



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD  
INSTITUTO NACIONAL DE CARDIOLOGÍA IGNACIO CHAVEZ  
CENTRO MÉDICO ABC

**Ensayo clínico aleatorizado de terapia antioxidante en pacientes críticos  
con choque séptico y análisis pre y post tratamiento del estrés oxidante**

## **TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE MAESTRO EN CIENCIAS

### **PRESENTA:**

Dr. Alfredo Aisa Alvarez  
Medicina Interna y Medicina Crítica

### **TUTORA:**

Dra. María Elena Soto López, INCICH

### **COMITÉ TUTORIAL:**

Dr. Israel Pérez Torres, INCICH  
Dr. Enrique Hernández Lemus, INMEGEN  
Dr. Ricardo Gamboa Ávila, INCICH

Dr. Pedro A. Reyes López  
Responsable del Programa de Maestría y Doctorado en ciencias Médicas, INCICH

**Ciudad Universitaria, CD. Mx. enero de 2020**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

## ÍNDICE

MARCO TEÓRICO	4
JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	13
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	15
OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL ESTUDIO	15
HIPÓTESIS	16
Hipótesis alternativa:	16
Hipótesis nula:	16
METODOLOGÍA	16
Tipo de Estudio	16
Población de estudio	16
Descripción de la muestra	16
Criterios de Inclusión	16
Criterios de Exclusión	17
Criterios de eliminación	17
Método de Muestreo	17
Cálculo del tamaño de muestra	18
Procedencia de los sujetos	20
Aleatorización	20
Método de recogida de datos	21
Descripción y definición de la intervención	21

Descripción del seguimiento de los pacientes	22
MODELO CONCEPTUAL DEL ESTUDIO	23
Definición de las variables	24
LIMITACIONES Y POSIBLES SEGOS DEL ESTUDIO	30
Estrategia de análisis	31
PROBLEMAS ÉTICOS	32
RESULTADOS	33
Características de los pacientes	33
Intervención del estudio	34
Desenlace primario	34
Desenlaces secundarios	35
Efectos adversos	35
Resultados de laboratorio	53
DISCUSION	65
CONCLUSIONES	73
PERSPECTIVAS	74
BIBLIOGRAFÍA	75

## MARCO TEÓRICO

La sepsis y el choque séptico son problemas de salud pública a nivel mundial y representan un alto costo para los sistemas de salud. En estados unidos se reportan 3 casos por cada 1000 habitantes y 2.6 casos por cada 100 egresos hospitalarios, de los cuales, 51% reciben manejo en la unidad de terapia intensiva (UTI) y 17.3% son manejados en la unidad de cuidados intermedios (UCI) o coronarios (UCC) **(1)**. Sepsis se define como la disfunción orgánica que pone en riesgo la vida causada por la inadecuada respuesta del huésped ante una infección; el choque séptico es el subconjunto de sepsis con disfunción celular y metabólica asociada a alta mortalidad **(2, 3, 4)**. La sepsis es la mayor causa de mortalidad en las UCI de todo el mundo, ya que los niveles que alcanza son hasta del 80% en enfermos con falla orgánica múltiple (FOM) **(5)**.

Estudios en animales y seres humanos han demostrado que el choque séptico presenta inadecuado equilibrio entre la producción de las especies reactivas al oxígeno (ROS), especies reactivas al nitrógeno (RNS) y las defensas antioxidantes **(6)**.

La producción de ROS y RNS juegan un papel fundamental en la defensa del organismo ante infecciones por hongos y bacterias **(7)**, también se utilizan como moléculas de señalización para la proliferación celular, expresión de genes y apoptosis **(8)**. Sin embargo, en los últimos 15 años se ha demostrado que el daño celular causado por el estrés oxidante (EO) participa en la fisiopatología de varias enfermedades graves como: FOM por sepsis, la lesión por isquemia-reperfusión y el síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA). En el contexto de sepsis, se generan grandes cantidades de radicales libres por las células fagocíticas, incremento de enzimas como NAD(P)H oxidasa, xantina oxidasa y la sintasa de óxido nítrico inducible (iNOS) así como aumento de mediadores inflamatorios a través de la activación del NFκβ **(9)**. Además, el daño mitocondrial causado por el EO forma parte fundamental de la fisiopatología de la falla orgánica secundaria a la sepsis **(10)**.

Los antioxidantes son sustancias que inhiben a los ROS, terminando con las reacciones secundarias de estos, por lo tanto, contrarrestan los efectos de los ROS Y RNS **(11)**. Los antioxidantes incluyen vitaminas (A, C y E), cofactores enzimáticos (selenio y zinc) y compuestos endógenos (ubiquinona, ácido  $\alpha$  lipoico, bilirrubina, albúmina, ferritina, metalotioneína, L-carnitina, ácido úrico, glutatión y Melat) **(12)**.

### **n-acetilcisteína**

La n-acetilcisteína NAC es un antioxidante con propiedades altamente anti-inflamatorias que se utiliza en el tratamiento principalmente de la intoxicación por acetaminofén, bronquitis crónica y fibrosis quística **(13)**. El efecto antioxidante del NAC es a través de la reposición de los depósitos de glutatión (GSH), además de funcionar como secuestrador de radicales libres de oxígeno **(14)**. Independientemente de sus propiedades antioxidantes, también se ha demostrado importantes efectos anti-inflamatorios **(15, 16)**.

Peker y colaboradores realizaron un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo en pacientes con choque séptico en el cual reportaron mejoría de las variables hemodinámicas y resolución de la falla orgánica, en el grupo de pacientes que recibieron manejo con NAC **(17)**.

Spapen y colaboradores evaluaron el efecto hemodinámico en biomarcadores de inflamación en pacientes con choque séptico y tratamiento con NAC en un ensayo clínico, doble ciego, controlado con placebo. Los resultados mostraron que el tratamiento con NAC mejoro la oxigenación ( $PaO_2/FiO_2$ ), la distensibilidad estática pulmonar, disminuyo los niveles de IL-8 y del receptor  $\alpha$  soluble factor de necrosis tumoral p55. También reportaron menor tiempo de ventilación mecánica y menores días de estancia en UCI en pacientes tratados con NAC **(18)**.

En otro ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, realizado por Molnar y colaboradores en pacientes ventilados con dos o más fallas orgánicas, no se encontró diferencia en la mortalidad en el grupo que recibió NAC 150 mg/kg en bolo y posteriormente 12 mg/kg/hr. Además, reportaron incremento en la mortalidad en aquellos pacientes que recibieron tratamiento después de 24 horas de admisión hospitalaria **(19)**.

El efecto de la NAC en el flujo sanguíneo hepático, transporte de oxígeno hepatoesplénico y función hepática en pacientes con choque séptico en etapas tempranas fue evaluado en otro ensayo clínico, sorteado, doble ciego y controlado con placebo realizado por Rank y colaboradores. Reportaron que el flujo hepatoesplénico y la función hepática mejoraron posterior a la infusión de NAC, y que esta, fue secundaria al incremento del índice cardiaco **(20)**.

Otro ensayo clínico realizado por Paterson y colaboradores en pacientes con sepsis, reportaron disminución de la activación del NF $\kappa$ B asociado con disminución de los niveles de IL-8, los niveles de IL-6, pero en los niveles de ICAM-1 no se presentó diferencia significativa **(21)**.

Emet y colaboradores realizaron otro ensayo clínico, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo en pacientes con sepsis grave, se administró NAC 150 mg/kg en bolo y posteriormente 12 mg/kg/hr por seis horas al grupo de intervención. Los autores no encontraron diferencia en el perfil de citocinas inflamatorias, días de ventilación mecánica, días de estancia en UCI, pH de la mucosa gástrica y relación PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>. Sin embargo, únicamente se incluyeron 53 pacientes y el seguimiento fue muy corto **(22)**.

Spapen y colaboradores, evaluaron los niveles de microalbuminuria y disfunción orgánica en pacientes con sepsis grave posterior a la administración de NAC 50 mg/kg/4 h seguido

de 100 mg/kg/24 h. Los niveles de microalbuminuria fueron similares en ambos grupos y el grupo de NAC presento incremento del puntaje de SOFA, en particular la falla cardiovascular **(23)**.

En una revisión sistemática y meta-análisis realizada por Szaksmany y colaboradores, se evaluó la efectividad del tratamiento intravenoso con NAC en pacientes con síndrome de respuesta inflamatoria sistémica y sepsis. La mortalidad fue similar en el grupo tratado con NAC y en el grupo placebo (RR 1.06, IC 95% 0.79 a 1.42; I2 = 0%), tampoco se encontró diferencia en el tiempo de estancia hospitalaria, días de ventilación mecánica o incidencia de nuevas fallas orgánicas. Pero se reportó mayor inestabilidad cardiovascular con la administración tardía (>24 horas) de NAC **(24)**.

### **Vitamina C**

La vitamina C (Vit C), es un antioxidante soluble en agua que funciona como cofactor para múltiples enzimas **(25)**. Es absorbida a nivel intestinal a través del transportador dependiente de sodio de Vit C, filtrada de manera libre en el glomérulo y reabsorbida a nivel del túbulo proximal a través del mismo transportador **(26)**.

La Vit C inhibe la producción del superóxido ( $O_2^-$ ) y peroxinitrito ( $OONO^-$ ) por la inhibición de la NAPH oxidasa que produce tanto  $O_2^-$  como la expresión de mRNA de iNOS. Por lo tanto, previene la producción abundante de óxido nítrico (NO) que genera  $OONO^-$  en la presencia de  $O_2^-$ . También disminuye la vasoconstricción patológica, así como, la pérdida de la permeabilidad vascular inhibiendo la oxidación de la tetrahidrobiopterina ( $BH_4$ ), el cual es, el cofactor para la eNOS, previniendo el desacoplamiento entre la NO y la eNOS, lo cual genera  $O_2^-$ . Otro de sus efectos, es proteger contra la fuga capilar inhibiendo la activación de la proteínfosfatasa 2 A (PP2A), la cual, desfosforila la ocludina y es crucial para el



mantenimiento de las uniones estrechas. La Vit C tiene papel protector contra la permeabilidad mitocondrial, al activar las vías de la apoptosis. También inhibe el factor de necrosis tumoral (TNF) e induce la expresión de la ICAM, la cual, incrementa la adhesividad de los leucocitos en la microcirculación **(27)**.

En varios estudios se ha documentado niveles bajos de Vit C en pacientes críticamente enfermos **(28, 29)**. Los niveles plasmáticos disminuidos de Vit C pueden encontrarse disminuidos por inadecuada ingesta, por consumo agudo o crónico secundario al incremento del EO o por aumento de la pérdida **(30)**. Además, se han reportado niveles  $<10\mu\text{mol/L}$  en pacientes críticos a pesar de la administración de los requerimientos diarios recomendados de Vit C **(25)**. Los niveles disminuidos de Vit C se han relacionado con gravedad de la falla orgánica y con la mortalidad **(31)**.

Con respecto a lo anterior, en un estudio fase I realizado por Fowler y colaboradores donde se evaluó la seguridad de la administración de Vit C en pacientes con sepsis grave y compararon dos diferentes dosis de Vit C (50 mg/kg/24 h y 200 mg/kg/24 h) con placebo. Los resultados mostraron niveles disminuidos en todos los pacientes sépticos ( $17.9\pm 24\ \mu\text{M}$ ). Los niveles plasmáticos se incrementaron drásticamente en ambos grupos de tratamiento. No se reportaron efectos adversos en los pacientes que recibieron infusión de Vit C. Los pacientes que recibieron Vit C presentaron mayor disminución del puntaje de SOFA comparados con el grupo placebo. Se reportó disminución de proteína C reactiva (PCR) y procalcitonina (PCT) en el grupo de Vit C. En el grupo de Vit C se encontraron niveles menores de trombomodulina comparado con en el placebo. La mortalidad a 28 días fue menor en el grupo de dosis bajas de Vit C (38.1%) comparado con el grupo de dosis altas (50.6%) y el grupo placebo (65.1%). No mostro diferencia en cuanto a los días de ventilación mecánica o en los días de estancia en UCI **(32)**.

## **Vitamina E**

Se trata de un grupo de tocoferoles y tocotrienoles solubles en lípidos de los cuales el  $\alpha$  tocoferol es el que tiene mayor actividad biológica **(33)**. Es considerado el antioxidante lipofílico más importante en las membranas celulares. El  $\alpha$  tocoferol se encuentra principalmente integrado a las membranas celulares.

El efecto antioxidante de la vitamina E (Vit E) se debe a que protege las membranas celulares de la peroxidación de lípidos terminando la reacción en cadena de estos. También funciona como secuestrador de  $O_2^-$  e hidroxilo **(34)**.

Pocos estudios han evaluado el efecto antioxidante la Vit E como monoterapia, la mayoría de los estudios se han llevado a cabo con la administración en conjunto con otros antioxidantes. Durant y colaboradores, evaluaron el efecto ex vivo de la Vit E en la producción de  $O_2^-$  en pacientes sépticos y no sépticos en la UCI. Concluyeron que los pacientes sépticos tienen una disminución significativa de los niveles de Vit E con una sobreproducción de  $O_2^-$ , y que la administración de Vit E y simvastatina disminuyeron este fenómeno a través de la inactivación de NAD(P)H oxidasa **(35)**.

## **Melatonina**

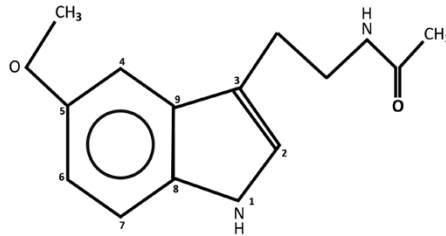
La melatonina (N-acetyl-5-methoxytryptamine) es el principal producto endógeno de secreción de la glándula pineal en vertebrados, la cual es liberada hacia la circulación **(36)** y líquido cefalorraquídeo **(37)**. La glándula pineal es una glándula neuroendócrina originada del techo del tercer ventrículo el cual contiene células productoras de melatonina (Melat) conocidos como pinealocitos, además de contener astrocitos y otras células **(38)**. Se trata de una indolamina presente en

todos los compartimientos del organismo por sus características hidrofóbicas. En la **figura 1** se presenta la conformación química de la molécula de Melat que tiene un peso molecular de 232.2 kDa. Su secreción regula el ritmo circadiano, llevándose a cabo principalmente durante la noche **(39)**. La secreción de Melat está regulada por el sistema nervioso central, la cual inicia en el núcleo paraventricular del hipotálamo y se proyecta directa e indirectamente a las neuronas preganglionares del primer segmento torácico en la médula espinal. Posteriormente, las neuronas simpáticas postganglionares de los ganglios cervicales superiores emiten fibras nerviosas que conforman los nervios coronarios los cuales alcanzan la glándula pineal. La secreción de Melat está regulada por la liberación de norepinefrina en las terminales simpáticas, la cual interactúa con los receptores alfa y beta noradrenérgicos en la membrana de los pinealocitos, estos activan las vías de cAMP-PKA-CREB y PLC-Ca<sup>++</sup> - PKC **(40)**.

Se ha descrito potentes efectos antioxidantes y antiinflamatorios asociados a la Melat. La Melat disminuye el EO tanto a nivel de la membrana celular como intracelular debido a sus propiedades tanto hidrofílica como lipofílica. En diversos estudios se ha demostrado que la Melat posee propiedades de secuestro de ROS por lo que protege los lípidos de las membranas celulares, proteínas del citosol, el DNA nuclear y el mitocondrial **(41, 42)**. También funciona como molécula antioxidante terminal suicida ya que una vez unida a ROS los metaboliza en productos terminales que se eliminan en la orina. De esta forma, preserva otras defensas antioxidantes como el GSH, Vit C y Vit E. Le melat inhibe el NOS por lo que inhibe la producción de NO **(43)**.

## MELATONINA

### *N*-ACETIL-5-METOXITRIPTAMINA



**Figura 1.** Molécula de melatonina.

Galley y colaboradores, llevaron a cabo un estudio fase I de escalamiento de dosis en voluntarios sanos para evaluar la tolerancia y farmacocinética de 20, 30, 50 y 100 mg de Melat. También evaluaron en un modelo de sepsis *ex vivo* la bioactividad de Melat y su metabolito 6-hidroximelatonina en concentraciones relevantes. Demostraron que los niveles de Melat y 6 hidroximelatonina posterior a la administración oral se encontraron dentro de los rangos antioxidantes y anti-inflamatorios en sangre cultivada en condiciones de sepsis y que no se presentaron efectos adversos y proponen una dosis de aproximadamente 50 mg de Melat **(44)**.

El sequential organ failure assessment score (SOFA), se desarrolló en 1994 como una herramienta que pueda cuantificar de manera objetiva el grado de falla orgánica en el tiempo en pacientes sépticos **(45)**. El puntaje de SOFA evalúa seis sistemas los cuales incluyen: respiratorio, coagulación, hepático, cardiovascular, sistema nervioso central y renal. Se da puntaje de 0 puntos cuando se encuentra función normal y de 4 puntos cuando se tiene la mayor alteración, se toma el peor valor del día para realizar la evaluación. El puntaje de 24 indica la mayor falla orgánica posible. El puntaje máximo de SOFA, así como el delta elevado (puntaje máximo menos el mínimo), se han asociado a pronóstico

desfavorable **(46, 47)**. La evaluación de falla orgánica con SOFA se ha utilizado en gran cantidad de estudios en pacientes con choque séptico. La predicción de la mortalidad hospitalaria con el puntaje de SOFA reportó una área bajo la curva (AUROC) de 0.75; IC 95%, 0.72 a 0.76, el valor predictivo de cambio de 2 puntos o más se reportó con AUROC 0.72; IC 95%, 0.70 a 0.73 **(4)**. Actualmente el score de SOFA es el más utilizado en todo el mundo para evaluar la falla orgánica y actualmente es el recomendado por las nuevas guías de sepsis del 2016, motivo por el cual se utiliza para definir sepsis y evaluar la falla orgánica por día.

Existe evidencia suficiente que demuestra que tanto los enfermos en estado críticos, como los pacientes sépticos, presentan marcado incremento de ROS combinado con disminución en las defensas antioxidantes endógenas **(48)**. A pesar de que en los últimos años han surgido gran cantidad de investigaciones en el ámbito del EO en enfermos críticos, existen limitados estudios bien diseñados que den respuesta a una gran cantidad de preguntas en cuanto a la administración de antioxidantes en estos enfermos. No se sabe de manera clara cuando, como y donde deben medirse tanto marcadores pro-oxidantes como antioxidantes en estos enfermos. También es incierto el nivel de antioxidantes que se debe alcanzar en estos enfermos; si se deben buscar objetivos bioquímicos, que dosis y que tipo de suplementación debe utilizarse y como estos marcadores bioquímicos se relacionan con la morbilidad y mortalidad **(49)**.

## JUSTIFICACIÓN Y PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

A pesar de los grandes avances en investigación básica y clínica en los últimos 10 a 15 años en la medicina crítica, la sepsis y el choque séptico, siguen siendo la principal causa de morbilidad y mortalidad en las UCI de todo el mundo.

El análisis de los mecanismos fisiopatológicos responsables de las diversas enfermedades permite dirigir esfuerzos y recursos de manera específica en búsqueda de resultados más favorables para estos enfermos. En este sentido, y en base a los descubrimientos de los últimos años en el campo del EO, es necesaria la búsqueda de nuevos tratamientos que sean capaces de disminuir la respuesta deletérea en los enfermos con choque séptico.

A nivel mundial, se ha presentado aumento tanto de la prevalencia como de la incidencia de sepsis y choque séptico. Algunas de las causas de este fenómeno son el incremento en la sobrevivencia de la población, la mayor prevalencia de enfermedades crónico-degenerativas, el uso de tratamientos inmunosupresores, así como el mayor número de procedimientos invasivos y el uso de catéteres de larga permanencia. Según los datos reportados por el Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI), en México, la sepsis forma parte las 20 principales causas de mortalidad en adultos y niños, llegando a ser de hasta el 40% en algunas instituciones del país **(50)**.

A pesar de los grandes avances en materia de EO en los diferentes campos de la medicina crítica, incluyendo los pacientes con sepsis, la terapia antioxidante en los enfermos con choque séptico no es una práctica comúnmente utilizada en las diferentes UCI. Las guías de la American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (ASPEN) y la Society of Critical Care Medicine (SCCM) manifiesta que la utilización tanto de vitaminas como elementos

traza en enfermos críticos disminuye la mortalidad, a lo cual le otorgan un grado de evidencia bajo **(51)**.

Si bien, existen gran cantidad de estudios en los cuales se ha evaluado la utilidad de diferentes antioxidantes con diferentes desenlaces y resultados diversos, no hemos encontrado ningún ensayo clínico aleatorizado, en el cual, se compare el efecto de diferentes terapias antioxidantes en pacientes con choque séptico, analizando también su efecto sobre el EO. Por otra parte, muy rara vez se ha evaluado el estado antioxidante basal y el efecto de la administración de terapias antioxidantes específicas en enfermos críticos. Tampoco se ha estudiado el efecto de la utilización de melat en humanos con choque séptico y su comparación con otras terapias. La utilización de molécula de adhesión intracelular Vit E como monoterapia y su efecto sobre el EO tampoco ha sido evaluado en pacientes con sepsis y choque séptico. Es necesario encontrar combinaciones y dosis adecuadas de antioxidantes para administración enteral y parenteral en este grupo de enfermos. A diferencia de lo estudiado en sujetos sanos, la cantidad diaria recomendada de antioxidantes en enfermos críticos no se conoce.

Con este estudio, pretendemos evaluar el efecto sobre el EO de cuatro diferentes terapias en pacientes con choque séptico, midiendo tanto el estado pro-oxidante como antioxidante basal y después de la terapia antioxidante específica (Vit C, Vit E, NAC y melat). Del mismo modo, evaluaremos la repercusión clínica del EO con la medición de disfunción orgánica en seis sistemas diferentes, utilizando el puntaje de SOFA antes y después de la intervención.

## **PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN**

¿La administración de terapia antioxidante específica disminuirá el EO y la falla orgánica en pacientes con choque séptico ingresados a terapia intensiva?

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS DEL ESTUDIO**

### **Objetivo general:**

- Determinar el efecto de cuatro diferentes terapias antioxidantes sobre el EO y su repercusión clínica en la falla orgánica en enfermos críticos con choque séptico comparado con un grupo control.

### **Objetivos particulares:**

- Evaluar el perfil de EO en pacientes con choque séptico en nuestra UCI.
- Evaluar el efecto particular sobre el EO de cada una de las terapias implementadas.
- Determinar la utilidad y efecto de la melat en seres humanos con choque séptico.
- Comparar los perfiles de EO de los diferentes grupos incluyendo un grupo control sin intervención.
- Analizar el efecto sobre la falla orgánica en cinco aparatos y sistemas (neurológico, respiratorio, hemodinámico, hepático, hematológico) de cada una de las terapias implementadas en los diferentes sistemas evaluados con el puntaje de SOFA.



## **HIPÓTESIS**

### **Hipótesis alternativa:**

La disfunción orgánica evaluada por el puntaje de SOFA y el perfil de EO mejorará después de la terapia antioxidante en los diferentes grupos con choque séptico.

### **Hipótesis nula:**

La disfunción orgánica evaluada por el puntaje de SOFA y el perfil de EO será similar antes y después de la terapia antioxidante en los diferentes grupos con choque séptico.

## **METODOLOGÍA**

### **Tipo de Estudio**

Se trató de un estudio comparativo, con maniobra experimental, longitudinal, tipo de muestreo de exposición, cohorte y prolectivo.

Ensayo clínico traduccional, aleatorizado y triple ciego.

### **Población de estudio**

#### **Descripción de la muestra**

Pacientes mayores de 17 años que ingresen a la unidad de terapia intensiva del Centro Médico ABC campus observatorio y Santa Fe con diagnóstico de choque séptico por el III Consenso Internacional de Sepsis y Choque Séptico **(52)** a partir de marzo del 2018.

