 (3,3 \pm 1,8)	0,32
GSSG E ($\mu\text{mol/g Hb}$)	D0	18 (1,3 \pm 0,4)	12 (1,3 \pm 0,7)	0,96
	D1	18 (1,1 \pm 0,5)	12 (1,1 \pm 0,5)	0,89
	Alta UCI	18 (1,1 \pm 0,5)	12 (1,3 \pm 0,6)	0,43
GSSG/GSH E	D0	18 (0,9 \pm 1,0)	12 (0,6 \pm 0,8)	0,40
	D1	18 (1,0 \pm 1,2)	12 (0,6 \pm 0,7)	0,37
	Alta UCI	18 (1,1 \pm 1,4)	12 (0,7 \pm 1,0)	0,59
GSH P (nmol/ml)	D0	18 (20,3 \pm 8,8)	12 (29,5 \pm 11,4)	0,01
	D1	18 (20,8 \pm 9,4)	12 (28,0 \pm 10,8)	0,06
	Alta UCI	18 (19,9 \pm 8,6)	12 (37,2 \pm 17,3)	0,009
GSSG P (nmol/ml)	D0	18 (14,5 \pm 7,8)	12 (17,3 \pm 13,0)	0,44
	D1	18 (14,5 \pm 7,2)	12 (16,1 \pm 8,4)	0,57
	Alta UCI	18 (11,6 \pm 6,0)	12 (14,9 \pm 7,5)	0,30
GSSG/GSH P	D0	18 (1,0 \pm 0,8)	12 (0,8 \pm 1,0)	0,55
	D1	18 (0,9 \pm 0,7)	12 (0,7 \pm 0,5)	0,32
	Alta UCI	18 (0,7 \pm 0,5)	12 (0,6 \pm 0,6)	0,68

Valores de medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante en plasma (P) y eritrocitos (E) de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía bacteriana (NB) y grupo control IAM: Infarto Agudo de Miocardio) durante el periodo de estudio: D0: Ingreso a UCI; D1: día 3 y alta de UCI; n: número de individuos; p: valor significativo $\leq 0,05$.

Sólo se encontraron diferencias significativas en las concentraciones plasmáticas del GSH al ingreso y al alta de UCI, siendo más bajos en los pacientes con NB. De todas formas, aunque al tercer día el resultado del GSH P no es significativo, mantiene la misma tendencia ($p= 0,06$) al mantener un valor inferior con respecto al grupo control.

También se puede observar que los niveles eritrocitarios del GSH se comportan de forma similar al GSH en plasma, siendo más bajos, aunque no de forma significativa, en los pacientes con NB.

5.19. ANÁLISIS COMPARATIVO DE ESTRÉS OXIDATIVO ENTRE PACIENTES CON NEUMONÍA VIRAL vs. CONTROLES (IAM)

Los valores obtenidos de los biomarcadores de lipoperoxidación, del sistema enzimático y del sistema no enzimático antioxidantes en el grupo de pacientes con neumonía viral y el grupo control (IAM), correspondientes al Día 1, día 3 y alta de UCI se detallan en las Tablas 5.19.a, 5.19.b, 5.19.c respectivamente.

Tabla 5.19.a. Biomarcadores de lipoperoxidación en los pacientes con neumonía viral (NV) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.

BIOMARCADORES	Periodo Estudio	NV (n=3)	IAM (n=12)	Valor <i>p</i>
		n (media ± DE)	n (media ± DE)	
TBARS P (nmol/ml)	D0	3 (0,6 ± 0,1)	12 (1,2 ± 0,5)	0,04
	D1	3 (0,7 ± 0,1)	12 (1,4 ± 0,7)	0,04
	Alta UCI	3 (0,7 ± 0,1)	12 (1,3 ± 0,5)	0,02
TBARS E (nmol/g Hb)	D0	3 (0,9 ± 0,1)	12 (1,7 ± 1,1)	0,03
	D1	3 (1,2 ± 0,2)	12 (2,0 ± 0,9)	0,01
	Alta UCI	3 (1,1 ± 0,2)	12 (2,1 ± 1,4)	0,15

Valores de medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores de lipoperoxidación en plasma (P) y eritrocitos (E) de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía Viral (NV) y grupo control IAM: Infarto Agudo de Miocardio) durante el periodo de estudio: D0: Ingreso a UCI; D1: día 3 y alta de UCI; n: número de individuos; *p*: valor significativo ≤ 0,05.

Como puede observarse, los niveles de TBARS plasmáticos y eritrocitarios son significativamente más bajos en los pacientes con NV respecto de los controles durante todo el periodo de estudio, a excepción de los TBARS E al alta de UCI, que a pesar de mantener la misma tendencia que al ingreso y al tercer día, no alcanzaron una diferencia significativa.

Tabla 5.19.b. Biomarcadores del Sistema Enzimático Antioxidante en los pacientes con neumonía viral (NV) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.

BIOMARCADORES	Periodo Estudio	NV (n=3)	IAM (n=12)	Valor p
		n (media ± DE)	n (media ± DE)	
SOD E(U/g Hb)	D0	3 (1158,5 ± 81,8)	12 (2370,7 ± 889,9)	0,02
	D1	3 (1435,4 ± 346,1)	12 (2203,2 ± 571,3)	0,04
	Alta UCI	3 (1988,4 ± 934,4)	12 (1846,9 ± 462,2)	0,11
CAT E (mmol/min(g Hb)	D0	3 (191,6 ± 40,6)	12 (236,5 ± 64,8)	0,15
	D1	3 (266,4 ± 94,7)	12 (231,3 ± 44,5)	0,17
	Alta UCI	3 (288,6 ± 86,7)	12 (258,2 ± 32,0)	0,39
SOD/CAT	D0	3 (6,2 ± 1,7)	12 (11,1 ± 5,9)	0,03
	D1	3 (5,8 ± 2,1)	12 (10,0 ± 3,5)	0,04
	Alta UCI	3 (6,7 ± 1,2)	12 (7,4 ± 2,7)	0,60
SOD/(CAT+GPx)	D0	3 (5,3 ± 1,3)	12 (10,0 ± 5,3)	0,01
	D1	3 (5,1 ± 1,7)	12 (9,1 ± 3,3)	0,02
	Alta UCI	3 (6,0 ± 1,4)	12 (6,6 ± 2,6)	0,68
GR E (µmol/min/gHb)	D0	3 (9,2 ± 7,5)	12 (3,3 ± 1,3)	0,01
	D1	3 (9,7 ± 7,6)	12 (2,7 ± 0,8)	0,004
	Alta UCI	3 (10,2 ± 6,5)	12 (2,9 ± 0,9)	0,02
GPx E (µmol/min/gHb)	D0	3 (33,9 ± 6,5)	12 (27,5 ± 11,5)	0,26
	D1	3 (34,4 ± 3,7)	12 (25,0 ± 12,9)	0,25
	Alta UCI	3 (34,4 ± 10,7)	12 (30,0 ± 14,1)	0,66

Valores de medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores del sistema enzimático antioxidante en eritrocitos (E) de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía viral (NV) y grupo control IAM: Infarto Agudo de Miocardio) durante el periodo de estudio: D0: Ingreso a UCI; D1: día 3 y alta de UCI; n: número de individuos; p: valor significativo ≤ 0,05.

Como puede observarse, se encontraron diferencias significativas en uno de los biomarcadores relacionados con el sistema antioxidante SOD-CAT, siendo la actividad de la SOD más baja significativamente en el grupo de NV al ingreso y al día 3, respecto del grupo de pacientes con IAM (controles). Se hallaron los mismos cambios significativos al comparar la relación SOD/CAT, siendo más baja en los pacientes con NV. También se evidenció una disminución significativa de la relación [SOD/(CAT + GPx)] en el grupo NV al compararla con el grupo control al momento del ingreso a UCI y al día 3. Al

alta de UCI también se observaron valores más bajos pero sin significación estadística.

Por otra parte, se encontraron diferencias significativas en la actividad de la GR, siendo más elevada en el grupo de pacientes con NV durante toda su estancia en UCI, respecto del grupo control. De forma similar, la actividad de la GPx fue más elevada en los pacientes con NV pero sin lograr significación estadística.

Tabla 5.19.c. Biomarcadores del Sistema No Enzimático Antioxidante en los pacientes con neumonía viral (NV) y pacientes control (IAM) durante el periodo de estudio.

BIOMARCADORES	Periodo Estudio	NV (n=3)	IAM (n=12)	Valor p
		n (media ± DE)	n (media ± DE)	
GSH E (µmol/g Hb)	D0	3 (2,8 ± 0,3)	12 (3,2 ± 1,3)	0,56
	D1	3 (2,4 ± 1,1)	12 (3,3 ± 1,6)	0,34
	Alta UCI	3 (3,0 ± 0,4)	12 (3,3 ± 1,8)	0,75
GSSG E (µmol/g Hb)	D0	3 (1,5 ± 0,2)	12 (1,3 ± 0,7)	0,64
	D1	3 (1,2 ± 0,2)	12 (1,1 ± 0,5)	0,83
	Alta UCI	3 (1,6 ± 0,3)	12 (1,3 ± 0,6)	0,48
GSSG/GSH E	D0	3 (0,5 ± 0,1)	12 (0,6 ± 0,8)	0,78
	D1	3 (0,6 ± 0,2)	12 (0,6 ± 0,7)	0,86
	Alta UCI	3 (0,5 ± 0,1)	12 (0,7 ± 1,0)	0,69
GSH P (nmol/ml)	D0	3 (14,4 ± 3,2)	12 (29,5 ± 11,4)	0,04
	D1	3 (14,9 ± 7,4)	12 (28,0 ± 10,8)	0,05
	Alta UCI	3 (18,3 ± 6,6)	12 (37,2 ± 17,3)	0,05
GSSG P (nmol/ml)	D0	3 (26,6 ± 4,3)	12 (17,3 ± 13,0)	0,06
	D1	3 (21,0 ± 2,5)	12 (16,1 ± 8,4)	0,11
	Alta UCI	3 (27,9 ± 5,2)	12 (14,9 ± 7,5)	0,02
GSSG/GSH P	D0	3 (1,9 ± 0,2)	12 (0,8 ± 1,0)	0,07
	D1	3 (1,8 ± 1,0)	12 (0,7 ± 0,5)	0,02
	Alta UCI	3 (1,6 ± 0,4)	12 (0,6 ± 0,6)	0,03

Valores de medias y desviaciones estándares (DE) de los biomarcadores del sistema no enzimático antioxidante en plasma (P) y eritrocitos (E) de los pacientes pertenecientes a los grupos de neumonía viral (NV) y grupo control IAM: Infarto Agudo de Miocardio) durante el periodo de estudio: D0: Ingreso a UCI; D1: día 3 y alta de UCI; n: número de individuos; p: valor significativo ≤ 0,05.