#### **Criterios de Inclusión**

- Pacientes mayores de 18 años

- Ambos géneros
- Diagnóstico de choque séptico en las últimas 24 horas caracterizado por hipotensión refractaria y requerimiento vasopresor a pesar de reanimación hídrica suficiente (20 mL/kg de coloides o 40 mL/kg de cristaloides) para mantener una presión arterial  $\geq$  65 mmHg con un lactato  $>2$  mmol/L.
- Que sean ingresados a la UCI del Centro Médico ABC campus Santa Fe y Observatorio.
- Que otorgue consentimiento informado.

#### **Criterios de Exclusión**

- Pacientes con formato de voluntad anticipada.
- Uso crónico en los últimos seis meses o reciente de esteroides.
- Uso de estatinas.
- Pacientes que se encuentren con algún tipo de tratamiento antioxidante.
- Cualquier contraindicación para el uso de Vit C, Vit E, NAC o Melat.
- Mujeres embarazadas.

#### **Criterios de eliminación**

- Paciente que retire consentimiento informado.

#### **Método de Muestreo**

Se utilizó un muestreo no probabilístico de tipo consecutivo por conveniencia.

## Cálculo del tamaño de muestra

El cálculo del tamaño de muestra se presenta a continuación:

Terapia	Controles %	Enfermos %	$\alpha$ error	Poder estadístico	Tamaño de muestra	Muestra	Referencia
Vit C	0.01%	0.32%	0.05	0.84	28	?	¿Mejoría de SOFA?
Vit C	0.01%	0.50%	0.05	0.84	17	Ratón (Gulo)	(53) Mortalidad
Vit C hidrocortisona y tiamina	8.5%	0.44%	0.05	0.84	30	Pacientes	(54) ¿Mejora falla renal?
Vit C IV	10.1 ± 2	13.3 ± 2.9	0.05	0.84	11	24	(32)
			0.01	0.99	32	pacientes con sepsis	SOFA
Vit E	13 ± 2	24 ± 4	0.05	0.84	4	14	(35)
			0.01	0.99	7	pacientes	APACHE

## Cálculo de tamaño de muestra mediante $X^2$ para comparar dos proporciones independientes:

Mortalidad: (53).

Mejoría en lesión renal: (54).

## Cálculo de tamaño de muestra medias $\pm$ DE independientes:

SOFA: (32).

APACHE: (35).

## Formulas

a. Proporciones:

Llamando P a la proporción media de la proporción de acontecimientos de interés del grupo control c y del grupo tratado e, Pc a la proporción de acontecimientos de interés en el grupo control, Pe a la proporción en el grupo expuesto, y utilizando el resto de las notaciones igual que en apartados anteriores, de forma similar se puede llegar a la siguiente expresión:

$$n_0 = \frac{z_{\alpha/2} \sqrt{2P(1-P)} + z_{\beta} \sqrt{P_c(1-P_c) + P_e(1-P_e)}}{(P_e - P_c)}^2$$

b. Fórmula para diferencia de medias: **(Alpha A)**

$$N = 2 \left[ \frac{Z_{\alpha} - Z_{\beta}}{\mu_1 - \mu_2} \right] DE$$

Donde:

$Z_{\alpha}$  = valor de z relacionado con  $\alpha = 0.05$  (se extrae de tablas de referencia)

$Z_{\beta}$  = valor de z relacionado con un  $\beta = 0.20$  (poder de 80 %).

DE= desviación estándar

$\mu_1$  = media de grupo A

$\mu_2$  = media del grupo B

De acuerdo con el ejemplo, la sustitución de los valores

Sería de la siguiente forma:

$$Z_{\alpha} = 1.96$$

$$Z_{\beta} = -0.84$$

$$DE = 2$$

$$\mu_1 = 10.1 \pm 2$$

$$\mu_2 = 13.3 \pm$$

Y sustituyendo en la fórmula:

Basado en una DE  $\pm$  2.9 en el puntaje de SOFA, se estimo que el estudio requeriría 55 pacientes (11 paciente por grupo) para tener un poder del 84% (a dos colas con un  $\alpha = 0.05$ ) y 160 (32 por grupo) para tener un poder del 99% (a dos colas con un  $\alpha = 0.01$ ).

### **Procedencia de los sujetos**

Pacientes que ingresen a la UCI del Centro Médico ABC campus Santa Fe y Observatorios a partir de marzo del 2018.

### **Aleatorización**

#### *Aleatorización en bloques balanceados*

Tratando de limitar la posibilidad de desbalances en la asignación de tratamientos, de generar secuencias repetidas largas de una misma maniobra y de balancear en la medida de lo posible algunos de los sesgos inherentes al proceso de aleatorización simple se llevó a cabo un método de aleatorización en bloques balanceados.

Se ensambló una serie de bloques, formados por un número determinado de celdas, en las cuales se incluyeron los 5 diferentes tipos de tratamiento. El número de bloques se determinó por el número de participantes a incluir en el estudio y el número de celdas que se decidió incluir en cada bloque. Esto se llevó a cabo de manera electrónica por computadora, se crearon 6 bloques con 25 pacientes sorteados a 5 diferentes tratamientos.

Una persona ajena al estudio colocó la terapia indicada en sobres opacos idénticos numerados del 1 al 150 y estos se colocaron en caja cerrada. Los sobres se tomaban de manera consecutiva con la terapia indicada por el personal de farmacia clínica del hospital. Ni el investigador, ni las personas relacionadas con el estudio o el tratamiento conocían la terapia que le tocaba a cada paciente.

## **Método de recogida de datos**

Al ingreso a la unidad de terapia intensiva se realizó la historia clínica completa al igual que exploración física de los pacientes para obtener los datos demográficos de los sujetos.

Calculamos las escalas pronosticas de APACHE II y SAPS II al ingreso a la unidad de terapia intensiva, así como, el puntaje de SOFA para disfunción orgánica para cada uno de los apartados de este (neurológico, respiratorio, hemodinámico, hepático, hematológico). Se realizó la evaluación de SOFA todos los días por siete días.

Se tomaron estudios de laboratorio al ingreso a la UCI y todos los días de estancia los cuales incluyeron los siguientes: biometría hemática completa, química sanguínea, electrolitos séricos (sodio, potasio, cloro, calcio y magnesio), pruebas de funcionamiento hepático, proteína c reactiva, procalcitonina, gasometría venosa y arterial. Estudios adicionales se solicitaron a discreción de los médicos a cargo.

La medición del EO se realizó al ingreso a la UCI, al segundo y al séptimo día de tratamiento.

Se realizaron a su ingreso tres hemocultivos, urocultivo, cultivo de secreción bronquial y coprocultivo en caso de no contar con alguno. El estudio microbiológico vario dependiendo del cuadro clínico y caso del paciente.

Se tomaron estudios de gabinete al ingreso a la unidad que incluyeron: radiografía de tórax, electrocardiograma y tomografía según sea el caso.

## **Descripción y definición de la intervención**

Posterior a la aleatorización se inició el tratamiento según el resultado obtenido de los sobres cerrados.

Para el grupo de NAC se utilizaron dos tabletas efervescentes de 600 mg de NAC las cuales se administraron cada 12 horas por vía oral o sonda naso enteral por cinco días. En total se administraron 10 dosis de NAC.

Para el grupo de Melat se utilizaron Melat en capsulas de liberación prolongada de 5 mg, se administró en dosis de 50 mg (10 cápsulas) por vía oral o sonda naso enteral por cinco días. En total se administraron 5 dosis de Melat.

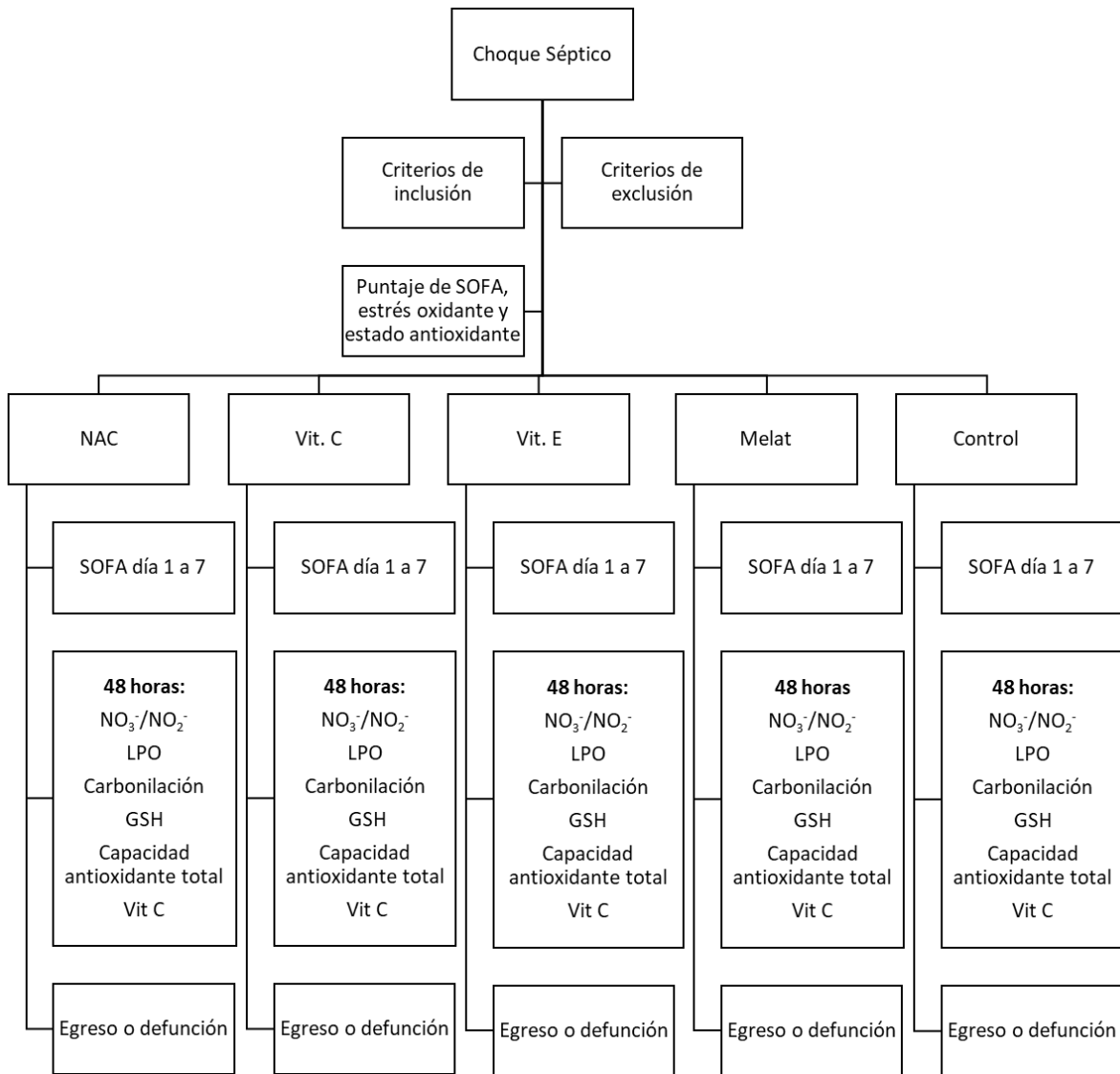
Para el grupo de Vit C se utilizaron tabletas de Vit C de 1 gramo las cuales se administraron cada 6 horas por vía oral o sonda naso enteral por cinco días. En total se administraron 20 dosis de Vit C.

Para el grupo de Vit E, se utilizaron cápsulas de Vit E (d-alfa tocoferil acetato) de 400 UI equivalentes a 400 mg las cuales se administraron cada 8 horas por cinco días. En total se administraron 15 dosis de Vit E.

### **Descripción del seguimiento de los pacientes**

Se recolectaron los datos de los pacientes posterior a la aleatorización por 28 días. Se recolectaron las variables de interés la cuales incluyeron signos vitales, variables hemodinámicas, estudios de laboratorio y cultivos. Se realizó la medición del SOFA score todos los días hasta el egreso de la UCI. La medición de metabolitos del ON se llevó a cabo antes del inicio del tratamiento al ingreso a la UCI y a los 5 días de tratamiento. Se recolectaron las tasas de mortalidad a 28 días, en la UCI y hospitalaria posterior a la aleatorización.

# MODELO CONCEPTUAL DEL ESTUDIO





## Definición de las variables

Variable	Definición	Tipo de Variable	Valor
<b>Edad</b>	Tiempo que ha transcurrido desde el nacimiento hasta el momento actual en años.	Cuantitativa discreta	Años
<b>Género</b>	Características biológicas que distinguen al hombre de la mujer dentro de un género.	Cualitativa Dicotómica	1) Mujer 2) Hombre
<b>Peso</b>	Peso de cada paciente al momento del estudio.	Cuantitativa continua	Kg
<b>Talla</b>	Estatura de cada paciente al momento del estudio.	Cuantitativa continua	Metros
<b>IMC</b>	Medida de asociación entre el peso y la talla de un individuo (Peso/Talla <sup>2</sup> ). Normal 20 a 25, sobrepeso 25 a 30, obesidad >30.	Cuantitativa continua	kg/m <sup>2</sup>
<b>Motivo de ingreso</b>	Motivo de ingreso a la unidad de cuidados intensivos	Cualitativa nominal	a) Médico b) Cirugía electiva c) Cirugía de emergencia
<b>Apache II</b>	Método para predecir la mortalidad hospitalaria calculado al ingreso a la UCI	Cuantitativa continua	Puntaje
<b>SAPS II</b>	Método para predecir la mortalidad hospitalaria calculado al ingreso a la UCI	Cuantitativa discreta	Puntaje
<b>NUTRIC</b>	Método para evaluar el riesgo de desnutrición en pacientes ingresados a UCI e iniciar nutrición	Cuantitativa Discreta	Puntaje
<b>SOFA score al ingreso y del día 0 al 5</b>	Evaluación secuencial de la falla orgánica	Cuantitativa discreta	Puntaje
<b>Enfermedad previa</b>	Enfermedades que padece el paciente previo a su padecimiento actual	Cualitativa nominal	a) Diabetes mellitus b) Hipertensión arterial c) Dislipidemia d) EPOC e) Insuficiencia cardiaca f) Enfermedad coronaria g) Cáncer h) Neurológica i) Hepática j) Enfermedad renal crónica k) Otras
<b>Motivo de ingreso</b>	Motivo de ingreso a la UCI	Cualitativa dicotómica	1) Quirúrgico 2) No quirúrgico
<b>Sitio de ingreso</b>	Lugar proveniente previo al ingreso a UCI	Cualitativa nominal	a) Urgencias b) Quirófano c) Hospitalización d) Otro
<b>Diagnóstico de ingreso</b>	Cuál es el diagnóstico de ingreso previo al choque séptico	Cualitativa nominal	a) Cardiovascular b) Respiratorio c) Gastrointestinal

			d) Neurológico e) Sepsis f) Trauma g) Metabólico h) Hematológico i) Renal j) Genitourinario ) Otro
<b>Causa de infección</b>	Causa de infección del paciente	Cualitativa nominal	a) Adquirida en la comunidad b) Intrahospitalaria c) Postquirúrgica
<b>Sitio de Infección</b>	Sitio donde se presenta el foco infeccioso	Cualitativa nominal	a) Pulmón b) Gastrointestinal c) Tracto urinario d) SNC e) Endocarditis f) Ginecológica g) Ósea/Articulaciones h) Bacteriemia i) Otra j) Desconocida
<b>Microorganismo</b>	Microorganismo patógeno responsable de la enfermedad actual	Cualitativa nominal	Nombre del microorganismo responsable
<b>Glasgow</b>	Evaluación neurológica de la escala de coma de Glasgow	Cuantitativa discreta	Puntaje
<b>Relación PaO2/FiO2</b>	Relación entre la PaO2 en mmHg con la FiO2	Cuantitativa Continua	mmHg
<b>Relación SpO2/FiO2</b>	Relación entre la SpO2 con la FiO2	Cuantitativa Continua	Valor numérico
<b>VMI</b>	Requerimiento de ventilación mecánica invasiva	Cuantitativa dicotómica	1) Si 2) No
<b>VMNI</b>	Requerimiento de ventilación mecánica invasiva	Cuantitativa dicotómica	1) Si 2) No
<b>Frecuencia cardíaca</b>	Número de latidos cardiacos por minuto	Cuantitativa discreta	Latidos por minuto
<b>Presión arterial media</b>	Presión arterial sistólica multiplicada por dos más la presión arterial diastólica dividida entre tres	Cuantitativa discreta	mmHg
<b>SVCO2</b>	Saturación venosa central de oxígeno tomada con un catéter en la vena cava o aurícula derecha	Cuantitativa Continua	%
<b>PVC</b>	Presión venosa central	Cuantitativa Continua	mmHg
<b>Norepinefrina al ingreso</b>	Dosis máxima de norepinefrina	Cuantitativa Continua	mcg/min
<b>Vasopresina al ingreso</b>	Dosis máxima de vasopresina	Cuantitativa Continua	UI/h
<b>Dopamina al ingreso</b>	Dosis máxima de dopamina	Cuantitativa Continua	mcg/kg/min
<b>Dobutamina al ingreso</b>	Dosis máxima de dobutamina	Cuantitativa Continua	mcg/kg/min
<b>Levosimendan al ingreso</b>	Dosis máxima de levosimendan	Cuantitativa Continua	mcg/kg/min
<b>Nutrición antes de 48 horas</b>	Inicio de nutrición en menos de 48 horas	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No

<b>Nutrición enteral</b>	Administración de nutrición vía enteral	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
<b>Nutrición parenteral</b>	Administración de nutrición vía parenteral	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
<b>Glucosa</b>	Niveles de glucosa en sangre al ingreso	Cuantitativa Continua	1) Si 2) No
<b>Bilirrubina total al ingreso</b>	Nivel de bilirrubina en suero	Cuantitativa Continua	mg/dl
<b>Lesión renal aguda</b>	Presento lesión renal aguda	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
<b>Estadio de lesión renal aguda</b>	Estadio de lesión renal aguda según las guías de KDIGO	Cuantitativa discreta	1, 2 o 3
<b>Creatinina al ingreso</b>	Nivel de creatinina al ingreso	Cuantitativa Continua	mg/dl
<b>Terapia de sustitución renal</b>	Requirió terapia de sustitución renal	Cualitativa dicotómica	1) Si 2) No
<b>Temperatura</b>	Temperatura corporal al ingreso en grados centígrados	Cuantitativa Continua	°C
<b>Leucocitosis al ingreso</b>	Niveles de leucocitos en sangre	Cuantitativa Continua	10 <sup>3</sup> /μl
<b>PCR al ingreso y del día 0 al 7</b>	Niveles de proteína C reactiva en suero	Cuantitativa Continua	mg/dl
<b>PCT al ingreso y del día 0 al 7</b>	Niveles de procalcitonina en suero	Cuantitativa Continua	ng/ml
<b>Plaquetas al ingreso</b>	Niveles de plaquetas en sangre	Cuantitativa Continua	10 <sup>3</sup> /μl
<b>NO<sub>3</sub>/NO<sub>2</sub><sup>-</sup> antes y a las 48 horas de la terapia</b>	Determinación de nitratos y nitritos	Cuantitativa Continua	μM/mL de plasma
<b>Vit C antes y a las 48 horas de la terapia</b>	Niveles de vitamina c	Cuantitativa Continua	μM ac. ascórbico/mL plasma
<b>Carbonilación</b>	Determinación de niveles de carbonilos en plasma	Cuantitativa Continua	ng de carbonilos/mL plasma
<b>LPO antes y a las 48 horas de la terapia</b>	Medición de la peroxidación de lípidos	Cuantitativa Continua	nM MDA/ml de plasma
<b>GSH antes y a las 48 horas de la terapia</b>	Concentración plasmática de glutatión	Cuantitativa Continua	μmol/ml plasma
<b>Capacidad antioxidante total antes y a las 48 horas de la terapia</b>	Medición de la capacidad antioxidante	Cuantitativa Continua	nM de trolox/ml plasma
<b>Días de ventilación mecánica invasiva</b>	Número de días de ventilación mecánica invasiva	Cuantitativa discreta	Días
<b>Días de estancia en la UTI</b>	Número de días en la unidad de terapia intensiva	Cuantitativa discreta	Días
<b>Días de estancia hospitalaria</b>	Número de días de estancia en el hospital incluyendo los días de UTI	Cuantitativa discreta	Días
<b>Defunción</b>	Si el enfermo falleció o no durante su estancia en la UTI	Cualitativa Dicotómica	1) Si 2) No

## **Obtención de la muestra y almacenamiento**

Para la realización del análisis básico en el laboratorio, se obtuvieron 20 ml de sangre de cada paciente ingresado al sorteo a su ingreso y a las 48 horas del tratamiento. Se llevó a cabo el siguiente proceso:

1. El personal de enfermería o el médico adscrito de terapia intensiva a cargo se comunicaron vía telefónica a laboratorio clínico para la toma de muestras del protocolo de investigación. Se avisó si se trataba de la muestra pre (hora 0) o muestra post (48 horas).
2. Acudió el personal de laboratorio a tomar 3 tubos Vacutainer para la obtención de suero (rojo o amarillo).
3. Se rotularon las muestras de manera manual con nombre completo del paciente, fecha de nacimiento, número de expediente, número de episodio, fecha, hora y la indicación de que sea si era pre o post.
4. Se entregaron en área de centrifugación.
5. Se centrifugaron a 3000 rpm por 20 min a 4 °C.
6. El plasma de las muestras se colocó en 3 o 4 alícuotas eppendorf de 1.5 mL, las cuales se encontraban etiquetadas manualmente con las mismas indicaciones mencionadas anteriormente.
7. Se resguardaron en congelación en una gradilla rotulada con el nombre del protocolo de investigación.
8. Las muestras se transportaron en hielera con hielo seco al Instituto Nacional de Cardiología.

### **A. Nitratos y Nitritos**

Para la medición de nitratos y nitritos ( $\text{NO}_3^-/\text{NO}_2^-$ ), se tomaron 100  $\mu\text{L}$  de plasma y se le agregaron 100  $\mu\text{L}$  de una disolución al 10% (p/v) de  $\text{ZnSO}_4$  y 100  $\mu\text{L}$  de  $\text{NaOH}$  0.5 N y fueron centrifugados a 7155 g por 10 min. Se trasvaso el sobrenadante en tubos nuevos con 5  $\mu\text{L}$  de nitrato reductasa, se agregó 50  $\mu\text{L}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y se incubó a 37° C por 45 minutos. Al sobrenadante se les adicionó 200  $\mu\text{L}$  de sulfanilamida al 1% (p/v) y 200  $\mu\text{L}$  de clorhidrato de N-(1-naftil) etilendiamina al 1% (p/v) y se incubaron durante 10 min protegidos de la luz, a temperatura ambiente. La coloración desarrollada se midió a una longitud de onda de 540 nm en un espectrofotómetro de UV-Vis de doble haz. Las curvas de calibración se realizaron independientemente, con una disolución stock de  $\text{KNO}_3$  y  $\text{NaNO}_2$  en un intervalo de concentraciones de 0.001 nM a 10 nM.

### **B. Peroxidación de Lípidos**

50  $\mu\text{L}$  de  $\text{CH}_3\text{-OH}$  con 4% BHT más un buffer de fosfato pH 7.4 se agregó a 100  $\mu\text{L}$  de plasma. La mezcla se agito vigorosamente en vórtex por 5 segundo y posteriormente se incubó en baño maría a 37° C por 30 minutos. 1.5 mL de 0.8 M ácidotribarbitúrico se agregó a la muestra la cual se incubo en baño maría con temperatura de ebullición por una hora. Después de este tiempo y para detener la reacción la muestra fue colocada en hielo; 1 mL 5% de KCl se agregó a cada muestra, al igual que 4 mL de n-butanol; se agito la muestra en vórtex por 30 segundos y se centrifugó a 4000 rpm a temperatura ambiente por 2 min. Posteriormente, la fase de butanol fue extraída y se midió la absorbencia a 532 nm. La curva de calibración se obtuvo mediante tetraethoxypropane como estándar **(53)**.

### **C. Concentración de glutatión (GSH)**

Para determinar la concentración de GSH se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de plasma previamente centrifugados a 5000 rpm por 5 minutos y desproteinizado con 20% de ácido tricloro acético (vol/vol) a 800  $\mu\text{L}$  de buffer de fosfato 50 mM (pH 7.3) más 100  $\mu\text{L}$  reactivo de Ellman (DTNB) 1 M. La mezcla se incubo a temperatura ambiente por 5 minutos y se midió la absorbencia a 412 nm. La curva de calibración se llevó a cabo con concentraciones de 5 a 25  $\mu\text{mol/ml}$  de GSH en plasma **(56)**.

### **D. Evaluación de la capacidad antioxidante total**

Se suspendieron 100  $\mu\text{L}$  de plasma en 1.5 mL de una mezcla de reacción preparada de la manera: 300 mM de buffer de acetato con pH 3.6, 20 mM de hexahidrato de cloruro férrico y 10 mM de 2,4,6-Tris-2-piridil-s-triazinadisuelto en 40 mM ácido clorhídrico en una relación 10:1:1 v/v, respectivamente. La mezcla se agito vigorosamente en un vortex por 5 segundos. Se incubo a 37° C por 15 min en la oscuridad. La absorbencia se midió a 593 nm. La curva de calibración se obtuvo utilizando Trolox **(57)**.

### **E. Carbonilación**

Se tomaron 200  $\mu\text{L}$  de plasma por duplicado de las muestras pre y post. A la mitad de alícuotas tanto de muestra pre como post se agregaron 500  $\mu\text{L}$  de 2-4 dinitrofenílhidrazina y a la otra mitad se administró 500  $\mu\text{L}$  de HCL, se mezcló e incubo durante 1 hora en la oscuridad. Durante el periodo de incubación se mezcló cada 15, 30, 45 y 60 minutos. Al término de la incubación, se agregó 500  $\mu\text{L}$  de ácido tricloroacético al 20% a todas las muestras. Se mezcló y se centrifugo a 12,000 rpm por 5 minutos. Se deshecha el sobrenadante. Se agregó 500  $\mu\text{L}$  de etanol eilacetato 1:1 para realizar lavado del pelet en tres ocasiones dejando reposar 10 minutos. Se retiró el sobrenadante del 3 lavado y se agregó 500  $\mu\text{L}$  de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  20 mM con pH 2.3 más 500  $\mu\text{L}$  de guanidina (6 M). Se incubó

por 30 minutos a 37°C y centrifugó a 5000 rpm por 3 minutos. La absorbancia se midió a 370 nm **(58)**.

#### **F. Vitamina C**

Para la medición de Vit C e agregó ácido tricloroacético 1 N a 100 ml de plasma. Se llevo a cabo agitación vigorosa de las muestras y se centrifugaron a 5000 rpm por 5 minutos. Se recuperó el sobrenadante y e este se agregó 400  $\mu$ L de agua tridestilada más 200  $\mu$ L de reactivo de Folin-Ciocalteu al 1 N. Se agitó nuevamente de manera vigorosa por 5 segundos. La muestra se incubó 15 minutos a 37°C en la obscuridad. La absorbancia se midió a 760 nm. La curva de calibración se obtuvo utilizando solución estandarizada con ácido ascórbico **(59)**.

### **LIMITACIONES Y POSIBLES SESGOS DEL ESTUDIO**

Al tratarse de un ensayo clínico la herramienta para la evaluación de sesgos es Revised Cochrane risk-of-bias tool for randomized trials (RoB 2). Los sesgos susceptibles del estudio son: sesgo de selección, sesgo de ejecución, sesgo de detección, sesgo de desgaste y sesgo de información.

En el caso del presente trabajo se decidió realizar un sorteo aleatorio y ciego de los grupos de tratamiento que se comparan por lo que se elimina la posibilidad de presentarse sesgo de selección.

El trabajo cursa con bajo riesgo de sesgo de realización ya que los participantes y los evaluadores desconocen la terapia que se les está administrando a cada grupo.

En cuanto al sesgo de detección, los evaluadores desconocen el tratamiento empleado a cada participante del estudio por lo cual se presenta bajo riesgo de sesgo.

Nuestro estudio también presenta riesgo de sesgo de desgaste en caso de pérdida de datos del resultado.

Basados en el cálculo del tamaño de muestra, nuestro estudio enrolo 97 pacientes para permitir un 10% de pérdidas, teniendo un poder del 99% con un error  $\alpha$  de 5% a dos colas. Sin embargo, sabemos que el cálculo del tamaño de muestra se llevó a cabo para el desenlace primario y únicamente tomando en cuenta estudios previos de Vit C **(32)**. Es probable que los desenlaces secundarios y el efecto en otros grupos de tratamiento diferentes a Vit C se hayan visto afectados por el tamaño de muestra condicionando un error tipo II, por lo que se deben tomar con reserva.

El presente ensayo clínico también este sujeto a imprecisiones y omisiones en la recogida de los datos que podría causar un sesgo de información.

### **Estrategia de análisis**

Las variables continuas se expresan como la media  $\pm$  desviación estándar o mediana con mínimo y máximo, dependiendo la distribución de estas. Las variables categóricas se expresan como frecuencias y porcentajes.

La normalidad de las variables se evaluó mediante la prueba de Shapiro-Wilk o Shapiro-Francia, dependiendo el tamaño de la muestra. También realizaremos análisis gráfico de la distribución de las variables con histogramas y/o gráficos de tallo y hoja.



Aquellas variables con distribución normal se analizaron con pruebas paramétricas (prueba t de Student para mediciones independientes o prueba de t pareada para mediciones antes después).

Mientras que diversas pruebas no paramétricas (prueba de Mann-Whitney, Kruskal-Wallis o prueba de los rangos señalados de Wilcoxon, según el caso particular) se usaron para contrastar variables sin distribución gaussiana.

El análisis de muestras pareadas (antes-después) se llevó a cabo con Friedman o Wilcoxon y prueba de t pareada, dependiendo la distribución de los datos

Para el análisis multivariado se realizó análisis de regresión logística binaria. También se realizó un análisis de muestras repetidas y datos panel probando diferentes modelos (modelo agrupado, modelo para datos longitudinales, modelo de aproximación marginal y modelo multinivel).

## **PROBLEMAS ÉTICOS**

A todos los pacientes o a sus representantes legales se les explicó de manera detallada los objetivos del estudio, así como los procedimientos para realizar la medición de las variables, por lo que se solicitó consentimiento informado por escrito.

El protocolo fue sometido a aprobación por el comité de ética de ambos hospitales.

La información recolectada se utilizó para fines académicos y de investigación, manteniendo datos personales de manera confidencial.

## RESULTADOS

### Características de los pacientes

De julio del 2018 a julio de los 2019 se evaluaron 1695 pacientes para ser incluidos en el estudio en las dos unidades de cuidados intensivos del Centro Médico ABC. De los pacientes comentados 14 rechazaron participar en el estudio, 1577 no cumplieron criterios de selección y 7 fueron excluidos por otras razones. Del total de pacientes evaluados, 97 pacientes fueron sorteados por bloques (Vit C 18, Vit E 18, NAC 20, Melat 20 y control 21) y todos se incluyeron en el análisis Ningún paciente se perdió durante el seguimiento o retiro el consentimiento informado. **(Gráfico 1).**

La mediana de edad fue 66 años, con un 48% pacientes de género masculino, 51% tenían antecedente de tabaquismo, 42% de hipertensión arterial y 40% de cáncer **(Cuadro 1)**. En cuanto a la gravedad de los pacientes, la mediana de SOFA fue de 8 puntos, de APACHE II 16 puntos y SAPS II de 40 puntos. El principal motivo de ingreso fue no quirúrgico en un 76%, la mayoría de los pacientes (55%) ingresaron del servicio de urgencias y el principal motivo de ingreso fue respiratorio (29%), seguido de gastrointestinal (24%) y sepsis en un 22%. El principal sitio de infección fue pulmonar (41%), seguido de gastrointestinal (27%) y nefrouinario (18%). La mediana de tiempo de aleatorización del estudio fue de 18 horas **(Cuadro 2)**.

De las variables de los pacientes, la mediana de presión arterial media fue 63 mmHg, PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> 187 mmHg, lactato de 2.2 mmol/L, creatinina 1.04 mg/dL, leucocitos 10.5 10<sup>3</sup>/μL, PCR 18.98 mg/dL y PCT 3.68 ng/dL **(Cuadro 3)**.

La mayoría de los pacientes recibieron nutrición enteral (88.4%), la mediana de inicio de nutrición enteral fue de 15 horas, el 45% de los pacientes recibieron esteroides, el soporte vasopresor utilizado fue norepinefrina en 50% de los pacientes seguido de norepinefrina más vasopresina en 49%. El 65% de los pacientes requirió ventilación mecánica, siendo la invasiva la más frecuente en un 49% **(Cuadro 4)**.

No hubo diferencias estadísticamente significativas en las características basales de los diferentes grupos de tratamiento. **(Cuadros 5, 6, 7, 8 y 9)**.

### **Intervención del estudio**

De las 4 diferentes terapias empleadas en el estudio, tres pacientes del grupo de Vit C (16.6%) y uno (1.05%) de Melat no recibieron ni una dosis debido a que fallecieron. El tiempo de tratamiento y el apego al tratamiento fue similar entre los grupos **(Cuadro 10)**.

### **Desenlace primario**

Los pacientes que recibieron Melat [ -1.27 (IC 95% -2.21 a -0.34); p=0.007] y Vit C [ -1.94 (IC 95% -2.95 a -0.93); p<0.001] presentaron disminución significativa del puntaje de SOFA por día de tratamiento cuando se compararon con el grupo control **(Gráfico 5)**.

Los niveles de LPO disminuyeron de manera significativa en los pacientes que recibieron tratamiento con Melat [2.13 (0.23 – 11.68) vs 2.42 (0.23 – 7.11); p=0.042] **(Cuadro 14)**. Los niveles de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  disminuyeron de manera estadísticamente significativa **(Cuadro 15)** en los pacientes tratados con Vit C [2.10 (0.98 – 2.73) vs 1.49 (0.03 – 2.57); p=0.004]. En los pacientes que recibieron Vit C se encontró incremento estadísticamente significativo de los niveles plasmáticos de Vit C [0.17 (0.04 - 0.87) vs 0.27 (0.06 - .99); p=0.002]. El grupo control presentó disminución estadísticamente de los niveles de Vit C [0.22 (0.08 - 0.77) vs

0.19 (0.07 - 0.64);  $p=0.024$ ] (**Cuadro 17**). La capacidad antioxidante total incremento de manera estadísticamente significativa [1453.6 (621.59 - 2351.49) vs 1951.09 (812.69 - 3528.79);  $p=0.05$ ] en los pacientes que recibieron terapia con NAC (**Cuadro 19**).

### **Desenlaces secundarios**

Los pacientes que recibieron Vit C [-3.82 (IC 95% -7.49 a -0.15);  $p=0.045$ ] presentaron disminución significativa de los niveles de PCR por día de tratamiento cuando se compararon con el grupo control (**Gráfico 7 y 8**).

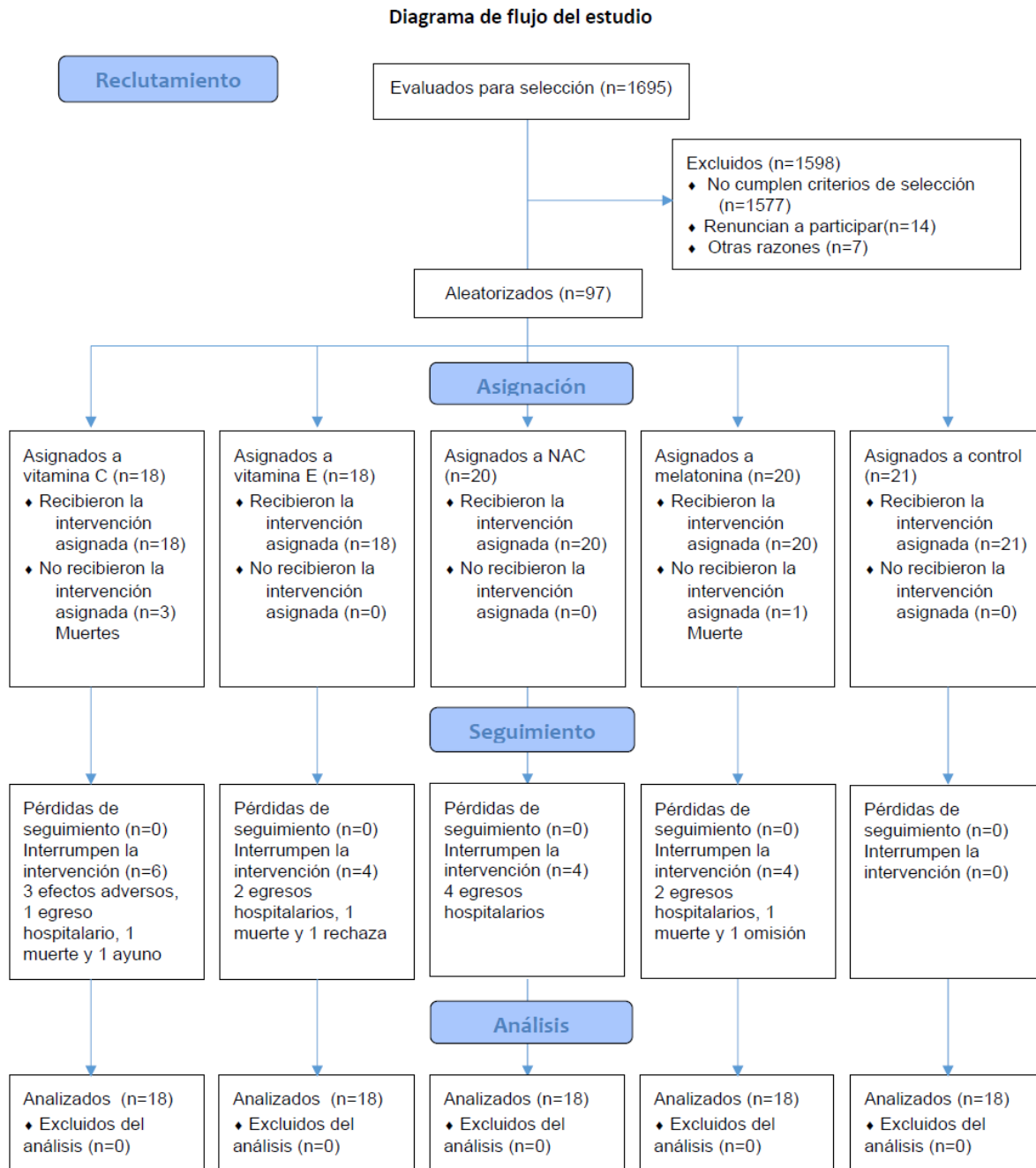
Los niveles de PCT disminuyeron de manera estadísticamente significativa por día de tratamiento en los pacientes que recibieron tratamiento con Vit E [-0.59 (IC 95% -1.18 a -0.06);  $p=0.047$ ], NAC [-0.92 (IC 95% -1.48 a -0.35);  $p=0.001$ ] y Melat [-0.57 (IC 95% -0.154 a -0.006);  $p=0.045$ ] cuando se compararon con el grupo control (**Gráfico 10 y 11**).

En cuanto a los desenlaces secundarios, 13 (13.68%) de los pacientes requirieron terapia de sustitución renal, 63 (65.63%) ventilación mecánica y 17 (17.89%) fallecieron. No encontramos diferencia estadísticamente significativa en los días libres de TSR, ventilación mecánica, estancia en UCI u hospitalización a los 28 días. Tampoco existió diferencia estadísticamente significativa en la mortalidad hospitalaria (**Cuadro 9**).

### **Efectos adversos**

Un paciente con Vit C presento dolor abdominal y otra erupción cutánea. Solo un paciente que recibió Melat refirió somnolencia. No se reportaron eventos adversos en los pacientes con NAC y Vit E.

**Gráfico 1.**



**Cuadro 1.** Características demográficas de los pacientes.

<b>Características</b>	<b>n= 97</b>
Edad, años	66 (18 – 95)
Género	
Hombre	48 (49.4)
Mujer	49 (50.52)
Peso, (kg)	70 (33 – 120)
Talla, (cm)	168 (1.43 – 1.97)
IMC, (peso/talla <sup>2</sup> )	25 (14.7 - 58)
Diabetes Mellitus	22 (22.68)
Hipertensión arterial	41 (42.27)
EPOC	8 (8.25)
Tabaquismo	50 (51.55)
Cáncer	39 (40.21)
Cirrosis	7 (7.22)
Enfermedad renal crónica	12 (12.37)
Hipotiroidismo	17 (17.53)
Enfermedad vascular cerebral	7 (7.22)
Infarto al miocardio	5 (5.15)
Fibrilación auricular	13 (13.40)
Depresión	14 (14.43)
Trastorno obsesivo compulsivo	1 (1.03)
Trombosis venosa profunda	1 (1.03)
Tromboembolia pulmonar	1 (1.03)

IMC: índice de masa corporal; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo) y n (%)

**Cuadro 2.** Características demográficas de los pacientes.

<b>Características</b>	<b>n= 97</b>
SAPS II	40 (12 – 97)
APACHE II	16 (5 – 47)
SOFA	8 (1 – 17)
NUTRIC	4 (1 – 8)
Motivo de ingreso	
Quirúrgico	23 (23.71)
No quirúrgico	74 (76.29)
Sitio de Ingreso	
Urgencias	54 (55.67)
Quirófano	15 (15.46)
Hospitalización	25 (25.77)
Otro	3 (3.09)
Diagnóstico de ingreso	
Cardiovascular	4 (4.17)
Respiratorio	28 (29.17)
Gastrointestinal	23 (23.96)
Neurológico	4 (4.17)
Sepsis	21 (21.88)
Trauma	2 (2.08)
Metabólico	2 (2.08)
Hematológico	3 (3.13)
Renal/Genitourinario	7 (7.29)
Otro	2 (2.08)
Sitio de infección	
Pulmonar	39 (41.05)
Gastrointestinal	26 (27.37)
Nefrourinario	17 (17.89)
SNC	3 (3.16)
Piel y tejidos blandos	3 (3.16)
Endocarditis	1 (1.05)
Gastrointestinal y nefrourinario	4 (4.21)
Pulmonar y SNC	1 (1.05)
Pulmonar y gastrointestinal	1 (1-05)
Tiempo aleatorización, h	18 (1 – 168)

SAPS II: Simplified Acute Physiology Score; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation. SOFA: sequential organ failure assessment. NUTRIC: Nutrition Risk in the Critical Ill; SNC: sistema nervioso central. Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo) y n (%).

**Cuadro 3.** Características demográficas de los pacientes.

<b>Características</b>	<b>n= 97</b>
Temperatura, °C	36.1 (34 – 39.8)
FC, lpm	84 (36 – 150)
PVC, mmHg	11 (-2 – 30)
TAM, mmHg	76 (41 – 104)
Menor cifra de TAM, mmHg	63 (40 – 91)
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> , mmHg	187 (39 – 560)
SaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	201 (79 – 457)
Lactato, mmol/L	2.2 (0 – 179)
Bilirrubinas, mg/dL	1 (0.17 – 13.6)
Creatinina, mg/dL	1.04 (0.4 – 6.68)
Hemoglobina, g/dL	11.4 (5.4 – 18.1)
Leucocitos, 10 <sup>3</sup> /μL	10.5 (0 – 49.8)
PCT, ng/dL	3.68 (0.06 – 320.7)
PCR, mg/dL	18.98 (0.02 – 47)
Plaquetas, 10 <sup>3</sup> /μL	183.5 (10 -543)
INR	1.19 (0.79 – 3.87)

FC: frecuencia cardiaca; PVC: presión venosa central; TAM: tensión arterial media; PaO<sub>2</sub>: presión alveolar de oxígeno; FiO<sub>2</sub>: fracción inspirada de oxígeno; SaO<sub>2</sub>: saturación periférica de oxígeno; PCT: procalcitonina; PCR: proteína c reactiva; INR: international normalized ratio; Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo)



**Cuadro 4.** Características demográficas de los pacientes previo al inicio del tratamiento.

<b>Características</b>	<b>n= 97</b>
Tratamiento esteroides	44 (45.36)
Inicio nutrición, h	15 (1 – 92)
Nutrición enteral	84 (88.42)
	n=95
Nutrición Parenteral	27 (28.42)
	n=95
Inotrópico	19 (19.79)
	n=96
<b>Tipo de inotrópico</b>	
Levosimendan	14 (14.58)
Dopamina	2 (2.08)
Dobutamina	1 (1.04)
	n=96
Vasopresores	97 (100)
<b>Tipo de vasopresor</b>	
Norepinefrina	48 (50)
Vasopresina	1 (1.04)
Norepinefrina + vasopresina	47 (48.96)
Antibiótico	97 (100)
Antifúngico	25 (26.04)
	n=96
TSR	9 (9.38)
	n=96
PG, ml	510 (0 – 4750)
Ventilación mecánica	63 (65.63)
	n=95
<b>Tipo de ventilación mecánica</b>	
Invasiva	47 (49.47)
No invasiva	12 (12.63)
	n=95

TSR: terapia de sustitución renal; PG: paquete globular; Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo) y n (%)

**Cuadro 5.** Características demográficas de los pacientes por grupo de tratamiento.

<b>Características</b>	<b>Vit C</b>	<b>Vit E</b>	<b>NAC</b>	<b>Melat</b>	<b>Control</b>	<b>p</b>
	n= 18	n=18	n=20	n=20	n=21	
Edad, años	62 (22 – 95)	65.5 (22 – 91)	67.5 (18 – 95)	62.5 (46 – 95)	76 (51 – 89)	0.10
Peso, kg	71 (33 – 112)	71.5 (40 – 120)	69.5 (39 – 95)	67 (50 – 106)	68 (50 – 105)	0.78
Talla	1.61 (1.5 – 1.8)	1.70 (1.5 – 1.84)	1.72 (1.43 – 1.97)	1.69 (1.43 – 1.83)	1.66 (1.5 – 1.8)	0.24
IMC, peso/talla <sup>2</sup>	25.4 (14.7 – 40.4)	25 (15.1 – 41.4)	22.45 (16.5 – 30.3)	25.35 (17.3 – 52)	25.4 (19.6 – 58)	0.21
Género						
Hombre <sup>§</sup>	6 (6.19)	12 (12.37)	11 (11.34)	10 (10.31)	10 (10.31)	0.37
Mujer <sup>§</sup>	12 (12.37)	6 (6.19)	9 (9.28)	10 (10.31)	11 (11.34)	
Diabetes Mellitus*	4 (4.12)	4 (4.12)	3 (3.09)	5 (5.15)	6 (6.19)	0.89
Hipertensión arterial <sup>§</sup>	6 (6.19)	8 (8.25)	9 (9.28)	7 (7.22)	11 (11.34)	0.73
EPOC*	1 (1.03)	4 (4.12)	2 (2.06)	1 (1.03)	0	0.14
Tabaquismo*	12 (12.37)	9 (9.28)	7 (7.22)	13 (13.40)	9 (.28)	0.21
Cáncer*	5 (5.15)	9 (9.28)	7 (7.22)	7 (7.22)	11 (11.34)	0.47
Cirrosis*	1 (1.03)	1 (1.03)	1 (1.03)	1 (1.03)	3 (3.09)	0.82
Enfermedad renal crónica*	1 (1.03)	2 (2.03)	4 (4.12)	3 (3.09)	2 (2.06)	0.75
Hipotiroidismo*	2 (2.06)	3 (3.09)	2 (2.06)	4 (4.12)	6 (6.19)	0.58
Enfermedad vascular cerebral*	2 (2.06)	0	1 (1.03)	2 (2.06)	2 (2.06)	0.74
Infarto al miocardio*	0	0	2 (2.06)	1 (1.03)	2 (2.06)	0.55
Fibrilación auricular*	2 (2.06)	2 (2.06)	2 (2.06)	3 (3.09)	4 (4.12)	0.93
Trastorno obsesivo compulsivo*	0	0	0	1 (1.03)	0	0.78
Trombosis venosa profunda*	0	0	0	0	1 (1.03)	1.00
Tromboembolia pulmonar*	0	0	0	0	1 (1.03)	1.00

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; IMC: índice de masa corporal; EPOC: enfermedad pulmonar obstructiva crónica; Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo) y n (%); Estadístico de prueba: Kruskal- Wallis, <sup>§</sup>prueba chi<sup>2</sup> y <sup>†</sup>prueba exacta de Fisher.