Se encontraron diferencias significativas en las concentraciones del GSH P, siendo más bajos en los pacientes del grupo NV respecto del grupo control durante todo el periodo de estudio. Además, el nivel del GSSG en plasma de los pacientes con NV fue significativamente más alto al momento del alta de UCI y, aunque los niveles de este biomarcador tuvieron la misma tendencia durante el ingreso y al tercer día, no lograron significación estadística. Con respecto a los valores de la relación GSSG/GSH plasmática, también se obtuvieron diferencias significativas al día 3 y alta de UCI, siendo más elevados en este mismo grupo de pacientes, no así al ingreso, que aunque mantuvo la misma tendencia al alta ($p= 0,07$) no logró una diferencia significativa con respecto al grupo control.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

DISCUSIÓN

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

6. DISCUSIÓN

6.1. APORTACIONES DEL PRESENTE TRABAJO DE TESIS

El presente trabajo de tesis aporta una novedosa información sobre el estrés oxidativo, ya que es el primer estudio que valora el comportamiento de diferentes biomarcadores de estrés oxidativo en pacientes con neumonía grave ingresados en UCI y que realiza una comparación de los hallazgos con un grupo control de pacientes con una causa potencial de daño oxidativo, pero de características no infecciosas (IAM). Consideramos que la elección de este especial "Grupo control" permite obtener comparaciones de mayor interés que si se elige un grupo control de voluntarios sanos, ya que en éstos la actividad de estrés oxidativo es mínima y las diferencias en los biomarcadores observadas respecto de los estados patológicos son difíciles de interpretar.

Además, nuestro trabajo aporta datos de interés sobre el papel de los TBARS como marcador de gravedad en pacientes con neumonía grave, así como realza la importancia de la determinación de los sistemas antioxidantes al momento de la valoración del nivel de estrés oxidativo presente en la neumonía. Finalmente, aporta datos únicos (aunque iniciales) sobre el estado de estrés oxidativo en pacientes con neumonía viral por el virus An/H1N1 durante la reciente pandemia acaecida en el año 2009, lo cual abre una línea de investigación en este colectivo especial de pacientes, que esperamos completar en los siguientes años con futuros estudios.

6.2. GENERALIDADES

En el presente trabajo se valora el estrés oxidativo a través de una batería de biomarcadores. Esta es una de las principales diferencias de nuestro estudio respecto de lo que ocurre en otros trabajos, en los cuales sólo se valoran algunos de estos parámetros de forma aislada.

Quizás una de las mejores maneras de medir el nivel de estrés oxidativo, considerando su definición como un aumento en la producción de RLO y/o una disminución en la producción de antioxidantes, es evaluando no sólo algunos de los marcadores de daño oxidativo, sino también varios biomarcadores antioxidantes (Dotan Y y col.; 2004), y de esta manera valorar si el cuadro de estrés oxidativo generado es debido a alteraciones de los sistemas oxidantes y/o los sistemas antioxidantes.

Por lo dicho, para realizar una evaluación global de ambos sistemas, hemos elegido para medir la magnitud del daño oxidativo, la determinación cuantitativa de los productos de lipoperoxidación lipídica (TBARS), tanto en eritrocitos como en plasma, así como determinar los niveles de diferentes antioxidantes: SOD, CAT, GPx, GR, GSH, GSSG y las relaciones SOD/CAT, [SOD/(CAT+GPx)] y GSSG/GSH en plasma y eritrocitos.

La elección de los TBARS como indicadores de lipoperoxidación se debe a que los mismos parecen ser los que mejor reflejan el daño celular como consecuencia final de la acción de los RLO sobre las membranas. Por otra parte, este biomarcador es el parámetro que, hasta el momento, es el más utilizado de forma universal como marcador de estrés oxidativo en diversas patologías; por ejemplo, en un estudio de Goode HF. y col. (1995) midieron los niveles de TBARS como índice de producción del malondialdehído en pacientes con shock séptico y relacionaron estos niveles con la presencia de fallo orgánico secundario. Otros autores, como Konukoglu D y col. (2003), compararon el nivel de TBARS en pacientes diabéticos y sujetos sanos observando mayor daño oxidativo en los primeros; en otro estudio (Ekmekci OB y col.; 2006), los autores encontraron niveles elevados de TBARS plasmáticos en pacientes asmáticos al compararlos con controles sanos, sugiriendo el posible papel de este biomarcador como indicador potencial de esta enfermedad de las vías aéreas. Por su parte, Romeu y col. (2010) establecieron una escala de estrés oxidativo evaluando diferentes biomarcadores, entre ellos a los TBARS como indicador de daño oxidativo en pacientes con insuficiencia renal crónica,

hallando niveles más elevados de estos productos de lipoperoxidación en estos pacientes al compararlos con un grupo control de sujetos sanos.

Por su parte, diversos biomacadores antioxidantes han sido relacionados con la evolución en diferentes patologías. Amstad P y col. (1994) observaron en modelos animales que la GPx podría contribuir a la acción de la SOD cuando existe una sobreproducción de oxidantes. Los autores sugieren la acción beneficiosa de la GPx debido a su capacidad de destruir hidroperóxidos. En otro estudio (Metnitz PGH y col.; 1999) se valoró el comportamiento de ciertas enzimas antioxidantes (SOD, GPx y CAT) en ocho pacientes afectados de distrés respiratorio. Los autores observaron que estos biomarcadores antioxidantes estaban disminuidos al compararlos con controles sanos. Estos hallazgos se contraponen a los observados en otros estudios que valoraron estas enzimas en suero (Leff JA y col.; 1993; Leff JA y col.; 1992). Esta discrepancia podría deberse a que la mayor vida media del eritrocito no permite observar el aumento adaptativo de los biomarcadores como en plasma.

Es por ello, que el objetivo principal de este trabajo de investigación es determinar el comportamiento no sólo de los TBARS, como expresión del daño oxidativo, sino también de los biomarcadores antioxidantes en la infección respiratoria grave (neumonía grave) y valorar su comportamiento respecto de los controles no infecciosos (infarto agudo de miocardio).

6.3. OBJETIVO PRINCIPAL

Comparación y valoración del nivel de daño oxidativo (TBARS) y los diferentes sistemas antioxidantes entre neumonía grave e infarto agudo de miocardio.

El principal hallazgo de nuestro estudio es que la valoración temporal del sistema antioxidante durante la fase aguda de enfermedad en la neumonía grave ingresada en UCI, parece ser un indicador más eficaz para una valoración adecuada del estado de estrés oxidativo y posiblemente de la gravedad general de los pacientes, mientras que los TBARS no surgen como biomarcadores útiles al momento de valorar el nivel de estrés oxidativo en los pacientes con neumonía grave.

Durante la neumonía, se observa una llegada masiva de polimorfonucleares activados al pulmón. Estas células son la primera línea de defensa contra los microorganismos y realizan su acción bactericida mediante la utilización de RLO y enzimas lisosomales. El incremento del estrés oxidativo en sangre y en el condensado del aire expirado, secundario a una intensa actividad fagocítica en la neumonía, ha sido comunicado por diversos autores. El estudio de Duflo F y col. (2002) evidenció que tanto las concentraciones alveolares como séricas de TBARS fueron superiores en pacientes con neumonía respecto de aquellos que no la desarrollaron. Además, y en concordancia con nuestro estudio, no encuentran cambios significativos en los niveles de TBARS P con los días de evolución del cuadro en el grupo de pacientes con neumonía. Dichos autores sugieren que la administración de antibióticos puede afectar los valores de diferentes biomarcadores. Así, la administración tardía de los antimicrobianos (sólo después de obtener los cultivos) podría explicar la falta de diferencia en los niveles de los TBARS P observada. Esta situación no parece afectar nuestros resultados, ya que todos nuestros pacientes con neumonía grave recibieron tratamiento antibiótico desde el día de la sospecha clínica de la afección. A pesar de ello, el daño oxidativo tampoco evidenció un incremento significativo con el tiempo.

Como surge de nuestros resultados, el grado de daño oxidativo (valorado por medio de los TBARS), si bien fue alrededor del 25-30% superior en los pacientes con neumonía, esta diferencia no fue estadísticamente significativa

respecto de los pacientes afectados por IAM durante todo el periodo de estudio al comparar TBARS P y E.

Otros estudios, como los realizados por Cemek y col. (2006) en niños con neumonía y por Nowak y col. (1996) en pacientes adultos con sepsis respiratoria, han reportado la existencia de un estado oxidativo aumentado en la neumonía evidenciado por un aumento de TBARS en plasma y una disminución de ciertos biomarcadores antioxidantes en el estudio en niños. Umeki S y col. (1987) estudiaron los niveles del anión superóxido en pacientes inmunocomprometidos con neumonía y sin neumonía, y observaron un aumento significativo de este radical libre en el grupo de pacientes con neumonía. Los autores consideran éste situación de estrés oxidativo como una respuesta defensiva del organismo frente al ataque de patógenos. Otro estudio (Majewska E y col.; 2004) en pacientes con neumonía, observó un aumento de TBARS y H_2O_2 en condensados de aire exhalado, los que se correlacionaban de forma moderada con la intensidad de la respuesta inflamatoria sistémica. Dalhoff y col. (1994) estudiaron el nivel de estrés oxidativo evaluando la cantidad de oxidantes liberados y su significado, través de la cuantificación de neutrófilos activados y mieloperoxidasa en lavado broncoalveolar durante la fase aguda de la infección en pacientes con neumonía. Los autores concluyeron que estos pacientes tienen una respuesta oxidativa elevada debido principalmente a la activación y reclutamiento de neutrófilos y su consecuente liberación de RLO.

Nuestros resultados concuerdan con los estudios mencionados y evidencian una tendencia hacia un mayor nivel de daño oxidativo en los pacientes con neumonía. La falta de diferencias significativas al comparar el nivel de daño oxidativo, tomando como variable principal a los TBARS, entre el grupo de pacientes con neumonía (etiología infecciosa) y el grupo de pacientes con IAM (etiología no infecciosa), podría estar en relación con los siguientes factores:

- 1) Una probable baja especificidad de los TBARS, tal como fuera sugerido por diversos investigadores. Varios artículos (Lykkesfeldt J.; 2007; Meagher EA y col.; 2000; Griffiths HR y col.; 2002; Janero DR; 1990; Théron P y col.; 2000) evaluaron la técnica y el papel de TBARS como marcador de lipoperoxidación. Los autores coinciden que a pesar de ser el biomarcador más usado, presentaría una no muy adecuada especificidad aunque sí una elevada sensibilidad.

La falta de especificidad está condicionada por razones propias de la técnica. Las fuertes condiciones ácidas y de calor necesarias para la reacción del ácido tiobarbitúrico, por el cual se determina la concentración de malondialdehído (MDA) en la muestra mediante métodos fluorimétricos o colorimétricos, puede condicionar que sustancias no relacionadas con la oxidación de los lípidos, puedan formarse durante el procesamiento de la muestra (artefactos de la técnica). Esto llevaría a que la absorbancia medida no se corresponda exactamente con la concentración de MDA *in vivo*, pero sí dentro de un rango de productos apropiadamente denominados *Sustancias Reactivas del Acido Tiobarbitúrico (TBARS)*.

Sin embargo, otros autores han señalado que este marcador es un buen indicador de daño oxidativo. Motoyama T y col.(2003), evaluó los niveles de TBARS plasmáticos como índice de estrés oxidativo, en pacientes ingresados en UCI con criterios de SIRS que desarrollaron disfunción multiorgánica. Los autores evidenciaron que las concentraciones de TBARS plasmáticos fueron significativamente mayores en los pacientes que fallecieron en la UCI respecto de los que sobrevivieron. Además, observaron que dichas concentraciones fueron significativamente superiores en aquellos pacientes que si bien fueron dados de alta de la UCI fallecieron dentro de los 30 días posteriores. Así, un elevado nivel de TBARS plasmáticos al alta de UCI podría implicar un peor pronóstico inmediato. De esta forma los TBARS podrían identificar subgrupos de pacientes con alto riesgo de complicaciones post- UCI. Un modelo animal (Andrades M y col.; 2009) también objetivó que los TBARS se relacionaron directamente con el daño oxidativo en tejido pulmonar y renal. Y la realidad es que los TBARS se continúan utilizando para determinar el daño oxidativo (Pirinccioglu AG y col.; 2010).

- 2) El amplio margen de variabilidad de la técnica para la determinación de este biomarcador entre diferentes laboratorios. Esto hace difícil la comparación de resultados publicados en diferentes estudios. Una de las soluciones que brindan estos autores para aumentar la especificidad de la técnica es utilizar la técnica de HPLC (High-performance liquid chromatography) aunque esta técnica es mucho

más laboriosa y con elevado coste. Por su parte, en una revisión de Gutteridge J (1995), el autor considera que los TBARS son excelentes marcadores de daño tisular siempre que la técnica se realice bajo un control estricto y riguroso para incrementar su especificidad.

- 3) Esta aparente discrepancia entre los resultados podría deberse a que los TBARS sólo expresan el daño oxidativo sobre los lípidos de las membranas celulares (lipoperoxidación), mientras que otros mecanismos de acción por los cuales se produce daño oxidativo (a nivel de proteínas o del DNA) pueden ser más importantes en otras patologías, o bien esta discrepancia podría tan sólo relacionarse con la diferente gravedad de los pacientes incluidos en cada estudio y quizás los momentos de la determinación analítica del biomarcador.
- 4) No podemos descartar el efecto del tratamiento sobre los niveles de los diferentes biomarcadores. Tanto el tratamiento antimicrobiano como el de soporte general podrían afectar el comportamiento del estrés oxidativo. El impacto de este factor excede el propósito del presente estudio por lo cual no fue considerado.

En resumen, los niveles precoces de TBARS no parecen ser un marcador adecuado para intentar valorar la magnitud del daño oxidativo de los pacientes con neumonía grave.

Sin embargo, el papel de los sistemas antioxidantes y su variación en neumonía grave parece estar relacionado con la evolución de los pacientes.

La SOD es uno de los marcadores de la primera línea de los sistemas antioxidantes enzimáticos, que actúa sobre el radical superóxido, molécula liberada en los procesos de inflamación, dando como producto de dismutación al superóxido de hidrógeno y oxígeno molecular (Gaeta LA y col.; 2002). A su vez, la CAT actúa sobre el radical peróxido de hidrógeno, dando lugar a moléculas de agua y oxígeno molecular ejerciendo así una adecuada protección frente al ataque de los radicales libres generados como consecuencia del estado agudo de inflamación por la sepsis.

Nuestros resultados evidenciaron en general una disminución significativa de la actividad del sistema antioxidante en la neumonía bacteriana grave, específicamente de la enzima SOD y la relación SOD/CAT durante las primeras

72 horas de evolución, en una magnitud de aproximadamente un 30% menos respecto de los pacientes del grupo control IAM. La falta de diferencias significativas entre ambos grupos al alta de UCI, puede corresponder a la normalización de los valores enzimáticos de estos dos marcadores, implicando una fase de estabilización del cuadro inflamatorio de estos pacientes. El mismo comportamiento se observó en la relación $SOD/(CAT + GPx)$ tanto al ingreso como al día 3, obteniendo valores más bajos (un 30% menos) en los pacientes con neumonía respecto del grupo control IAM, pero logrando significancia estadística sólo a las 72 hs. Mientras que al alta de UCI parecería haberse normalizado de forma paralela que la SOD y la relación SOD/CAT.

Por otra parte, podría ser que los pacientes con neumonía, al presentar un cuadro más grave, evidenciado por un mayor compromiso general (el doble con respecto al grupo control IAM) a través de la escala APACHE II, casi cinco veces mayor el número de disfunciones orgánicas, por medio de la escala SOFA y casi el doble de una respuesta inflamatoria sistémica, valorado a través de la escala SIRS, presenten valores más bajos de SOD y las relaciones SOD/CAT y $[SOD/(CAT + GPx)]$ (alrededor del 30% menos) con respecto al grupo control, debido a una actividad marcadamente más elevada de RLO, la cual sería evidente sobretodo durante las primeras 72 horas desde el ingreso.

Sin embargo, cuando estudiamos y analizamos las variaciones "temporales" de SOD y CAT en pacientes con neumonía, se observó un aumento significativo de ambas enzimas, justificado quizás por la mejoría de la patología de base debido al tratamiento instituido. De forma contraria, al realizar este mismo análisis en el grupo no infeccioso de pacientes con IAM (control), no se evidenciaron diferencias significativas en las actividades de SOD y CAT. Esto podría deberse a que en estos pacientes la intensidad del daño oxidativo podría ser menor, aunque según nuestros resultados esta diferencia no fue significativamente diferente.

A su vez, en nuestros resultados se observa una disminución significativa del GSH plasmático (entre el 30 y 50%) en los pacientes con neumonía respecto de los pacientes con IAM. Eso puede relacionarse con un marcado consumo de este sustrato, desde el ingreso en UCI hasta el alta de la misma, debido al proceso infeccioso de los pacientes que altera de forma drástica el metabolismo hepático de éste. Víctor VM y col.(2004) explican este cambio por depleción rápida del GSH intracelular por la consecuencia de la acción del TNF- α in vitro sobre las células endoteliales y epiteliales de animales y

humanos, debido a la oxidación del GSH a GSSG, seguido de un incremento en la síntesis del GSH gracias a la activación de la enzima responsable de regular los niveles de GSH, la γ -glutamilcisteína-sintetasa (γ -GCS). Como resultado, se evidencia un aumento drástico de la síntesis en diferentes órganos (especialmente en el hígado) durante el inicio de un cuadro de sepsis, pero con bajas concentraciones en sangre. De la misma forma, Hammarqvist F y col.(1997) y Wernerman J y col. (1999) observaron una disminución del GSH muscular y de la relación GSH/GSSG en pacientes ingresados en UCI. Ambos artículos sugieren una alteración en el metabolismo del GSH en pacientes críticos.

El GSH es uno de los antioxidantes endógenos más importantes. La presencia de un grupo silfhidrilo (-SH) en su molécula le confiere una importancia fundamental para el adecuado funcionamiento de la glutatión peroxidasa (Ortolani O y col.; 2000) así como en la detoxificación de radicales libres y peróxidos (Shan X y col.; 1990).

Al analizar la variación "temporal" de la relación GSSG/GSH P en los pacientes con neumonía, se observa una disminución significativa durante el periodo de estudio. Este comportamiento podría ser secundario a un incremento simultáneo de las actividades de GPx y la GR, al compararlos con el grupo control IAM, que condicionan un nivel sostenido de GSH P y un descenso relativo de la GSSG P.

Al analizar el comportamiento del nivel de GSH P entre ambos grupos, se observa un nivel significativamente más bajo en los pacientes con neumonía durante todo el periodo de estudio. Esto podría responder a un incremento en el consumo sumado a una probable disminución de la síntesis secundaria a la disfunción hepática presente en un cuadro infeccioso grave.

En resumen, diversos componentes de los sistemas antioxidantes se encuentran disminuidos durante la fase aguda de un cuadro de neumonía grave, ésto podría relacionarse no sólo con el consumo de estas sustancias de primera línea defensiva, sino también con alteraciones secundarias a su síntesis hepática en los procesos infecciosos graves. Estos antioxidantes surgen como biomarcadores más eficaces para determinar el nivel de estrés oxidativo en los pacientes con neumonía grave por sobre los TBARS.

6.4. OBJETIVOS SECUNDARIOS

a) Relación entre los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo, los scores de gravedad y la mortalidad.

El principal hallazgo de nuestro estudio es que no existe una buena correlación entre los biomarcadores de estrés oxidativo y las diferentes escalas de gravedad utilizadas habitualmente en UCI para la cuantificación más o menos objetiva de la gravedad de los pacientes con neumonía grave. Tampoco resultaron de utilidad para poder diferenciar pacientes con mala evolución.

En las Unidades de Cuidados Intensivos se usan de forma habitual las escalas APACHE II, SIRS y SOFA para realizar una estratificación del riesgo relativo de los pacientes. El empleo de estas escalas ha demostrado que la gravedad de la enfermedad aguda puede ser cuantificada por el grado de perturbación de una amplia gama de variables fisiológicas (APACHE II), de función orgánica (SOFA) o de respuesta innata (SIRS). Independientemente de su etiología, cualquier insulto, si es lo suficientemente grave, induce la liberación de mediadores pro-inflamatorios y la formación de radicales libres de oxígeno, posiblemente como consecuencia de la activación de polimorfonucleares y de otras células del retículo endotelial. La presencia de sustancias reactivas del oxígeno, ha sido asociada con el consumo de antioxidantes endógenos y/o con el incremento de las concentraciones de biomarcadores de daño oxidativo en plasma como los lipoperóxidos (Alonso de Vega JM; 2000; Yu BP; 1994). Este desbalance en el estado redox puede constituir un camino común para diversas condiciones que comprometen severamente la vida y ser responsables, al menos en parte, del daño tisular que se observa durante la injuria sistémica.

Desde el punto de vista teórico, escalas como el APACHE II, SOFA o SIRS pueden de alguna forma relacionarse con el daño oxidativo durante la fase aguda de una enfermedad, ya que todas ellas valoran, aunque desde diferentes puntos, las respuestas o alteraciones que surgen tras la agresión. Sin embargo, la estrecha relación entre el estado redox y diferentes escalas de gravedad permanece en un campo de investigación con conclusiones inciertas y en ocasiones contradictorias.

Diversos investigadores evidenciaron una asociación significativa entre el grado de estrés oxidativo y la severidad de la enfermedad. Cowley HC y col. (1996) demostraron una estrecha relación entre la intensidad de la disfunción orgánica y la disminución de la capacidad antioxidante del plasma en una población de pacientes sépticos con una gravedad media de APACHE II de 19,4 puntos. Por otra parte, Goode HF y col. (1995) observaron una asociación entre los niveles de lipoperoxidos plasmáticos y la disfunción orgánica en pacientes sépticos con shock, los cuales presentaron una media de APACHE II de 21,0 puntos. Motoyama T y col. (2003) también evidenciaron una correlación significativa entre TBARS y SOFA ($r^2=0,18$). Estos datos concuerdan con nuestros resultados, donde observamos una asociación significativa ($p \leq 0,05$) entre los niveles de TBARS y las escalas de SIRS (Figuras 5.6.3a y 5.6.3b) y SOFA (Figura 5.6.1), así como entre los niveles de GSH y SIRS (Figuras 5.8.2a y 5.8.2b) o GSH y SOFA (Figura 5.8.1a) y con los niveles de SOD y SOFA (Figura 5.7.1). Si bien estas correlaciones alcanzaron significación estadística, al igual que lo observado por Motoyama T y col., deben ser consideradas como débiles ($r < 0,3$) con una gran dispersión de los resultados. Esto se hizo evidente al realizar el análisis de regresión lineal del modelo, el cual resultó poco adecuado ya que su ajuste de bondad (R^2) fue significativo en todos los casos, lo que sugiere que hay diferencias significativas entre lo observado y lo esperado, y que el modelo no es adecuado. El análisis de regresión lineal es imprescindible para poder interpretar adecuadamente la correlación entre dos variables y éste no fue realizado en los estudios mencionados (Cowley HC y col. y Goode HF y col.), por lo que no se pueden obtener conclusiones de peso respecto de esta asociación.