**Cuadro 6.** Características demográficas de los pacientes por grupo de tratamiento.

<b>Características</b>	<b>Vit C</b> n= 18	<b>Vit E</b> n=18	<b>NAC</b> n=20	<b>Melat</b> n=20	<b>Control</b> n=21	<b>p</b>
<b>Motivo de ingreso</b>						
Quirúrgico	6 (6.19)	2 (2.06)	4 (4.12)	2 (2.06)	9 (9.28)	0.07
No quirúrgico	12 (12.37)	16 (16.49)	16 (16.49)	18 (18.56)	12 (12.37)	
<b>Sitio de Ingreso</b>						
Urgencias	9 (9.28)	12 (13.37)	10 (10.31)	14 (14.43)	9 (9.28)	0.66
Quirófano	4 (4.12)	2 (2.06)	3 (3.09)	2 (2.06)	4 (4.12)	
Hospitalización	3 (3.09)	4 (4.12)	7 (7.22)	4 (4.12)	7 (7.22)	
Otro	2 (2.06)	0	0	0	1 (1.03)	
<b>Diagnóstico de ingreso</b>						
Cardiovascular						
Respiratorio	0 (0)	0	0	2 (2.08)	2 (2.08)	0.79
Gastrointestinal	6 (6.25)	6 (6.25)	7 (7.29)	4 (4.17)	5 (5.21)	
Neurológico	7 (7.29)	2 (2.06)	4 (4.17)	4 (4.17)	6 (6.25)	
Sepsis	0	1 (1.03)	1 (1.03)	1 (1.03)	1 (1.03)	
Trauma	4 (4.17)	3 (3.09)	3 (3.09)	6 (6.25)	5 (5.21)	
Metabólico	0	1 (1.03)	1 (1.03)	0	0	
Hematológico	0	1 (1.03)	0	0	1 (1.03)	
Renal/Genitourinario	0	1 (1.03)	0	1 (1.03)	1 (1.03)	
Otro	0	2 (2.06)	3 (3.09)	2 (2.06)	0	
	0	1 (1.03)	1 (1.03)	0	0	
	n=17					
<b>Sitio de infección</b>						
Pulmonar	7 (7.37)	9 (9.97)	9 (9.97)	8 (8.42)	6 (6.32)	0.39
Gastrointestinal	7 (7.37)	3 (3.16)	4 (4.21)	3 (3.16)	9 (9.97)	
Nefrourinario	2 (2.11)	2 (2.11)	5 (5.26)	5 (5.26)	3 (3.16)	
SNC	0	2 (2.11)	0	0	1 (1.05)	
Endocarditis	0	1 (1.05)	0	2 (2.11)	0	
Gastrointestinal y nefrourinario	0	0	0	0	1 (1.05)	
Pulmonar y SNC	1 (1.05)	0	0	0	0	
Pulmonar y gastrointestinal	0	0	1 (1.05)	0	0	
	n=17		N=19			

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; SNC: sistema nervioso central; Los valores se expresan como n (%); Estadístico de prueba: prueba exacta de Fisher.

**Cuadro 7.** Características demográficas de los pacientes por grupo de tratamiento previas a la aleatorización.

<b>Características</b>	<b>Vit C</b> n=18	<b>Vit E</b> n=18	<b>NAC</b> n=20	<b>Melat</b> n=20	<b>Control</b> n=21	<b>p</b>
Tiempo aleatorización, h	16.5 (1 – 55)	30.5 (1 – 94)	16 (1 – 168)	20 (1 – 76)	15 (2 – 162)	0.36
Temperatura, °C	36.3 (35.5 -38.1)	36 (35.3 - 39.8)	36.3 (34.4 - 38.6)	36.65 (34 - 39.1)	36 (34 - 38.1)	0.35
FC, lpm	83.5 (58 – 137)	85 (46 – 150)	83.5 (56 – 109)	86 (54 – 112)	79 (36 – 126)	0.94
PVC, mmHg	12 (3 – 16)	10 (-2 – 19)	12 (1 – 20)	9.5 (3 – 19)	13.5 (3 – 30)	0.24
TAM, mmHg	76 (50 – 95)	79.5 (55 – 97)	79 (50 – 97)	72 (53 – 98)	77 (41 -104)	0.40
Mínima TAM, mmHg	63 (40 – 77)	67.5 (45 – 76)	62.5 (40 – 70)	61 (40 – 79)	61 (41 – 91)	0.64
PaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub> , mmHg	168.5 (61 – 408)	215 (39 – 271)	146 (71 – 367)	197 (57 – 261)	197 (131 – 560)	0.66
SaO <sub>2</sub> /FiO <sub>2</sub>	211.5 (150 – 316)	151 (96 -320)	237 (79 – 457)	225 (88 – 326)	211.5 (96 - 383)	0.26
Lactato, mmol/L	1.65 (0 – 4.8)	2.1 (0.82 – 10.5)	1.74 (0.99 – 7.8)	2.27 (1 – 17)	2.52 (1.1 – 12.4)	0.12
Bilirrubinas, mg/dl	0.75 (0.23 – 3.5)	1.05 (0.35 – 4.4)	0.80 (0.2 – 4)	1.03 (0.17 – 3.7)	1.15 (0.2 – 13.6)	0.16
Creatinina, mg/dl	0.9 (0.5 – 5.5)	1.35 (0.4 – 3.8)	0.92 (0.5 – 6.6)	1.27 (0.57 – 6.6)	1.2 (0.5 – 5.2)	0.84
Hemoglobina, g/dL	11.9 (8.3 – 17.6)	10.9 (8 – 18.1)	10.75 (8 – 15.3)	10.85 (5.4 – 17.9)	12 (9.5 – 16.8)	0.31
Leucocitos, 10 <sup>3</sup> /μL	11 (5.1 – 39.9)	10.8 (0.4 - 25.4)	8.6 (0 – 32.5)	11.7 (5.2 – 29.6)	12 (0.9 – 49.8)	0.36
PCT, ng/dL	1.46 (0.16 – 321)	2.92 (0.08 – 109)	2.35 (0.06 – 95.5)	2.32 (0.22 – 138.7)	8.25 (0.08 100.4)	0.45
PCR, mg/dL	18.33 (1.9 – 41.4)	20.12 (0.5 – 47)	13.34 (0.02 – 46.7)	21.75 (1.35 – 36.7)	20.25 (1.36 – 45.3)	0.93
Plaquetas, 10 <sup>3</sup> /μL	256 (76 – 409)	158 (10 – 363)	155 (22 – 470)	187.5 (29 – 543)	225 (24 – 436)	0.08
INR	1.23 (0.79 – 1.6)	1.2 (0.89 – 2.3)	1.12 (0.83 – 2)	1.1 (0.85 – 3.8)	1.21 (0.91 – 3.6)	0.34

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; FC: frecuencia cardiaca; PVC: presión venosa central; TAM: tensión arterial media; PaO<sub>2</sub>: presión alveolar de oxígeno; FiO<sub>2</sub>: fracción inspirada de oxígeno; SaO<sub>2</sub>: saturación periférica de oxígeno; PCT: procalcitonina; PCR: proteína c reactiva; INR: international normalized ratio; Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis.

**Cuadro 8.** Características demográficas de los pacientes por grupo de tratamiento previas a la aleatorización.

<b>Características</b>	<b>Vit C</b> n= 18	<b>Vit E</b> n=18	<b>NAC</b> n=20	<b>Melat</b> n=20	<b>Control</b> n=21	<b>p</b>
Tratamiento esteroides	6 (6.19)	11 (11.34)	9 (9.28)	8 (8.25)	10 (10.31)	0.55
Nutrición enteral	15 (15.79)	16 (16.84)	17 (17.89)	18 (18.95)	18 (18.95)	0.91
Nutrición parenteral*	3 (3.16)	5 (5.26)	7 (7.37)	4 (4.21)	8 (8.42)	0.60
Inotrópico*	1 (1.04)	5 (5.21)	2 (2.08)	4 (4.17)	7 (7.29)	0.17
<b>Tipo de inotrópico</b>						
Dobutamina	0	0	0	0	1 (1.04)	0.08
Levosimendan*	0	5 (5.21)	1 (1.04)	3(3.13)	5 (5.21)	
Dopamina*	1 (1.04)	0	0	1 (1.04)	0	
<b>Tipo de vasopresor</b>						
Norepinefrina*	9 (9-38)	7 (7.29)	12 (12.50)	9 (9.38)	11 (11.46)	0.79
Vasopresina*	0	1 (1.04)	0	0	0	
Norepinefrina + vasopresina*	8 (8.33)	10 (10.42)	8 (8.33)	11 (11.46)	10 (10.42)	
Antifúngico*	4 (4.17)	5 (5.21)	5 (5.21)	4 (4.17)	7 (7.29)	0.92
TSR*	1 (1.04)	2 (2.08)	2 (2.08)	1 (1.04)	3 (3.13)	0.90
Ventilación mecánica*	11 (11.58)	9 (9.47)	14 (14.47)	12 (12.63)	16 (16.84)	0.45
<b>Tipo de ventilación mecánica</b>						
Invasiva*	10 (10.53)	7 (7.37)	10 (10.53)	8 (8.42)	12 (12.63)	0.77
No invasiva*	1 (1.05)	2 (2.11)	4 (4.21)	3 (3.16)	2 (2.11)	

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; TSR: terapia de sustitución renal; Estadístico de prueba:  $\chi^2$  y prueba exacta de Fisher\*.

**Cuadro 9.** Características demográficas de los pacientes por grupo de tratamiento.

Características	Vit C n= 18	Vit E n=18	NAC n=20	Melat n=20	Control n=21	p
SAPS II	38 (16 – 62)	40 (24 – 73)	38.5 (12 – 97)	41.5 (13 – 73)	40 (18 – 79)	0.94
APACHE II	13.5 (5 – 47)	19 (11 – 33)	14.5 (5 – 46)	17 (6 – 39)	15 (5 – 38)	0.33
SOFA	8.5 (3 – 16)	8.5 (5 – 14)	8.5 (1 – 17)	8 (3 – 14)	8 (1 – 16)	0.93
NUTRIC	4 (1 – 8)	5 (1 – 7)	4 (1 – 8)	4 (1 – 7)	5 (2 – 8)	0.16
Inicio nutrición, h	14 (1 – 56)	22 (1 – 98)	14 (1 – 66)	3 (1 – 76)	18 (1 – 88)	0.62
PG, mL	230	971	525 (250 – 750)	635 (0 – 4750)	166.65 (0 – 1750)	0.58
Terapia sustitución renal	1 (7.69)	2 (15.38)	2 (15.38)	3 (23.08)	5 (38.46)	0.53
Días TSR	0 (0 -1)	0 (0 – 33)	0 (0 – 21)	0 (0 - 7)	0 (0 – 32)	0.52
Días libres TSR a 28 días	28 (27 – 28)	28 (0 – 28)	28 (7 – 28)	28 (21 – 28)	28 (0 – 28)	0.52
Ventilación mecánica	12 (19.05)	10 (15.87)	14 (22.22)	12 (19.05)	15 (23.81)	0.72
Días ventilación	3 (0 -11)	2 (0 – 43)	3.5 (0 – 20)	2 (0 – 21)	2 (0 -28)	0.62
Días libres VM a 28 días	25 (17 – 28)	26 (0 – 28)	24.5 (8 – 28)	26 (7 – 28)	26 (0 – 28)	0.62
Días UCI	4 (1 – 22)	6 (1 – 57)	5 (2 -25)	6 (2 – 36)	6 (2 – 41)	0.95
Días libres UCI a 28 días	24 (6 – 27)	22 (0 – 27)	23 (3 – 26)	22 (0 – 26)	22 (0 - 26)	0.95
Días hospitalización	10 (2 – 55)	13 (4 – 62)	10 (5 – 50)	9.5 (4 – 43)	13.5 (2 – 65)	0.67
Días libres de hospitalización a 28 días	18 (0 – 26)	15 (0 – 24)	18 (0 – 23)	18.5 (0 – 24)	14.5 (0 – 26)	0.70
Muerte*	3 (3.16)	3 (3.16)	2 (2.11)	4 (4.21) n=19	5 (5.26) n=20	0.79

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; SAPS II: Simplified Acute Physiology Score; APACHE II: Acute Physiology and Chronic Health Evaluation; SOFA: sequential organ failure assessment; NUTRIC: Nutrition Risk in the Critical Ill; Los valores se expresan como mediana (mínimo y máximo) y n (%). Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis y prueba exacta de Fisher\*.

**Cuadro 10.** Intervención del estudio por tipo de terapia.

<b>Características</b>	<b>Vit C</b> n= 18	<b>Vit E</b> n=18	<b>NAC</b> n=20	<b>Melat</b> n=20	<b>Control</b> n=21	<b>p</b>
Tiempo de inicio del tratamiento, h	5 (1.5 – 70)	6 (1 – 17)	3 (1 – 140)	9 (3 – 48)	-	0.16
Tiempo de tratamiento, días	n=15 5 (2 – 5)	5 (3 – 5)	5 (4 – 5)	n=19 5 (4 - 5)	-	0.16
Dosis administrada, mg	n=15 20000 (6000 – 20000)	6000 (1200 – 6000)	12000 (9600- 12000)	n=19 250 (50 – 250)	-	
Apego al tratamiento, %	n=15 1 (0.3 – 1)	1 (0.6 – 1)	1 (0.8 – 1)	1 (0.8 – 1)	-	0.36

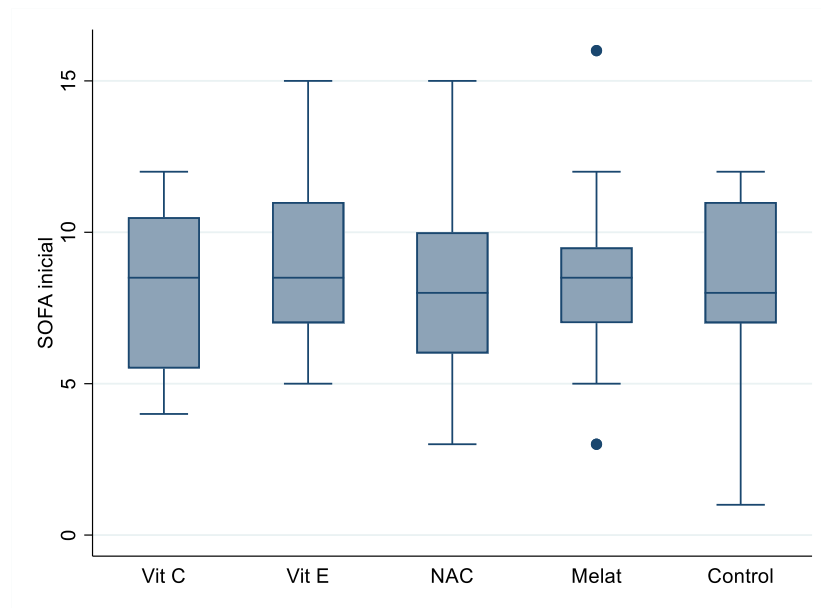
Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis.

**Cuadro 11.** Comparativo de los puntajes de SOFA entre los grupos de tratamiento.

<b>SOFA</b>	<b>Vit C</b> n=18	<b>Vit E</b> n=18	<b>NAC</b> n=20	<b>Melat</b> n=20	<b>Control</b> n=21	<b>p</b>
Día 0	8 ± 2.68	8.77 ± 2.75	8.25 ± 2.95	8.45 ± 2.94	8.42 ± 2.73	0.99
Día 1	6.93 ± 3.01	8.83 ± 2.72	7.85 ± 2.88	7.84 ± 2.81	8.8 ± 2.72	0.26
Día 2	6.46 ± 5.87	7.70 ± 3.11	7.3 ± 3.16	6.63 ± 2.98	7.29 ± 3.31	0.86
Día 3	4.07 ± 2.78	6.41 ± 3.75	6.6 ± 3.43	5.21 ± 2.91	7.26 ± 3.78	0.09
Día 4	3.30 ± 2.39	5.93 ± 3.64	5.36 ± 3.72	4.57 ± 3.73	6 ± 3.53	0.22
Día 5	3.16 ± 1.94	5.8 ± 3.78	5.35 ± 4.19	3.73 ± 2.78	5.84 ± 2.33	0.10

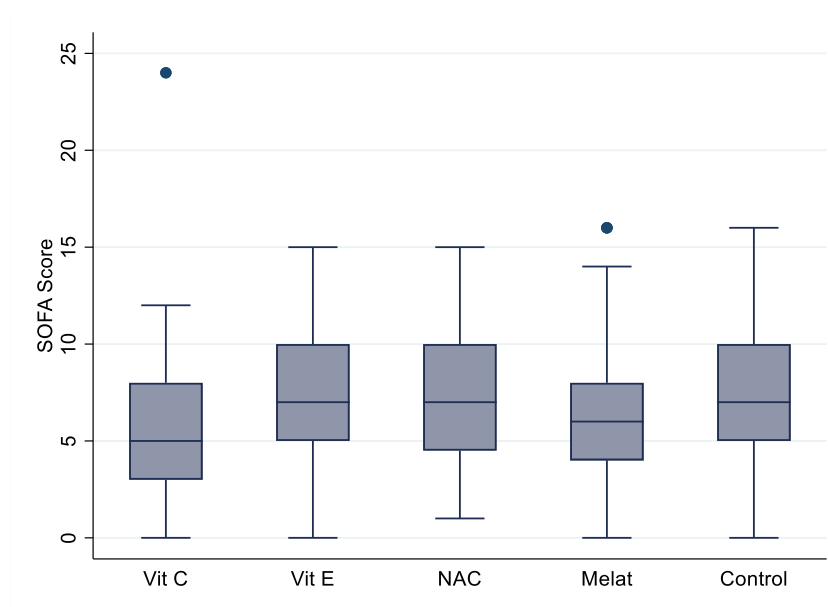
Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; SOFA: sequential organ failure assessment; Los valores se expresan como la media ± desviación estándar; Estadístico de prueba: ANOVA de una vía.

**Gráfico 2.** Gráfico de los puntajes de SOFA de los diferentes grupos de tratamiento antes del inicio de la terapia antioxidante



SOFA: sequential organ failure assessment; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina.

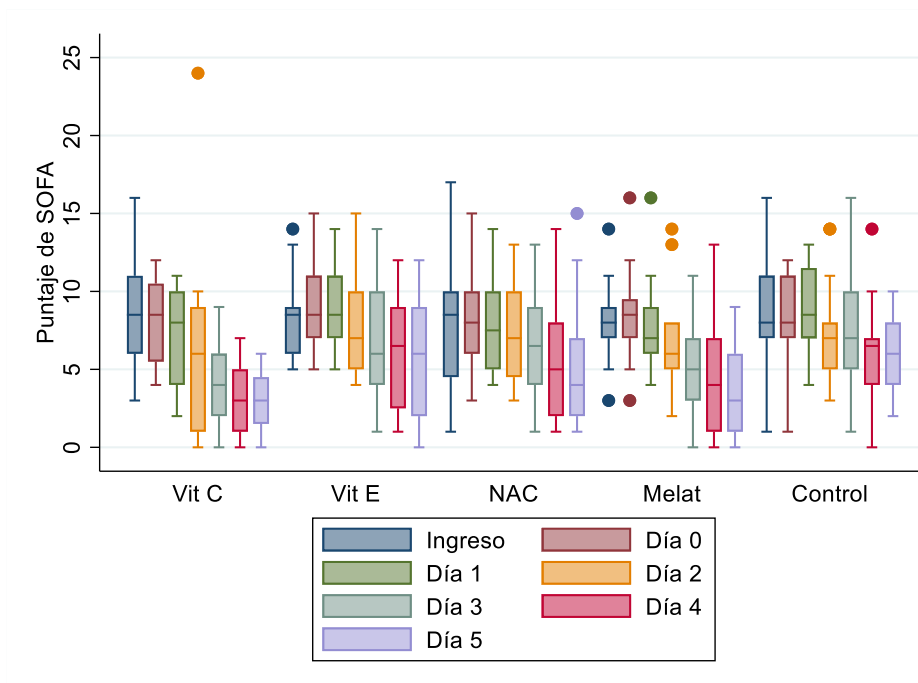
**Gráfico 3.** Gráfico de los puntajes de SOFA acumulados de los diferentes grupos de tratamiento



SOFA: sequential organ failure assessment; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina;

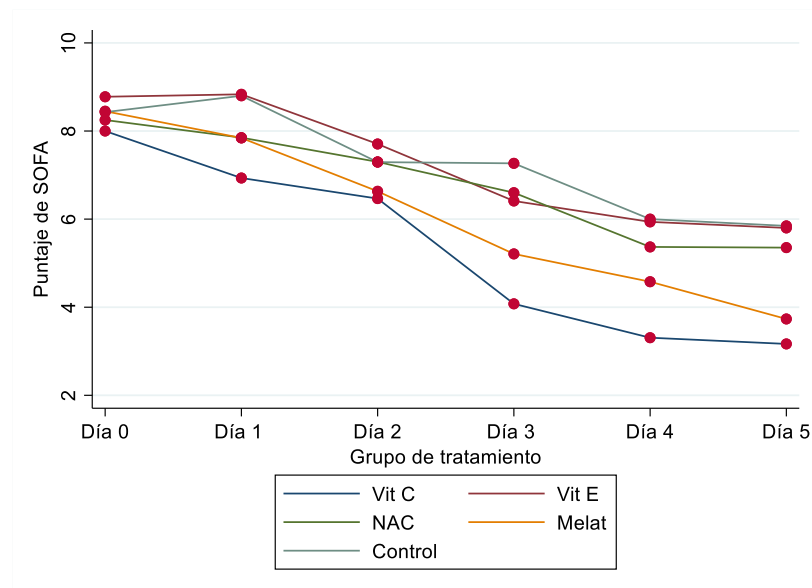


**Gráfico 4.** Puntajes de SOFA de los diferentes grupos de tratamiento por día



SOFA: sequential organ failure assessment; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina.

**Gráfico 5.** Puntaje de SOFA por grupo de tratamiento a través del tiempo



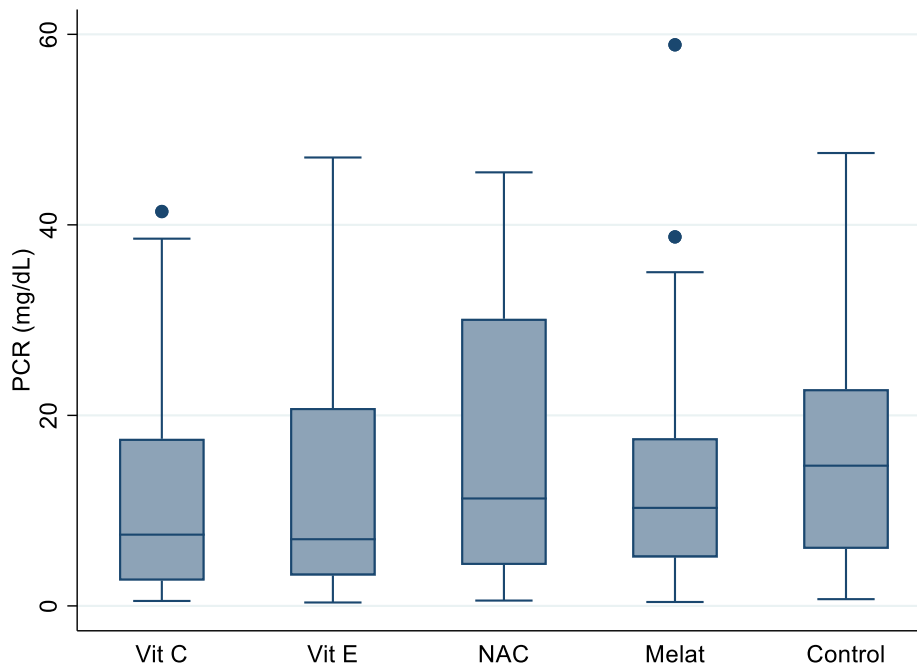
SOFA: sequential organ failure assessment; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; Modelo de aproximación marginal tomando como base al grupo control: Melat -1.27 (-2.21 a -0.34;  $p=0.007$ ); Vit C -1.94 (-2.95 a -0.94;  $p<0.001$ ).