Esta correlación débil observada en nuestro estudio, parece corresponderse de forma más adecuada con lo observado por Huet O y col. (2007), quienes no evidenciaron correlaciones significativas entre SOFA o SAPS II y los niveles de SOD, GPx, CAT y GSSG/GSH en pacientes sépticos. Es probable, que si bien en la génesis de la disfunción orgánica el estrés oxidativo tenga una participación activa, la escala SOFA no sea lo suficientemente sensible para detectar cambios precoces en la función orgánica como expresión del impacto del estrés oxidativo sobre los diferentes órganos y sistemas.

Por otro lado, no observamos correlaciones significativas entre los diversos biomarcadores y la escala APACHE II. Esto se contrapone a lo observado por Alonso de Vega y col. (2000), quienes hallaron una asociación significativa entre la capacidad antioxidante total del plasma y el APACHE III. La utilización

de diferentes versiones de la escala APACHE puede justificar esta diferencia, ya que la utilizada en nuestro estudio (APACHE II) no se desarrolló mediante un modelo matemático como el APACHE III el cual podría expresar de forma más fiel el peso de las diversas alteraciones fisiológicas consideradas en el score.

Finalmente, el estudio de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo no permitió diferenciar pacientes según su evolución posterior. Esto se contraponen a lo observado por Alonso de Vega JM y col. (2000), quienes evidencian mayores niveles de capacidad antioxidante total del plasma en pacientes supervivientes (1,30 mM vs. 1,09 mM; $p < 0,01$). El mismo autor evidencia, años más tarde (2002), niveles superiores de productos de peroxidación lipídica (4-hidroxi-nonenal y lipoperóxidos) en pacientes fallecidos (3,32 μ M vs. 2,14 μ M; $p < 0,01$). De la misma forma, Cowley HC y col. (1996) observaron un mayor potencial antioxidante en plasma en pacientes con sepsis severa que sobrevivieron respecto de los que fallecieron.

Estos resultados, que se contraponen a nuestros hallazgos, pueden estar relacionados no solamente con los diferentes biomarcadores medidos (TBARS o 4-OH-nonenal; capacidad antioxidante total o biomarcadores antioxidantes individuales) y a las diversas patologías consideradas (sepsis en general o neumonía) sino también con el hecho de que tanto las mediciones de TBARS como de los componentes de los sistemas antioxidantes en plasma o eritrocitos, son solamente una parte del estrés oxidativo que se produce "in vivo" y que ningún biomarcador aislado es capaz de detectar el nivel "total" de estrés oxidativo que se produce en el organismo. Posiblemente, un análisis integrado de los diversos biomarcadores podría reflejar de forma más adecuada el estado de estrés oxidativo en la sepsis respiratoria tal como fuera comunicado en pacientes con insuficiencia renal (Romeu M y col.; 2010).

b) Comparación de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo según la etiología bacteriana o viral de la neumonía grave y respecto de los pacientes considerados controles (infarto agudo de miocardio).

A pesar del pequeño tamaño de la muestra de pacientes con neumonía viral por Gripe A (H1N1)v incluidos en nuestro estudio, los resultados obtenidos sugieren de forma fuerte que existe un mayor daño oxidativo en la neumonía bacteriana respecto de la viral. Esta consideración surge de evidenciar un valor tres veces superior de los niveles de TBARS en la infección bacteriana (comunitaria y nosocomial) respecto de la viral, la cual se asoció a un mayor nivel de biomarcadores antioxidantes.

Los resultados obtenidos son coincidentes con otros estudios (Braun J y col.; 1997; Nowak D y col.; 1996; Shull S y col.; 1997; Nowak D y col.; 1993) los cuales sostienen la presencia de un desbalance en los sistemas oxidante/ antioxidante en los pacientes con neumonía bacteriana, lo cual podría condicionar una disminución de la capacidad antioxidante total. Posiblemente, el gran aflujo de neutrófilos activados que se observa en la neumonía bacteriana y su consecuente “estallido respiratorio” con la producción/liberación de importantes cantidades de sustancias relacionadas con el oxígeno (radicales libres de oxígeno), pueda ser una explicación plausible para comprender estos hallazgos.

Otro importante hallazgo en nuestros resultados es que la neumonía de etiología viral parece relacionarse con un aumento de ciertos sistemas antioxidantes. Si bien no existen datos publicados sobre el comportamiento de los biomarcadores de estrés oxidativo en la Gripe A (H1N1)v, nuestros pacientes con infección viral presentaron valores de GR, GPx, GSSG P y GSSG/GSH P entre un 30% y un 60% más elevados que el grupo de pacientes con neumonía bacteriana (nosocomial y comunitaria). Estas observaciones sugieren la posibilidad de que la acción patogénica del virus sea diferente a la causada por las bacterias sobre las vías respiratorias de los seres humanos y esta característica podría influir sobre la función de los diferentes sistemas antioxidantes, activados ante el ataque de los radicales libres liberados durante fase del fenómeno denominado estallido fagocitario.

Estudios experimentales observaron que la patogenicidad del virus influenza en el ratón implica, por lo menos en parte, una sobrerreacción de la respuesta inmune del huésped por la multiplicación del virus, más

que un efecto directo de lesión pulmonar. El nivel de la xantina-oxidasa, responsable de la generación de RLO, fue elevado en suero y tejido pulmonar de ratones infectados con virus influenza (Maeda H y col.; 1991; Akaike T y col.; 1996; Jacoby DB y col.; 1994; Oda T y col.; 1989; Peterhans E y col.; 1987; Peterhans E; 1997). Observaciones experimentales (Choi AM y col.; 1996) sugieren que la infección por virus influenza incrementa la expresión génica de los antioxidantes en el pulmón. El virus influenza podría tener un efecto directo sobre la expresión de genes en el pulmón y no requiere la presencia de la respuesta inmune innata (Jacoby DB y col.; 1994; Choi AM y col.; 1996; Knobil K y col.; 1995). La inducción principal de estos genes antioxidantes y la activación de las proteínas reguladoras de transcripción representa una respuesta al estado de inflamación inducido por el virus. Los productos de las células inflamatorias, incluyendo los radicales de oxígeno, a través de la vía del NF- κ B, inducen la expresión de genes en los macrófagos y células epiteliales. Además, la infección por influenza induce la expresión de enzimas antioxidantes a las 48 horas posteriores una vez comenzado el cuadro, período de tiempo que probablemente es previo a la invasión de la vía respiratoria por parte de las células inflamatorias (Jacoby DB y col.; 1994) siendo este el periodo de observación en nuestro estudio.

En contraste a lo observado en el sistema glutatión redox, no se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en las actividades de las enzimas SOD y CAT. Sin embargo, dentro del grupo de pacientes con neumonía bacteriana, estas enzimas mostraron una tendencia al alza (8%) desde el ingreso a UCI hasta el día 3, mientras que al alta de UCI la SOD mantuvo el mismo comportamiento, la CAT mostró una tendencia a la baja. Es posible que en la neumonía por virus influenza A (H1N1)v, el estado antioxidante se relacione con un incremento en la actividad de la mayoría de los componentes del sistema glutatión redox (GR, GPx y GSSG) y en menor medida de la actividad de otras líneas de defensa antioxidante enzimática, como son la SOD y CAT, tal como lo sugiere un estudio experimental en ratones (Choi AM y col.; 1996) el cual observó que, a pesar de un aumento en la expresión del mRNA de la SOD, no hubo un incremento en la actividad de esta enzima en el pulmón de animales infectados con virus influenza. Además, Oda y col. (Oda T y col.; 1989) reportaron que la SOD nativa tiene un valor terapéutico muy pequeño, quizás debido a su vida media en plasma muy corta. Si bien, otros factores no considerados en el presente estudio que puedan condicionar esta diferencia, el estado antioxidante observado en la neumonía por Influenza A (H1N1)v

puede depender de dos condiciones diferenciales respecto de la neumonía bacteriana: 1) la habilidad para remover niveles tóxicos de RLO antes que éstos dañen de forma crítica las moléculas biológicas y, 2) la habilidad para manipular cambios, a niveles subtóxicos, de moléculas que pueden actuar como señal, disparadores de señal o mensajeros de reacciones químicas fundamentales para el funcionamiento celular (Stocker R y col.; 2004), y estas condiciones llevan a un menor daño de las membranas biológicas y a un menor desarrollo de fallo multiorgánico.

Finalmente, los pacientes con neumonía bacteriana presentaron, como era de esperar, un mayor nivel de daño oxidativo que los pacientes controles (IAM). La observación de un incremento significativo, superior al 30%, de los niveles plasmáticos de TBARS durante los primeros días se podría relacionar con un mayor nivel de inflamación generado por el cuadro infeccioso de los pacientes con neumonía, o bien, con la disminución hallada en las actividades de uno de los principales sistemas enzimáticos antioxidantes (SOD) en estos pacientes, siendo aproximadamente un 20-30% menor que en el grupo control IAM.

Llamativamente, los pacientes con neumonía viral, a diferencia de los pacientes con neumonía bacteriana, presentaron un nivel de daño oxidativo significativamente inferior (50%) que los pacientes con IAM. La inflamación secundaria al proceso isquémico del IAM (cuadro no infeccioso) parecería generar mayores niveles de lipoperoxidación (TBARS) que la infección viral, a pesar del incremento observado en la SOD, siendo un 35%-50% mayor en los pacientes con IAM. Esto podría relacionarse con la activación génica de las enzimas involucradas en el sistema Glutatión redox por parte del virus como fuera mencionado con anterioridad.

6.5. LIMITACIONES Y SESGOS

Nuestro trabajo presenta algunas limitaciones que es necesario resaltar:

1. La primera limitación que surge, es la relacionada con el relativamente bajo número de pacientes incluidos. Esto puede ocasionar que nuestro estudio no tenga el poder necesario para evidenciar diferencias significativas entre el grupo de estudio y el grupo control. Sin embargo, al calcular el “poder o potencia” de nuestro estudio, considerando las diferencias observadas entre las medias y sus desviaciones estándares para los TBARS plasmáticos entre los grupos, se evidenció un poder del 99%. Al efectuar el mismo procedimiento, considerando ahora las diferencias medias de los TBARS eritrocitarios, el poder también resultó ser muy elevado (94%). Esto nos permite concluir que la falta de diferencias significativas en el nivel de oxidación lipídica (TBARS) entre los grupos no responde a un bajo poder del estudio.
2. Otra limitación relativa al pequeño tamaño de la muestra es la imposibilidad de poder generalizar los resultados. Esta es una limitación que se debe asumir si se pretende trabajar con poblaciones homogéneas para obtener resultados que expresen, con la menor interferencia posible, que la variable “independiente” es responsable de los cambios en la variable “dependiente”, lo cual se define como la *validez interna* de un estudio. Si los resultados de un estudio pueden ser atribuidos inequívocamente a la *validez interna*, se dice que el experimento es internamente válido. Mientras que el grado en que permite la generalización se refiere a los aspectos relativos a la *validez externa*. En nuestro estudio hemos priorizado la *validez interna* sacrificando la generalización de los resultados, ya que la *validez interna* es un mínimo básico sin el cual un experimento está abierto a múltiples explicaciones alternativas.
3. Otra limitación de nuestro estudio está relacionada con la medición indirecta del daño por lipoperoxidación en plasma y eritrocitos mediante los TBARS. Aunque el incremento de estos biomarcadores sugiere una mayor actividad oxidante, esto no indica necesariamente que ésta se deba a mecanismos patogénicos de la neumonía, y no pueden excluirse otras vías de producción no consideradas en el estudio.

4. Por otra parte, diferentes acciones destinadas al tratamiento de los pacientes con neumonía grave pueden afectar los niveles de estrés oxidativo. Así, por ejemplo, el tratamiento antimicrobiano administrado puede influir indirectamente sobre los niveles de diversos biomarcadores de estrés oxidativo, mediante la reducción de la carga bacteriana y la respuesta inflamatoria. El impacto del tratamiento no ha sido valorado en el presente estudio.
5. Finalmente, las variables clínicas habituales así como otras variables de laboratorio relacionadas con la evolución clínica de los pacientes con neumonía, como el lactato sérico, el exceso de base o diferentes biomarcadores inflamatorios, no fueron considerados en el presente estudio. El objetivo de este trabajo fue valorar el comportamiento del estrés oxidativo en la neumonía. Es así que, la interpretación clínica de estos resultados excede los objetivos de la presente Tesis doctoral, la cual fue diseñada para valorar el comportamiento del estrés oxidativo en la infección respiratoria desde el punto de vista de un licenciado en bioquímica clínica.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

CONCLUSIONES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

7. CONCLUSIONES

1. La determinación de los TBARS no parece ser un buen marcador de daño oxidativo en los pacientes con neumonía grave durante su estancia en la Unidad de Cuidados Intensivos al compararlos con pacientes con IAM. La valoración global de los diferentes sistemas antioxidantes parece ser de mayor utilidad que los TBARS.
2. Se evidencia una mayor afectación en la primera línea de defensa antioxidante en los pacientes con neumonía grave respecto de los pacientes con IAM, ya que los niveles de SOD y las relaciones SOD/CAT y $[SOD]/[CAT + GPx]$ se encuentran disminuidos las primeras 72 hs de ingreso en UCI, mientras que la disminución en los niveles del GSH plasmático se observa durante todo el periodo de estudio.
3. Los niveles iniciales de la actividad de las enzimas SOD y CAT observada en los pacientes con neumonía grave muestran un incremento significativo durante el periodo de estudio.
4. Los niveles de los diferentes biomarcadores de estrés oxidativo no son de utilidad como marcadores precoces de mortalidad en los pacientes con neumonía grave ingresados en UCI.
5. En general, no se observa correlación entre los diferentes biomarcadores y las escalas de gravedad utilizadas (APACHE II, SOFA, SIRS). Solamente los TBARS y GSH presentan correlación significativa con SIRS y SOFA, pero estas asociaciones son débiles y con una inadecuada bondad de ajuste.

- 6. En los pacientes con neumonía bacteriana se observa un mayor nivel de estrés oxidativo que en los pacientes con neumonía viral y los controles (IAM) evidenciado por un mayor daño oxidativo y menores niveles de ciertos antioxidantes (GR, GSSG, GPx y SOD). La neumonía viral parece caracterizarse por un estado antioxidante aumentado dependiente del sistema glutatión redox, lo cual condiciona un menor daño oxidativo cuando se la compara con las neumonías bacterianas, y aún con los controles.**

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

BIBLIOGRAFÍA

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

8. BIBLIOGRAFÍA

- Abraham E, Reinhart K, Opal S et al. Efficacy and safety of tifacogin (recombinant tissue factor pathway inhibitor) in severe sepsis: a randomized controlled trial. *JAMA* 2003; 290: 238-247.
- Akaike T, Noguchi Y, Ijiri S et al. Pathogenesis of influenza virus-induced pneumonia: Involvement of both nitric oxide and oxygen radicals. *Proc Natl Acad Sci* 1996; 93: 2448-2453.
- Alonso de Vega JM, Díaz J, Serrano E et al. Plasma redox status relates to severity in critically ill patients. *Crit Care Med* 2000; 28: 1812-1814.
- Alonso de Vega JM, Díaz J, Serrano E et al. Oxidative stress in critically ill patients with systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2002; 30: 1782-1786.
- Alvarez B, Demicheli V, Durán R et al. Inactivation of human Cu,Zn superoxide dismutase by peroxynitrite and formation of histidiny radical. *Free Rad Biol Med* 2004; 37: 813-822.
- Amstad P, Moret R, Cerutti P. Glutathione Peroxidase compensates for the hypersensitivity of Cu,Zn-Superoxide Dismutase overproducers to oxidant stress. *J Biol Chem* 1994; 269: 1606-1609.
- Argüelles S, García S, Maldonado M et al. Do the serum oxidative stress biomarkers provide a reasonable index of the general oxidative stress status?. *Biochim Biophys Acta* 2004; 1674: 251-259.
- Bagatini MD, Martins CC et al. Oxidative stress versus antioxidant defences in patients with acute myocardial infarction. *Heart Vessels* 2011; 26: 55-63.
- Baret A, Baeteman MA, Mattei JF et al. Immunoreactive CuSOD and MnSOD in the circulating blood cells from normal and trisomy 21 subjects. *Biochem Biophys Res Commun* 1981; 98: 1035-1053.

- Bauer TT, Montón C, Torres A et al. Comparison of systemic cytokine levels in patients with acute respiratory distress syndrome, severe pneumonia, and controls. *Thorax* 2000; 55: 46-52.
- Benzie IF. Evolution of dietary antioxidants. *Comp Biochem Physiol A Mol Integr Physiol* 2003; 136: 113-126.
- Bermejo-Martin JF, Ortiz de Lejarazu R, Pumarola T et al. Th1 and T17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza. *Crit Care* 2009; 13: R201.
- Bermejo-Martin JF, Martin-Loeches I, Rello J et al. Host adaptative immunity deficiency in severe pandemic influenza. *Crit Care* 2010; 14: R167.
- Bernard GR, Macias WL, Joyce DE et al. Safety assessment of drotrecogin alfa (activated) in the treatment of adult patients with severe sepsis. *Crit Care* 2003; 7: 155-163.
- Bodí M, Rodríguez A, Solé-Violán J et al. Antibiotic prescription for community-acquired pneumonia in the intensive care unit: Impact of adherence to infectious diseases society of America guidelines on survival. *Clinical Infectious Diseases* 2005; 41: 1709-1716.
- Bone RC. Sepsis, sepsis syndrome and the systemic inflammatory response syndrome (SIRS). *JAMA* 1995; 273: 155-156.
- Buege JA, Aust SD. Microsomal lipid peroxidation. *Methods Enzymol* 1978; 52: 302-310.
- Burri BJ, Chan SG, Berry AJ et al. Blood levels of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Chim Acta* 1980; 105: 249-255.
- Castro L, Freeman BA. Reactives oxygen species in human health and disease. *Nutrition* 2001; 17: 161-165.
- Cemek M, Caksen H, Bayiroglu F et al. Oxidative stress and enzymic-non-enzymic antioxidant responses in children with acute pneumonia. *Cell Biochem Funct* 2006; 24: 269-273.
- Chabot F, Mitchell JA, Gutteridge JMC et al. Reactive Oxygen Species in acute lung injury. *Eur Respir J* 1998; 11: 745-757.

- Chandra J, Samali A and Orrenius S. Triggering and modulation of apoptosis by oxidative stress. *Free Rad Biol Med* 2000; 29: 323-333.
- Chastre J, Wolff M, Fagon JY et al. Comparison of 8 vs 15 days of antibiotic therapy for ventilator-associated pneumonia in adults. A randomized trial. *JAMA* 2003; 290: 2588-2598.
- Chieh-Liang W, Ming-Cheng Ch, Gee-Chen Ch et al. Etiology and cytokine expression in patients requiring mechanical ventilation due to severe community-acquired pneumonia. *J Formos Med Assoc* 2006; 105: 49-55.
- Choi AM, Knobil K, Otterbein SL et al. Oxidant stress responses in influenza virus pneumonia: gene expression and transcription factor activation. *Am J Physiol* 1996; 271: L383-L391.
- Chou HC, Chen YW, Lee TR et al. Proteomics study of oxidative stress and Src kinase inhibition in H9C2 cardiomyocytes: A cell model of heart ischemia reperfusion injury and treatment. *Free Radic Biol Med* 2010; 49: 96-108.
- Cohen G, Dembiec D, Marcus J. Measurement of catalase activity in tissue extracts. *Anal Biochem* 1970; 34: 30-38.
- Cowley HC, Bacon PJ, Goode HF et al. Plasma antioxidant potential in severe sepsis: a comparison of survivors and nonsurvivors. *Crit Care Med* 1996; 24: 1179-1183.
- Crimi E, Sica V, Williams-Ignarro S et al. The role of oxidative stress in adult critical care. *Free Rad Biol Med* 2006; 40: 398-406.
- Dalhoff K, Braun J, Kothe M et al. Oxidative metabolism of pulmonary phagocytes in acute pneumonia. *Respiration* 1994; 61: 144-149.
- Dalle-Donne I, Rossi R, Giustarini D et al. Protein carbonyl groups as biomarkers of oxidative stress. *Clin Chim Acta* 2003; 329: 23-38.
- Dizdaroglu M, Jaryga P, Birincioglu M et al. Free radical-induced damage to DNA: mechanisms and measurement. *Free Rad Biol Med* 2002; 32: 1102-1115.
- Dotan Y, Lichtenberg D, Pinchuk I. Lipid peroxidation cannot be used as a universal criterion of oxidative stress. *Prog Lipid Res* 2004; 43: 200-227.
- Duflo F, Debon R, Goudable J et al. Alveolar and serum oxidative stress in ventilator-associated pneumonia. *Br J Anaesth* 2002; 89: 231-236.

- Ekmekci OB, Donma O, Ekmekci H et al. Plasma paraoxonase activities, lipoprotein oxidation, and trace element interaction in asthmatic patients. *Biol Trace Elem Res*. 2006; 111: 41-52.
- Fabian E, Pölöskey P, Kósa L et al. Activities of Antioxidant Enzymes in Relation to Oxidative and Nitrosative Challenges in Childhood Asthma. *J Asthma* 2011 Mar 14. [Epub ahead of print].
- Farren PM, Bieri JG, Fratantoni JF et al. The occurrence and effects of human vitamin E deficiency. A study in patients with cystic fibrosis. *J Clin Invest* 1977; 60: 233-241.
- Fernández-Serrano S, Dorca J, Coromines M et al. Molecular inflammatory responses measured in blood of patients with severe community-acquired pneumonia. *Clin Diagn Lab Immunol* 2003; 10: 813-820.
- Gaeta AM, Tozzi G, Pastore A et al. Determination of superoxide dismutase and glutathione peroxidase activities in blood of healthy pediatric subjects. *Clin Chim Acta* 2002; 322: 117-120.
- Garelnabi M, Gupta V, Mallika V, Bhattacharjee J. Platelets oxidative stress in Indian patients with ischemic heart disease. *J Clin Lab Anal* 2010; 24: 49-54.
- Geerling BJ, vHouwelingen AC, Badart Smoork A et al. The relation between antioxidant status and alterations in fatty acid profile in patients with Crohn disease and controls. *Scand J Gastroenterol* 1999; 34: 1108-1116.
- Gil-del Valle L, de la C Milian L, Toledo A et al. Altered redox status in patients with diabetes mellitus type I. *Pharmacol Res* 2005; 51: 375-380.
- Giordano FJ. Oxygen, oxidative stress, hypoxia, and heart failure. *J Clin Invest* 2005; 115: 500-508.
- Goldberg DM, Spooner RJ. Glutathione reductase. En Bergmayer HU eds. *Methods of Enzymatic Analysis 3rd ed*. 1983; 258-265.
- Goode HF, Cowley HC, Walker BE et al. Decreased antioxidant status and increased lipid peroxidation in patients with septic shock and secondary organ dysfunction. *Crit Care Med* 1995; 23: 646-651.
- Goodyear-Bruch C and Pierce JD. Oxidative stress in critically ill patients. *Am J Crit Care* 2002; 11: 543-551.