**Cuadro 12.** Comparativo de los niveles de PCR entre los grupos de tratamiento.

PCR	Vit C n=18	Vit E n=18	NAC n=20	Melat n=18	Control n=21	p
Día 0	18.33 (1.94 – 41.4)	20.12 (0.55 – 47)	13.34 (0.02 – 46.7)	21.75 (1.35 – 36.7)	20.25 (1.36 – 45.38)	0.93
Día 1	15.69 (2.18 – 41.4) n=16	20.77 (4.14 – 47.07) n=15	18.33 (0.98 – 42.3) n=18	21.37 (4.04 – 58.9) n=17	19.73 (1.36 – 45.38) n=18	0.85
Día 2	11.89 (2.87 – 38.5) n=13	8.7 (4.25 – 44.01) n=13	12.42 (0.56 – 43-76) n=18	16.82 (3.81 – 32) n=18	23.03 (3.01 – 46.38) n=15	0.43
Día 3	7.41 (2.66 – 26.74) n=11	7 (2.07 – 33.25) n=13	10.29 (2.13 – 45.51) n=14	10.8 (2.91 – 23.32) n=12	17.25 (1.86 – 32.54) n=16	0.42
Día 4	5.57 (1.67 – 31.38) n=9	4.62 (1.13 – 27.92) n=14	11.16 (1.6 – 4.22) n=15	9.66 (1.41 – 13.78) n=10	10.66 (1.35 – 28.37) n=15	0.25
Día 5	2.50 (0.82 – 11.93) n=12	2.3 (0.71 26.36) n=9	9.91 (1.09 – 34.32) n=8	7.18 (0.9 – 13.37) n=10	6.67 (0.71 – 27.23) n=11	0.17

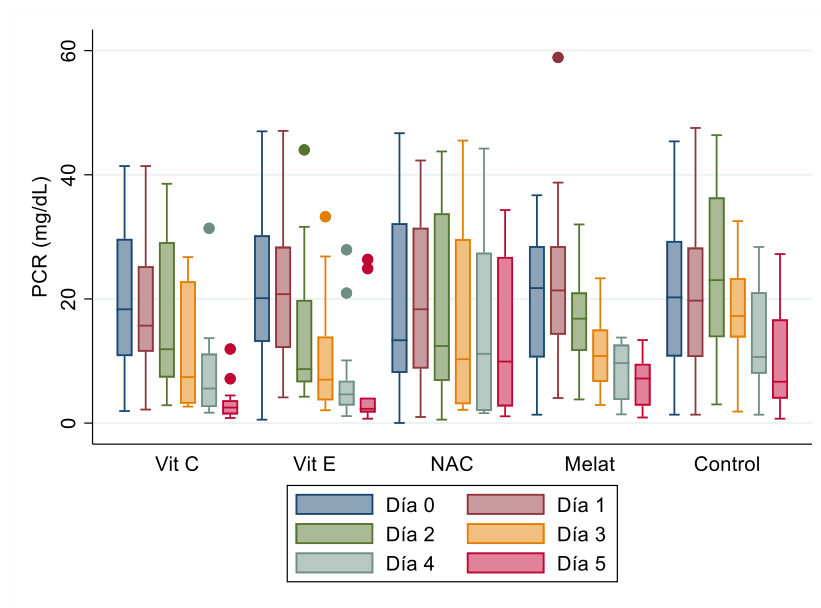
PCR: proteína c reactiva; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo); Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis.

**Gráfico 6.** Gráfico de los niveles de PCR acumulado de los diferentes grupos de tratamiento



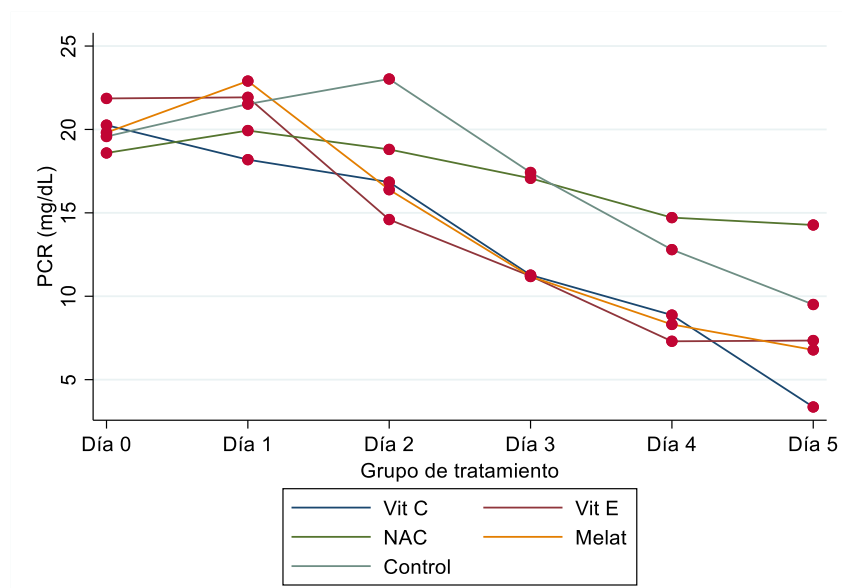
PCR: proteína c reactiva; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina.

**Gráfico 7.** Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de PCR por grupo de tratamiento a través del tiempo



PCR: proteína c reactiva; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina.

**Gráfico 8.** Gráfico de los niveles de PCR por grupo de tratamiento a través del tiempo



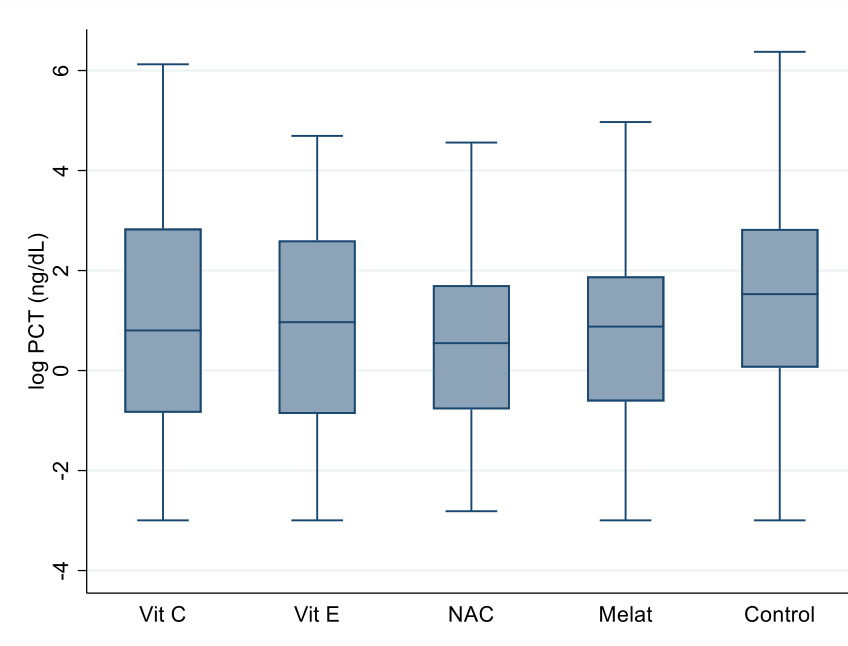
PCR: proteína c reactiva; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina. Modelo de aproximación marginal tomando como base al grupo control: Vit C -3.82 (-7.49 a -0.15;  $p < 0.041$ ).

**Cuadro 13.** Comparativo de los niveles de PCT entre los grupos de tratamiento.

PCT	Vit C n=17	Vit E n=18	NAC n=20	Melat n=18	Control n=21	p
Día 0	1.46 (0.16 – 320.7)	2.92 (0.08 – 109)	2.35 (0.06 – 95.5)	2.32 (0.22 – 138.77)	8.25 (0.08 – 100.41)	0.45
Día 1	1.62 (0.11 – 309.8) n=14	14.12 (0.33 – 109.18) n=12	3.29 (0.08 – 74) n=16	6.04 (0.54 – 138.77) n=17	9.54 (0.12 – 586.51) n=16	0.66
Día 2	3.42 (0.43 – 246) n=13	15.34 (0.14 – 77) n=11	1.94 (0.17 – 54.32) n=15	4.28 (0.18 – 126) n=17	6.94 (0.78 – 440.96) n=10	0.40
Día 3	5.73 (0.24 – 111.5) n=5	6.23 (0.44 – 35.34) n=6	1.46 (0.09 – 43.65) n=13	2.75 (0.31 -136.48) n=9	8.2 (0.65 – 319.74) n=11	0.26
Día 4	0.42 (0.18 – 42.12) n=9	1.82 (0.05 – 14.47) n=11	0.88 (0.1 – 23.47) n=15	0.35 (0.17 – 46.42) n=8	4.77 (0.4 – 138.3) n=9	0.25
Día 5	0.56 (0.05 – 18.16) n=9	2.24 (0.05 -7.93) n=10	0.72 (0.15 – 8.81) n=7	1.23 (0.17 – 33) n=6	2.18 (0.22 – 52.86) n=10	0.61

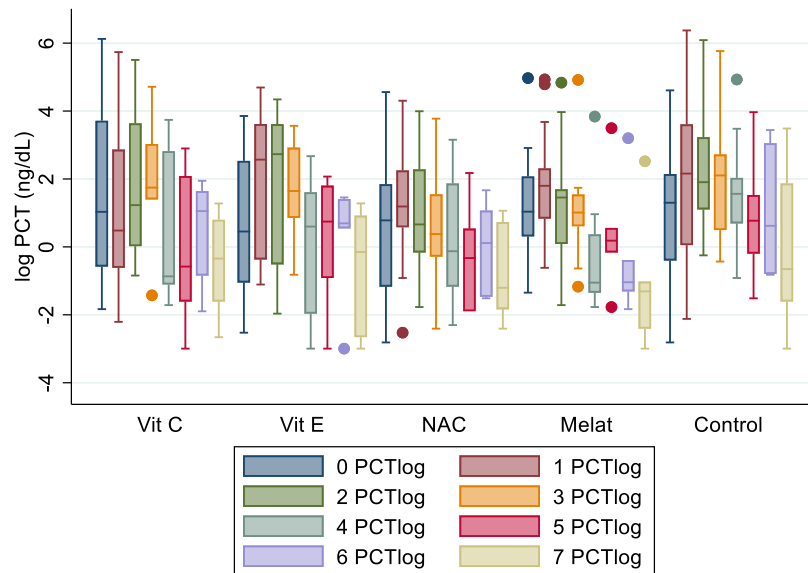
PCT: procalcitonina; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; med: mediana; min: mínimo; max: máximo. Estadístico de prueba: Kruskal-Wallis.

**Gráfico 9.** Gráfico de los niveles de PCT (log) acumulado de los diferentes grupos de tratamiento



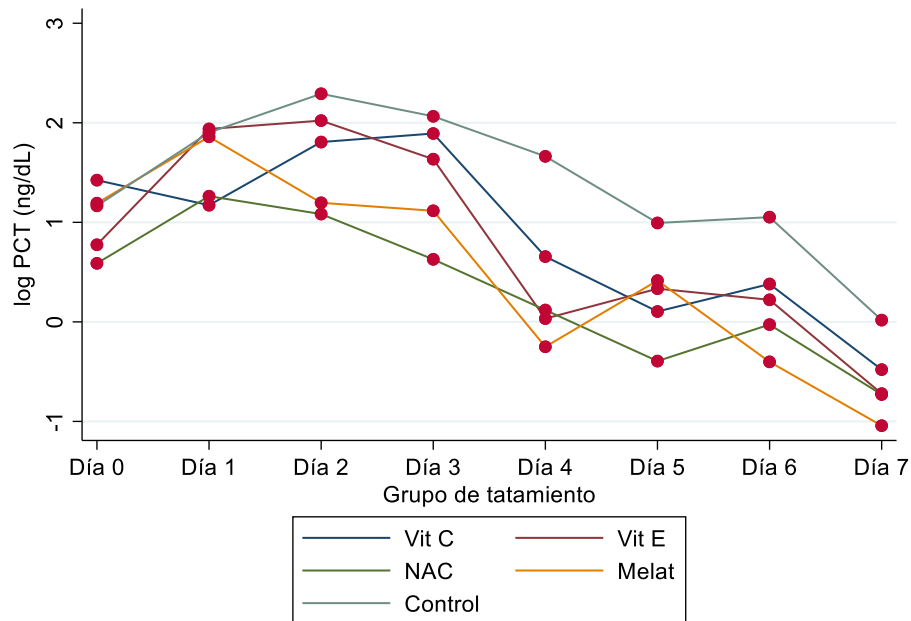
PCT: procalcitonina; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina.

**Gráfico 10.** Gráfico de los niveles de PCT (log) de los diferentes grupos de tratamiento por día



PCT: procalcitonina; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina.

**Gráfico 11.** Gráfico de los niveles de PCT (log) por grupo de tratamiento a través del tiempo

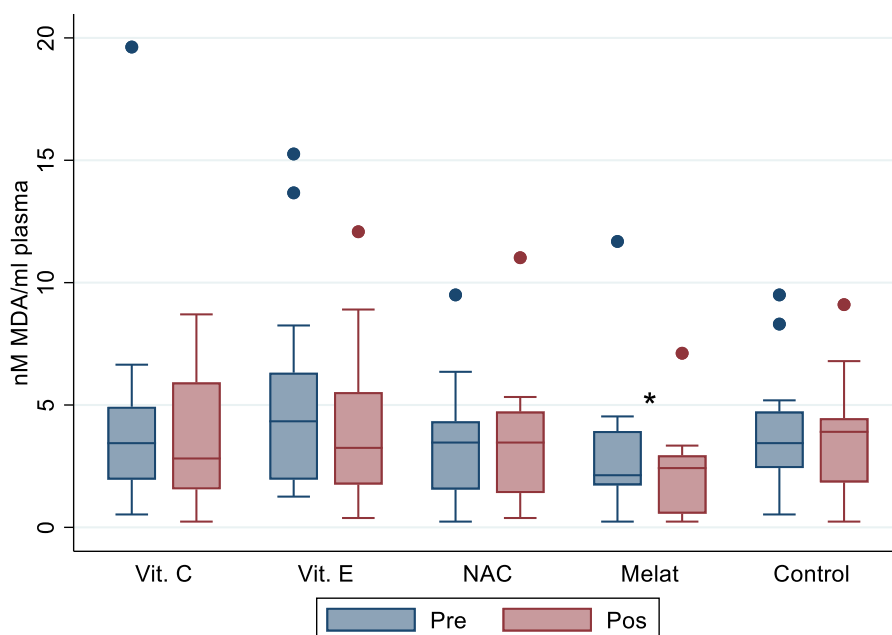


PCT: procalcitonina; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina. Modelo de aproximación marginal tomando como base al grupo control: Vit E -0.59 (-1.18 a -0.006;  $p < 0.047$ ); NAC -0.92 (-1.48 a -0.35;  $p = 0.001$ ); Melat -0.57 (-1.15 a 0.006;  $p = 0.05$ ).

## Resultados de laboratorio

### LPO

**Gráfico 12.** Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de LPO antes y después de la terapia antioxidante por grupo de tratamiento.



Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. MDA: malondialdehído. Vit. C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. \* $p = 0.042$ .

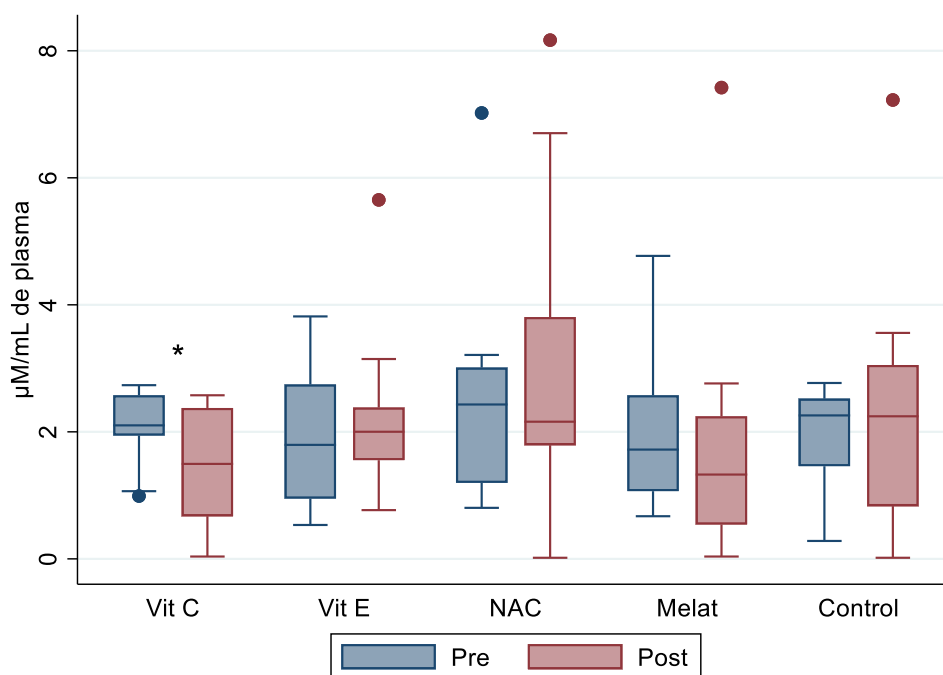
**Cuadro 14.** Niveles de LPO por grupo de tratamiento antes y después de la terapia con antioxidantes.

Grupo	LPO Pre	LPO Post	$p$
Vit C (N=14)	3.44 (0.52 – 19.62)	2.81 (0.23 – 8.70)	0.140
Vit E (N=15)	4.33 (1.25 – 15.25)	3.24 (0.38 – 12.07)	0.172
NAC (N=15)	3.46 (0.23 – 9.49)	3.46 (0.38 – 11.01)	0.776
Melat (N=13)	2.13 (0.23 – 11.68)	2.42 (0.23 – 7.11)	<b>0.042</b>
Control (N=13)	3.44 (0.52 – 9.49)	3.90 (0.23 – 9.10)	0.753

LPO: lipoperoxidación. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Melat: melatonina. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en mediana (mínimo-máximo) nM MDA/ml plasma.

## NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NO<sub>2</sub><sup>-</sup>

**Gráfico 13.** Niveles de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NO<sub>2</sub><sup>-</sup> por grupo de tratamiento antes y después de la terapia con antioxidantes.



Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. MDA: malondialdehído. Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. \* $p = 0.004$ .

**Cuadro 15.** Niveles de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NO<sub>2</sub><sup>-</sup> por grupo de tratamiento antes y después de la terapia con antioxidantes.

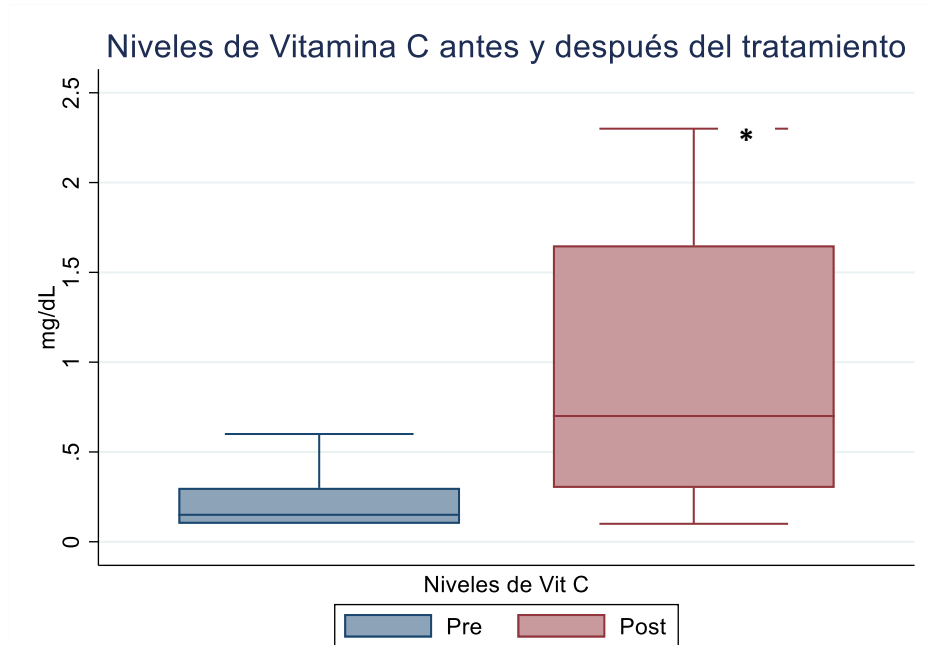
Grupo	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> y NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> pre	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> y NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> post	<i>p</i>
Vit C (N=15)	2.10 (0.98 – 2.73)	1.49 (0.03 – 2.57)	<b>0.004</b>
Vit E (N=16)	1.79 (0.53 - 3.81)	2.00 (0.76 - 5.65)	0.365
NAC (N=12)	2.43 (0.80 - 7.02)	2.15 (0.01 - 8.16)	0.813
Melat (N=15)	1.72 (0.67 - 4.77)	1.32 (0.03 - 7.42)	0.191
Control (N=13)	2.25 (0.28 - 2.76)	2.24 (0.01 - 7.22)	0.972

NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : nitratos. NO<sub>2</sub><sup>-</sup> : nitritos. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Melat: melatonina. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en mediana (mínimo – máximo) μM/mL de plasma.

## Vit C

La media de Vit C en previa al tratamiento de todos los pacientes incluidos fue de  $0.21 \pm 0.15$   $\mu\text{M}/\text{mL}$  y posterior al tratamiento sorteado de  $0.92 \pm 0.83$   $\mu\text{M}/\text{mL}$ .

**Gráfico 14.**



Vit C: vitamina C. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. \*p = 0.004.

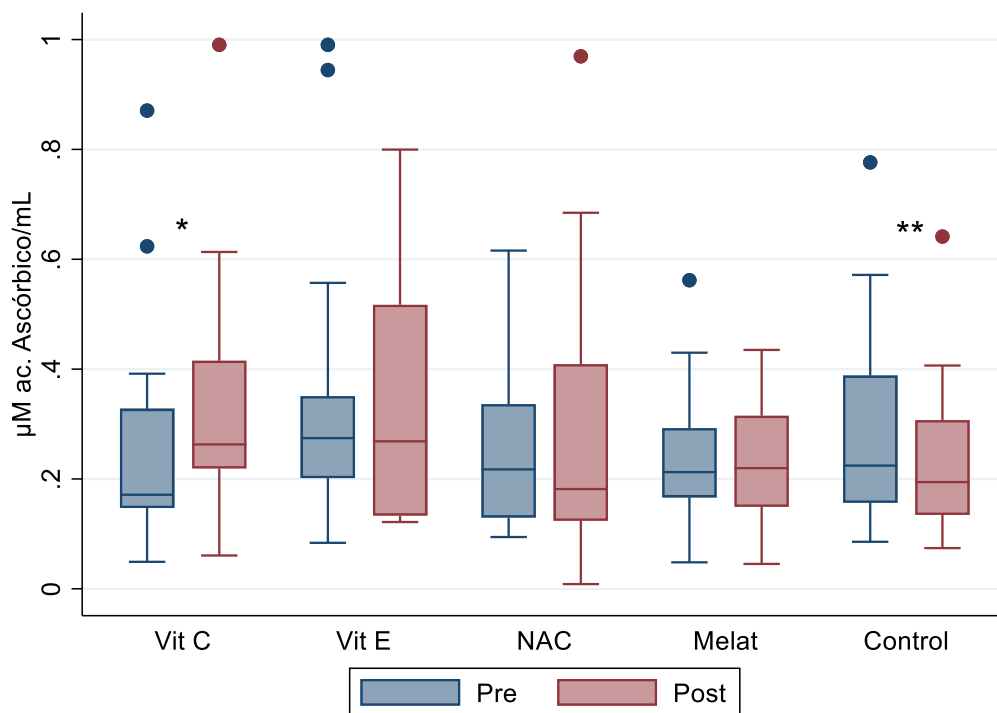
**Cuadro 16.** Niveles de Vit C antes y después del tratamiento.

Niveles	Pre	Post	p
Vit C (n=17)	0.15 (0.1 - 0.6)	0.7 (0.1 - 2.3)	0.004

Vit C: vitamina C. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en mediana (mínimo – máximo) mg/dL.



**Gráfico 15.** Niveles de Vitamina C por grupo de tratamiento antioxidante antes y después de la terapia.



Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. \*p = 0.002. \*\* p = 0.024.

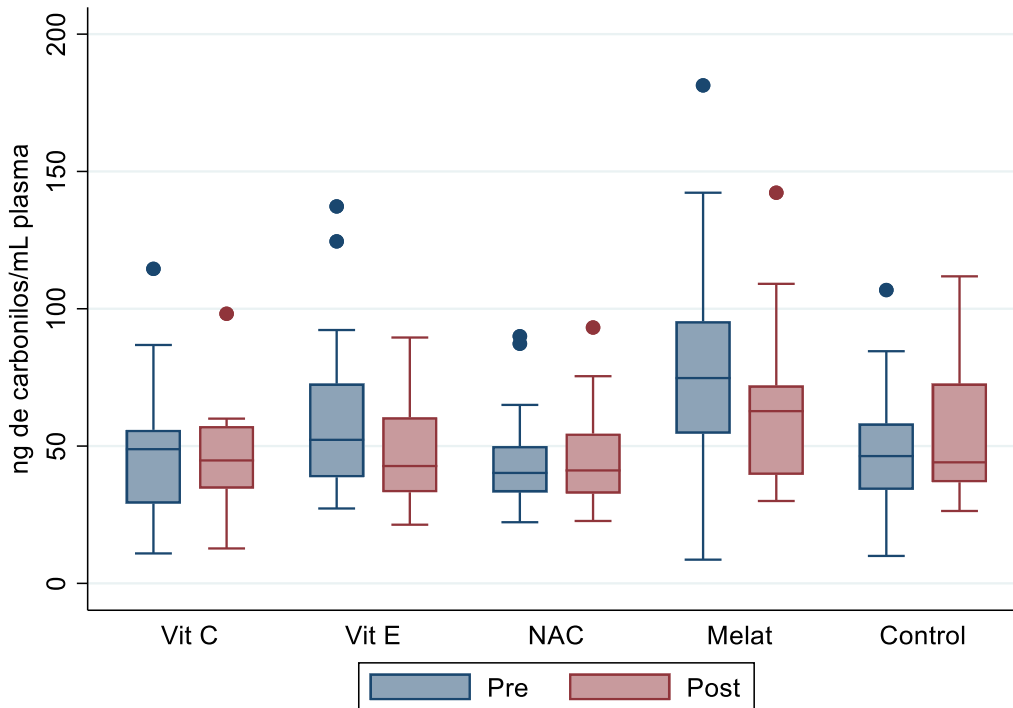
**Cuadro 17.** Niveles de Vit C por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.

Grupo	Vit C pre	Vit C post	p
Vit C (n=17)	0.17 (0.04 - 0.87)	0.27 (0.06 - .99)	<b>&lt;0.01</b>
Vit E (n=16)	0.27 (0.08 - 0.99)	0.26 (0.12 - 0.79)	0.58
NAC (n=15)	0.21 (0.09 - 0.61)	0.18 (0.00 - 0.96)	1.00
Melat (n=17)	0.21 (0.04 - 0.56)	0.21 (0.04 - 0.43)	0.83
Control (n=17)	0.22 (0.08 - 0.77)	0.19 (0.07 - 0.64)	<b>0.02</b>

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Melat: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo) µM/mL plasma.

## Carbonilación

**Gráfico 16.** Niveles de carbonilos por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento.

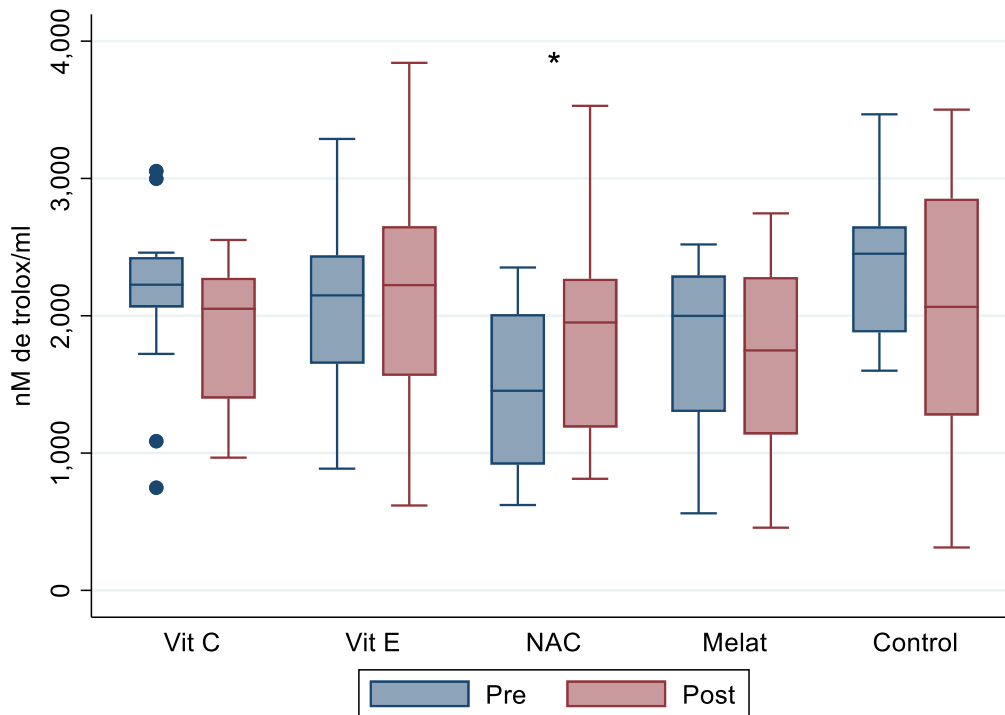
**Cuadro 18.** Niveles de carbonilos por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.

Grupo	Carbonilación pre	Carbonilación post	<i>p</i>
Vit C (n=14)	48.85 (10.90 - 114.53)	44.76 (12.72 - 98.17)	0.59
Vit E (n=15)	52.26 (27.27 - 137.25)	42.723 (21.36 - 89.53)	<b>0.07</b>
NAC (n=14)	40.22 (22.27 - 89.99)	41.13 (22.72 - 93.17)	0.47
Melat (n=17)	74.76 (8.63 - 181.34)	62.721 (29.99 - 142.25)	0.40
Control (n=17)	46.359 (9.99 - 106.80)	44.08 (26.36 - 111.80)	0.28

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Melat: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en mediana (mínimo – máximo) ng/mL plasma.

## Capacidad antioxidante total

**Gráfico 17.** Niveles de capacidad antioxidante total por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. \*p = 0.05.

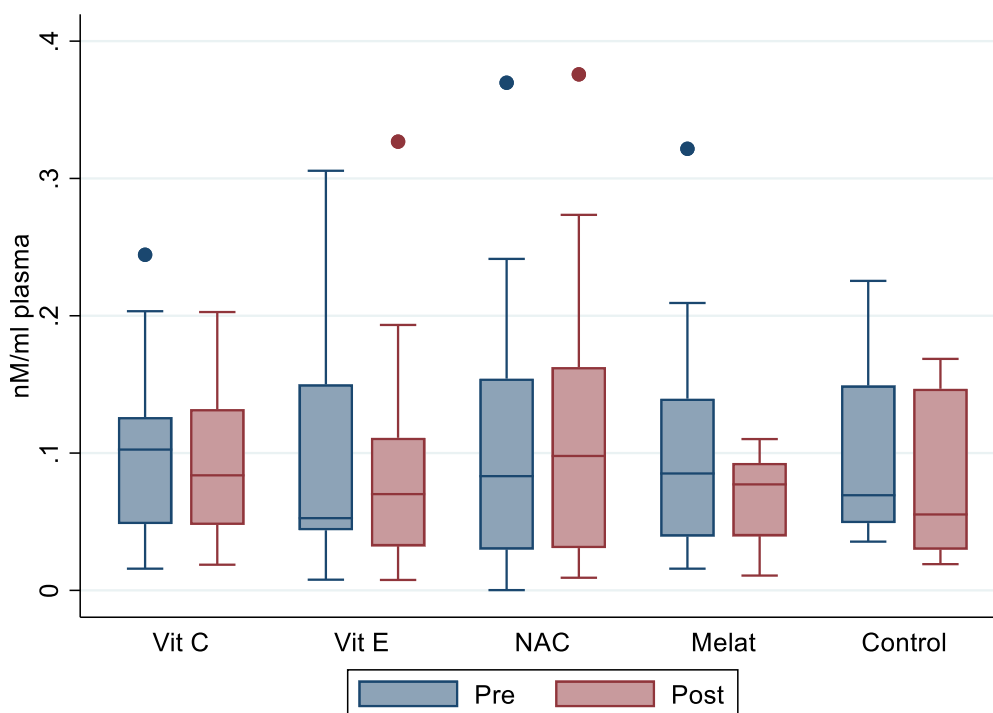
**Cuadro 19.** Capacidad antioxidante total por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.

Grupo	Cap. antioxidante total pre	Cap. antioxidante total post	p
Vit C (n=15)	2226.2 (747.6 - 3053.4)	2050.9 (966.6 - 2551.8)	0.11
Vit E (n=15)	2148.4 (886.3 - 3287.6)	2223.1 (618.3 - 3841.9)	0.90
NAC (n=13)	1453.6 (621.5 - 2351.4) *	1951 (812.6 - 3528.7)	<b>0.05</b>
Melat (n=14)	1999 (561.3 - 2519.2)	1747.5 (456.5 - 2745.6)	0.59
Control (n=15)	2451.6 (1600 - 3467.1)	2064.7 (312.4 - 3501)	0.42

Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Melat: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en mediana (mínimo – máximo) nM/ml plasma. \*p = 0.005 (prueba de Kruskal Wallis).

## GSH

**Gráfico 18.** Gráfico de cajas y bigotes de los niveles de GSH por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.



Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento.

**Cuadro 20.** Niveles de GSH por grupo de tratamiento antes y después de la terapia antioxidante.

Grupo	GSH pre	GSH post	<i>p</i>
Vit C (n=14)	0.10 (0.01 - 0.24)	0.08 (0.01 - 0.20)	0.50
Vit E (n=13)	0.05 (0.00 - 0.30)	0.07 (0.00 - 0.32)	0.38
NAC (n=16)	0.08 (0.00 - 0.54)	0.10 (0.009 - 0.57)	0.14
Melat (n=15)	0.07 (0.00 - 0.32)	0.07 (0.010 - 0.51)	0.64
Control (n=15)	0.06 (0.03 - 0.20)	0.05 (0.01 - 0.16)	0.15

GSH: glutati3n. Vit C: vitamina C. Vit E: vitamina E. NAC: n-acetilcisteína. Melat: melatonina. Pre: antes del tratamiento. Post: después del tratamiento. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan en nM/ml plasma.

**Cuadro 21.** Niveles de LPO por grupo de tratamiento estratificado por sitio de infección antes y después de la terapia antioxidante.

Sitio de infección	Vit C			Vit E			NAC			Melat			Control		
	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p
<b>Pulmonar</b>	3.1 (0.9- 6.6) n = 6	2.2 (0.3- 7.2) n= 6	0.75	4.3 (1.2- 8.2) n = 7	2.9 (0.7- 5.9) n = 7	0.23	2.7 (0.2- 9.4) n = 7	2.1 (0.3- 3.9) n = 7	0.09	1.4 (0.2- 3.9) n= 6	1.1 (0.2- 2.5) n= 6	<b>0.03</b>	2.7 (1.6- 4.5) n = 3	1.8 (1.1- 3.3) n = 3	0.28
<b>GI</b>	3.9 (2.3- 19.6) n = 5	4.7 (1.7- 8.7) n = 5	0.34	3.3 (2.3- 15.2) n = 3	3.6 (3.1- 5.5) n = 3	1.00	4.3 (4.3- 4.3) n = 2	4.7 (4.7- 4.7) n = 2	0.17	3.1 (1.8- 4.5) n = 2	2.6 (2.4- 2.9) n = 2	0.65	4.5 (0.5 - 8.3) n = 6	3.9 (0.2- 6.7) n = 6	0.75
<b>NU</b>	0.8 (0.5- 1.25) n = 2	0.2 (0.2- 0.2) n = 2	0.17	9.6 (5.7- 13.6) n = 2	10.4 (8.9- 12.0) n = 2	0.65	3.4 (0.2- 3.5) n = 5	3.8 (0.3- 5.3) n = 5	0.345	2.1 (1.7 - 11.6) n = 3	3.24 (0.5 - 7.1) n = 3	0.28	2.9 (2.4 - 3.4) n = 2	4.4 (4.4- 4.4) n = 2	0.17
<b>SNC</b>				2.2 (1.4- 3.1) n = 2	1.8 (0.3- 3.2) n = 2	0.65							9.4 (9.4 - 9.4) n = 1	9.1 (9.1- 9.1) n = 1	0.31
<b>PTB</b>				6.3 (6.3- 6.3) n = 1	4.5 (4.5- 4.5) n = 1	0.31				3.9 (3.9- 3.9) n = 1	3.3 (3.3- 3.3) n = 1	0.31			
<b>Endocarditis</b>													3.2 (3.2- 3.2) n = 1	3.3 (3.3- 3.3) n = 1	0.31
<b>≥2 sitios</b>	3.5 (3.5- 3.5) n = 1	2.9 (2.9- 2.9) n = 1	0.31				2.9 (2.9- 2.9) n = 1	5.3 (5.3- 5.3) n = 1	0.317	1.7 (1.7- 1.7) n = 1	0.5 (0.5 - 0.5) n = 1	0.31			

LPO: lipoperoxidación; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; GI: gastrointestinal; UN: nefrouinario; SNC: sistema nervioso central; PTB: piel y tejidos blandos. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo).

**Cuadro 22.** Niveles de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NO<sub>2</sub><sup>-</sup> por grupo de tratamiento estratificado por sitio de infección.

Sitio de infección	Vit C			Vit E			NAC			Melat			Control		
	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p
<b>Pulmonar</b>	2.3 (0.9 – 2.7) n=6	1.3 (0.6 – 2.5) n=6	<b>0.02</b>	1.6 (0.8 – 3.8) n=8	1.9 (1.1 – 5.6) n=8	0.16	2.3 (0.8 – 3.2) n=7	2.4 (0.0 – 8.1) n=7	0.31	1.7 (0.6 – 4.7) n=7	1.3 (0.0– 7.4) n=7	0.39	2.2 (1.9 – 2.5) n=2	2.8 (2.7 – 3) n=2	0.17
<b>GI</b>	2 (1.8 – 2.7) n=6	1.8 (0– 2.4) n=6	0.39	2.7 (1.0 – 2.9) n=3	2 (1.4– 2.2) n=3	0.28	7 (7– 7) n=1	6.7 (6.7– 6.7) n=1	0.31	2.7 (2.4– 3.1) n=2	1.3 (0.1– 2.5) n=2	0.17	1.9 (0.2– 2.7) n=8	1.1 (0– 3.5) n=8	0.40
<b>UN</b>	1 (1–1) n=1	0.1 (0.1– 0.1) n=1	0.31	0.8 (0.8– 0.8) n=1	0.7 (0.7– 0.7) n=1	0.31	2.4 (1.3 – 3.1) n=2	1.9 (1.7 – 2.1) n=2	0.65	2 (1.4– 2.5) n=3	1.9 (0.9– 2.7) n=3	1.00	1 (1– 1) n=1	0.4 (0.4– 0.4) n=1	0.31
<b>SNC</b>				2.14 (1.6– 2.6) n=2	2.09 (1.9– 2.2) n=2	0.65							2.7 (2.7– 2.7) n=1	2.2 (2.2 – 2.2) n=1	0.31
<b>PTB</b>				2.6 (2.6– 2.6) n=1	2.6 (2.6– 2.6) n=1	0.31				1 (1– 1) n=1	0.8 (0.8– 0.8) n=1	0.31			
<b>Endocarditis</b>															
<b>≥2 sitios</b>	2.2 (2.2– 2.2) n=1	1.1 (1.1– 1.1) n=1	0.31	0.5 (0.5 – 0.5) n=1	1.6(1.6– 1.6) n=1	0.31	2.7 (2.7– 2.7) n=1	2.1 (2.1– 2.1) n=1	0.31	0.9 (0.8– 1.1) n=2	0.9 (0.1– 1.6) n=2	0.65	2.3 (2.3– 2.3) n=1	7.2 (7.2– 7.2) n=1	0.31

NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NO<sub>2</sub><sup>-</sup> : Nitratos y nitritos; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; GI: gastrointestinal; NU: nefrouinario; SNC: sistema nervioso central; PTB: piel y tejidos blandos. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo).

**Cuadro 23.** Niveles de carbonilos por grupo de tratamiento estratificado por sitio de infección.

Sitio de infección	Vit C			Vit E			NAC			Melat			Control		
	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p
<b>Pulmonar</b>	52.9 (10.9–114.5) n=6	47.4 (34.5–59.9) n=6	0.91	49 (27.2–92.2) n=7	43.1 (21.3–89.5) n=7	0.55	36.3 (22.2–89.9) n=7	39.9 (26.3–75.4) n=7	0.49	71.8 (13.1–181.3) n=7	65.4 (33.6–109) n=7	0.73	64.7 (34.9–106.8) n=6	39 (33.1–94) n=6	0.24
<b>GI</b>	46.1 (30.4–80) n=4	44.7 (12.7–98.1) n=4	1.00	63.1 (53.6–72.7) n=2	45.2 (29.9–60.4) n=2	0.17	62.4 (37.7–87.2) n=2	69.5 (45.9–93.1) n=2	0.17	68.4 (58.6–78.1) n=2	70.2 (60.4–79.9) n=2	0.17	37.7 (18.1–81.8) n=9	39.9 (26.3–87.2) n=9	0.31
<b>UN</b>	40.4 (29–51.8) n=2	45.9 (34.5–57.2) n=2	0.17	130.8 (124.5–137.2) n=2	33.4 (29.9–36.8) n=2	0.17	42.7 (27.7–49.5) n=3	33.6 (32.7–54.5) n=3	1.00	90.9 (8.6–142.2) n=3	39 (37.7–64.9) n=3	0.59	23.1 (9.9–36.3) n=2	53.1 (44–62.2) n=2	0.17
<b>SNC</b>				47.9 (38.6–57.2) n=2	40.2 (36.8–43.6) n=2	0.17	47.7 (47.7–47.7) n=1	111.8 (111.8–111.8) n=1	0.31						
<b>PTB</b>				38.6 (38.6–38.6) n=1	38.6 (38.6–38.6) n=1	0				55.4 (53.6–57.2) n=2	86.1 (29.9–142.2) n=2	0.31			
<b>Endocarditis</b>													46.3 (46.3–46.3)	53.1 (53.1–53.1)	0.31
<b>≥2 sitios</b>	15.9 n=1	25.4 n=1	0.31	57.7 n=1	64.9 n=1	0.31	37.2 n=1	52.2 n=1	0.31	109.5 (77.7–141.3) n=2	61.3 (55.4–67.2) n=2	0.17			

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; GI: gastrointestinal; NU: nefrouinario; SNC: sistema nervioso central; PTB: piel y tejidos blandos. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo).

**Cuadro 24.** Niveles de GSH por grupo de tratamiento estratificado por sitio de infección.

Sitio de infección	Vit C			Vit E			NAC			Melat			Control		
	pre	post	p	pre	post	p	pre	post	p	pre	post	p	pre	post	p
<b>Pulmonar</b>	0.07 (0.02– 0.24) n=6	0.07 (0.01– 0.19) n=6	0.11	0.04 (0.04 – 0.18) n=5	0.06 (0.01– 0.24) n=5	0.68	0.06 (0.01– 0.24) n=8	0.07 (0.01– 0.13) n=8	0.20	0.07 (0.01– 0.13) n=5	0.03 (0.01– 0.09) n=5	0.50	0.05 (0.03– 0.07) n=5	0.02 (0.01– 0.05) n=5	<b>0.04</b>
<b>GI</b>	0.11 (0.09– 0.14) n=5	0.09 (0.07– 0.20) n=5	0.89	0.15 (0.05 - 0.30) n=3	0.08 (0.01– 0.32) n=3	1.00	0.04 (0- 0.09) n=2	0.05 (0.01– 0.09) n=2	0.17	0.09 (0.02– 0.17) n=2	0.06 (0.01– 0.11) n=2	0.17	0.13 (0.03– 0.18) n=6	0.09 (0.03– 0.16) n=6	0.60
<b>UN</b>	0.03 (0.01– 0.06) n=2	.06 (0.04– 0.07) n=2	0.17	0.07 (0.04– 0.10) n=2	0.08 (0.07 - 0.09) n=2	0.65	0.06 (0.02 - 0.36) n=3	0.11 (0.03– 0.12) n=3	1.00	0.15 (0.10 - 0.20) n=2	0.10 (0.10– 0.10) n=2	0.65	0.13 (0.06– 0.20) n=2	0.14 (0.14– 0.15) n=2	0.65
<b>SNC</b>				0.09 (0- 0.17) n=2	0.10 (.01– 0.19) n=2	0.17							0.04 (0.04– 0.04) n=1	0.03 (0.03– 0.03) n=1	0.31
<b>PTB</b>				0.01 (0.01– 0.01) n=1	0.01 (0.01– 0.01) n=1	0.31				0.07 (0.05– 0.09) n=2	0.061 (0.04– 0.07) n=2	0.17			
<b>Endocarditis</b>															
<b>≥2 sitios</b>	0.10 (0.10– 0.10) n=1	0.08 (0.08– 0.08) n=1	0.31				0.15 (0.15– 0.15) n=1	0.19 (0.19– 0.19) n=1	0.65	0.05 (0.03– 0.07) n=2	0.06 (0.05 - 0.08) n=2	0.17	0.07 (0.07– 0.07) n=1	0.06 (0.06– 0.06) n=1	0.31

GSH: glutatión; Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; GI: gastrointestinal; NU: nefrouinario; SNC: sistema nervioso central; PTB: piel y tejidos blandos. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo).