- Griffiths HR, Moller L, Bartosz G et al. *Biomarkers. Mol Aspects Med* 2002; 23: 101-208.
- Gurdol F, Oner-Yyidothan Y, Yalcyn O et al. Changes in enzymatic antioxidant defense system in blood and endometrial tissues of women after menopause. *Res Commun Mol Pathol Pharmacol* 1997; 97: 38-46.
- Gutteridge JMC. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem* 1995; 41: 1819-1828.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB. Glutathione S-transferases. The first enzymatic step in mercapturic acid formation. *J Biol Chem* 1974; 249: 7130-7139.
- Halliwell B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiol* 2006; 141: 312-322.
- Halliwell B. Free radicals, reactive oxygen species and human disease: a critical evaluation with special reference to atherosclerosis. *Br J Exp Path* 1989; 70: 737-757.
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Detection of free radicals and other reactive species: Trapping and fingerprinting. In Halliwell B, Gutteridge JMC: *Free radicals in Biology and Medicine*, ed 3. Oxford, Oxford University Press, 1998: pp 351-429.
- Halliwell B and Whiteman M. Measuring reactive species and oxidative damage *in vivo* and in cell culture: how should you do it and what do the results mean? *Br J Pharmacol* 2004; 142: 231-255.
- Hammarqvist F, Luo J-L, Cotgreave I et al. Skeletal muscle glutathione is depleted in critically ill patients. *Crit Care Med* 1997; 25: 78-84.
- Hennet T, Peterhans E and Stocker R. Alterations in antioxidant defences in lung and liver of mice infected with influenza A virus. *J Gen Virol* 1992; 73: 39-46.
- Hissin PJ, Hilf R. A fluorometric method for determination of oxidized and reduced glutathiones in tissues. *Anal Biochem* 1976; 74: 214-226.
- Hortin JW. Free radicals and lipid peroxidation mediated injury in burn trauma: the role of antioxidant therapy. *Toxicology* 2003; 189: 75-88.
- Huet O, Obata R, Aubron C et al. Plasma-induced endothelial oxidative stress is related to the severity of septic shock. *Crit Care Med* 2007; 35: 821-826.

Jacoby DB and Choi AKM. Influenza virus induces expression of antioxidant genes in human epithelial cells. *Free Rad Biol Med* 1994; 16: 821-824.

Janero DR. Malondialdehyde and thiobarbituric acid-reactivity as diagnostic indices of lipid peroxidation and peroxidative tissue injury. *Free Rad Biol Med* 1990; 9: 515-540.

Katsoulis K, Kontakiotis T, Baltopoulos G et al. Total antioxidant status and severity of community-acquired pneumonia: are they correlated? *Respiration* 2005; 72: 381-387.

Knaus WA, Draper EA, Wagner DP et al. APACHE II: Severity of disease classification system. *Crit Care Med* 1985; 12: 818-829.

Koltuksuz U, Uz E, Ozen S et al. Plasma superoxide dismutase activity and malondialdehyde level correlate with the extent of acute appendicitis. *Pediatr Surg Int* 2000; 16: 559-561.

Konukoglu D, Kemerli GD, Sabuncu T et al. Relation of erythrocyte Na⁺-K⁺ ATPase activity and cholesterol and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Clin Invest Med* 2003; 26: 279-284.

Kotur-Stevuljevic J, Memon L, Stefanovic A et al. Correlation of oxidative stress parameters and inflammatory markers in coronary artery disease patients. *Clin Biochem* 2007; 40: 181-187.

Leff JA, Parsons PE, Day CE et al. Increased serum catalase activity in septic patients with the adult respiratory distress syndrome. *Am Rev Respir Dis* 1992; 146: 985-989.

Leff JA, Parsons PE, Day CE et al. Serum antioxidants as predictors of adult respiratory distress syndrome in patients in patients with sepsis. *Lancet* 1993; 341: 770-780.

Levy MM, Fink MP, Marshall JC et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003; 31: 1250-1256.

Loeper J, Goy J, Klein JM et al. The evolution of oxidative stress indicators in the curse of myocardial ischemia. *Free Radic Res Commun* 1991; 12-13 Pt 2: 675-680.

Loeper J, Goy J, Rozensztajn L et al. Lipid peroxidation and protective enzymes during myocardial infarction. *Clin Chim Acta* 1991; 196: 119-125.

- Lucas R, Verin AD, Black SM, Catravas JD. Regulators of endothelial and epithelial barrier integrity and function in acute lung injury. *Biochem Pharmacol* 2009; 77: 1763-1772.
- Luna C, Vujacich, Niederman MS, Vay C, Gherardi C et al. Impact of BAL data on the therapy and outcome of ventilator-associated pneumonia. *Chest* 1997; 111: 767-685.
- Lykkesfeldt J. Malondialdehyde as biomarker of oxidative damage to lipids caused by smoking. *Clin Chim Acta* 2007; 380: 50-58.
- Macdonald J, Galley HF and Webster NR. Oxidative stress gene expression in sepsis. *Br J Anaesth* 2003; 90: 221-232.
- MacNee W. Oxidative stress and lung inflammation in airways disease. *Eur J Pharmacol* 2001; 429: 195-207.
- Maeda H, Akaike T. Oxygen free radicals as pathogenic molecules in viral diseases. *Proc Soc Exp Biol Med* 1991; 198: 721-727.
- Majewska E, Kasielski M, Luczynski R et al. Elevated exhalation of hydrogen peroxide and thibarbituric acid reactive substances in patients with community acquired pneumonia. *Respir Med* 2004; 98: 669-676.
- Manzanares W, Biestro A, Galusso F et al. Serum selenium and glutathione peroxidase-3 activity: biomarkers of systemic inflammation in the critically ill? *Intensive Care Med* 2009; 35: 882-889.
- Meagher EA and Fitzgerald GA. Indices of lipid peroxidation in vivo: strengths and limitations. *Free Rad Biol Med* 2000; 28: 1745-1750.
- Metnitz PGH, Bartens C, Fisher M et al. Antioxidant status in patients with acute respiratory distress syndrome. *Intensive Care Med* 1999; 25: 180-185.
- Misra HP and Fridovich I. The rol of superoxide anion in the autoxidation of epinephrine and a simple assay for superoxide dismutase. *J Biol Chem* 1972; 247: 3170-3175.
- Motoyama T, Okamoto K, Kukita I et al. Possible role of increased oxidant stress in multiple organ failure after systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med* 2003; 31: 1048-1052.

- Mužáková V, Kandár R, Vojtíšek P et al. Selective antioxidant enzymes during ischemia/reperfusion in myocardial infarction. *Physiol Res* 2000; 49: 315-322.
- Nowak D, Zieba M, Zawiasa D. Increased serum concentration of lipid peroxidation products in patients with pneumonia. *Eur Respir J* 1993; 6: 561.
- Nowak D, Zieba M, Zawiasa D et al. Changes of serum concentration of lipid peroxidation products in patients with pneumonia. *Monaldi Arch Chest Dis* 1996; 51: 188-193.
- Oda T, Takaaki A, Hamamoto T et al. Oxygen radicals in influenza-induced pathogenesis and treatment with pyran polymer-conjugated SOD. *Science* 1989; 244: 974-976.
- Oldham KM, Bowen PE. Oxidative stress in critical care: Is antioxidant supplementation beneficial? *J Am Diet Assoc* 1998; 98: 1001-1008.
- Ortolani O, Conti A, De Gaudio AR et al. The effect of glutathione and N-Acetylcysteine on lipoperoxidation damage in patients with early septic shock. *Am J Respir Crit Care Med* 2000; 161: 1907-1911.
- Peterhans E. Reactive oxygen species and nitric oxide in viral diseases. *Biol Trace Elem Res* 1997; 56: 107-116.
- Peterhans E, Grob M, Bürge T et al. Virus-induced formation of reactive oxygen intermediates in phagocytic cells. *Free Radical Res Commun* 1987; 3: 39-46.
- Pirincioğlu AG, Gökalp D, Pirincioğlu M et al. Malondialdehyde (MDA) and protein carbonyl (PCO) levels as biomarkers of oxidative stress in subjects with familial hypercholesterolemia. *Clin Biochem* 2010; 43: 1220-1224.
- Puren AJ, Feldman C, Savage N et al. Patterns of cytokine expression in community-acquired pneumonia. *Chest* 1995; 107: 1342-1349.
- Rebrova TY, Afanasyev SA. Free radicals peroxidation during amiodarone therapy for postinfarction atherosclerosis. *Bull Exp Biol Med* 2008; 146: 283-285.
- Rello J and Diaz E. Pneumonia in the intensive care unit. *Crit Care Med* 2003; 31: 2544-2551.

- Richard MJ, Portal B, Meo J et al. Malondialdehyde kit evaluated for determining plasma and lipoprotein fractions that react with thiobarbituric acid. *Clin Chem* 1992; 38: 704-709.
- Rinaldi S, Landucci F, De Gaudio AR. Antioxidant therapy in critically septic patients. *Curr Drug Targets* 2009; 10: 872-880.
- Rivers EP. Early goal-directed therapy in severe sepsis and septic shock: converting science to reality. *Chest* 2006; 129: 217-218.
- Rodríguez A, Lisboa T, Rello J y el GETGAG/SEMYCIUC. Gripe A (H1N1)v pandémica y UCI: ¿qué hemos aprendido?. *Arch Bronconeumol* 2010; 46: 24-31.
- Romero PV, Rodríguez B, Martínez S et al. Analysis of oxidative stress in exhaled breath condensate from patients with severe pulmonary infections. *Arch Bronconeumol* 2006; 42: 113-119.
- Rosen DR. Mutations in Cu/Zn superoxide dismutase gene are associated with familiar amyotrophic lateral sclerosis. *Nature* 1993; 362: 59-62.
- Roth E, Manhart N and Wessner B. Assessing the antioxidative status in critically ill patients. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2004; 7: 161-168.
- Shan X, Aw TY, Jones DP. Glutathione-dependent protection against oxidative injury. *Pharmacol Ther* 1990; 47: 61-71.
- Shentil K, Aranganathan S, Nalini N. Evidence of oxidative stress in the circulation of ovarian cancer patients. *Clin Chim Acta* 2004; 339: 27-32.
- Sheu S-S, Dhaanaja Nauduri, Anders MW. Targeting antioxidant to mitochondria: A new therapeutic direction. *Biochim Biophys Acta* 2006; 1762: 256-265.
- Shi XL, Shi ZH, Huang H et al. Therapeutic effect of recombinant human catalase on H1N1 influenza-induced pneumonia in mice. *Inflammation* 2010; 33: 166-172.
- Shull S, Heintz NH, Periasamy M et al. Differential regulation of antioxidant enzymes in response to oxidants. *J Biol Med* 1991; 266: 24398-24403.
- Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *Am J Med* 1991; 9: 31S-38S.