**Cuadro 25.** Capacidad antioxidante total por grupo de tratamiento estratificado por sitio de infección.

Sitio de infección	Vit C			Vit E			NAC			Melat			Control		
	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p	Pre	Post	p
<b>Pulmonar</b>	2220.3 (747.6 - 2997.5) n=6	1358.5 (966.6 - 2276.3) n=6	0.11	1856.3 (1311.9 - 2439.1) n=7	2348.8 (1562.4 - 3841.9) n=7	0.23	1357.7 (916.7 - 2351.4) n=6	1841.4 (821.3 - 3528.7) n=6	0.60	2070.4 (1299.4 - 2519.2) n=6	1747.5 (456.5 - 2644.2) n=6	0.75	2563 (1934.6 - 3340.9) n=4	2751.5 (1531.9 - 3478.6) n=4	1.00
<b>GI</b>	2401.5 (1086.5 - 2459.4) n=5	2050.9 (1688.5 - 2272.8) n=5	0.50	2011.1 (1650.8 - 2371.5) n=2	1580.1 (618.3 - 2541.9) n=2	0.65	1208.5 (704.3 - 1712.7) n=2	1275.2 (812.6 - 1737.7) n=2	0.17	1018 (561.3 - 1474.7) n=2	833.7 (530.9 - 1136.6) n=2	0.17	2281.1 (1600.0 - 2650.7) n=8	1512.3 (312.4 - 3501) n=8	0.20
<b>UN</b>	2125.5 (2061.3- 189.7) n=2	2303.7 (2235.1- 2372.3) n=2	0.17	2957.3 (2627.0 - 3287.6) n=2	2016.2 (1380.5 - 2652.0) n=2	0.65	1882.9 (621.5 - 2011.6) n=3	2198.2 (1951 - 2269.2) n=3	0.10	2098.7 (894.2 - 2292.7) n=3	2061.3 (871.8 - 2281.5) n=3	0.10	1837.4 n=1	2064.7 n=1	0.31
<b>SNC</b>				2428.4 (2360.1- 2496.7) n=2	2592.7 (2223.1- 2962.4) n=2	0.65							3467.1	1227.8	0.31
<b>PTB</b>				886.3	877.7	0.31				1091	2745.6	0.31			
<b>Endocarditis</b>															
<b>≥2 sitios</b>				2148.4 n=1	1775.2 n=1	0.31				2226.3 (2013- 2439.7) n=2	1832.4 (1417 - 2247.9) n=2	0.65	2530.6 n=1	3496.4 n=1	0.31

Vit C: vitamina C; Vit E: vitamina E; NAC: n-acetilcisteína; Melat: melatonina; GI: gastrointestinal; NU: nefrouinario; SNC: sistema nervioso central; PTB: piel y tejidos blandos. Estadístico de prueba: prueba de rangos señalados de Wilcoxon. Los valores se expresan como mediana (mínimo – máximo).

## DISCUSION

La terapia antioxidante en el choque séptico ha sido propuesta desde Hipócrates, quien utilizó la mirra (*Commiphora mukul*, *Commiphora myrrha*) **(60)** con fines medicinales terapéuticos y antiinflamatorios, actualmente se conoce que también tiene propiedades antioxidantes y es utilizada en diversos padecimientos **(61)**. Durante el choque séptico, existe incremento del gasto cardíaco con disminución de las resistencias vasculares sistémicas causada por dilatación arterial **(62)**. La disminución excesiva o muy prolongada de las resistencias vasculares puede producir hipotensión resistente al uso de vasopresores lo cual puede contribuir a falla cardíaca grave **(63)**. En diferentes modelos experimentales y en humanos con choque séptico **(64)** se ha descrito que la alta producción de ON y RNS por diferentes vías pueden causar falla orgánica (pulmonar, cardíaca, neurológica y hepática **(65)**). La nueva definición de sepsis enfatiza la desregulación de la respuesta del huésped y la disfunción de múltiples órganos ante la infección, lo que se atribuye parcialmente a trastornos metabólicos inducidos por la crisis energética y del EO. Sabemos que las mitocondrias son el centro de producción de energía, y que el daño o disfunción mitocondrial se induce comúnmente en un entorno séptico, por lo que, la disfunción mitocondrial está ampliamente involucrada en la patogénesis del choque séptico. Sin embargo, los blancos terapéuticos para ello aún están en revisión debido a que todavía es difícil definir si la disfunción mitocondrial es una consecuencia o es inductor en el desarrollo de la respuesta séptica. La modulación de la función mitocondrial pudiera ser a futuro una estrategia terapéutica potencial en el manejo de la sepsis, sabemos que tanto en el EO como en la disfunción mitocondrial participan múltiples factores inducibles los cuales requieren tratamientos específicos y efectivos para el uso clínico. Las terapias inespecíficas como los inhibidores de apoptosis, los promotores de autofagia o el tratamiento hormonal,

pueden traer efectos universales en otros procesos biológicos celulares y causar consecuencias impredecibles que no son adecuadas para la aplicación clínica, por lo que aún se requiere mayor investigación.

Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue determinar el efecto de cuatro diferentes terapias antioxidantes sobre el EO y su repercusión clínica en la falla orgánica de enfermos críticos con choque séptico.

En este estudio, los pacientes con choque séptico que recibieron Vit C y Melat mejoraron la disfunción orgánica (medida por el puntaje de SOFA) asociado a disminución de LPO,  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$ . Estos resultados difieren de los reportados por el CTRIS-ALI **(66)**, el cual no demostró mejoría en la falla orgánica con la administración de Vit C por 96 horas. Sin embargo, ellos estudiaron pacientes que desarrollaron síndrome de insuficiencia respiratoria aguda (SIRA) e iniciaron la terapia de manera más tardía. El VITAMINS trial tampoco encontró diferencia significativa en el puntaje de SOFA o días libres de ventilación a los 28 días. Sin embargo, se encontró menor mortalidad a 28 días, mayores días fuera de UCI y mayores días fuera del hospital a 28 y 60 días **(67)**. En un estudio previo, se reportó menor tiempo de uso de vasopresores y menor mortalidad hospitalaria en los pacientes que recibieron Vit C **(54)**. Nuestros resultados muestran disminución significativa en los niveles  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  en el grupo de pacientes con Vit C. Sabemos que la Vit C inhibe la expresión del mRNA de la iNOS, por lo tanto, previene la producción abundante de NO que genera  $\text{OONO}^-$  en la presencia de  $\text{O}_2^-$ . Particularmente, el  $\text{ONOO}^-$  se produce en grandes cantidades durante el choque séptico, este tiene efectos deletéreos en diferentes tejidos **(68)**, especialmente en los vasos sanguíneos causando vasodilatación **(69)**. En este

sentido, se ha utilizado LPS de bacterias Gram negativas en diferentes modelos experimentales con choque séptico demostrando que estos incrementan la producción de NO asociada a sobreexpresión de iNOS **(70)** propiciando un ambiente de EO que contribuye con la producción de ONOO<sup>-</sup> el cual participa como mediador de diferentes interleucinas proinflamatorias **(71)**, estas interleucinas continuaran con la producción y liberación de ONOO<sup>-</sup> el cual interfiere de manera directa con la respiración mitocondrial, la disfunción mitocondrial se ha reportado como un evento común en el choque séptico **(72)**. De igual manera, el NO compite con la molécula de O<sub>2</sub> en la unión al complejo IV de la cadena de transporte de electrones disminuyendo su actividad enzimática y produciendo bloqueo del transporte de electrones con incremento en la producción de O<sub>2</sub><sup>-</sup> **(73)** el cual reacciona con el NO formando RNS, esto a su vez puede modular una docena de proteínas mitocondriales como el Complejo I, el cual, se asocia con disminución de la producción de ATP **(74)**.

Por otra parte, los niveles basales de Vit C se encontraron por debajo del valor de referencia en los pacientes con choque séptico incluidos en nuestra cohorte y se lograron normalizar con el tratamiento enteral. Esto confirma que nuestros pacientes con choque séptico presentan hipovitaminosis (<0.23 μM ac. ascórbico/mL) como se ha reportado en diversos estudios **(75-78)**. Nuestros hallazgos confirman la teoría que la hipovitaminosis aguda en pacientes con sepsis es secundaria a consumo metabólico, ya que la absorción intestinal no se vio afectada **(77)**. La media de Vit C en nuestros pacientes previa al tratamiento (21 μM Vit C) fue similar a la reportada en el CITRIS-ALI (22 μM Vit C). Posterior a la administración de Vit C nuestros pacientes alcanzaron niveles plasmáticos a las 48 horas de 70 μM Vit C, a diferencia de los 166 μM reportados en el CITRIS-ALI **(66)**. También encontramos que los niveles de PCR disminuyeron significativamente en el grupo de pacientes que recibieron tratamiento con Vit C, como se ha reportado en estudios

publicados previamente **(32)**. Recientemente el estudio CITRIS-ALI no encontró disminución de los niveles de PCR, sin embargo, los resultados probablemente se debieron a la administración tardía de Vit C en pacientes con estadios avanzados de sepsis antes de desarrollar SIRA **(66)**. En nuestro estudio la mediana de tiempo de inicio del tratamiento en el grupo de Vit C fue de 5 horas a diferencia del CITRIS-ALI. En relación con los niveles basales de Vit C en todos los grupos estudiados, el grupo control mostro descenso de los niveles con significancia estadística, en los pacientes tratados con los diversos antioxidantes, se encontró que los niveles de Vit C se mantienen sin cambios, es decir, si bien no mejoraron tampoco mostraron descenso. Pudo demostrarse que únicamente el grupo que recibió tratamiento con Vit C presentó incremento en los niveles plasmáticos con significancia estadística. En un modelo animal de EO en el que se provocaron niveles plasmáticos bajos de Vit C e infección pulmonar por *Pseudomonas aeruginosa* se encontró deterioro de la fase inflamatoria por respuesta de los polimorfonucleares (PMN) **(79)**. Los niveles bajos de Vit C conducen a explosión oxidativa de los PMN (20) ante un sistema antioxidante deteriorado lo cual exacerba la respuesta inflamatoria, una forma de mejorar el estado de la Vit C es mediante la suplementación de GSH ya que este facilita el reciclaje de Vit C y su homeostasis.

Por otra parte, el GSH proporciona  $2H^+$  y  $2e^-$  que reaccionan con la forma oxidada de la Vit C, por lo tanto, mantiene la Vit C en su forma reducida **(80)**. Además, es importante considerar que el NAC es una fuente de GSH por lo que es posible plantear que una dosis de NAC podría aumentar la capacidad antioxidante del plasma y posteriormente disminuir el EO. El efecto antioxidante y antiinflamatorio de NAC ha sido estudiado en humanos **(13-16)**, aunque en choque séptico es poco claro debido a que hay pocos estudios. En este

estudio, el uso de NAC en humanos con choque séptico disminuyó los niveles de LPO cuando el sitio de infección fue a nivel pulmonar, aunque no hubo significancia estadística, se encontró tendencia a la disminución 9 veces más al compararlo con las demás terapias, se obtuvo mejor desempeño de la capacidad antioxidante con significancia estadística. Sin embargo, Los niveles de GSH no tuvieron incremento en ningún grupo de tratamiento. Por otra parte, la catalasa y el glutatión peroxidasa (GPX) requieren del GSH, el cual tiene actividad antioxidante directa a través de la donación de iones de hidrógeno, que a la vez puede reparar el ADN dañado. El GSH es un antioxidante intracelular que es esencial en la protección de las células participando en la eliminación de los ROS **(81)**. La resolución en falla orgánica con el uso de NAC ha sido informada, se ha encontrado que cuando se administra después de 24 horas de hospitalización incrementa la mortalidad **(82)**. Nosotros encontramos con el uso de NAC descenso importante del puntaje SOFA, el cual es relevante a partir del día 3 y 4 de tratamiento, sin embargo, la terapia con Vit C supero a los demás tratamientos antioxidantes. Hasta el momento no hay estudios que hayan evaluado el uso combinatorio de NAC y Vit C, tomando en cuenta los mecanismos de acción pudiera plantearse estudios prospectivos controlados en pacientes con infección pulmonar. En diversos estudios se ha podido demostrar que la aplicación de NAC disminuye los niveles de IL-8, IL-6, ICAM y del receptor  $\alpha$  soluble de necrosis tumoral p55. A estos mecanismos se le podría atribuir el adecuado control de la respuesta inmune inflamatoria, nosotros observamos descenso significativo de los niveles de procalcitonina. En relación con el comportamiento clínico con el uso de NAC en pacientes con choque séptico, se ha encontrado menor tiempo de VM y menos días de estancia en UCI **(83-84)**. Nosotros observamos que los sujetos del grupo control tuvieron más días de VM que los pacientes tratados, sin significancia estadística, probablemente debido a que se requiere un cálculo

de muestra específico para apoyar o descartar esta hipótesis. Se conoce también que el NAC mejora variables hemodinámicas. Sin embargo, no encontramos disminución significativa en el puntaje SOFA, únicamente encontramos tendencia a disminuirlo a diferencia de lo encontrado con el uso de Vit C y Melat. Es relevante mencionar que estos cambios solo fueron observados en sujetos que recibieron terapia antioxidante, ya que en el grupo control la disminución del puntaje SOFA fue mínimo. En este sentido, es conocido que los antioxidantes previenen la formación de ROS eliminando sus precursores o convirtiendo en productos menos reactivas.

Por otro lado, la Melat ha sido propuesta en el control de sepsis, su amplia distribución extracelular como intracelular y su síntesis en una variedad de órganos puede explicar el papel de la Melat en la modulación en numerosos procesos fisiológicos a través de diversos mecanismos. Hasta el momento, no tenemos conocimiento de otros estudios en humanos con choque séptico que hayan utilizado Melat. Se ha demostrado que la Melat posee propiedades de secuestro de ROS, lo cual protege a los lípidos de las membranas celulares, proteínas del citosol, el DNA nuclear y el mitocondrial **(41, 42)** y esto se ha propuesto a través de estudios in vitro y en vivo que puede prevenir la LPO **(85)**, preservar la permeabilidad de la membrana aumentando su fluidez **(86)** y reducir niveles de hidroperóxido en las mitocondrias restaurando la homeostasis del GSH y la función mitocondrial en los organelos bajo EO **(87-89)**. También tiene la capacidad de estimular la g-glutamilcisteína sintasa, por lo tanto, puede incrementar la síntesis intracelular de GSH **(90)**. Otro de sus mecanismos antioxidantes, es a través de la restauración de la actividad mitocondrial funcional que se deprime en algunas situaciones patológicas, reduciendo el consumo de O<sub>2</sub> por las mitocondrias hepáticas, un efecto que puede proteger este órgano

del daño oxidante excesivo **(91-92)**. Reyes Toso demostró los efectos genómicos de la Melat (93) en un modelo en ratas con inflamación y se demostró que se inhibe la expresión de iNOS, enzima que participa en la respuesta séptica celular, a los LPS y la apoptosis. (94). Si se consideran sus múltiples acciones, el hecho de que el ON es un factor clave en la sepsis y que la iNOS es uno de los principales objetivos de la acción de la Melat, la Melat se considera un tratamiento prometedor. Sewerynek y colaboradores **(95)** documentaron por primera vez reducción en el daño oxidante inducido por LPS después de la administración de Melat. Nuestros resultados confirman los hallazgos comentados previamente, ya que la administración de Melat mostró disminución estadísticamente significativa de la LPO y de los niveles de procalcitonina. Estos hallazgos confirman lo que ya se había propuesto por Galley y colaboradores **(44)**. Sin embargo, los  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  disminuyeron sin alcanzar diferencia estadísticamente significativa. Aunque no encontramos cambios significativos en la capacidad antioxidante total y GSH, estos hallazgos permiten ver el efecto antioxidante y antiinflamatorio del uso de Melat en pacientes con choque séptico.

Por último, en este estudio evaluamos el efecto como antioxidante y en la disfunción orgánica de la Vit E como monoterapia comparándola contra un grupo control sin tratamiento. Sabemos que la Vit E es el antioxidante lipofílico más importante en las membranas celulares y que evita la LPO de estas **(34)**. Encontramos que la LPO disminuyó en el grupo de pacientes que recibieron Vit E, sin significancia estadística ( $p=0.172$ ). También encontramos en los pacientes tratados con Vit E tendencia a disminuir la carbonilación ( $p=0.07$ ). Los mismos resultados encontramos con los pacientes tratados con Vit C, se sabe que la Vit C regenera a la Vit E para que esta realice su efecto antioxidante



evitando la LPO y secuestrando ROS liposolubles. Los pacientes con choque séptico estudiados en nuestra cohorte presentaron hipovitaminosis C, por lo tanto, creemos que es indispensable la administración de Vit C con Vit E para tener un efecto clínicamente benéfico, lo cual explica nuestros hallazgos. Esta teoría fue demostrada en un ensayo clínico, doble ciego y controlado por placebo **(96)** donde encontraron disminución significativa de la mortalidad a 28 días y menores días de ventilación mecánica en los pacientes tratados con Vit C y Vit E. Howe y colaboradores **(97)**, en otro estudio sorteado, doble ciego y controlado con placebo, encontraron disminución significativa de los días de ventilación mecánica en los pacientes que se trataron con Vit C y Vit E. El efecto combinado de la terapia con Vit E y Vit C también fue estudiado por Nathens y colaboradores en pacientes post-operados graves (la mayoría de trauma), encontraron disminución de la incidencia de ARDS o neumonía, disminución de la falla orgánica y tendencia a disminuir la mortalidad a 28 días. Por otra parte, sabemos que la función más relevante de la Vit E es su efecto antioxidante, sin embargo, tiene otros efectos importantes como la estabilidad de la membrana celular y el mantenimiento de una adecuada respuesta inmune ante la infección **(98)**. Nosotros encontramos disminución estadísticamente significativa de los niveles de PCT en los pacientes tratados con Vit E, también encontramos disminución de los niveles de PCR, la cual se acentuó a las 48 horas de tratamiento, aunque esta no alcanzó significancia estadística como en el grupo de pacientes con Vit C. Estos hallazgos, confirman los efectos anti-inflamatorios y de mejoría de la respuesta inmune ante la infección. A pesar de lo comentado previamente, no encontramos mejoría clínicamente significativa en el puntaje de SOFA en los pacientes tratados con Vit E a diferencia de lo observado en el grupo de Vit C y Melat. Consideramos que el tratamiento combinado de Vit

E con Vit C es una opción muy prometedora que puede disminuir aún más el daño orgánico provocado por el EO y la inflamación sistémica.

Por otra parte, en nuestro estudio el 41% de los pacientes con choque séptico tenían infección pulmonar como causa de este. Cuando estratificamos a los pacientes por sitio de infección, encontramos que la LPO disminuyó significativamente en los pacientes con infección pulmonar tratados con Melat, de igual manera, encontramos disminución significativa de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$  en los pacientes tratados con Vit C con infección pulmonar. En cuanto a la lesión pulmonar aguda secundaria a sepsis, se ha descrito incremento en ROS y RNS derivado del incremento en el desacoplamiento de la sobreexpresión eNOS e iNOS **(99)** lo cual se asocia a incremento y liberación de mediadores proinflamatorios como IL-6, IL9 y TNF- $\alpha$  por las células del epitelio bronquial y macrófagos **(100)**, activando neutrófilos y macrófagos los cuales causan destrucción alveolar y colapso de vías aéreas pequeñas. Estos cambios pueden inducir daño endotelial, aumento de la permeabilidad capilar pulmonar y edema pulmonar provocando deterioro en el intercambio gaseoso **(101)**.

## CONCLUSIONES

La terapia antioxidante adicional al manejo empleado en los pacientes con choque séptico disminuye la falla orgánica medida por el puntaje de SOFA causada por el incremento del EO.

El tratamiento con Vit C disminuye significativamente la falla orgánica comparado con los pacientes que no reciben terapia antioxidante. La disminución de la disfunción orgánica se debe a la disminución significativa de los niveles de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$ . También existe disminución significativa de los niveles de PCR en los pacientes tratados con Vit C.

El tratamiento enteral con Vit C es eficaz en pacientes con choque séptico. La dosis de 4 gr de Vit C por vía enteral fue suficiente para alcanzar niveles plasmáticos dentro del rango de referencia. El tratamiento con Vit E, Melat y NAC logra mantener los niveles plasmáticos de Vit C, a diferencia de los pacientes que no recibieron tratamiento antioxidante.

El tratamiento con Melat disminuye de manera significativa la falla orgánica comparado con los pacientes que no reciben terapia antioxidante. La disminución de la disfunción orgánica se debe a la disminución significativa de la LPO.

Los niveles de PCT disminuyeron de manera significativa en los pacientes tratados con Vit E, Melat y NAC.

El tratamiento con NAC incrementó de manera significativa la capacidad antioxidante total sin repercusión clínica en el puntaje de SOFA.

La mayoría de los pacientes tratados en esta cohorte presentaban infección pulmonar como causa del choque séptico, el mayor efecto de la terapia se observó en estos pacientes con infección pulmonar.

No hubo efectos adversos graves en ninguna de las terapias antioxidantes empleadas en nuestro ensayo clínico.

## **PERSPECTIVAS**

En este ensayo clínico de terapia antioxidante administrada de manera aislada se demostró mejoría de la falla orgánica en pacientes con choque séptico. Consideramos que la terapia combinada de los fármacos evaluados en nuestro ensayo clínico pudiera tener un

mejor impacto en los pacientes con choque séptico, esta hipótesis debe ser evaluado en otro ensayo clínico sorteado.

El tratamiento con Melat demostró ser efectivo en estos pacientes al disminuir la falla orgánica y la LPO, hubo tendencia no significativa a disminuir la producción de  $\text{NO}_3^-$  y  $\text{NO}_2^-$ , por lo tanto, consideramos que asociar el efecto benéfico del uso de Melat con el de Vit C pudiera una opción prometedora para los pacientes con choque séptico que puede ayudar a mejorar el pronóstico de estos.

La Vit E es regenerada por la Vit C, por lo que consideramos que el tratamiento combinado de estas es indispensable para lograr observar un efecto benéfico en los pacientes que presenta choque séptico.

La NAC demostró incrementar la capacidad antioxidante total sin repercusión clínica, el uso de esta con Vit C pudiera ser una terapia prometedora en estos pacientes, ya que la NAC pudiera mejorar los efectos benéficos encontrados de la Vit C.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. Crit Care Med. 2001 Jul;29(7):1303-10.
2. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Cooper-Smith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The

Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016 Feb 23;315(8):801-10. doi: 10.1001/jama.2016.0287.

3. Shankar-Hari M, Phillips GS, Levy ML, Seymour CW, Liu VX, Deutschman CS, Angus DC, Rubenfeld GD, Singer M; Sepsis Definitions Task Force. Developing a New Definition and Assessing New Clinical Criteria for Septic Shock: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016 Feb 23;315(8):775-87. doi: 10.1001/jama.2016.0289.
4. Seymour CW, Liu VX, Iwashyna TJ, Brunkhorst FM, Rea TD, Scherag A, Rubenfeld G, Kahn JM, Shankar-Hari M, Singer M, Deutschman CS, Escobar GJ, Angus DC. Assessment of Clinical Criteria for Sepsis: For the Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016 Feb 23;315(8):762-74. doi: 10.1001/jama.2016.0288.
5. Marshall JC, Vincent JL, Guyatt G, Angus DC, Abraham E, Bernard G, Bombardier C, Calandra T, Jørgensen HS, Sylvester R, Boers M. Outcome measures for clinical research in sepsis: a report of the 2nd Cambridge Colloquium of the International Sepsis Forum. Crit Care Med. 2005 Aug;33(8):1708-16.
6. Chabot F, Mitchell JA, Gutteridge JM, Evans TW. Reactive oxygen species in acute lung injury. Eur Respir J. 1998 Mar;11(3):745-57.

7. Pisoschi AM, Pop A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *Eur J Med Chem.* 2015 Jun 5; 97:55-74. doi: 10.1016/j.ejmech.2015.04.040.
8. Thannickal VJ, Fanburg BL. Reactive oxygen species in cell signaling. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2000 Dec;279(6): L1005-28.
9. Galley HF. Oxidative stress and mitochondrial dysfunction in sepsis. *Br J Anaesth.* 2011 Jul;107(1):57-64. doi: 10.1093/bja/aer093.
10. Crouser ED. Mitochondrial dysfunction in septic shock and multiple organ dysfunction syndrome. *Mitochondrion.* 2004 Sep;4(5-6):729-41.
11. Gutteridge JM. Lipid peroxidation and antioxidants as biomarkers of tissue damage. *Clin Chem.* 1995 Dec;41(12 Pt 2):1819-28.
12. Rizzo AM, Berselli P, Zava S, Montorfano G, Negroni M, Corsetto P, Berra B. Endogenous antioxidants and radical scavengers. *Adv Exp Med Biol.* 2010; 698:52-67. doi: 10.1007/978-1-4419-7347-4\_5.
13. Kiefer P, Vogt J, Radermacher P. From mucolytic to antioxidant and liver protection: new aspects in the intensive care unit care of N-acetylcysteine. *Crit Care Med.* 2000 Dec;28(12):3935-6.

14. Aruoma OI, Halliwell B, Hoey BM, Butler J. The antioxidant action of N-acetylcysteine: its reaction with hydrogen peroxide, hydroxyl radical, superoxide, and hypochlorous acid. *Free Radic Biol Med.* 1989;6(6):593-7.
15. Schmidt H, Schmidt W, Müller T, Böhrer H, Gebhard MM, Martin E. N-acetylcysteine attenuates endotoxin-induced leukocyte-endothelial cell adhesion and macromolecular leakage in vivo. *Crit Care Med.* 1997 May;25(5):858-63.
16. Schmidt W, Walther A, Gebhard MM, Martin E, Schmidt H. Influence of N-acetylcysteine treatment on endotoxin-induced microcirculatory disturbances. *Intensive Care Med.* 1998 Sep;24(9):967-72.
17. Peake SL, Moran JL, Leppard PI. N-acetyl-L-cysteine depresses cardiac performance in patients with septic shock. *Crit Care Med.* 1996 Aug;24(8):1302-10.
18. Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does N-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest.* 1998 Jun;113(6):1616-24.
19. Molnár Z, Shearer E, Lowe D. N-Acetylcysteine treatment to prevent the progression of multisystem organ failure: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Crit Care Med.* 1999 Jun;27(6):1100-4.

20. Rank N, Michel C, Haertel C, Lenhart A, Welte M, Meier-Hellmann A, Spies C. N-acetylcysteine increases liver blood flow and improves liver function in septic shock patients: results of a prospective, randomized, double-blind study. *Crit Care Med*. 2000 Dec;28(12):3799-807.
21. Paterson RL, Galley HF, Webster NR. The effect of N-acetylcysteine on nuclear factor-kappa B activation, interleukin-6, interleukin-8, and intercellular adhesion molecule-1 expression in patients with sepsis. *Crit Care Med*. 2003 Nov;31(11):2574-8.
22. Emet S, Memis D, Pamukçu Z. The influence of N-acetyl-L-cystein infusion on cytokine levels and gastric intramucosal pH during severe sepsis. *Crit Care*. 2004 Aug;8(4):R172-9. Epub 2004 May 14. Erratum in: *Crit Care*. 2016 Dec 19;20(1):403.
23. Spapen HD, Diltoer MW, Nguyen DN, Hendrickx I, Huyghens LP. Effects of N-acetylcysteine on microalbuminuria and organ failure in acute severe sepsis: results of a pilot study. *Chest*. 2005 Apr;127(4):1413-9.
24. Szakmany T, Hauser B, Radermacher P. N-acetylcysteine for sepsis and systemic inflammatory response in adults. *Cochrane Database Syst Rev*. 2012 Sep 12;(9):CD006616. doi: 10.1002/14651858.CD006616.pub2.
25. Berger MM. Vitamin C requirements in parenteral nutrition. *Gastroenterology*. 2009 Nov;137(5 Suppl):S70-8. doi: 10.1053/j.gastro.2009.08.012.



26. May JM, Harrison FE. Role of vitamin C in the function of the vascular endothelium. *Antioxid Redox Signal*. 2013 Dec 10;19(17):2068-83. doi: 10.1089/ars.2013.5205.
27. Berger MM, Oudemans-van Straaten HM. Vitamin C supplementation in the critically ill patient. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2015 Mar;18(2):193-201. doi: 10.1097/MCO.0000000000000148.
28. Borrelli E, Roux-Lombard P, Grau GE, Girardin E, Ricou B, Dayer J, Suter PM. Plasma concentrations of cytokines, their soluble receptors, and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk. *Crit Care Med*. 1996 Mar;24(3):392-7.
29. Schorah CJ, Downing C, Piripitsi A, Gallivan L, Al-Hazaa AH, Sanderson MJ, Bodenham A. Total vitamin C, ascorbic acid, and dehydroascorbic acid concentrations in plasma of critically ill patients. *Am J Clin Nutr*. 1996 May;63(5):760-5.
30. Oudemans-van Straaten HM, Spoelstra-de Man AM, de Waard MC. Vitamin C revisited. *Crit Care*. 2014 Aug 6;18(4):460. doi: 10.1186/s13054-014-0460-x.
31. Spoelstra-de Man AME, de Grooth HJ, Elbers PWG, Oudemans-van Straaten HM. Response to "Adjuvant vitamin C in cardiac arrest patients undergoing renal replacement therapy: an appeal for a higher high-dose". *Crit Care*. 2018 Dec 19;22(1):350. doi: 10.1186/s13054-018-2200-0.

32. Fowler AA 3rd, Syed AA, Knowlson S, Sculthorpe R, Farthing D, DeWilde C Farthing CA, Larus TL, Martin E, Brophy DF, Gupta S; Medical Respiratory Intensive Care Unit Nursing, Fisher BJ, Natarajan R. Phase I safety trial of intravenous ascorbic acid in patients with severe sepsis. *J Transl Med.* 2014 Jan 31; 12:32. doi: 10.1186/1479-5876-12-32.
33. Lassnigg A, Punz A, Barker R, Keznickl P, Manhart N, Roth E, Hiesmayr M. Influence of intravenous vitamin E supplementation in cardiac surgery on oxidative stress: a double-blinded, randomized, controlled study. *Br J Anaesth.* 2003 Feb;90(2):148-54.
34. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 2007 Jul 1;43(1):4-15.
35. Durant R, Klouche K, Delbosc S, Morena M, Amigues L, Beraud JJ, Canaud B, Cristol JP. Superoxide anion overproduction in sepsis: effects of vitamin e and simvastatin. *Shock.* 2004 Jul;22(1):34-9.
36. Reiter RJ. Pineal melatonin: cell biology of its synthesis and of its physiological interactions. *Endocr Rev.* 1991 May;12(2):151-80.
37. Reiter RJ, Tan DX, Pappolla MA. Melatonin relieves the neural oxidative burden that contributes to dementias. *Ann N Y Acad Sci.* 2004 Dec; 1035:179-96.

38. Vollrath L. The Pineal Organ. Mollendorff WaB, W., editor. Heildberg, Germany: Springer-Verlag; 1981. p. 659.
39. Hardeland R, Madrid JA, Tan DX, Reiter RJ. Melatonin, the circadian multioscillator system and health: the need for detailed analyses of peripheral melatonin signaling. *J Pineal Res.* 2012 Mar;52(2):139-66. doi: 10.1111/j.1600-079X.2011.00934.x.
40. Amaral FGD, Cipolla-Neto J. A brief review about melatonin, a pineal hormone. *Arch Endocrinol Metab.* 2018 Aug;62(4):472-479. doi: 10.20945/2359-3997000000066.
41. Aydogan S, Yerer MB, Goktas A. Melatonin and nitric oxide. *J Endocrinol Invest.* 2006 Mar;29(3):281-7. Review. PubMed PMID: 16682846.
42. Reiter RJ, Tan DX, Manchester LC, Pilar Terron M, Flores LJ, Koppisepi S. Medical implications of melatonin: receptor-mediated and receptor independent actions. *Adv Med Sci.* 2007; 52:11-28.
43. Acuña-Castroviejo D, Escames G, López LC, Hitos AB, León J. Melatonin and nitric oxide: two required antagonists for mitochondrial homeostasis. *Endocrine.* 2005 Jul;27(2):159-68.
44. Galley HF, Lowes DA, Allen L, Cameron G, Aucott LS, Webster NR. Melatonin as a potential therapy for sepsis: a phase I dose escalation study and an ex vivo whole blood

- model under conditions of sepsis. *J Pineal Res.* 2014 May;56(4):427-38. doi: 10.1111/jpi.12134.
45. Vincent JL, Moreno R, Takala J, Willatts S, De Mendonça A, Bruining H, Reinhart CK, Suter PM, Thijs LG. The SOFA (Sepsis-related Organ Failure Assessment) score to describe organ dysfunction/failure. On behalf of the Working Group on Sepsis-Related Problems of the European Society of Intensive Care Medicine. *Intensive Care Med.* 1996 Jul;22(7):707-10.
46. Moreno R, Vincent JL, Matos R, Mendonça A, Cantraine F, Thijs L, Takala J, Sprung C, Antonelli M, Bruining H, Willatts S. The use of maximum SOFA score to quantify organ dysfunction/failure in intensive care. Results of a prospective, multicentre study. Working Group on Sepsis related Problems of the ESICM. *Intensive Care Med.* 1999 Jul;25(7):686-96.
47. Vincent JL, de Mendonça A, Cantraine F, Moreno R, Takala J, Suter PM, Sprung CL, Colardyn F, Blecher S. Use of the SOFA score to assess the incidence of organ dysfunction/failure in intensive care units: results of a multicenter, prospective study. Working group on "sepsis-related problems" of the European Society of Intensive Care Medicine. *Crit Care Med.* 1998 Nov;26(11):1793-800.
48. Berger MM, Chioléro RL. Antioxidant supplementation in sepsis and systemic inflammatory response syndrome. *Crit Care Med.* 2007 Sep;35(9 Suppl):S584-90.

49. Koekkoek WA, van Zanten AR. Antioxidant Vitamins and Trace Elements in Critical Illness. *Nutr Clin Pract*. 2016 Aug;31(4):457-74. doi: 10.1177/0884533616653832.
50. Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI).
51. McClave SA, Taylor BE, Martindale RG, Warren MM, Johnson DR, Braunschweig C, McCarthy MS, Davanos E, Rice TW, Cresci GA, Gervasio JM, Sacks GS, Roberts PR, Compher C; Society of Critical Care Medicine; American Society for Parenteral and Enteral Nutrition. Guidelines for the Provision and Assessment of Nutrition Support Therapy in the Adult Critically Ill Patient: Society of Critical Care Medicine (SCCM) and American Society for Parenteral and Enteral Nutrition (A.S.P.E.N.). *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2016 Feb;40(2):159-211. doi: 10.1177/0148607115621863.
52. Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, Shankar-Hari M, Annane D, Bauer M, Bellomo R, Bernard GR, Chiche JD, Coopersmith CM, Hotchkiss RS, Levy MM, Marshall JC, Martin GS, Opal SM, Rubenfeld GD, van der Poll T, Vincent JL, Angus DC. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). *JAMA*. 2016 Feb 23;315(8):801-10. doi: 10.1001/jama.2016.0287.
53. Fisher BJ, Kraskauskas D, Martin EJ, Farkas D, Puri P, Massey HD, Idowu MO, Brophy DF, Voelkel NF, Fowler AA 3rd, Natarajan R. Attenuation of sepsis-induced organ injury in mice by vitamin C. *JPEN J Parenter Enteral Nutr*. 2014 Sep;38(7):825-39. doi: 10.1177/0148607113497760. Epub 2013 Aug 5.

54. Marik PE, Khangoora V, Rivera R, Hooper MH, Catravas J. Hydrocortisone, Vitamin C, and Thiamine for the Treatment of Severe Sepsis and Septic Shock: A Retrospective Before-After Study. *Chest*. 2017 jun;151(6):1229-1238. doi: 10.1016/j.chest.2016.11.036. Epub 2016 Dec 6.
55. Lomelí O, Pérez-Torres I, Márquez R, Críales S, Mejía AM, Chiney C, Hernández-Lemus E, Soto ME. The Evaluation of Flow-Mediated Vasodilation in the Brachial Artery Correlates With Endothelial Dysfunction Evaluated by Nitric Oxide Synthase Metabolites in Marfan Syndrome Patients. *Front Physiol*. 2018 Aug 21;9:965. doi: 10.3389/fphys.2018.00965.
56. ELLMAN GL. Tissue sulfhydryl groups. *Arch Biochem Biophys*. 1959 May;82(1):70-7.
57. Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem*. 1996 Jul 15;239(1):70-6.
58. Zúñiga-Muñoz, A.M.; Pérez-Torres, I.; Guarner-Lans, V.; Núñez-Garrido, E.; Velázquez, E.R.; Huesca-Gómez, C.; Gamboa-Ávila, R.; Soto, M.E. Glutathione system participation in thoracic aneurysms from patients with Marfan syndrome. *Vasa* 2017, 46, 177–186. doi: 10.1024/0301-1526/a000609. Epub 2017 Feb 8.
59. Pech LGM, Caballero-Chacón SDC, Guarner-Lans V, Díaz-Díaz E, Gómez AM, Pérez-Torres I. Effect of oophorosalingo-hysterectomy on serum antioxidant enzymes in

- female dogs. *Sci Rep.* 2019;9(1):9674. Published 2019 Jul 4. doi: 10.4172/2574-2868-C1-003.
60. Funk DJ, Parrillo JE, Kumar A. Sepsis and septic shock: a history. *Crit Care Clin.* 2009 Jan;25(1):83-101, viii. doi: 10.1016/j.ccc.2008.12.003.
61. Sotoudeh R, Hadjzadeh MA, Gholamnezhad Z, Aghaei A. The anti-diabetic and antioxidant effects of a combination of *Commiphora mukul*, *Commiphora myrrha* and *Terminalia chebula* in diabetic rats. *Avicenna J Phytomed.* 2019 Sep-Oct;9(5):454-464.
62. Russell JA. Management of sepsis. *N Engl J Med.* 2006;355:1699–1713.
63. Rivers EP, McIntyre L, Morro DC, Rivers KK. Early and innovative interventions for severe sepsis and septic shock: taking advantage of a window of opportunity. *CMAJ.* 2005;173:1054–1065.
64. Chalupsky K, Lobysheva I, Nepveu F, Gadea I, Beranova P, Entlicher G, Stoclet JC, Muller B. Relaxant effect of oxime derivatives in isolated rat aorta: role of nitric oxide (NO) formation in smooth muscle. *Biochem Pharmacol.* 2004;67:1203–1214.
65. Clapp BR, Hingorani AD, Kharbanda RK, Mohamed-Ali V, Stephens JW, Vallance P, MacAllister RJ. Inflammation-induced endothelial dysfunction involves reduced nitric oxide bioavailability and increased oxidant stress. *Cardiovasc Res.* 2004;64:172–178.

66. Fowler AA 3rd, Truwit JD, Hite RD, Morris PE, DeWilde C, Priday A, Fisher B, Thacker LR 2nd, Natarajan R, Brophy DF, Sculthorpe R, Nanchal R, Syed A, Sturgill J, Martin GS, Sevransky J, Kashiouris M, Hamman S, Egan KF, Hastings A, Spencer W, Tench S, Mehkri O, Bindas J, Duggal A, Graf J, Zellner S, Yanny L, McPolin C, Hollrith T, Kramer D, Ojelo C, Damm T, Cassity E, Wieliczko A, Halquist M. Effect of Vitamin C Infusion on Organ Failure and Biomarkers of Inflammation and Vascular Injury in Patients With Sepsis and Severe Acute Respiratory Failure: The CITRIS-ALI Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2019 Oct 1;322(13):1261-1270. doi: 10.1001/jama.2019.11825.
67. Fujii T, Luethi N, Young PJ, Frei DR, Eastwood GM, French CJ, Deane AM, Shehabi Y, Hajjar LA, Oliveira G, Udy AA, Orford N, Edney SJ, Hunt AL, Judd HL, Bitker L, Cioccarri L, Naorungroj T, Yanase F, Bates S, McGain F, Hudson EP, Al-Bassam W, Dwivedi DB, Peppin C, McCracken P, Orosz J, Bailey M, Bellomo R; VITAMINS Trial Investigators. Effect of Vitamin C, Hydrocortisone, and Thiamine vs Hydrocortisone Alone on Time Alive and Free of Vasopressor Support Among Patients With Septic Shock: The VITAMINS Randomized Clinical Trial. *JAMA*. 2020 Jan 17. doi: 10.1001/jama.2019.22176.
68. Cuzzocrea S, Mazzon E, Di Paola R, Esposito E, Macarthur H, Matuschak GM, Salvemini D. A role for nitric oxide-mediated peroxynitrite formation in a model of endotoxin-induced shock. *J Pharmacol Exp Ther*. 2006;319:73–81.



69. Meziani F, Kremer H, Tesse A, Baron-Menguy C, Mathien C, Mostefai HA, Carusio N, Schneider F, Asfar P, Andriantsitohaina R. Human serum albumin improves arterial dysfunction during early resuscitation in mouse endotoxic model via reduced oxidative and nitrosative stresses. *Am J Pathol.* 2007 Dec;171(6):1753-61.
70. Kimura SJ, Carriker FR, Hogen MJ. Retinal vasculitis with intra ocular hemorrhage. Classification and results of special studies. *Arch Ophthalmol* 1956; 56:361–367.
71. Halliwell B. What nitrates tyrosine? Is nitrotyrosine specific biomarker for peroxynitrite formation In Vivo? *FEBS Lett* 1997; 411:157–160.
72. Protti A, Singer M. Bench-to-bedside review: potential strategies to protect or reverse mitochondrial dysfunction in sepsis-induced organ failure. *Crit Care.* 2006;10:228–32
73. Frost MT, Wang Q, Moncada S, Singer M. Hypoxia accelerates nitric oxide-dependent inhibition of mitochondrial complex I in activated macrophages. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;288(2):R394–400.
74. Liadet L, Soriano FG, Szabo C. Biology of nitric oxide signaling. *Crit Care Med.* 2000;28:N37–52.
75. Borrelli E, Roux-Lombard P, Grau GE, et al. Plasma concentrations of cytokines, their soluble receptors, and antioxidant vitamins can predict the development of multiple organ failure in patients at risk. *Crit Care Med.* 1996; 24:392–7.

76. Victor VM, Guayerbas N, Puerto M, et al. Changes in the ascorbic acid levels of peritoneal lymphocytes and macrophages of mice with endotoxininduced oxidative stress. *Free Radic Res.* 2001; 35:907–16.
77. Carr AC, Rosengrave PC, Bayer S, et al. Hypovitaminosis C and vitamin C deficiency in critically ill patients despite recommended enteral and parenteral intakes. *Crit Care.* 2017; 21:300. doi: 10.1186/s13054-017-1891-y
78. Evans-Olders R, Eintracht S, Hoffer LJ. Metabolic origin of hypovitaminosis C in acutely hospitalized patients. *Nutrition.* 2010; 26:1070–4. doi: 10.1016/j.nut.2009.08.015. Epub 2009 Dec 16.
79. Jensen PO, Lykkesfeldt J, Bjarnsholt T, Hougen HP, Hoiby N, Ciofu O. Poor antioxidant status exacerbates oxidative stress and inflammatory response to *Pseudomonas aeruginosa* lung infection in guinea pigs. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* Apr 2012; 110(4):353–8.
80. Winkler BS. In vitro oxidation of ascorbic acid and its prevention by GSH. *Biochim Biophys Acta.* 1987 Sep 11;925(3):258-64.
81. Victor, V. M., Rocha, M., De la Fuente, M. (2004) Immune cells: free radicals and antioxidants in sepsis. *Int. Immunopharmacol.* 4:327–347.

82. Molnár Z, Shearer E, Lowe D. N-Acetylcysteine treatment to prevent the progression of multisystem organ failure: a prospective, randomized, placebo-controlled study. *Crit Care Med.* 1999 Jun;27(6):1100-4.19.
83. Spapen H, Zhang H, Demanet C, Vleminckx W, Vincent JL, Huyghens L. Does N-acetyl-L-cysteine influence cytokine response during early human septic shock? *Chest.* 1998 Jun;113(6):1616-24.18.
84. Paterson RL, Galley HF, Webster NR. The effect of N-acetylcysteine on nuclear factor-kappa B activation, interleukin-6, interleukin-8, and intercellular adhesion molecule-1 expression in patients with sepsis. *Crit Care Med.* 2003 Nov;31(11):2574-8.21.
85. Escames, G., Guerrero, J. M., Reiter, R. J., Garcia, J. J., Muñoz, A., Ortiz, G. G., Oh, C. S. (1997) Melatonin and vitamin E prevent nitric oxide-induced lipid peroxidation in rat brain homogenates. *Neurosci. Lett.* 230: 147–150.
86. Garcia, J. J., Reiter, R. J., Guerrero, J. M., Escames, G., Yu, B. P., Oh, C. S., Muñoz-Hoyos, A. (1997) Melatonin prevents changes in microsomal membrane fluidity during induced lipid peroxidation. *FEBS Lett.* 408: 297–300.
87. Martin, G. S., Mannino, D. M., Eaton, S., Moss, M. (2003) The epidemiology of sepsis in United States from 1979 through 2000. *N. Engl J. Med.* 348: 1546–155.

88. Martín, M., Macías, M., Escames, G., León, J., Acuña-Castroviejo, D. (2000a) Melatonin but not vitamins C and E maintains glutathione homeostasis in t-butyl hydroperoxide-induced mitochondrial oxidative stress. *FASEB J.* 14: 1677–1679.
89. Martín, M., Macías, M., Escames, G., Reiter, R. J., Agapito, M. T., Ortiz, G. G., Acuña-Castroviejo, D. (2000b) Melatonin-induced increased activity of the respiratory chain complexes I and IV can prevent mitochondrial damage induced by ruthenium red in vivo. *J Pineal Res.* 28: 242–248.
90. Urata, Y., Honma, S., Goto, S., Todoroki, S., Tida, T., Cho, S., Honma, K., Kondo, T. (1999) Melatonin induces gamma-glutamylcysteine synthetase mediated by activator protein-1 in human vascular endothelial cells. *Free Radic. Biol. Med.* 27: 838–847.
91. Sewerynek, E., Melchiorri, D., Chen, L. D., Reiter, R. J. (1995b) Melatonin reduces both basal and bacterial lipopolysaccharide-induced lipid peroxidation in vitro. *Free Radic. Biol. Med.* 19: 903–909.
92. Karbownik, M., Reiter, R. J., Garcia, J. J., Tan, D. X., Manchester, L. C. (2000) Melatonin reduces rat hepatic macromolecular damage due to oxidative stress caused by delta-aminolevulinic acid. *Biochem. Biophys. Acta* 1523: 140–1469.
93. Reyes Toso, C. F., Ricci, C. R., de Mignone, I. R., Reyes, P., Linares, L. M., Albornoz, L. E., Cardinali, D. P., Zaninovich, A. (2003) In vitro effect of melatonin on oxygen consumption in liver mitochondria of rats. *Neuroendocrinol. Lett.* 24: 341–344.

94. Crespo, E., Macías, M., Pozo, D., Escames, G., Martin, M., Vives, F., Guerrero, J. M., Acuña-Castroviejo, D. (1999) Melatonin inhibits expression of the inducible NO synthase II in liver and lung and prevents endotoxemia in lipopolysaccharide-induced multiple organ dysfunction in rats. *FASEB J.* 13:1537–1546.
95. Sewerynek, E. Melchiorri, D. Chen, L., Reiter, R. (1995) The pineal hormone melatonin inhibits LPS-induced lipid peroxidation in vitro. *Pharmacol Res.* 31:140-140. DOI:10.1016/1043-6618(95)86821-6.
96. Crimi E, Liguori A, Condorelli M, et al. The beneficial effects of antioxidant supplementation in enteral feeding in critically ill patients: a prospective, randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Anesth Analg.* 2004;99(3):857-863.
97. Howe KP, Clochesy JM, Goldstein LS, Owen H. Mechanical Ventilation Antioxidant Trial. *Am J Crit Care.* 2015;24(5):440-445.
98. Traber MG, Atkinson J. Vitamin E, antioxidant and nothing more. *Free Radic Biol Med.* 2007;43(1):4-15. Azzi A. Molecular mechanism of alpha-tocopherol action. *Free Radic Biol Med.* 2007;43(1):16-21.
99. Ricciardolo FL, Caramori G, Ito K, Capelli A, Brun P, Abatangelo G, Papi A, Chung KF, Adcock I, Barnes PJ, Donner CF, Rossi A, Di Stefano A. Nitrosative stress in the bronchial mucosa of severe chronic obstructive pulmonary disease. *J Allergy Clin Immunol.* 2005 Nov;116(5):1028-35.

100. Barnes PJ, Ito K, Adcock IM. Corticosteroid resistance in chronic obstructive pulmonary disease: inactivation of histone deacetylase. *Lancet* 2004; 363:731-3.
  
101. Lange M, Connelly R, Traber DL, Hamahata A, Nakano Y, Esechie A, Jonkam C, von Borzyskowski S, Traber LD, Schmalstieg FC, Herndon DN, Enkhbaatar P. Time course of nitric oxide synthases, nitrosative stress, and poly (ADP ribosylation) in an ovine sepsis model. *Crit Care*. 2010;14(4):R129. doi: 10.1186/cc9097.