- Sies H. Oxidative stress: introductory remarks. In: *Oxidative Stress*. Sies H (ed), Academic Press, Londres 1985, p. 1-8.
- Sies H. Oxidative Stress: oxidants and antioxidants. In: *Oxidative Stress*. Sies H (ed), Academic Press, Londres 1991, p. 15-22.
- Stepovaya EA, Petina GV, Zhavoronok TV et al. Role of thiol-disulfide system in mechanisms of functional changes in neutrophils under conditions of oxidative stress. *Bull Exp Biol Med* 2010; 150: 198-202.
- Stocker R and Keaney F Jr. Role of oxidative modifications in atherosclerosis. *Physiol Rev* 2004; 84: 1381-1478.
- Suliman HA, Ryan LK, Bishop L et al. Prevention of influenza-induced lung injury in mice overexpressing extracellular superoxide dismutase. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2001; 280: L69-L78.
- Surekha RH, Srikanth BBMV, Jharna P et al. Oxidative stress and total antioxidant status in myocardial infarction. *Singapore Med J* 2007; 48: 137-142.
- Sutton A, Nahon P, Pessayre D et al. Genetic polymorphisms in antioxidant enzymes modulate hepatic iron accumulation and hepatocellular carcinoma development in patients with alcohol-induced cirrhosis. *Cancer Res* 2006; 66: 2844-2852.
- Taubenberger JK and Morens DM. The pathology of influenza virus infections. *Annu Rev Pathol* 2008; 3: 499-522.
- Thérond P, Bonnefont-Rousselot D, David-Spraul A et al. Biomarkers of oxidative stress: an analytical approach. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2000; 3: 373-384.
- Toufekstian MC, Boucher FR, Tanguy S et al. Cardiac toxicity of singlet oxygen: implication in reperfusion injury. *Antioxid Redox Signal* 2001; 3: 63-69.
- Ugur M, Yildirim K, Kiziltunc A et al. Correlation between soluble intercellular adhesion molecule 1 level and extracellular superoxide dismutase activity in rheumatoid arthritis: a possible association with disease activity. *Scand J Rheumatol* 2004; 33: 239-243.
- Umeki S, Sumi M, Niki Y et al. Concentrations of superoxide dismutase and superoxide anion in blood of patients with respiratory infections and compromised immune systems. *Clin Chem* 1987; 33: 2230-2233.

- Victor VM, Rocha M and De la Fuente M. Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *Int Immunopharmacol* 2004; 4: 327-347.
- Vincent JL, Moreno R, Takala J et al. The SOFA (Sepsis-related organ failure assessment) score to describe organ dysfunction/failure. *Int Care Med* 1996; 22: 707-710.
- Vincent J-L, Rello J, Marshall J et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in Intensive Care Units. *JAMA* 2009; 302: 2323-2329.
- Vincent J-L, Sakr Y, Sprung CL et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006; 34: 344-353.
- Warner A, Bencosme A, Healy D et al. Prognostic role of antioxidant enzymes in sepsis: preliminary assesment. *Clin Chem* 1995; 41: 867-871.
- Warren MM, Gibb AP, Walsh TS. Antibiotic prescription practice in an intensive care unit using twice-weekly collection of screening specimens: a prospective audit in a large UK teaching hospital. *J Hosp Infect* 2005; 59: 90-95.
- Warren JS, Ward PA. Consequences of oxidant injury. In Crystal RG, West JB et al. *The lung*. Scientific Foundations. Philadelphia, Lippincott-Raven, 1997: 2279-2288.
- Wernerman J, Luo J-L and Hammarqvist F. Glutathione status in critically ill patients: possibility of modulation by antioxidants. *Proc Nutr Soc* 1999; 58: 677-680.
- Wheeler CR, Salzman JA, Elsayed NM et al. Automated assays for superoxide dismutase, catalase, glutathione peroxidase and glutathione reductase activity. *Anal Biochem* 1990; 184: 193-199.
- Wu D and Cederbaum AI. Alcohol, Oxidative stress, and free radical damage. *Alcohol, Res and Health* 2003; 27: 277-284.
- Yoshimitsu K, Kobayashi Y, Usui T. Decreased superoxide dismutase activity of erythrocytes and leukocytes in Fanconi's anemia. *Acta Haematol* 1984; 72: 208-210.
- Yu BP. Cellular defenses against damage from reactive species. *Physiological Rev* 1994; 74: 139-162.

Zhu MT, Wang Y et al. Oxidative stress and apoptosis induced by iron oxide nanoparticles in cultured human umbilical endothelial cells. *J Nanosci Nanotechnol* 2010; 10: 8584-8590.

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

PUBLICACIONES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

9. PUBLICACIONES

Comunicaciones a congresos

- *EL NIVEL DE ESTRÉS OXIDATIVO ES MENOR EN PACIENTES CON NEUMONÍA POR INFLUENZA A (H1N1)Y COMPARADO CON PACIENTES CON NEUMONÍA BACTERIANA COMUNITARIA.*
S. Trefler, A. Rodríguez, V. Sánchez, M. Romeo, R. Nogués, J. Rello, M. Giralt.
III Jornadas de Formación del CIBERES. Palma de Mallorca, octubre 2010.
- *OXIDATIVE STRESS LEVEL IS LOWER IN INFLUENZA A (H1N1)V PNEUMONIA COMPARED TO BACTERIAL COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA (CAP).*
S. Trefler, A. Rodríguez, V. Sánchez, M. Romeo, R. Nogués, J. Rello, M. Giralt.
23rd Annual Congress of European Society of Intensive Care Medicine. Barcelona, octubre 2010. Intensive Care Med 2010 (suppl 2); S136: 0201 (Abstr)

Publicaciones relacionadas

- *OXIDATIVE STRESS IN SEVERE 2009 PANDEMIC INFLUENZA (H1N1)v AND BACTERIAL COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA.*
S. Trefler, A. Rodriguez, V. Sanchez, M. Romeu, E. Díaz, I. Martín-Loeches, R. Nogués, J. Rello, M. Giralt. Submitted.
- *A RANDOMIZED TRIAL OF DENTAL BRUSHING FOR PREVENTING VENTILATOR-ASSOCIATED PNEUMONIA.*
Pobo A, Lisboa T, Rodríguez A, Sole R, Magret M, **Trefler S**, Gómez F, Rello J, RASPALL Study Investigators. *Chest* 2009; 136: 433-9.
- *IMPACT OF EARLY OSELTAMIVIR TREATMENT ON OUTCOME IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH 2009 PANDEMIC INFLUENZA A.*
Rodríguez A, Díaz E, Martín-Loeches I, Sandiumenge A, Canadell L, Díaz JJ, Figueira JC, Marques A, Alvarez-Lerma F, Vallés J, Baladín B, García-López F, Suberviola B, Zaragoza R, **Trefler S**, Bonastre J, Blanquer J, Rello J; on behalf of the H1N1 SEMICYUC Working Group. *J Antimicrob Chemother* 2011 Jan 7. [Epub ahead of print]
- *IMPACT OF NON-EXACERBATED COPD ON MORTALITY IN CRITICALLY ILL PATIENTS.*
Rodríguez A, Lisboa T, Solé-Violán J, Gomez F, Roca O, **Trefler S**, Gea J, Masclans JR, Rello J. *Chest* 2011 Mar 10. [Epub ahead of print]
- *ACUTE KIDNEY INJURY IN CRITICAL ILL PATIENTS AFFECTED BY INFLUENZA A (H1N1) V INFECTION.*
Martín-Loeches I, Papiol E, Rodriguez A, Diaz E, Zaragoza R, Granada RM, Socias L, Bonastre J, Valverde M, Pozo JC, Luque P, Julia-Narvaez JA, Cordero L, Albaya A, Seron D, Rello J, Working Group HN. *Crit Care* 2011;15:R66. [Epub ahead of print]] (**S. Trefler en el working group**)
- *COMMUNITY-ACQUIRED RESPIRATORY COINFECTION IN CRITICALLY ILL PATIENTS WITH PANDEMIC 2009 INFLUENZA A(H1N1) VIRUS.*
Martín-Loeches I, Sanchez-Corral A, Diaz E, Granada RM, Zaragoza R, Villavicencio C, Albaya A, Cerdá E, Catalán RM, Luque P, Paredes A, Navarrete I, Rello J, Rodríguez A; H1N1 SEMICYUC Working Group.

Chest 2011; 139:555-62. [Epub 2010 Oct 7] **(S. Trefler en el working group)**

- *SEVERE PANDEMIC (H1N1)V INFLUENZA A INFECTION: REPORT ON THE FIRST DEATHS IN SPAIN.*

Martin-Loeches I, Rodriguez A, Bonastre J, Zaragoza R, Sierra R, Marques A, Juliá-Narvaez J, Diaz E, Rello J; H1N1 SEMICYUC working group. *Respirology* 2010 Oct 14. [Epub ahead of print] **(S. Trefler en el working group)**

- *IMPACT OF OBESITY IN PATIENTS INFECTED WITH 2009 INFLUENZA A (H1N1).*

Díaz E, Rodríguez A, Martin-Loeches I, Lorente L, del Mar Martín M, Pozo JC, Montejo JC, Estella A, Arenzana A, Rello J; H1N1 SEMICYUC Working Group. *Chest* 2011; 139: 382-6. **(S. Trefler en el working group)**

- *PANDEMIC INFLUENZA A (H1N1)v IN THE INTENSIVE CARE UNIT: WHAT HAVE WE LEARNED?*

Rodríguez A, Lisboa T, Rello J, Grupo Español de Trabajo de Gripe A Grave /SEMICYUC. *Arch Bronconeumol* 2010; 46: 24-31. **(S. Trefler en el working group)**

- *PANDEMIC INFLUENZA A IN THE ICU: EXPERIENCE IN SPAIN AND LATIN AMERICA. GETGAG/SEMICYUC/(SPANISH WORKING GROUP ON SEVERE PANDEMIC INFLUENZA A/SEMICYUC).*

Rodríguez A, Socías L, Guerrero JE, Figueira JC, González N, Maraví-Poma E, Lorente L, Martín M, Albaya-Moreno A, Algora-Weber A, Vallés J, León-Gil C, Lisboa T, Balasini C, Villabón M, Pérez-Padilla R, Barahona D, Rello J; Grupo Español de Trabajo de Gripe A Grave/ Sociedad Española de Medicina Intensiva, Crítica y Unidades Coronarias. *Med Intensiva* 2010; 34:87-94. **(S. Trefler en el working group)**

- *INTENSIVE CARE ADULT PATIENTS WITH SEVERE RESPIRATORY FAILURE CAUSED BY INFLUENZA A (H1N1)V IN SPAIN.*

Rello J, Rodríguez A, Ibañez P, Socias L, Cebrian J, Marques A, Guerrero

J, Ruiz-Santana S, Marquez E, Del Nogal-Saez F, Alvarez-Lerma F, Martínez S, Ferrer M, Avellanas M, Granada R, Maraví-Poma E, Albert P, Sierra R, Vidaur L, Ortiz P, Prieto del Portillo I, Galván B, León-Gil C; H1N1 SEMICYUC Working Group. *Crit Care* 2009; 13:R148.

(S. Trefler en el working group)

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

ABREVIACIONES

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

10. LISTA DE ABREVIACIONES

APACHE II	Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II
ALI	Acute Lung Injury
ATP	Adenosinatrifosfato
CAT	Catalasa
CDNB	1-Cloro-2,4-dinitrobenceno
CI	Consentimiento informado
CO ₂	Dióxido de carbono
Cu ⁺	Cobre (I)
Cu ²⁺	Cobre (II)
CuZn-SOD	Superóxido dismutasa cobrezinc
D	densidad, expresada en Kg/L
DE	Desviación estándar
DNA	Acido desoxirribonucleico
DMO	Disfunción Multiorgánica
e ⁻	Electrón
EC-SOD	Superóxido dismutasa extracelular
EDTA	Acido etildiaminotetracético
ERO	Especies reactivas de oxígeno
ERN	Especies reactivas de nitrógeno
FC	Frecuencia cardiaca
FR	Frecuencia respiratoria
FNT	Factor de necrosis tumoral
Fe ²⁺	Ión ferroso
Fe ³⁺	Ión férrico
GPx	Glutatión peroxidasa

GR	Glutación reductasa
GSH	Glutación reducido
GSSG	Glutación oxidado
GSSG/GSH	Ratio glutación oxidado y glutación reducido
GCS	Glasgow Coma Score
GST	Glutación s-transferasa
GST-f	Glutación s-transferasa total
GST-te	Glutación s-transferasa termoestable
GST-r	Glutación s-transferasa residual
H [•]	Átomo de hidrógeno
H ₂	Hidrógeno molecular
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrógeno
H ⁺	Protón
OH [•]	Radical hidroxilo
OH ⁻	Ión hidroxilo
Hb	Hemoglobina
HE	Test de Hemólisis
HCl	Ácido Clorhídrico
HOCl	Ácido hipocloroso
HOBr	Ácido hipobromoso
HO ₂ ⁻	Radical hidroperoxil
KCl	Cloruro de potasio
IL-6	Interleuquina 6
IL-1	Interleuquina 1
IAM	Infarto agudo de miocardio
L	Ácido graso poliinsaturado
L [•]	Radical de ácido graso
LOH	Hidróxidos fosfolipídicos
LOO [•]	Radical alquilperoxil fosfolipídico
LOOH	Hidroxiperóxidos fosfolipídicos
MDA	Malondialdehído
Min	Minutos
MI	Mililitros
Mm	Milimolar
Mmol	Milimoles
mm ³	Milímetros cúbicos
Mn-SOD	Superóxido dismutasa manganeso

Na ₂ CO ₃	Carbonato sódico
NaCl	Cloruro de sodio
NADP ⁺	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina
NADPH	Fosfato de dinucleótido de nicotinamida y adenina reducido
NaHCO ₃	Carbonato ácido de sodio
NaOH	Hidróxido de sodio
NAV	Neumonía asociada a ventilación
NEM	N-etil-maleimida
NGC	Neumonía grave comunitaria
Nm	nanómetros
Nmol	nanomoles
NO [•]	Radical óxido nítrico
NO ₂	Dióxido de nitrógeno
NOS	Óxido nítrico sintetasa
ONOO ⁻	Peroxinitrito
OPT	O-phtalaldehído
8-oxo-dG	8-oxo-deoxiguanina
PBS	Phosphate buffered saline
P	Probabilidad
pH	Potencial de hidrógeno
PM	Peso molecular
PMN	Polimorfonucleares
PO ₄ H ₂ K	Fosfato diácido de potasio
PO ₄ HK ₂	Fosfato ácido de dipotasio
PO ₄ H ₂ Na	Fosfato diácido de sodio
PO ₄ HNa ₂	Fosfato ácido de disodio
PUFA	Polyunsaturated fatty acids
Redox	Reducción-oxidación
Ref	Referencia
R [•]	Radical
Rpm	Revoluciones por minuto
RR	Riesgo Relativo
R	Radio
RL	Radical libre
RLO	Radical libre de oxígeno
RNA	ácido ribonucleico
RO [•]	Radical alcoxi

ROO [•]	Radical peroxil
ROOH	Radical hidroperóxido
SIRS	Systemic Inflammatory Response Síndrome
SOD	Superóxido dismutasa
SOFA	Systemic Organ Failure Assessment
SDRA	Síndrome de Distrés Respiratorio Agudo
TBA	Ácido Tiobarbitúrico
TBARS	Thiobarbituric acid reactive substances
TCA	Ácido tricloroacético
UI	Unidades Internacionales
UCI	Unidades de Cuidados Intensivos
UV	Ultravioleta
μl	Microlitros
μmol	Micromoles

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON

FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

APÉNDICE

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

11. APÉNDICE

Hoja de información al paciente y consentimiento informado

TITULO: Niveles de Estrés oxidativo oxidativo en la sepsis grave respiratoria. Correlación con parámetros clínicos y de laboratorio e impacto sobre la evolución vital

Nombre del Paciente: _____

Fecha de nacimiento: ___/___/_____ N° del paciente: _____

Información General:

La infección grave (sepsis) provoca un estado de inflamación generalizada. Dentro de esta respuesta del organismo a la infección, la oxidación de muchas sustancias aumenta significativamente, y este nivel de oxidación puede relacionarse con la buena o mala evolución que tendrá el enfermo.

Se le invita a participar en el estudio que busca determinar el nivel de estado de oxidación (Estrés Oxidativo) en pacientes con infecciones graves (sepsis) que afecten al sistema respiratorio , específicamente aquellos afectados por neumonía grave de la comunidad y quienes desarrollan neumonía, tras necesitar por varios días un respirador artificial (neumonía asociada a la ventilación mecánica). Otras enfermedades o estados agudos como el politraumatismo, la sepsis intrabdominal o bien el infarto agudo de miocardio también presentan aumento del estado de oxidación de diversos grados

El doctor _____

Es quien dirigirá el estudio en el Hospital _____

Antes de que Usted decida si quiere participar o no, es importante que comprenda la naturaleza y objetivo de este estudio. Por favor tómese su tiempo para leer la siguiente información cuidadosamente y reflexione sobre su propósito después de que el médico que le trata le proporcione una explicación detallada y responda a todas las preguntas que usted formule.

Objetivo del estudio:

Los pacientes con sepsis o infarto agudo de miocardio presentan diferentes grados inflamación sistémica y de oxidación. El nivel de oxidación (estrés oxidativo) que se presenta durante los primeros días de la enfermedad se podría relacionar estrechamente con la evolución posterior de los enfermos. El objetivo del presente estudio es estudiar el grado (intensidad) de oxidación de los pacientes con infección grave de origen respiratoria y su relación con la evolución observada en la UCI y compararlo con el infarto agudo de miocardio. De esta forma se pretende sentar las bases de conocimiento para intentar influir en la evolución de los pacientes afectados de estas alteraciones y mejorar la supervivencia.

Selección de los pacientes:

En este estudio incluiremos a 8 pacientes con una edad comprendida entre 18 y 80 años hospitalizados en la UCI con sepsis de origen respiratorio (neumonía grave de la comunidad y neumonía asociada a ventilación mecánica) y a 8 pacientes con infarto agudo de miocardio.

Participación:

Su participación en el estudio es voluntaria. Usted podrá decidir si desea o no participar en él. Si usted decide participar se le proporcionará esta hoja informativa para que la guarde y se le solicitará que firme un formulario de consentimiento informado. Usted se podrá retirar del estudio en cualquier momento y sin tener que dar explicaciones. La decisión de retirarse o de no participar no afectará en ningún sentido los cuidados médicos que usted reciba. Además, su médico del estudio podrá decidir que usted no debe continuar participando y retirarle del estudio si su condición médica cambiara y su doctor creyera que es lo mejor para usted.

Descripción del estudio:

Si usted desea participar, se le hará una evaluación completa. Se recogerá la información sobre su historial médico pasado y presente así como cualquier fármaco que este tomando actualmente o haya tomado. También se le realizará una exploración física completa. Se le efectuará una extracción de sangre al ingreso y al tercer día, similar a cuando se extrae sangre para un análisis rutinario. Esta muestra de su sangre se utilizará para determinar el grado de oxidación de la misma. Se le solicitarán además controles de laboratorio en sangre y orina así como radiografía de tórax y electrocardiograma según la práctica habitual.

Los riesgos son los habituales para cualquier otra extracción de sangre que se realiza de rutina en la UCI.

Confidencialidad:

Su participación en el estudio será confidencial y sus datos no se proporcionarán a nadie que no sea personal del estudio. Todos los datos se utilizarán en forma estrictamente anónima, anotando sólo sus iniciales, la fecha de nacimiento y el código de registro en el estudio usado para usted.

Aprobación del estudio:

Este estudio ha sido revisado y aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de su Hospital.

Beneficios que aportará este estudio:

Este estudio puede contribuir a mejorar en el futuro el entendimiento de las bases inflamatorias de esta enfermedad lo que con seguridad repercutirá en la mejora del tratamiento. Aunque entiendo que esto puede beneficiar a otros pacientes, es muy probable que este estudio no me beneficie a mí directamente.

Utilización de las muestras:

Las Muestras que se obtengan tienen un valor únicamente científico. No podrán utilizarse para desarrollar productos comerciales con valor terapéutico. No serán utilizadas para otro estudio que no esté relacionado directamente con éste, sobre el cual he sido informado.

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO (POR ESCRITO)

TITULO: Niveles de Estrés oxidativo en la sepsis grave respiratoria. Correlación con parámetros clínicos y de laboratorio e impacto sobre la evolución vital

Yo _____
Nombre y los dos apellidos del paciente

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con _____
Nombre del Investigador

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1.- Cuando quiera
- 2.- Sin tener que dar explicaciones
- 3.- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Preso libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Fecha y hora

Firma del participante

Fecha y hora

Firma del investigador

FORMULARIO DE CONSENTIMIENTO INFORMADO DEL FAMILIAR

TITULO: Niveles de Estrés oxidativo en la sepsis grave respiratoria. Correlación con parámetros clínicos y de laboratorio e impacto sobre la evolución vital

Yo _____ en calidad de _____
Nombre y dos apellidos del familiar Relación con el paciente

De _____
Nombre y dos apellidos del paciente

He leído la hoja de información que se me ha entregado.

He podido hacer preguntas sobre el estudio.

He recibido suficiente información sobre el estudio.

He hablado con _____
Nombre del Investigador

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio:

- 1.- Cuando quiera
- 2.- Sin tener que dar explicaciones
- 3.- Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos.

Y preso libremente mi conformidad con que _____
Nombre y dos apellidos del paciente

Participo en el estudio.

Fecha y hora

Firma del Familiar

Fecha y hora

Firma del Investigador

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011

UNIVERSITAT ROVIRA I VIRGILI

ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON NEUMONÍA GRAVE VALORACIÓN Y CORRELACIÓN CON
FACTORES PRONÓSTICOS

Sandra Ines Trefler Crespo

DL:T. 1366-2011